

Thèse

En vue de l'obtention du

Doctorat de l'Université de Lille 1

Discipline : Ecologie

Ecole Doctorale : Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (SMRE)

Soutenu par Jean-Philippe Godet

Le 15 décembre 2010

INTÉRÊT DES ISOPODES TERRESTRES DANS L'ÉVALUATION DE LA QUALITÉ DES SOLS :
Recherche de paramètres indicateurs de la pollution
par des éléments traces métalliques
et contribution à la mise au point d'un outil écotoxicologique de terrain

Jury

Catherine Souty-Grosset, CR CNRS, Univ. Poitiers, Rapporteur

Christian Mougin, DR INRA, Rapporteur

Daniel Cluzeau, MCU, Univ. Rennes, Examineur

Jean-François Ponge, PR émérite MNHN Brunoy, Examineur

Franck Vandenbulcke, PR Univ. Lille 1, Examineur

Cécile Grand, Ingénieur ADEME, Examineur

Christelle Pruvot, EC Groupe ISA, co-directrice, Examineur

Alain Leprêtre, PR Univ. Lille 1, Directeur, Examineur

ADEME



***A mes parents,
A mes grands-parents.***

Espèce de cloporte!



Remerciements

Ces pages sont l'occasion pour moi de remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail de thèse qui a été réalisé au sein du Laboratoire Génie Civil et géo-Environnement qui rassemble l'Equipe Sols et Environnement du Groupe ISA et l'Equipe Ecotoxicologie et Ecologie Numérique de l'Université de Lille 1.

Je tiens d'abord à remercier Francis Douay, responsable de l'Equipe Sol et Environnement pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je le remercie sincèrement pour son investissement majeur dans le projet et pour sa disponibilité. J'exprime également ma gratitude à Alain Leprêtre, professeur à l'Université de Lille 1 et responsable de l'Equipe Ecotoxicologie et Ecologie Numérique. Je le remercie pour m'avoir aiguillé tout au long de mon cursus universitaire, et pour m'avoir accordé sa confiance en tant que directeur de thèse.

Mes remerciements vont tout particulièrement à Christelle Pruvot, enseignant-chercheur dans l'Equipe Sols et Environnement et co-directrice de ma thèse, ainsi que Sylvain Demunych, maître de conférences à l'Université de Lille 1. Je les remercie pour leurs présences et leurs précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail. Ils m'ont accordé une certaine autonomie, tout en me faisant bénéficier d'un très bon encadrement. J'ai énormément appris à leurs côtés durant ces trois années de thèse.

Je remercie bien évidemment l'ensemble des membres du jury, rapporteurs et examinateurs. Je remercie d'abord Catherine Souty-Grosset, chargée de recherche à l'université de Poitiers, ainsi que Christian Mougin, directeur de recherche à l'INRA de Versailles, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de mon travail. J'exprime également mes remerciements à Jean-François Ponge, professeur émérite du Muséum National d'Histoire Naturelle, à Daniel Cluzeau, maître de conférences à l'Université de Rennes, à Franck Vandebulcke, professeur à l'Université de Lille 1, ainsi qu'à Cécile Grand, ingénieur ADEME pour leur participation à l'examen de ce travail.

J'adresse également mes remerciements à l'Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME), à l'Université Catholique de Lille ainsi qu'au Groupe ISA pour leur soutien financier, sans lequel ce projet n'aurait jamais vu le jour.

Je tiens également à remercier tous les membres du comité de suivi de thèse pour leur disponibilité et leurs conseils avisés. A deux reprises, ils ont contribué fortement au travers de discussions constructives à l'avancement du travail. Je remercie particulièrement Catherine Souty-Grosset pour avoir apporté son expérience en tant qu'isopodologue. De la même manière, Francis Douay, Alain Lepêtre, Christelle Pruvot et Sylvain Demuynck ont contribué à l'enrichissement de ce travail. Je remercie également Renaud Scheifler pour ses conseils avisés en écologie et sa disponibilité. Un remerciement tout particulier à Sébastien Lemièrre, maître de conférences à l'Université de Lille 1, pour son soutien et ses nombreux conseils lors de mon stage de DEA au Laboratoire d'Ecologie et d'Ecotoxicologie, ainsi que lors du comité de suivi de thèse. Enfin je remercie Cédric Devigne et Anne Follet pour leur contribution et leur participation.

Je tiens également à exprimer toute mon amitié aux membres de l'Equipe Sol et Environnement pour leur sympathie, leurs conseils, leur aide précieuse, ainsi que leur bonne humeur. Ce fut un plaisir de travailler au sein de cette équipe, et ce dans une ambiance chaleureuse durant ces trois années et deux mois de thèse. Je tiens à remercier Arnaud Lefebvre pour sa patience et sa rigueur, et pour son aide dans la mesure des paramètres biométriques, mais surtout pour sa disponibilité instantanée. Je remercie également Hervé Fourier, enseignant-chercheur et compagnon de terrain, pour m'avoir initié à la pédologie dans la joie et la bonne humeur. Un grand remerciement à Gérardine Bidar, ingénieur de recherche, et Julien Dassonneville, technicien au laboratoire et chercheur de cloportes, pour leur soutien, leur aide et leur contribution à ce travail. Enfin, je tiens également à remercier Christophe Waterlot, Bertrand Pourrut, Alexandre Loriette, Aurélie Pelfrenne et Christian Schvartz. Je ne peux m'empêcher d'avoir une pensée pour celle qui m'a supporté durant ces trois années, Alena Pohu, doctorante et collègue de bureau (dans le même bateau !). Enfin, je remercie l'ensemble des stagiaires qui ont participé à ce travail.

Table des Matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Contexte et objectifs spécifiques de la recherche.....	9
A) Contexte.....	11
1. Les isopodes terrestres et les ETM.....	11
2. Le sol des habitats ligneux : milieu de vie préférentiel des isopodes.....	24
3. Les principales sources d'émissions d'ETM en Nord – Pas de Calais.....	27
B) Objectifs spécifiques de la recherche.....	30
Chapitre II : Mise au point méthodologiques.....	33
A) Mise en place d'élevages au laboratoire.....	35
1. Choix du modèle biologique d'élevage.....	36
2. Origine des populations.....	36
3. Conditions d'élevage.....	36
B) Effets du mode de conservation sur la biométrie et les bioconcentrations métalliques des isopodes terrestres.....	38
1. Effet du lavage aux ultrasons sur les bioconcentrations métalliques des isopodes....	40
2. Effet du mode de conservation (congélation, éthylène glycol et éthanol 70%) sur les bioconcentrations métalliques (Cd, Pb et Zn).....	41
3. Effet de la congélation et de la conservation à l'éthanol sur la biométrie des isopodes.....	43
4. Effet de la conservation à l'éthanol 70% sur la masse des isopodes.....	44
5. Bilan.....	46

C) Etude préalable aux expérimentations en conditions contrôlées : Préférences alimentaires chez <i>Porcellio scaber</i> exposé simultanément à différentes essences végétales non massivement contaminées par des ETM.....	48
1. Matériels et méthodes.....	49
2. Résultats et discussion.....	50
Chapitre III : Etude <i>in situ</i>.....	55
A) Intérêt de l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn).....	57
1. Introduction.....	58
2. Matériels et méthodes.....	59
3. Résultats.....	60
4. Discussion.....	61
B) Etude de la variabilité biométrique de populations d'isopodes au regard des caractéristiques physico-chimiques des sols.....	66
1. Matériels et méthodes.....	68
2. Résultats.....	78
3. Discussion.....	126
C) Stabilité du développement chez <i>Porcellio scaber</i> issu d'habitats ligneux massivement contaminés par des ETM.....	132
1. Introduction.....	134
2. Materials and methods.....	135
3. Results.....	140
4. Discussion.....	145
Chapitre IV : Expérimentations en conditions contrôlées.....	155
A) La nourriture distribuée aux isopodes : Origine, mode de préparation et concentrations en ETM.....	157
1. Origine et préparation des litières.....	158
2. Déterminations des concentrations métalliques.....	158
3. Résultats.....	159

B) Etude de la dynamique de populations : Expositions en microcosmes intérieurs de <i>Porcellio scaber</i> à des litières de peupliers collectées à proximité d'usines métallurgiques.....	160
1. Matériels et méthodes.....	161
2. Résultats et discussion.....	163
C) Etude de la croissance et de l'accumulation métallique chez les isopodes : Exposition de <i>Porcellio scaber</i> à des litières de peupliers collectées à proximité d'usines métallurgiques.....	167
1. Introduction.....	168
2. Materials and methods.....	169
3. Results.....	170
4. Discussion.....	172
D) Etude de l'adaptabilité de <i>Porcellio scaber</i> à la contamination métallique des sols : mesures de la croissance et de la bioaccumulation en ETM chez <i>Porcellio scaber</i> issu d'habitats contaminés ou non, et exposé à des litières collectées à proximité d'usines métallurgiques.....	176
1. Matériels et méthodes.....	177
2. Résultats.....	178
3. Discussion.....	181
E) Etude comportementale : Comportement d'évitement chez <i>Porcellio scaber</i> exposé à des litières contaminées par des ETM.....	184
1. Matériels et méthodes.....	185
2. Résultats et Discussion.....	185
Chapitre V : Synthèse et perspectives.....	191
<i>Références bibliographiques</i>.....	201
<i>Annexes</i>.....	213

Liste des figures

Figure 1 : *Oniscus asellus* (gauche, source :<http://zoology.fns.uniba.sk>) et *Porcellio scaber* (droite, source : <http://commons.wikimedia.org>)

Figure 2 : Vue dorsale d'*Oniscus asellus* (Noël et Séchet, 2007)

Figure 3 : Antenne (A) et 7^{ème} péréiopode (B) chez *P. scaber* (a : base ; b : 1^{er} article ; c : 2^{ème} article ; d : 3^{ème} article, e : 1^{er} flagelle ; f : 2^{ème} flagelle ; a' : basis ; b' : ischion ; c' : mérôs ; d' : carpos ; e' : propodos ; f' : dactylos).

Figure 4. Face ventrale du pléon chez le mâle (a) et la femelle (b) de *Porcellio scaber* (Noël et Séchet, 2007)

Figure 5 : Stades de développement embryonnaire chez *Porcellio scaber* d'après les clichés photographiques réalisés par Štrus et al. (2008). A : stade 1 ; B et C : stade 2 ; D et E : stade 3.

Figure 6 : Sol forestier de la Forêt Domaniale de Raismes – Saint-Amand – Wallers

Figure 7 : L'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord démantelée en 2003 (gauche) et l'usine de zinc Umicore en activité (droite).

Figure 8 : Site industriel de Mortagne-du-Nord au cours des années 50 (Thiry et al., 2002).

Figure 9 : Aciéries de Paris et d'Outreau (A.P.O) à Manihen dans les années 1900 (source : <http://sites.google.com/site/outreau2/lesa.p.o>)

Figure 10 : Elevage B, population de *Porcellio scaber* issue de la station BOU 1 (a) et Mode de préparation des litières destinées à alimenter les élevages (b)

Figure 11 : Concentrations en Cd, Pb et Zn (mg L^{-1}) mesurés dans les eaux de rinçage (L0 – L1)

Figure 12 : Concentrations cumulées en Cd, Pb et Zn des eaux de rinçage

Figure 13 : Teneurs en Cd, Pb et Zn (mg kg^{-1} poids sec à 105°C) mesurées chez des individus de *Porcellio scaber* conservés 6 mois selon 3 modalités (congélation, éthylène glycol et éthanol à 70%). Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, tests de Kruskal-Wallis).

Figure 14 : Moyennes \pm SE des mesures biométriques (taille : T ; largeur du corps : l ; largeur du céphalon : C) réalisées avant (av) et après (ap) conservation sur des lots de 30 isopodes selon deux modes (congélation et conservation dans l'éthanol à 70%). * Différences significatives entre les mesures réalisées avant et après conservation ($p < 0,05$, test de Wilcoxon).

Figure 15 : Différences moyennes (\pm SE) observées entre la première mesure (avant conservation, M1) et le deuxième mesure (après conservation, M2) réalisées sur 3 paramètres biométriques des isopodes (taille, largeur du corps et largeur du céphalon) selon 2 modes (congélation et conservation à l'éthanol 70%). * différences significatives observées entre les modalités de conservation (test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 16 : Masse moyenne \pm SE des isopodes ($n = 10$) à T_0 et après 7, 14, 21 et 28 jours, 12 et 18 mois de conservation dans l'éthanol à 70%. * différences significatives ($p < 0,05$, test de Wilcoxon).

Figure 17 : Dispositif expérimental. Préférences alimentaires chez *Porcellio scaber* exposé simultanément à différentes essences végétales non massivement contaminées par des ETM

Figure 18 : Masses moyennes de feuilles consommées par *Porcellio scaber* exposé simultanément à cinq essences végétales (Charme, chêne, érable, hêtre et Peuplier). Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,1$, test de Kruskal-Wallis), $n = 3$.

Figure 19 : Diagramme de dispersion entre la fréquentation de *Porcellio scaber* pour chacune des essences végétales et leurs consommations.

Figure 20 : Localisation géographique des 8 sites et 44 stations étudiées.

Figure 21 : Habitat artificiel recouvert par une pierre sur le sol de MET 2

Figure 22 : Paramètres morphologiques mesurés sur les populations d'isopodes. (a) longueur du corps, (b) longueurs des différents articles constituant l'antenne, (c) largeur du céphalon et (d) longueurs des différents articles constituant un péréiopode.

Figure 23 : Matériel d'observation et de mesure utilisé (a), et dispositif mis en œuvre pour la réalisation des clichés en vue de la mesure de la longueur totale et la largeur du céphalon des isopodes (b).

Figure 24 : Concentrations moyennes (\pm ET) en mg kg^{-1} (105°C) en Cd, Pb et Zn des horizons OL, OF et A collectés sur les 20 stations étudiées.

Figure 25 : Résultats de l'ACP concernant les litières (horizon OL) échantillonnées sur les 20 stations étudiées. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO_3 total et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physicochimiques proches.

Figure 26 : Résultats de l'ACP concernant les horizons OF échantillonnées sur 15 stations. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO_3 total et en MO et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physico-chimiques proches.

Figure 27 : Résultats de l'ACP concernant les horizons organo-minéraux (A) échantillonnées sur les 20 stations étudiées. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO_3 total et en MO et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physico-chimiques proches.

Figure 28 : Nombre d'*Oniscus asellus* collectés au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Le pourcentage de femelles est indiqué pour chacune des stations.

Figure 29 : Nombre de *Porcellio scaber* collectés au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Le pourcentage de femelles est indiqué pour chacune des stations.

Figure 30 : Nombre de *Porcellio scaber* collectés à l'automne 2008 sur les 20 stations étudiées.

Figure 31 : Nombre total d'individus collectés au printemps (P08) et à l'automne (A08) sur les 20 stations prospectées.

Figure 32 : Pyramides d'âge représentant la proportion d'individus appartenant à une classe de masse définie pour les individus mâles (♂) et femelles (♀), de *P. scaber* (A) et d'*O. asellus* (B) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais, non contaminés par des ETM.

Figure 33 : Structuration par âge chez *Oniscus asellus* pour les 8 métapopulations étudiées (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR), représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles gravides (FG) sont précisés.

Figure 34 : Structuration par âge chez *Porcellio scaber* pour les 8 métapopulations étudiées (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR) représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles gravides (FG) sont précisés.

Figure 35 : Structuration par âge (i.e. masse) chez *Porcellio scaber* pour les 7 métapopulations étudiées à l'automne 2008 (APO, BOU, MET, UMI, MAR, CRAM et MOR), représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles (F) sont précisés.

Figure 36 : Relation entre la masse des femelles gravides *O. asellus* et le nombre d'œufs pour les individus issus d'habitats massivement contaminés ou non (n = 298 et n = 100 respectivement).

Figure 37 : Relation entre la masse des femelles gravides *P. scaber* et le nombre d'œufs pour les individus issus d'habitats non ou massivement contaminés par des ETM (n = 234 et n = 179 respectivement).

Figure 38 : Nombre d'œufs par femelle chez *O. asellus* collecté au printemps 2008 sur 18 stations. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site (p<0,05, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 39 : Taille moyenne des œufs (n = 5 œufs mesurés par femelle) chez *O. asellus* collecté au printemps 2008 sur 18 stations. (A) stade 1 de gravidité, (B) stade 2 de gravidité. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site (p<0,05, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

Figure 40 : Nombre d'œufs par femelle chez *P. scaber* collecté au printemps 2008 sur 20 stations. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site (p<0,05, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

Figure 41 : Taille moyenne des œufs (n = 5 œufs mesurés par femelle) chez *P. scaber* collecté au printemps 2008 sur 20 stations. (A) stade 1 de gravidité, (B) stade 2 de gravidité. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site (p<0,05, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

Figure 42 : Relation entre la masse et la taille de *P. scaber* (n = 417), mâles (m) et femelles (f)

Figure 43 : Relation entre la largeur du céphalon et la masse chez *O. asellus* (n = 992), mâles (m) et femelles (f)

Figure 44 : Relation entre la longueur du 3^{ème} article gauche de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopode gauche chez *O. asellus* (n = 983), mâles (m) et femelles (f).

Figure 45 : Variabilité biométrique inter sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 46 : Variabilité biométrique inter – sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (femelles non gravides) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 47 : Variabilité biométrique inter sites basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 48 : Variabilité biométrique inter – sites basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (femelles non gravides) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 49 : Variabilité biométrique inter site basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 50 : Variabilité biométrique inter site basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 51 : Variabilité biométrique inter site basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (femelles) collectées à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 52 : Variabilité biométrique inter site basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (femelles) collectées à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

Figure 53 : Relation entre la masse et la largeur du céphalon chez *P. scaber* mâles au printemps (n = 388) et à l'automne 2008 (n = 366).

Figure 54 : Relation entre la longueur du 3^{ème} article gauche de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopodes gauche *P. scaber* mâles au printemps (n = 362) et à l'automne 2008 (n = 361).

Figure 55 : Variabilité biométrique saisonnière (printemps et automne 2008) à l'échelle des 20 stations étudiées, basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles). * différences significatives entre les saisons ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 56 : Variabilité biométrique saisonnière (printemps et automne 2008) à l'échelle des 20 stations étudiées, basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art 3}$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles). * différences significatives entre les saisons ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 57 : Relation entre le masse et l'indice $\log C / \log M$ chez *P. scaber* mâles au printemps et à l'automne 2008 (n = 754).

Figure 58 : Relation entre la masse et l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art 3}$, *P. scaber* mâles au printemps (n = 362) et à l'automne 2008 (n = 727).

Figure 59 : Indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art 3}$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur 4 stations présentant des caractéristiques physico-chimiques des litières similaires dont un ratio C/N > 30. Le test de Kruskal-Wallis n'a montré aucune différence significative entre les stations. Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 60 : Indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur 4 stations présentant des caractéristiques physico-chimiques des litières similaires dont un ratio C/N > 30. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 61 : Indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art 3}$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons OF avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Le test de Mann-Whitney-Wilcoxon n'a montré aucune différence significative entre les stations. Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 62 : Indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons OF avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 63 : Indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art 3}$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons organo-minéraux avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. * différence significative ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 64 : Indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons organo-minéraux avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

Figure 65 : Teneurs moyennes \pm ET en Cd (mg kg^{-1} PS) mesurées chez *P. scaber* ($n = 5$ mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Figure 66 : Teneurs moyennes \pm ET en Pb (mg kg^{-1} PS) mesurées chez *P. scaber* ($n = 5$ mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Figure 67 : Teneurs moyennes \pm ET en Zn (mg kg^{-1} PS) mesurées chez *P. scaber* ($n = 5$ mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Figure 68 : Structure des microcosmes

Figure 69 : Dispositif expérimental de l'expérimentation en microcosmes.

Figure 70 : Nombre moyen (\pm SD) de *P. scaber* recensés après à 4, 8 et 12 mois d'exposition en microcosme à des litières de peuplier présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les populations initiales à T_0 étaient constituées de 9 mâles et de 16 femelles issus de classes d'âge définies.

Figure 71 : Nombre moyens (\pm SD) de juvéniles recensés au cours du temps (4, 8 et 12 mois) dans les différentes populations exposées à des litières présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les populations initiales à T_0 étaient constituées de 9 mâles et de 16 femelles issus de classes d'âge définies.

Figure 72 : Pyramides des âges réalisées sur les trois réplicats de populations exposées en microcosme durant 12 mois à la litière (TEM) non massivement contaminées par Cd, Pb et Zn, ainsi que les effectifs mâles, femelles, juvéniles (< 10 mg) et totaux.

Figure 73 : Dispositif expérimental utilisé pour l'étude de l'adaptabilité de *P. scaber* à la contamination métallique.

Figure 74 : Teneurs en Cd et Zn (— médiane; \square 25%-75%; T min-max) mesurées chez deux populations (A et C) de *Porcellio scaber*, exposées à un gradient de litières de peuplier contaminées par des ETM. Les lettres indiquent les différences significatives entre les bioconcentrations des individus nourris avec les différentes litières, pour chaque élément métallique et pour chaque population ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). * Différences significatives entre les deux populations exposées à une même litière ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 75 : Gain de poids (— médiane; \square 25%-75%; T min-max; en mg) aux différents pas de temps chez les populations A et C de *Porcellio scaber*, exposées à un gradient de litières de peuplier contaminées par des ETM. Les lettres indiquent les différences significatives entre le gain de poids des individus nourris avec les différentes litières ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). * Différences significatives entre les deux populations exposées à une même litière ($p < 0,05$, Test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Figure 76 : Schéma indiquant le principe et la mise en place des tests d'évitements

Figure 77 : Dispositif expérimental mis en œuvre pour le test d'évitement

Figure 78 : Histogramme représentant les pourcentages d'individus ayant évité la litière la plus contaminée selon les six modalités (TEM – TEM ; TEM – METb ; TEM – METa ; TEM – UMI ; METb – METa ; METa – UMI), à 24 et à 48 heures, et après le cumul de l'ensemble des observations. * évitement significatif ($p < 0,05$).

Liste des tableaux

Tableau 1 : Synthèse des principales réponses liées au stress métallique mesurables chez les isopodes terrestres (LOEC : plus faible concentration observée induisant une réponse chez l'espèce étudiée ; NOEC : concentration n'induisant pas d'effet ; ECX : Concentration effective induisant une réponse chez X% des individus étudiés ; AC50 : concentration induisant un comportement d'évitement pour 50% des individus étudiés ; LC50 : concentration létale induisant 50% de mortalité)

Tableau 2 : Cumuls du nombre d'individus observés dans chacune des boîtes de Pétri contenant l'une des cinq essences végétales.

Tableau 3 : Concentrations pseudo-totales en Cd, Pb et Zn mesurées dans les horizons 0 – 25 cm des sols des 44 stations étudiées. Les stations en gras sont celles situées à proximité d'usines métallurgiques (en activité ou non).

Tableau 4 : Principales caractéristiques pédologiques des sols des 20 stations étudiées.

Tableau 5 : Paramètres physico-chimiques des litières (OL) des 20 stations étudiées.

Tableau 6 : Paramètres physico-chimiques des horizons fragmentés (OF) des 20 stations étudiées.

Tableau 7 : Paramètres physico-chimiques des horizons organo-minéraux (A) des 20 stations étudiées.

Tableau 8 : Principales caractéristiques physico-chimiques et fonctionnement des sols des habitats étudiés.

Tableau 9 : Paramètres biométriques mesurés chez *O. asellus* (mâles et femelles non gravides), collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais non contaminés par des ETM. Différences significatives marquées à * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Tableau 10 : Paramètres biométriques mesurés chez *P. scaber* (mâles et femelles non gravides), collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais non contaminés par des ETM. Différences significatives marquées à * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Tableau 11 : Matrice de corrélation – coefficient de Pearson r – de l'ensemble des paramètres biométriques mesurés chez *O. asellus* ($n = 992$, sexe confondu) collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais. Corrélations significatives en italique ($p < 0,01$).

Tableau 12 : Matrice de corrélation – coefficient de Pearson r – de l'ensemble des paramètres biométriques mesurés chez *P. scaber* ($n = 417$, sexe confondu) collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais. Corrélations significatives en italique ($p < 0,001$).

Tableau 13 : Concentrations moyennes (pseudo-totales et extraites au CaCl_2) en Cd, Pb et Zn mesurées dans les litières de peuplier ($n = 5$). LD : Limite de détection.

Tableau 14 : Nombre d'individus par classe de masse, placés dans chacun des 48 microcosmes à T_0

Tableau 15 : Nombre de lots constitués pour la détermination des concentrations métalliques des isopodes issus des populations A et C et exposés aux 5 litières testés.

Tableau 16 : Effectifs des individus ayant survécu à 28 jours d'exposition aux différentes litières.

Introduction générale

La pollution des sols par des éléments traces métalliques (ETM) est un problème majeur dans les pays industrialisés. Les ETM contribuent en effet à la détérioration de la qualité des sols et peuvent générer des effets sur le fonctionnement des écosystèmes et sur la santé des populations locales.

Dans le cadre de l'évaluation de la qualité des sols, les démarches physico-chimiques sont essentielles car elles informent sur la présence, la nature et la quantité des contaminants dans les sols. Toutefois, elles ne peuvent renseigner sur les effets de polluants sur les organismes vivants et les écosystèmes. C'est pourquoi, et de manière complémentaire, l'utilisation d'indicateurs biologiques est indispensable à l'évaluation de la qualité des milieux. Au regard des nombreuses définitions (Blandin, 1986 ; Echaubard, 1995 ; Garrec et Van Haluwyn, 2002), un bioindicateur peut être défini comme un organisme (une partie d'un organisme ou une communauté d'organismes) qui renseigne sur la qualité de l'environnement (ou un compartiment de l'environnement). Deux groupes sont généralement distingués, les bioindicateurs d'effets et les bioindicateurs d'accumulations (Markert et al., 1999). Les premiers, sont utilisés pour évaluer les effets des polluants et ceci à différents niveaux d'organisation biologique, allant de la molécule aux écosystèmes. Les seconds, permettent de juger de l'imprégnation des organismes par des contaminants, ainsi que d'étudier leur transfert dans les réseaux trophiques.

Parmi ces organismes, les invertébrés présentent des avantages indéniables pour l'évaluation de la qualité des sols. Ils jouent un rôle majeur dans le fonctionnement de l'écosystème Sol, en contribuant à la décomposition des matières organiques, à la régulation de l'activité microbienne, aux cycles des nutriments et à la structuration du sol (Cortet et al., 1999). En effet, la qualité du sol dépend notamment du fonctionnement optimal de ces organismes (Kammenga et al., 2000). Généralement saprophages, ces organismes sont en contact direct avec les différents horizons du sol où ils trouvent leurs ressources alimentaires, et sont le plus souvent ainsi exposés à la contamination (Kammenga et al., 2000).

Certaines espèces sont aujourd'hui utilisées dans des tests d'écotoxicité normalisés pour évaluer la qualité des sols. C'est le cas notamment de vers de terre (ISO 11268:1993 ; ISO 16387:2004 ; ISO 17512:2008), de collemboles (ISO 11267: 1999) et d'escargots (ISO 15952: 2006), utilisés pour mesurer les effets de substances polluantes au travers de l'étude de la survie, de la croissance, de la reproduction et plus récemment, du comportement d'évitement. Afin d'être validées en tant qu'outils écotoxicologiques, ces espèces doivent présenter certaines caractéristiques qui concernent généralement, leurs rôles fonctionnels dans l'écosystème, leurs abondances, leurs distributions géographiques, leurs tailles, leurs cycles de vie, leurs facilités d'identification et d'échantillonnage, l'existence de réponses mesurables et leur répétabilité. De

plus, les connaissances sur la biologie de l'espèce doivent être largement documentées (Hopkin, 1993 ; Kammenga et al., 2000).

Les tests d'écotoxicité sont encore peu nombreux et notamment, en ce qui concerne la contamination métallique des sols. De plus, même si certains tests offrent des résultats toxicologiques probants en laboratoire, ils restent toutefois éloignés des réalités de terrain. En effet, la plupart des études menées en laboratoire concernent l'exposition d'individus à des substrats contaminés artificiellement par des ETM et le plus souvent de façon mono élémentaire. Bien que ce type d'approche soit indispensable à la définition des doses létales et à la compréhension des mécanismes de toxicité et des effets induits par les polluants sur les organismes, ces études ne permettent pas d'évaluer la biodisponibilité et les effets réels des ETM *in situ*, du fait de la complexité des interactions entre les systèmes biologiques, la pollution multi élémentaire, la spéciation et le comportement des ETM dans les sols.

Par ailleurs, alors que des tests d'écotoxicité utilisant *Eisenia fetida* (Annélide oligochète), *Folsomia candida* (Collembole) ou encore *Helix aspersa* (Gastéropode helicidae) sont proposés pour évaluer la qualité des sols, et plus particulièrement celle des horizons organo-minéraux, il n'existe pas de test spécifique permettant d'évaluer la qualité des horizons organiques de surface (litière) bien qu'étant en contact direct avec les chaînes trophiques. En effet, les litières représentent un compartiment majeur des sols des habitats ligneux et sont à l'interface entre l'atmosphère et les horizons organo-minéraux des sols. La décomposition des litières est un processus clé dans le cycle des nutriments tels que le carbone, l'azote et le phosphore (Berg, 1986 ; Berg et Staff, 1987 ; Laskowski et al., 1995) et donc dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres. De plus, dans les milieux pollués par des ETM, les litières constituent la principale source de contamination pour les organismes saprophytes en présentant parfois des teneurs en ETM particulièrement élevées, issues notamment de l'accumulation des contaminants par les essences végétales. Dans le cas de retombées de poussières métalliques issues par exemple des activités métallurgiques, les litières constituent le premier horizon accumulateur des polluants. Par ailleurs, puisque les litières constituent la principale source de nourriture pour de nombreux invertébrés du sol (vers de terre, myriapodes, diplopodes, collemboles, isopodes...), que ces organismes représentent un maillon important du réseau trophique car faisant partie de l'alimentation d'autres animaux tels que des mammifères ou des oiseaux, l'évaluation de la qualité des litières devrait avoir une signification écologique forte dans la mesure où elle permet de renseigner sur les risques environnementaux au travers des réseaux trophiques terrestres.

Dans cette optique, les isopodes terrestres sont un modèle biologique idéal puisque les litières constituent leur source de nourriture principale. Ceux-ci jouent un rôle important dans le processus de décomposition des matières organiques en les fragmentant et en stimulant et/ou ingérant des champignons et des bactéries (Kammenga et al., 2000 ; Loureiro et al., 2006). En

effet, plus de 10% des litières annuelles sont fragmentés par les isopodes terrestres (Hassall et Sutton, 1978 ; Jambu et al., 1987 ; Mocquard et al., 1988) qui participent ainsi activement aux cycles des nutriments et particulièrement aux cycles du carbone et de l'azote (Höese, 1981). Les espèces telles que *Oniscus asellus* et *Porcellio scaber* présentent une très large distribution géographique, notamment en Europe, et sont abondants aussi bien dans des habitats naturels qu'anthropisés (Hopkin et al., 1993, Hornung et al., 2007 ; Vandiel, 1962 ; Vilisics et al., 2007). De ce fait, les isopodes sont relativement faciles à échantillonner et les conditions d'élevage sont simples à mettre en place. D'autre part, selon Beeby (1993), ils possèdent les principaux critères et caractéristiques pour être utilisés en tant qu'organisme test dans l'évaluation de la qualité des sols. Les nombreux travaux d'Hopkin et collaborateurs réalisés chez *P. scaber* et *O. asellus* ont notamment révélé l'intérêt que présentaient ces deux organismes pour évaluer la biodisponibilité des contaminants métalliques dans l'environnement et *via* les chaînes trophiques (Hopkin and Martin, 1985 ; Hopkin et al., 1986 ; Hopkin, 1989 ; Hopkin, 1990 ; Jones and Hopkin, 1991 ; Hopkin et al., 1993). La spécificité des isopodes terrestres, contrairement à d'autres invertébrés du sol, est leur résistance à la pollution métallique et leur capacité à accumuler fortement certains ETM tels que Cd, Pb, Zn et Cu (Coughtrey et al., 1977 ; Wieser et al., 1976, 1977 ; Coughtrey et al., 1980 ; Hopkin and Martin, 1982 ; Hopkin, 1989). Les concentrations métalliques des isopodes sont d'ailleurs plus élevées que chez d'autres invertébrés du sol (Heikens, 2001). Un des autres avantages du modèle isopode réside dans le fait que ces organismes sont plus résistants à de fortes contaminations des sols que d'autres invertébrés de la pédofaune. Ils sont par ailleurs très abondants aux alentours de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord à Noyelles-Godault (Godet et al., 2008). Même s'il existe une variabilité spécifique et individuelle importante dans les concentrations métalliques chez les isopodes terrestres, et surtout dans les environnements fortement contaminés (Hopkin et al., 1986 ; Hopkin, 1989 ; Gàl et al., 2008), les études *in situ* ont montré que l'utilisation de ce modèle dans le biomonitoring des milieux terrestres contaminés par des ETM était prometteuse.

L'objectif général de ce travail de thèse a été d'identifier des paramètres indicateurs chez les isopodes terrestres permettant le diagnostic et le suivi des milieux terrestres contaminés par des ETM. Les outils mis en jeu sont principalement ceux de l'écologie de terrain (caractérisation physico-chimique des milieux et des populations d'isopodes) en complément d'études *ex situ* menées en laboratoire (microcosmes intérieurs et tests d'écotoxicité en conditions contrôlées). Les paramètres étudiés *in situ* sont les plus pertinents car ils intègrent l'ensemble des composantes d'un écosystème. Néanmoins, au regard de la complexité de l'écosystème Sol, les effets induits par les polluants sont souvent difficiles à interpréter, du fait de l'existence de nombreux facteurs pouvant influencer ces effets. C'est pourquoi, des études ont également été

menées en laboratoire - en conditions simplifiées et contrôlées - afin d'apporter des informations complémentaires sur la toxicité des ETM et leurs effets sur ces organismes. Parallèlement, une démarche en microcosme – conditions contrôlées et réalistes – a été mise en place pour assurer un lien entre les tests d'écotoxicité et les approches de terrain. Dans la littérature, les études réalisées en conditions contrôlées concernent le plus souvent des organismes exposés artificiellement à des contaminants (substrats contaminés artificiellement, souvent avec des sels métalliques) reflétant assez mal les conditions réelles. Dans le cadre de ce travail, il a été choisi d'exposer des isopodes à différentes litières contaminées issues du terrain, afin de se placer dans des conditions plus proches de la réalité.

Par ailleurs, ce travail a concerné un large spectre de paramètres intervenant à différents niveaux d'organisation biologique, de l'individu à la population. Des paramètres ayant une grande pertinence écologique tels que l'abondance, la diversité spécifique, le sexe-ratio et des paramètres liés à la reproduction (nombre d'œufs, structuration par âge) ont été étudiés sur des populations d'isopodes vivant dans des habitats ligneux massivement contaminés par des ETM. Ces populations ont également fait l'objet d'études biométriques, paramètres innovants, pouvant aussi être de bons indicateurs de dysfonctionnements des sols contaminés. Les effets des ETM sur la dynamique de populations d'isopodes, paramètre intervenant à un haut niveau d'organisation biologique mais difficilement appréciable sur le terrain, ont également été étudiés sur des populations exposées en microcosmes à un gradient de contamination en ETM.

Dans un deuxième temps, des études réalisées en conditions contrôlées ont concerné des marqueurs plus précoces intervenant au niveau de l'individu. Des paramètres tels que la croissance et/ou la variation de poids, considérés comme sensibles dans les tests d'écotoxicité (Odendaal et Reinecke, 1999a), ont été étudiés chez *P. scaber*. Des tests comportementaux, basés sur l'évitement de litières massivement contaminées par des ETM par les isopodes, ont aussi été développés au laboratoire. En effet, l'évitement semble être un paramètre écologique intéressant car il est susceptible d'influencer le budget énergétique des organismes au travers de la détection, de l'évitement, de la recherche de nourriture, et plus généralement d'une baisse d'activité alimentaire (Loureiro et al., 2009). Enfin, dans le but d'évaluer le degré d'imprégnation des individus exposés et de mieux comprendre les mécanismes d'accumulation des ETM chez les isopodes au regard de caractéristiques physico-chimiques des sols, les teneurs en ETM chez *P. scaber* ont également fait l'objet de mesures réalisées à la fois *in situ* et *ex situ*. Les travaux de Drobne et collaborateurs soulignent d'ailleurs que les isopodes terrestres constitueraient un modèle particulièrement intéressant pour l'évaluation de ces milieux, et notamment des litières contaminées par des ETM (Drobne et Hopkin, 1994 ; Drobne, 1997).

Le présent mémoire est structuré en cinq chapitres.

Le premier, présente les modèles biologiques étudiés et le contexte spécifique de l'étude, au travers des problématiques liées à la contamination métallique des sols des habitats ligneux. Sont détaillés ensuite les objectifs spécifiques de la thèse.

Le deuxième chapitre présente les mises au point méthodologiques qui ont été nécessaires à la réalisation de ce travail, et qui concernent à la fois les études de terrain et celles menées en conditions contrôlées.

Le troisième chapitre est consacré aux études réalisées *in situ* et qui ont eu pour objectifs de caractériser les populations régionales d'isopodes issues de milieux contaminés à des degrés divers.

Le quatrième chapitre décrit les travaux menés au laboratoire dans le but de mettre au point des tests d'écotoxicité et de vérifier en microcosme des hypothèses émises lors de la phase de terrain. Enfin, le dernier chapitre du manuscrit propose une synthèse du travail sous la forme d'une discussion générale prenant en compte l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I :

Contexte et objectifs spécifiques

A) Contexte

1. Les isopodes terrestres et les ETM

Le modèle biologique retenu appartient à l'ordre des Isopodes (Crustacea) et au sous-ordre des Oniscidea. Le groupe biologique des Oniscidea est numériquement le plus riche en espèces parmi les isopodes. On compte 4099 espèces réparties en 407 genres et 35 familles (Kensley et al., 1996) et plus de 160 espèces sont présentes en France (Vandel, 1962). Les plus connues sont *Porcellio scaber*, *Oniscus asellus*, *Philoscia muscorum* et *Armadillidium vulgare*.

1.1. Choix des modèles biologiques retenus

Dans le cadre du présent travail, *Porcellio scaber* (Latreille, 1804) et *Oniscus asellus* (Linné, 1758) (Figure 1) ont été choisis d'une part, pour leur large distribution géographique et d'autre part, pour leur abondance dans des zones anthropisées et notamment aux alentours de sites métallurgiques tels que Metaleurop Nord et Umicore. Ces espèces cosmopolites sont en effet très tolérantes à la contamination des sols par des ETM.



Figure 1 : *Oniscus asellus* (gauche, source :<http://zoology.fns.uniba.sk>) et *Porcellio scaber* (droite, source : <http://commons.wikimedia.org>)

1.2. Morphologie générale des isopodes

Le corps des Oniscidea est divisé en céphalon-péréion-pléon. Ces trois parties sont elles-mêmes divisées en segments. Ainsi, le péréion est composé de sept segments, le pléon de six segments, le dernier segment du pléon étant fusionné avec le telson (Figure 2).

Le céphalon porte les principaux organes sensoriels : yeux composés d'ommatidies, antennules (très réduites), antennes et un appareil buccal de type broyeur. Les antennes sont constituées de 6 articles chez *P. scaber* : la base, les articles 1, 2 et 3 le premier et second article du flagelle (Figure 3a). Chez *O. asellus*, il existe un troisième flagelle, soit 7 articles au total. Les antennes permettent la réception d'informations sensorielles au travers de la mécanoréception (soies

simples), de l'hygroréception (soies plumeuses) et de la chémoréception (touffe de soies à l'extrémité du flagelle) (Hoëse, 1989).

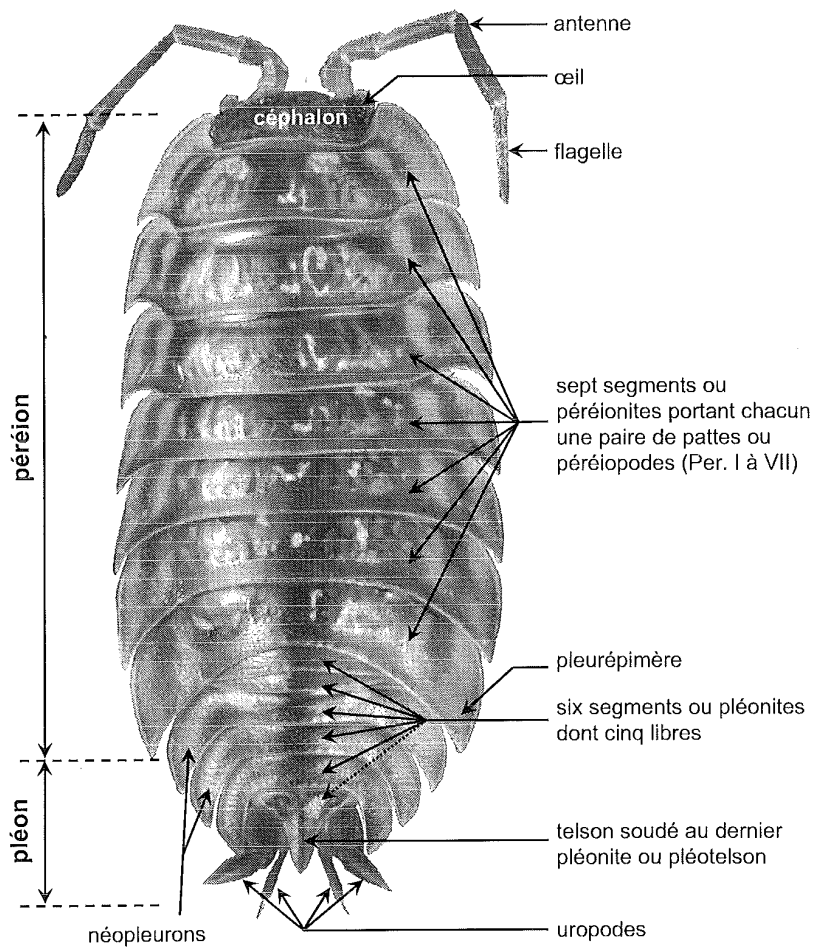


Figure 2 : Vue dorsale d'*Oniscus asellus* (Noël et Séchet, 2007)

Le péréion est constitué de 7 segments appelés péréionites. Chaque péréionite possède une paire de pattes appelées péréiopodes. Les péréiopodes sont constitués de 5 articles : le Basis, l'Ischion, le Méros, le Propodos et le Dactylos (Figure 3b).

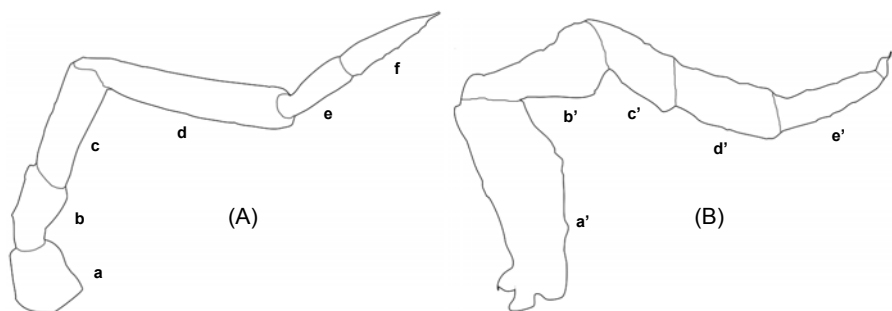


Figure 3 : Antenne (A) et 7^{ème} péréiopode (B) chez *P. scaber* (a : base ; b : 1^{er} article ; c : 2^{ème} article ; d : 3^{ème} article, e : 1^{er} flagelle ; f : 2^{ème} flagelle ; a' : basis ; b' : ischion ; c' : méros ; d' : carpos ; e' : propodos ; f' : dactylos).

Enfin, le pléon est constitué de 6 segments ou pléonites, le dernier étant soudé au telson (Figure 3). Sous le pléon sont insérés 5 paires de pléopodes (Figure 4). Chaque pléopode est composé d'un exopodite, branchies captant l'oxygène au travers d'une fine pellicule d'eau, et d'un endopodite qui joue un rôle dans la reproduction. Chez les mâles, la deuxième paire de pléopodes est différenciée en un organe copulateur (Figure 4). Ces pléopodes sont constitués d'un exopodite foliacé et d'un endopodite transformé en stylets copulateurs (Vandel, 1960). Chez les femelles, les ovaires se présentent sous forme de deux sacs aplatis dorso-ventralement, allant du deuxième au septième segment du péréion. Sur chacun des ovaires, se branche un oviducte débouchant à l'extérieur par un orifice génital situé à la base du cinquième péréiopode (Besse, 1976).

Les exopodites possèdent chez certaines espèces des pseudo-trachées pouvant capter l'oxygène directement dans l'atmosphère. Ces organes de respiration ressemblent à de petits sacs blancs situés entre les deux dernières paires de péréiopodes. *P. scaber* possède 2 paires de pseudo-trachées (Figure 4) alors qu'*O. asellus* en est dépourvu. Cette particularité fait qu'*O. asellus* ne peut vivre que dans des habitats humides (Vandel, 1962) et que *P. scaber* est beaucoup moins sensible à la dessiccation.

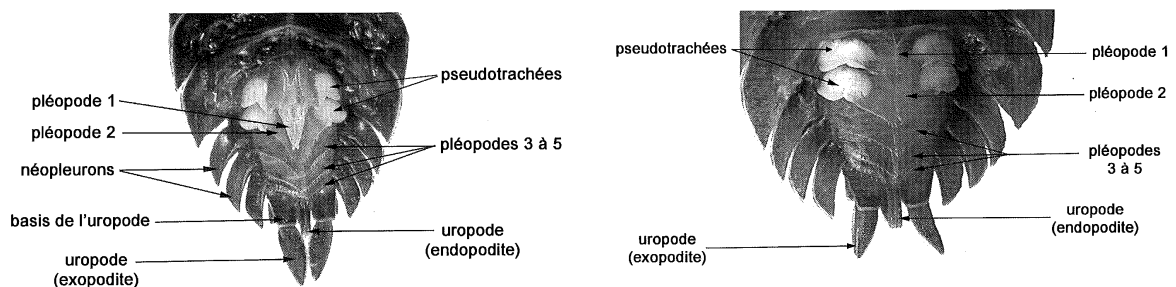


Figure 4. Face ventrale du pléon chez le mâle (a) et la femelle (b) de *Porcellio scaber* (Noël et Séchet, 2007)

1.3. Cycle de mue

Les isopodes présentent un exosquelette rigide principalement constitué de CaCO_3 (Fabritius et al., 2005). Leur croissance est discontinue et s'effectue au travers des cycles de mue d'environ un mois (Steel, 1980). Les mues s'effectuent cependant tout au long de la vie de l'individu bien que leur fréquence soit plus élevée chez les juvéniles. La mue s'effectue en deux temps. Il y a d'abord exuviation de la partie postérieure (pléon et segments 5, 6 et 7 du péréion), puis exuviation de la partie antérieure (céphalon et segments 1 à 4 du péréion). Quelques temps avant la mue, les Oniscidea accumulent du CaCO_3 dans les sternites (plaques ventrales thoraciques) I et IV du péréion (Auzou, 1953), ce qui leur donne un aspect blanchâtre. Ce carbonate est mobilisé entre les deux exuviations (Numanoi, 1937). Le rejet de l'exuvie postérieure chez les femelles découvre l'orifice génital, permettant l'accouplement avec un mâle.

1.4. Cycle de vie, reproduction et développement

La durée de vie moyenne d'un cloporte est de 2 à 3 ans. La reproduction est interne et la ponte s'effectue dans la cavité marsupiale des femelles située sur la face ventrale du périon. A partir des clichés photographiques réalisés par Štrus et al. (2008), trois stades de développement embryonnaire ont pu être définis chez *P. scaber* (Figure 5), et utilisés dans ce travail de thèse. Le stade 1 correspond à l'œuf fertilisé, le stade 2 correspond à un développement embryonnaire avancé et le stade 3 correspond à des jeunes individus appelés mancas.

Après une durée d'incubation d'environ un mois, les œufs éclosent et les jeunes individus appelés mancas émergent dans le marsupium. Les mancas vivent dans le marsupium durant une semaine environ. Ils sont dépigmentés, sexuellement indifférenciés et ne possèdent que 6 paires de péréiopodes. La 7^{ème} paire de péréiopodes n'apparaît qu'après la première mue (24 h après la mise bas). La différenciation sexuelle des juvéniles s'effectue autour de la 4^{ème} mue, et la maturité sexuelle est atteinte entre la 10^{ème} et la 14^{ème} mue (Juchault, 1966).

La période de reproduction de *P. scaber* débute généralement en mai. Elle demeure forte en été et diminue considérablement à l'automne (Vandel, 1962). Les femelles peuvent avoir 3 à 4 portées par an. Le nombre d'œufs ou d'embryons dans le marsupium varie de 12 à 90 (Meinertz, 1950). *O. asellus* se reproduit durant les mois d'été, depuis la fin mai jusque début septembre. Les femelles ont généralement 2 portées par an, et le nombre d'œufs ou d'embryons peut atteindre 83 pour les femelles de grande taille (Vandel, 1962).



Figure 5 : Stades de développement embryonnaire chez *Porcellio scaber* d'après les clichés photographiques réalisés par Štrus et al. (2008). A : stade 1 ; B et C : stade 2 ; D et E : stade 3.

1.5. Rôle des isopodes terrestres dans l'écosystème sol

Dans la plupart des écosystèmes terrestres, une part importante de la biomasse produite par les plantes est décomposée par l'action conjuguée des organismes saprophages et des microorganismes du sol (Swift et al., 1979). Certains macroinvertébrés tels que les isopodes y jouent un rôle majeur. En effet, les isopodes sont des organismes omnivores bien qu'ils se nourrissent essentiellement de débris. En effet, ils se nourrissent principalement de feuilles en décomposition à la surface du sol (litière), mais aussi de végétaux vivants, de fèces, de racines, de champignons, de bois morts ou de carcasses d'autres invertébrés (Merriam, 1971 ; Sutton, 1972 ; Nair, 1976 ; Warburg, 1993). Cependant, un comportement de cannibalisme peut également être

observé chez certaines espèces telles que *P. scaber*. Ces organismes jouent un rôle important dans le processus de décomposition de la matière organique (Biwer, 1961 ; Cameron et Lapoint, 1978) en fragmentant les éléments constituant les litières et en stimulant et/ou ingérant des champignons et des bactéries (Kammenga et al., 2000; Loureiro et al., 2006). Ils participent ainsi activement aux cycles des nutriments et particulièrement aux cycles du carbone et de l'azote (Höese, 1981). Les isopodes excrètent de l'ammoniac (NH_3), et augmentent ainsi les concentrations des litières en ammonium (NH_4) (Höese, 1981), ce qui fournit une réserve importante d'azote pour la croissance microbienne.

1.6. Influence de la qualité des litières sur les isopodes

Les isopodes terrestres consomment des litières pauvres en azote (Zimmer, 2002) et sont fortement dépendants de l'activité des microorganismes du sol (Topp, 1981). Leur nourriture est principalement constituée de polysaccharides tels que la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Kozlovskaja et Striganova, 1977 ; Beck, 1993). Cependant, les organismes saprophages ne produisent pas d'enzymes permettant l'hydrolyse des composés végétaux (Urich, 1990), ils sont de ce fait fortement dépendants d'enzymes d'origine microbienne (Zimmer et Topp, 1997). En effet, environ 90% des nutriments stockés dans la MO sont libérés par les microorganismes (Dunger, 1983). Plusieurs expérimentations ont clairement montré la préférence des isopodes terrestres pour des litières colonisées par des microorganismes plutôt que celles présentant une faible activité microbienne (Gunnarsson, 1987 ; Stöckli, 1990, Zimmer et Topp, 2003). L'activité cellulasique des microorganismes du sol peut être fortement affectée par une diminution du pH (Topp, 1981 ; Schlegel, 1992). De même, l'acidification des sols est suspectée d'influencer le comportement alimentaire des organismes saprophages (Ullrich et al., 1991) dont les isopodes terrestres. Des paramètres tels que le goût, la dureté des feuilles ou encore les teneurs en azote sont également susceptibles d'influencer le comportement alimentaire des isopodes (Rushton et Hassall, 1983a ; Sousa et al., 1998 ; Lardies et al., 2004).

La qualité de la nourriture et notamment des litières joue un rôle important sur la dynamique des populations d'isopodes terrestres. La croissance (Merriam, 1971 ; Hassall et Sutton, 1976 ; Kheirallah et Sharkawy, 1981 ; Rushton et Hassall, 1983 ; Kautz et al., 2000) et la mortalité (Rushton et Hassall, 1983b ; Zimmer et Topp, 1997, 2000 ; Kautz et al., 2000) des isopodes terrestres sont fortement influencées par la quantité et la qualité des ressources alimentaires disponibles. En ce sens, Merriam (1971) a montré l'influence de la qualité de la nourriture sur la croissance et la survie d'*Armadillidium vulgare*. Par ailleurs, Zimmer et Topp (1997) ont observé une diminution de la reproduction chez *P. scaber* nourri avec des litières acides présentant une faible activité microbienne. D'autres traits de vie tels que le nombre de juvéniles, la taille des juvéniles ou la période d'incubation, sont fortement dépendants de la qualité de la nourriture

(Rushton et Hassall, 1983b ; Lardies et al., 2004). Même si les traits de vie des isopodes semblent être liés à la colonisation microbienne de leur nourriture (Zimmer et Topp, 1997, 2000 ; Kautz, 2000), il existerait toutefois des différences interspécifiques quant à leurs préférences alimentaires. En effet, l'appétence de *P. scaber* dépendrait peu de la nature des feuilles qui constituent les litières (Zimmer et Topp, 1997), mais dépendrait davantage de l'activité et de la biomasse microbienne, tandis qu'*O. asellus* serait plus affecté par les caractéristiques physico-chimiques des litières (Zimmer et Topp, 2000). Par ailleurs, les teneurs en azote influenceraient les préférences alimentaires d'*Armadillidium vulgare* (Rushton et Hassall, 1983a).

Les isopodes terrestres présentent également la faculté de discriminer de la nourriture contaminée par des ETM (Dallinger, 1977 ; Zidar 1998 ; Odendaal et Reineke, 1998, 1999a ; Zidar et al., 2003, 2004). Zidar et al. (2003, 2005) ont observé chez *P. scaber* et *O. asellus* la capacité d'éviter une nourriture artificiellement contaminée par du Cd. Loureiro et al. (2005) dans leur étude ont montré que *Porcellionides pruinosus* était capable d'éviter un sol contaminé par du sulfate de cuivre. Odendaal et Reinecke (1999a) ont également observé chez *P. laevis*, la capacité de distinguer et d'éviter des feuilles contaminées par du sulfate de cadmium ou du nitrate de plomb.

Les mécanismes permettant l'appréciation de la qualité de la nourriture chez les isopodes sont encore mal connus. Toutefois, Zimmer et al. (1996) concluent que *P. scaber* est attiré par l'odeur de la nourriture. Des récepteurs olfactifs sont en effet situés sur les antennes et les flagelles des isopodes terrestres, ainsi que sur la partie buccale. La chémoréception pourrait en effet expliquer ces préférences alimentaires. Les isopodes possèdent aussi des chémorécepteurs appelés aesthetascs, situés sur la partie apicale de l'antennule, qui pourraient détecter des contaminants chimiques et autres stimuli. De plus, le tégument des isopodes possèdent des sensilles tricornes qui sont des chémorécepteurs de contacts (Höese, 1989 ; Warburg, 1993) qui pourraient aussi jouer un rôle dans la détection.

1.7. Résistance et accumulation des ETM

1.7.1. Les mécanismes d'accumulation, de stockage et d'élimination des ETM

Les isopodes terrestres présentent une forte tolérance pour certains contaminants métalliques et peuvent accumuler au sein de l'hépatopancréas de grandes quantités d'ETM tels que Cd, Pb, Zn et Cu (Coughtrey et al., 1977 ; Wieser, 1977 ; Coughtrey et al., 1980 ; Hopkin and Martin, 1982ab ; Hopkin, 1989). L'hépatopancréas peut en effet contenir jusqu'à 90% des ETM présents dans l'animal. Il est composé de deux types de cellules, nommées cellules B et S et assurant des fonctions spécifiques. Les éléments métalliques sont stockés dans différents granules intracellulaires permettant de réguler les concentrations en métaux essentiels tels que le Cu et le Zn dans le reste du corps, et de maintenir les concentrations en métaux non essentiels tels que le

Cd et le Pb en dessous des concentrations toxiques (Hopkin, 1986 ; Hopkin et Martin, 1982ab, 1984). Les cellules S contiennent des granules permettant la fixation du Cu, Cd, Pb et Zn. Ces cellules possèdent une longue durée de vie et assurent principalement la fonction de stockage de ces éléments métalliques. Toutefois, il existerait des voies d'élimination pour certains éléments. En effet, Ca, Pb et Zn peuvent aussi se lier à des granules spécifiques présents à la fois dans les cellules B et S. Le Pb et le Zn ainsi présents dans les cellules B peuvent être éliminés lors de chaque renouvellement cellulaire (Hopkin, 1989). En effet, les cellules B participent à la digestion cellulaire et leur contenu est vidé dans la lumière de l'hépatopancréas tous les 24 h à la fin de chaque cycle digestif (Hopkin et Hames, 1989).

Les importantes quantités de Cu localisées dans l'hémolymphe des isopodes (Alikan, 1972) sont liées au fait que leur pigment respiratoire, l'hémocyanine nécessite du Cu comme site actif (Irmak et al., 1980).

1.7.2. Différences spécifiques

Des différences interspécifiques dans l'accumulation et/ou l'élimination des contaminants métalliques ont été observées entre *P. scaber* et *O. asellus* (Hopkin, 1990). Le Zn serait plus facilement éliminé chez *O. asellus* que chez *P. scaber*, tandis que Cd et Pb seraient accumulés en plus grande quantité chez *O. asellus* que chez *P. scaber* (Hopkin, 1990 ; Gàl et al, 2008). De plus, Hopkin et al. (1989) ont montré qu'*O. asellus* stocke majoritairement le Zn assimilé dans les cellules B, alors que *P. scaber* le stocke principalement dans les cellules S. Ceci expliquerait les plus faibles concentrations en Zn observées chez *O. asellus*.

1.7.3. Les facteurs influençant l'accumulation des ETM chez les isopodes

Des études ont montré qu'il existait des interactions métalliques gouvernant l'accumulation de certains métaux dont le Cd et le Zn chez plusieurs espèces d'isopodes. Ainsi, alors qu'une exposition à une alimentation contaminée par un élément (Cd ou Zn) entraîne l'accumulation de ceux-ci au sein de l'hépatopancréas chez *P. scaber* (Witzel, 2000) ou qu'une nourriture contaminée par ces deux éléments en faibles concentrations induit leur accumulation chez *P. laevis* (Odendaal et Reinecke, 2004b) et *P. scaber* (Zidar, 2009), l'exposition à une alimentation fortement contaminée par ces deux métaux se traduit par une élimination accrue du Cd chez les isopodes (Witzel, 2000 ; Odendaal et Reinecke, 2004b ; Zidar, 2009). En effet, en présence de Zn en grande quantité, le Cd pourrait se lier au Zn, être stocké avec le Zn dans les cellules B (Odendaal et Reinecke, 2004b) puis être éliminé, comme ce dernier, durant le cycle digestif. La présence de Cd pourrait aussi induire la synthèse de protéines permettant la liaison entre Cd et Zn (Zidar, 2009). Parmi les autres interactions rapportées, la présence de Pb pourrait favoriser l'assimilation du Zn chez *P. scaber* (Witzel, 2000). Enfin, Hussein et al. (2006) ont montré qu'il

existait des variations saisonnières dans l'accumulation des métaux chez *Porcellio laevis* avec notamment une augmentation de la bioconcentration du Pb et du Zn durant le printemps et l'été.

1.7.4. Relations entre les concentrations en ETM des isopodes et celles du sol

De nombreuses études menées en laboratoire et *in situ* ont révélé la capacité des isopodes à accumuler des ETM. Hopkin et al. (1986) ont observé des corrélations positives entre les concentrations en Cd, Pb, Zn et Cu mesurées chez *P. scaber* et les concentrations mesurées dans le sol et les litières de 89 sites disposés le long d'un gradient de contamination. D'autres travaux réalisés *in situ* chez *P. scaber* et *O. asellus* ont montré des observations similaires (Hopkin et al., 1993). Cependant, une grande variabilité individuelle a été observée au sein d'un même site. Hopkin et Martin. (1984) ont notamment observé que les concentrations en ETM mesurées dans un individu issu d'une population pouvaient être deux fois supérieures à la moyenne des concentrations observées dans cette population.

1.8. Paramètres indicateurs étudiés chez les isopodes en relation avec les ETM

Le tableau X présente une liste non exhaustive des paramètres ayant fait l'objet d'études chez les isopodes terrestres exposés à des contaminants métalliques. Cette liste renseigne sur l'espèce étudiée, le type de réponse observée, la nature des ETM, le type de nourriture et le type et la durée d'exposition. Cette liste indique également les concentrations en ETM les plus faibles et pour lesquelles a été observée une réponse chez l'espèce étudiée (LOEC : Lowest Observed Effect Concentration), et les concentrations n'induisant pas d'effet (NOEC : No Observed Effect Concentration).

Ces travaux ont été effectués, pour la majorité, en laboratoire et ont consisté à exposer des individus à des feuilles ou de la litière contaminée artificiellement par l'ajout de sels métalliques (sulfate, chlorure, nitrate...). Toutefois, certains de ces travaux ont concerné des études *ex situ* (exposition d'individus en laboratoire à des feuilles ou de la litière naturellement contaminée) et, rares sont les travaux ayant porté sur des études de terrain. Ces travaux ont porté à la fois sur des expositions mono- et multi-élémentaires, ces dernières étant plus représentatives des conditions réelles. En fonction du type de paramètre étudié, les réponses ont été acquises dans un laps de temps plus ou moins court (de quelques jours à plusieurs semaines).

Le tableau x montre la diversité des réponses obtenue chez les isopodes en relation avec une exposition à des contaminants métalliques. Ces études ont notamment montré les effets des ETM sur les traits de vie tels que la survie (Beyer et al., 1984 ; Beyer et Anderson, 1985 ; Hopkin et Hames, 1994 ; Crommentuijn et al., 1994) et la croissance (Donker et Bogert, 1991 ; Van Wensem et al., 1992 ; Odendaal et Reinecke, 2004a ; Loureiro et al., 2006 ;). La croissance et/ou la variation

de poids sont considérées comme des paramètres sensibles dans les tests d'écotoxicité (Odendaal et Reinecke, 1999a). Par ailleurs, de nombreuses études ont aussi porté sur les préférences alimentaires des isopodes, et des réponses concernant des paramètres tels que la consommation, l'assimilation et l'excrétion ont été observées (Joosse et al., 1983 ; Van Capelleveen, 1987 ; Donker, 1992 ; Drobne et Hopkin, 1994). Des paramètres moins classiquement étudiés et spécifiques aux arthropodes, comme la fréquence de mue, ont également permis de mesurer des effets en relation avec l'exposition à des contaminants métalliques (Drobne et Strus, 1996). Plus récemment, des études se sont orientées vers des paramètres comportementaux tels que l'évitement de substrats contaminés par des ETM (Loureiro et al., 2005 ; Zidar et al., 2005 ; Loureiro et al., 2009 ; Zidar, 2009). Ces tests simples et rapides sont basés sur le fait que certains organismes disposent de chémorécepteurs très sensibles aux contaminants métalliques (Edward et Bohlen, 1996) et peuvent ainsi éviter une nourriture polluée. L'évitement semble être un paramètre intéressant car il est susceptible d'influencer le budget énergétique des organismes au travers de la détection, de l'évitement, de la recherche de nourriture, et plus généralement une baisse d'activité alimentaire (Loureiro et al., 2009). Enfin, des biomarqueurs à des niveaux infra individuelle, tels que la modification des réserves énergétiques (Donker, 1992 ; Knigge et Kohler, 2000), l'induction de protéines de stress (Kohler et al., 1992) ou l'altération de la structure des cellules de l'hépatopancréas (Kohler et al., 1996), ont également été étudiés.

Bien que très peu étudiés en milieux terrestres, des aspects biométriques pourraient également être de bons indicateurs de dysfonctionnement des écosystèmes. En effet, plusieurs études ont montré une réduction de la taille de *P. scaber* sur des sites massivement contaminés par des ETM (Donker, 1992 ; Donker et al., 1993 ; Jones et Hopkin, 1998). L'acquisition de données biométriques permet également d'établir les structurations par âge des populations, paramètres directement liés à la croissance et à la reproduction des individus. Par ailleurs, d'autres paramètres biométriques, tels que l'asymétrie fluctuante (AF), seraient susceptibles d'apporter des informations quant à la stabilité du développement des individus (Clarke et McKenzie, 1992 ; Clarke, 1993). Peters et al. (2001) ont notamment observé une augmentation de l'AF dans le nombre d'ommatidies sur des populations d'isopodes issues de sites contaminés par des ETM.

Espèce	Type de réponse	Nature chimique des ETM	Type et durée d'exposition	LOEC	NOEC	Références
<i>P. scaber</i>	Survie	Litières collectées <i>in situ</i> le long d'un gradient de contamination en Cd, Pb, Zn et Cu	<i>Ex situ</i> 8 semaines	8 mg Cd kg ⁻¹ 750 mg Pb kg ⁻¹ 800 mg Zn kg ⁻¹ 50 mg Cu kg ⁻¹		(Beyer et al., 1984)
<i>P. scaber</i>	Survie	Ajout de sulfure de Cd, Pb Cu et Zn dans une litière de référence	Artificielle 8 semaines	500 mg Cd kg ⁻¹ 5000 mg Zn kg ⁻¹	200 mg Cu kg ⁻¹	(Beyer et al., 1984)
<i>P. scaber</i>	Survie	Pb ₃ O ₂ ; ZnO	Artificielle	6400 mg Zn kg ⁻¹ 12800 mg Pb kg ⁻¹	3200 mg Zn kg ⁻¹ 6400 mg Pb kg ⁻¹	Beyer et Anderson, 1985
<i>P. scaber</i>	Survie	Litières provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb et Zn	<i>Ex situ</i>	26 mg Cd kg ⁻¹ 908 mg Pb kg ⁻¹ 1430 mg Zn kg ⁻¹ 52 mg Cu kg ⁻¹		(Hopkin, 1990)
<i>P. scaber</i>	Survie	Litière (<i>Acer campestre</i>) de référence contaminée avec Cd, Pb, Zn et Cu (nitrates)	Artificielle 1 an	100 mg Cd kg ⁻¹ 2000 mg Pb kg ⁻¹ 1000 mg Zn kg ⁻¹ 100 mg Cu kg ⁻¹		(Hopkin and Hames, 1994)
<i>P. scaber</i>	Survie	Litières provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb et Zn	<i>Ex situ</i>		4150 mg Zn kg ⁻¹	(Hopkin and Hames, 1994)
<i>P. pruinosus</i>	Survie	Feuilles d' <i>Alnus glutinosa</i> + CuSO ₄ ; Pb(CH ₃ COO) ₂ ; CdCl ₂ ; ZnSO ₄	Artificielle 14 jours	2,69 mg Pb kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2006)
<i>P. scaber</i>	Survie et croissance	CdCl ₂	Artificielle	LC50 : 1000 mg Cd kg ⁻¹ EC10 : 95 mg Cd kg ⁻¹		Crommentuijn et al., 1994
<i>P. scaber</i>	Croissance	Cd(NO ₃) ₂	Artificielle	10 mg Cd kg ⁻¹		Donker et Bogert, 1991
<i>P. scaber</i>	Croissance	Litières (<i>Quercus sp</i>) provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb et Zn	<i>Ex situ</i> (37-39 jours)		79 mg Cd kg ⁻¹ 3408 mg Pb kg ⁻¹ 1062 mg Zn kg ⁻¹ 619 mg Cu kg ⁻¹	(Van Wensem et al., 1992)
<i>P. scaber</i>	Croissance	Litières de référence + ajout de Cd(NO ₃) ₂ ; CdSO ₄	Artificielle (37-39 jours)		64.5 mg Cd kg ⁻¹	(Van Wensem et al., 1992)
<i>P. scaber</i>	Croissance	Litière contaminée par CuCl ₂	Artificielle 4 semaines (EC50) 8 semaines (LC50)	EC50 : 263 mg Cu kg ⁻¹ LC50 : 1117 mg Cu kg ⁻¹		Lokke et Van Gestel, 1998

Espèce	Type de réponse	Nature chimique des ETM	Type et durée d'exposition	LOEC	NOEC	Références
<i>P. laevis</i>	Croissance	Litières de <i>Quercus sp</i> contaminées avec Cd (Sulfure)	Artificielle 1 semaine	80 mg Cd kg ⁻¹	20 mg Cd kg ⁻¹	(Odendaal and Reinecke, 2004a)
<i>P. laevis</i>	Croissance	Litières de <i>Quercus sp</i> contaminées avec Zn (sulfure)	Artificielle 2 semaines	1000 mg Zn kg ⁻¹		(Odendaal and Reinecke, 2004a)
<i>P. laevis</i>	Croissance	Litières de <i>Quercus sp</i> contaminées avec Cd et Zn (sulfure)	Artificielle 3 semaines	20 mg Cd kg ⁻¹ 1000 mg Zn kg ⁻¹		(Odendaal and Reinecke, 2004a)
<i>P. pruinus</i>	Croissance	Feuilles d' <i>Alnus glutinosa</i> + CdCl ₂	Artificielle 14 jours	31.79 mg Pb kg ⁻¹	13.71 mg Cu kg ⁻¹ 9.43 mg Zn kg ⁻¹ 21.61 mg Cd kg ⁻¹	(Loureiro et al., 2006)
<i>P. scaber</i>	Fragmentation des litières	Litières (<i>Quercus sp</i>) provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb et Zn	<i>Ex situ</i> 4 semaines	17.5 mg Cd kg ⁻¹ 2200 mg Zn kg ⁻¹		(Van Wensem et al., 1992)
<i>P. scaber</i>	Consommation	Litières (<i>Acer campestre</i>) de référence + ajout de CoCl ₂	Artificielle 4 semaines	2500 mg Co kg ⁻¹		(Drobne and Hopkin, 1994)
<i>P. scaber</i>	Consommation	Cd ajouté à l'alimentation			11 mg Cd kg ⁻¹	Van Capelleveen, 1987
<i>P. scaber</i>	Consommation	Zn(NO ₃) ₂		3531 mg Zn kg ⁻¹		Donker, 1992
<i>P. scaber</i>	Consommation	ZnO		2990 mg Zn kg ⁻¹		Joosse et al, 1983
<i>P. scaber</i>	Consommation	Litière (hêtre et chêne) contaminée par PbCl ₂	Artificielle 80 jours		7945 mg Pb kg ⁻¹	(Knigge and Kohler, 2000)
<i>P. pruinus</i>	Consommation	Feuilles d' <i>Alnus glutinosa</i> + ZnSO ₄	Artificielle 14 jours	13,71 mg Cu kg ⁻¹ 5,51 mg Zn kg ⁻¹ 11,83 mg Cd kg ⁻¹ 31.79 mg Pb kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2006)
<i>O. asellus</i>	Assimilation	Feuilles (<i>Acer campestre</i>) contaminées par Zn(NO ₃) ₂	Artificielle 5 semaines	5000 mg Zn kg ⁻¹	2000 mg Zn kg ⁻¹	(Drobne and Hopkin, 1995)
<i>P. pruinus</i>	Assimilation	Feuilles d' <i>Alnus glutinosa</i> + CuSO ₄ ; Pb(CH ₃ COO) ₂ ; CdCl ₂ ; ZnSO ₄	Artificielle 14 jours	10,50 mg Cu kg ⁻¹ 3,81 mg Zn kg ⁻¹ 19,85 mg Cd kg ⁻¹ 42,07 mg Pb kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2006)
<i>P. pruinus</i>	Excrétion	Feuilles d' <i>Alnus glutinosa</i> + Pb(CH ₃ COO) ₂	Artificielle 14 jours	6,31 mg Cu kg ⁻¹ 3,31 mg Zn kg ⁻¹ 7,93 mg Cd kg ⁻¹ 31,79 mg Pb kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2006)

Espèce	Type de réponse	Nature chimique des ETM	Type et durée d'exposition	LOEC	NOEC	Références
<i>P. scaber</i> <i>O. asellus</i>	Excrétion	Feuilles (Acer campestre) contaminées par Zn(NO ₃) ₂	Artificielle 14 jours	2000 mg Zn kg ⁻¹	1000 mg Zn kg ⁻¹	(Drobne and Hopkin, 1995)
<i>P. scaber</i>	Réserves énergétiques	Litières provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb and Zn	<i>In situ</i>	4.16 mg Cd kg ⁻¹ 364 mg Pb kg ⁻¹ 1340.5 mg Zn kg ⁻¹ 50.20 mg Cu kg ⁻¹	59.61 mg Cd kg ⁻¹ 13986 mg Pb kg ⁻¹ 5891 mg Zn kg ⁻¹ 224.31 mg Cu kg ⁻¹	(Donker, 1992)
<i>P. scaber</i>	Réserves énergétiques	Litière (hêtre et chêne) contaminée par PbCl ₂	Artificielle 80 jours	1178 mg Pb kg ⁻¹	55 mg Pb kg ⁻¹	(Knigge and Kohler, 2000)
<i>P. scaber</i>	Respiration	Litière (hêtre et chêne) contaminée par PbCl ₂	Artificielle 80 jours	7945 mg Pb kg ⁻¹	1178 mg Pb kg ⁻¹	(Knigge and Kohler, 2000)
<i>P. scaber</i>	Fréquence de mue	Feuilles (<i>Corylus avellana</i>) contaminées par ZnCl ₂	Artificielle 6 semaines	500 mg Zn kg ⁻¹	250 mg Zn kg ⁻¹	(Drobne and Strus, 1996)
<i>P. scaber</i>	Fréquence de mue	Feuilles (Acer campestre) contaminées par Zn(NO ₃) ₂	Artificielle 7 semaines	5000 mg Zn kg ⁻¹	2000 mg Zn kg ⁻¹	(Drobne and Hopkin, 1995)
<i>P. scaber</i>	Développement de juvéniles	Cd ajouté à l'alimentation			10 mg Cd kg ⁻¹	Van Capelleveen, 1987
<i>O. asellus</i>	Induction Hsp70	Litières provenant d'un environnement contaminé par Cd, Pb and Zn	Ex situ 41 jours	41.9 mg Cd kg ⁻¹ 628 mg Cu kg ⁻¹ 1658 mg Pb kg ⁻¹	1.6 mg Cd kg ⁻¹ 55.5 mg Pb kg ⁻¹	(Kohler et al., 1992)
<i>O. asellus</i>	Induction Hsp70	Ajout de Pb(NO ₃) ₂	Artificielle 41 jours	100 mg Pb kg ⁻¹	10 mg Pb kg ⁻¹	(Kohler et al., 1992)
<i>P. scaber</i>	Altération de la structure des cellules de l'hépatopancréas	Cd, Pb et Zn (Chlorure)	Artificielle 21 jours	57 mg Cd kg ⁻¹ 517 mg Pb kg ⁻¹ 1975 mg Zn kg ⁻¹		(Kohler et al., 1996)
<i>P. scaber</i>	Evitement	Boulette à base de poudre de feuille (<i>Corylus sp.</i>), de gélatine, nourriture pour poisson contaminés par Cd(NO ₃) ₂	Artificielle 48 h	45 mg Cd kg ⁻¹ pour animaux pré-exposés	45 mg Cd kg ⁻¹ pour animaux non pré-exposés	(Zidar et al., 2005)
<i>P. pruinosis</i>	Evitement	CuSO ₄ (Chlorures) pulvérisé sur un sol certifié Lufa 2.2	Artificielle 48 h	AC50 : 1060 mg Cu kg ⁻¹ (groupe) 802 mg Cu kg ⁻¹ (individuel)		(Loureiro et al., 2005)
<i>P. pruinosis</i>	Evitement	Cd (Chlorure) pulvérisé sur un sol certifié Lufa 2.2	Artificielle 48h	AC50 : 523 mg Cd kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2009)

Espèce	Type de réponse	Nature chimique des ETM	Type et durée d'exposition	LOEC	NOEC	Références
<i>P. pruinosus</i>	Evitement	Zn (Chlorure) pulvérisé sur un sol certifié Lufa 2.2	Artificielle 48h	AC50 : 321 mg Zn kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2009)
<i>P. pruinosus</i>	Evitement	Cd et Zn (Chlorures) pulvérisé sur un sol certifié Lufa 2.2	Artificielle 48h	AC50 : 105 mg Cd kg ⁻¹ 303 mg Zn kg ⁻¹		(Loureiro et al., 2009)

Tableau 1 : Synthèse des principales réponses liées au stress métallique mesurables chez les isopodes terrestres (LOEC : plus faible concentration observée induisant une réponse chez l'espèce étudiée ; NOEC : concentration n'induisant pas d'effet ; ECX : Concentration effective induisant une réponse chez X% des individus étudiés ; AC50 : concentration induisant un comportement d'évitement pour 50% des individus étudiés ; LC50 : concentration létale induisant 50% de mortalité)

2. Le sol des habitats ligneux : milieu de vie préférentiel des isopodes

2.1. Généralités

Le sol résulte des interactions entre l'atmosphère, l'hydrosphère, la lithosphère et la biosphère, et joue le rôle d'interface avec l'ensemble des activités humaines (Robert, 1996). De manière générale, le sol est défini comme « la couche supérieure de la croûte terrestre, composée de particules minérales, de matières organiques, d'eau, d'air et d'organismes vivants » (ISO, 1994).

Dans les habitats ligneux, les feuilles tombées à la surface des sols constituent la principale source de matières organiques (MO). La décomposition des litières est un processus majeur dans le cycle des nutriments tels que le carbone, l'azote et le phosphore (Berg, 1986 ; Berg et Staaf, 1987 ; Laskowski et al., 1995 ; Scheid et al., 2009). Elle dépend des facteurs climatiques (humidité, température...), de l'aération du sol, de l'acidité, de la nature des litières, et particulièrement de l'activité variable des différents groupes d'animaux, de champignons et de bactéries (Jabiol et al., 1995). En effet, cette MO est fragmentée et digérée à des degrés divers par les animaux saprophages du sol tels que les vers de terre (Oligochètes Lumbricidés et Enchytréidés), des arthropodes (isopodes, collemboles, myriapodes, acariens...), des mollusques gastéropodes, des champignons et des bactéries.

En fonction de l'état de dégradation des MO, plusieurs horizons peuvent être distingués à la surface des sols : les horizons hologaniques (O) et les horizons organo-minéraux (A). Comme de nombreuses appellations existent pour distinguer ces différents horizons, les descriptions pédologiques des sols réalisées dans le cadre de cette thèse, ont été basées sur l'ouvrage de Jabiol et al. (1995). Les horizons O situés à la surface du sol proviennent de l'accumulation de débris ou de fragments de végétaux morts (feuilles, matériels ligneux divers, plantes herbacées...) plus ou moins transformés. Selon leur état de dégradation, on peut distinguer 3 types d'horizons organiques (OL, OF et OH). Les horizons OL ou litières sont constitués de débris foliaires non ou peu évolués et de débris ligneux. On distingue les nouvelles litières (OLn) constituées des feuilles de l'année (tombées depuis moins d'un an), non ou peu transformées, et les vieilles litières (OLv) constituées de feuilles en état de décomposition plus avancé. L'épaisseur des horizons OL sous les feuillus est maximale après la chute des feuilles et diminue plus ou moins rapidement au cours de l'année, essentiellement durant les périodes humides qui sont favorables aux activités biologiques. En fonction de la vitesse de dégradation des MO, des horizons OF et OH peuvent constituer des couches intermédiaires entre les litières et les horizons organo-minéraux. Les horizons dits fragmentés (OF) sont formés de résidus végétaux plus ou moins fragmentés, mélangés avec des proportions de MO fine résultant de l'accumulation de boulettes fécales de la mésofaune. Les horizons dits humifères (OH) contiennent plus de 70% (vol) de MO sous forme d'amas de boulettes fécales et de microdébris végétaux et mycéliens. Enfin, les horizons organo-

minéraux (A) se forment à la surface du sol, sous les horizons holorganiques. Ils sont constitués d'un mélange de matières organiques et de matière minérale. La figure 6 illustre, par exemple, les horizons supérieurs d'un sol forestier dans la Plaine de la Scarpe, issu de dépôts sableux.

La succession de ces différents horizons permet de définir le type d'humus qui renseigne sur l'état de fonctionnement des sols. Cette typologie est basée sur des observations morphologiques des horizons O et A. Cependant, ces observations restent insuffisantes pour présenter les particularités de chaque type d'humus rencontrés sur le terrain. Il est donc indispensable de mettre en parallèle ces caractéristiques avec des paramètres tels que la nature des litières, le pH, le ratio C/N, les teneurs en CaCO₃ total et en MO ou encore les concentrations en ETM.



Figure 6 : Sol forestier de la Forêt Domaniale de Raismes – Saint-Amand – Wallers

2.2. Le cas des sols massivement contaminés par des ETM

Les éléments traces (ET) sont naturellement présents dans l'écorce terrestre à des teneurs moyennes inférieures à 1 mg g⁻¹. La plupart des ET sont des métaux ou métalloïdes, et sont communément nommés éléments traces métalliques (ETM). Ils constituent le fond géochimique qui est défini par leur teneur originelle dans le sol en l'absence de tout processus d'apport. Ce fond géochimique dépend des teneurs en ETM dans la roche qui est à l'origine du sol, mais également des processus intervenant dans la formation du sol, qui ont pu lessiver ou concentrer les éléments (Bourrelier et Berthelin, 1998). Les teneurs en ETM du sol, souvent spatialement hétérogènes, peuvent être influencées par des cycles biogéochimiques naturels, tels que le volcanisme ou l'érosion. Cependant, depuis la fin du 19^{ème} siècle, les teneurs en ETM du sol ont considérablement été modifiées par des apports anthropiques divers. En effet, (1) les émissions atmosphériques liées aux industries, aux transports et à l'incinération des déchets, (2) les pratiques agricoles telles que l'épandage de fertilisants, de produits phytosanitaires, de boues et de lisiers, (3) les amendements des sols par l'ajout de déchets urbains et industriels ou encore (4)

le remaniement des sols sont à l'origine de l'accroissement des teneurs en ETM dans les sols. (Baize, 1997 ; Bourrelier et Berthelin, 1998).

Sur les sites pollués, les litières montrent souvent des concentrations en ETM supérieures à celles des horizons inférieurs (Nilsson, 1972 ; Laskowski et Berg, 1993 ; Lomander et Johansson, 2001). Cette enrichissement des litières est souvent expliqué par des dépôts de poussières métalliques (Nilson, 1972 ; Cisternas et Mignolet, 1982 ; Lomander, 2002). Les litières constituent en effet le premier horizon du sol affecté par ces contaminants. Cependant, d'autres auteurs expliquent aussi cet enrichissement par l'accumulation des ETM par les bactéries qui colonisent les litières (Lomander et Johansson, 2001 ; Windham et al., 2004). Il est connu que les microorganismes sont capables d'accumuler d'importantes quantités d'ETM, et peuvent parfois concentrer plus d'éléments métalliques que leurs substrats (Ross, 1975 ; Bischoff, 1982 ; Tyler, 1982). Par ailleurs, l'élévation des concentrations en ETM dans les litières pourrait également être expliquer par l'accumulation des contaminants dans les feuilles (assimilation lors de la pousse de la feuille) ou à leur surface (impaction ou adsorption).

Des effets directs et indirects des ETM sur la pédofaune ont été observés tant sur des sites pollués que dans le cadre d'expérimentations (Bengston et al., 1983 ; Hagvar et Abrahamsem, 1990 ; Grelle et al., 2000). Sont affectés les processus d'humification, de minéralisation et le développement du type d'humus (Gillet et Ponge, 2002). En effet, une réduction de l'activité de la pédofaune liée à la toxicité des contaminants peut induire une accumulation des litières à la surface des sols (Coughtrey et al., 1979 ; Berg et al., 1991 ; Lomander et Johansson, 2001). De plus, l'activité microbienne peut aussi être affectée par des ETM induisant une diminution de la décomposition de la MO (Balabane et al., 1999) et l'évitement des litières par la pédofaune (Tranvik et Eijsackers, 1989). Cependant, l'accumulation des MO à la surface, signe d'un dysfonctionnement des sols, n'est pas systématiquement observée sur des sites contaminés par des ETM. Il a d'ailleurs été montré que les concentrations en ETM dans les feuilles de plantes métalphytes ou hyperaccumulatrices n'influencent pas leur décomposition sur des sites non pollués (Boucher et al., 2005 ; Boyd et al., 2008 ; Scheid et al., 2009).

Les mécanismes de toxicité, de mobilité et de biodisponibilité des ETM dans les habitats ligneux sont encore mal connus, et de nombreux facteurs peuvent influencer le comportement des ETM dans les sols, et ainsi la décomposition des MO. En effet, dès leur introduction dans le sol, les ETM peuvent faire l'objet de nombreuses transformations qui sont fonction de la nature et de la réactivité des éléments concernés et des propriétés biologiques et physico-chimiques du sol. Certaines propriétés physico-chimiques du sol telles que le pH, la capacité d'échange cationique (CEC) et la teneur en MO influencent l'accumulation, la mobilité et la biodisponibilité des ETM

dans le sol (Ma, 1982 ; Ma et al., 1983 ; Beyer et al., 1987 ; Peijnenburg et al., 1997 ; Lanno et al., 2004 ;). Une diminution du pH augmente la mobilité et la biodisponibilité des ETM. Il a ainsi été montré que l'acidité des sols de la Forêt Domaniale de Phalempin, située à plus de 4 km de l'ancienne fonderie de plomb de Noyelles-Godault, favorisait la mobilité des ETM (Douay et al., 2009). A l'opposé, les liens des ETM avec les MO et les argiles (Sauvé, 2002) réduisent leur mobilité, ainsi que leur biodisponibilité (Lukkari, 2004).

3. Les principales sources d'émissions d'ETM en Nord – Pas de Calais

Aujourd'hui, la région Nord – Pas de Calais compte de nombreux sites ou anciens sites industriels pollués par des ETM (Balabane et al., 1999 ; Sterckeman et al., 2000). Plus de 125 sites pollués ont pu être recensés en 1996 par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. Parmi eux, plusieurs sites majeurs ont été considérés dans le cadre de cette thèse.

3.1. Umicore et Metaleurop Nord

L'usine de zinc, Umicore (Figure 7), crée en 1869 à Auby, est l'un des plus gros producteurs de zinc en Europe. Elle produit aujourd'hui environ 220 000 tonnes de zinc. Jusque 1975, l'usine utilisait un processus pyrométallurgique qui générait d'importantes quantités de poussières métalliques. Aujourd'hui, l'usine utilise un processus électrolytique réduisant considérablement les émissions atmosphériques (DRIRE 2003).

Située à 4 km d'Umicore, l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord de Noyelles-Godault (Figure 7) était l'unique producteur de plomb en France et l'un des plus importants d'Europe. Depuis la fin des années 1800 et jusqu'en 2003, cette usine a rejeté des quantités considérables de poussières générées par un processus pyrométallurgique. En 1999, cette usine émettait annuellement encore pas moins de 25 tonnes de plomb, 43 tonnes de zinc et 1 tonne de cadmium, pour une production annuelle de 150 000 tonnes de plomb et 91 000 tonnes de zinc.

Ces deux usines ont affecté une zone du bassin minier de 120 km² où vivent plus de 55 000 habitants. Depuis les travaux de Luttringer et de Cormis en 1979, de nombreux travaux ont porté sur la contamination des sols agricoles du secteur affecté par ces retombées atmosphériques. Les horizons labourés des sols agricoles peuvent présenter des concentrations supérieures à 21 mg kg⁻¹ de Cd, 1 132 mg kg⁻¹ de Pb et 2 167 mg kg⁻¹ de Zn (Sterckeman et al. 2000 ; Douay et al. 2001 ; Sterckeman et al. 2002). Récemment, Douay et al. (2008) ont précisé dans ce secteur, les caractéristiques physico-chimiques des sols urbains (potagers, pelouses). Ils ont souligné la très grande variabilité spatiale de ces sols et surtout une forte contamination, notamment en Cd, Pb et Zn. Les sols urbains peuvent présenter des concentrations supérieures à 33 mg kg⁻¹ de Cd, 5 280 mg kg⁻¹ de Pb, et 7 570 mg kg⁻¹ de Zn (Douay et al. 2005; Pruvot et al. 2006). Dans les rares

prairies autour de l'usine, les concentrations dans les sols atteignent 67 mg kg^{-1} de Cd, $4\,890 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb, et $2\,685 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn (Douay et al., 2009). Les sols des habitats ligneux, bien que largement présents aux alentours de Metaleurop Nord, ont été jusqu'en 2006 peu étudiés. Dans ce secteur fortement urbanisé et industrialisé, ils correspondent principalement à de petits bosquets, des bois, des peupleraies, des aménagements anthropiques linéaires boisés (bas-côtés de routes, talus routiers, haies, anciennes voies ferrées en liaison avec l'extraction du charbon...) et à la Forêt Domaniale de Phalempin. Douay et al (2009) ont observé de fortes concentrations dans le sol d'habitats ligneux situés à proximité de Metaleurop Nord avec des concentrations en surface pouvant atteindre $2\,402 \text{ mg kg}^{-1}$ de Cd, $41\,959 \text{ mg kg}^{-1}$ de Pb, et $38\,763 \text{ mg kg}^{-1}$ de Zn.



Figure 7 : L'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord démantelée en 2003 (gauche) et l'usine de zinc Umicore en activité (droite).

3.2. CRAM de Mortagne du Nord

Le site de Mortagne-du-Nord, actuellement en friche, a été occupé pendant plus de 60 ans par une unité de la métallurgie du zinc (de 1901 à 1963) à laquelle était adjointe une unité de grillage de sulfures pour la production d'acide sulfurique (de 1924 à 1968), et pendant une plus courte période une unité de production de plomb (Thiry et al., 2002). L'usine a été démantelée en 1989 (Figure 8). Les émissions atmosphériques *via* les cheminées, mais aussi en provenance des tas de scories ont contribué à la contamination des sols alentours. De plus, les déchets industriels tels que les boues ou les scories ont été utilisés pour l'aménagement de routes, de chemins et de jardins. La contamination concerne à la fois des sols agricoles et forestiers (van Oort et al. 2001) mais aussi, des sols urbains (Douay et al., 2007). Au voisinage de l'ancien site industriel, les concentrations en ETM dans la couche superficielle des sols peuvent atteindre de 12 à $190 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, de 400 à $8\,200 \text{ mg Pb kg}^{-1}$ et de $1\,100$ à $35\,000 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ (Nahmani et al., 2009).

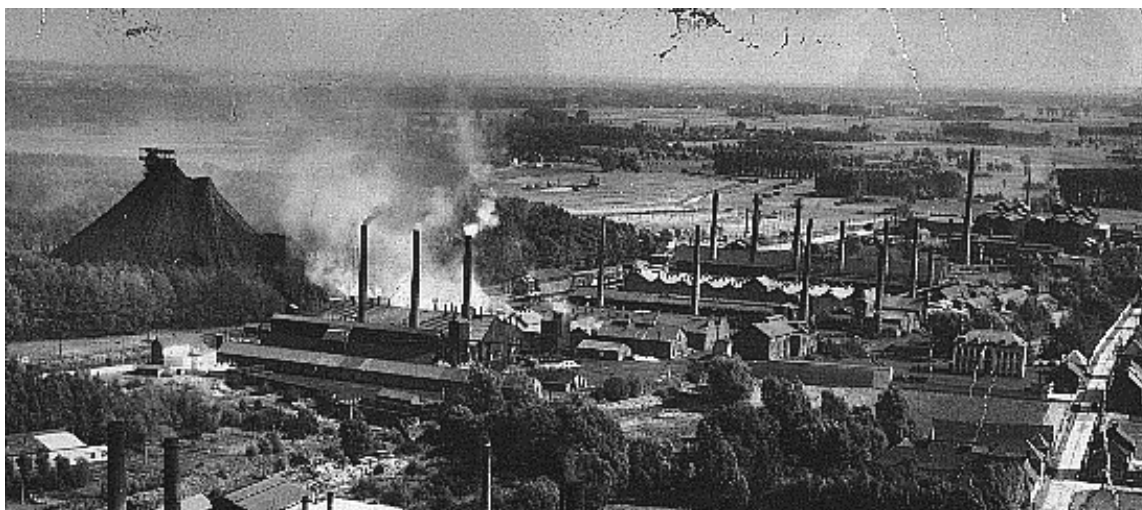


Figure 8 : Site industriel de Mortagne-du-Nord au cours des années 50 (Thiry et al., 2002).

3.3. Aciéries Paris Outreau

En 1854, des gisements de minerai de fer ont été découverts sur le plateau d'Equihen dans le Boulonnais. Dès 1858, une première usine est implantée à Manihen (Société des Forges et Fonderies de Montataire). Après sa fermeture liée à la crise économique, la sidérurgie d'Outreau retrouve son dynamisme en 1902 avec la naissance des Aciéries Paris Outreau (APO). En 1906, l'usine située à Manihen (Figure 9), est spécialisée dans la production de ferro-manganèse. Après la modernisation des bâtiments, l'installation de hauts-fourneaux, l'usine tourne à plein régime à la veille de la seconde guerre mondiale. La délocalisation de l'usine donne suite à son démantèlement en 1978.

Peu de données sont disponibles concernant la pollution des sols aux alentours de l'ancienne usine. Toutefois, la base de données Basol renseigne sur la présence dans les sols d'arsenic, de nickel, de plomb, d'hydrocarbures, de solvants halogénés et de cyanure.

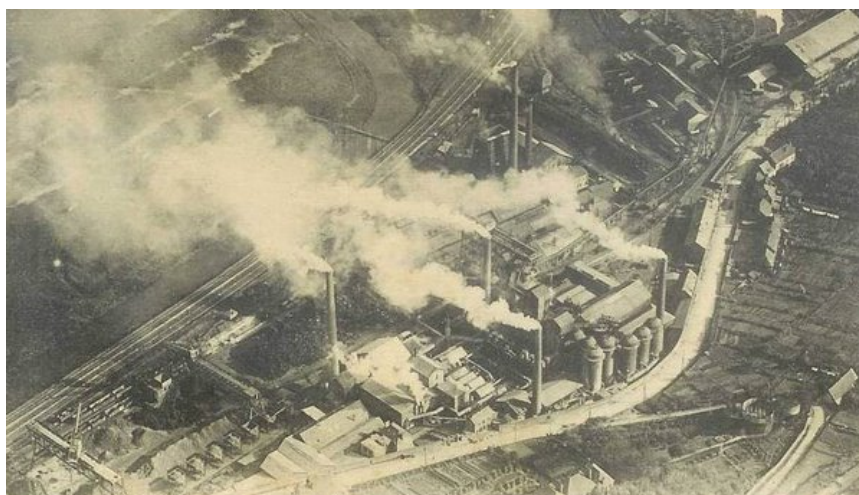


Figure 9 : Aciéries de Paris et d'Outreau (A.P.O) à Manihen dans les années 1900 (source : <http://sites.google.com/site/outreau2/lesa.p.o>)

B) Objectifs spécifiques de la recherche

L'objectif principal de ce travail de thèse a été de rechercher des paramètres indicateurs chez les isopodes terrestres permettant le diagnostic et le suivi des milieux terrestres.

Ce projet s'est articulé autour de deux phases :

- une phase de terrain (études *in situ*)
- une phase de laboratoire (études *ex situ* en conditions contrôlées)

▪ Phase de terrain

Objectifs spécifiques :

- Analyser des données bibliographiques et des informations collectées dans le cadre de travaux antérieurs afin d'argumenter le choix du modèle retenu, et d'identifier les paramètres à étudier (Chap III, A).
- Etudier l'effet du mode de conservation sur la biométrie et les teneurs en ETM des isopodes afin d'optimiser les protocoles utilisés et de valider les plans d'expérience (Chap II, B).
- Rechercher des paramètres indicateurs chez des populations d'isopodes issues d'habitats ligneux non ou massivement contaminés par des ETM, au regard de paramètres pédologiques et physicochimiques des sols (Chap III, B, C).

Paramètres étudiés :

● Caractérisation de populations d'isopodes

Paramètres populationnels

Diversité spécifique
Abondance*
Sexe ratio*
Structuration par âge*
Liées à la reproduction :
nombre et taille des œufs

Paramètres biométriques

Indicateurs biométriques* :
masse, largeur du céphalon, taille,
longueur des appendices

Asymétrie fluctuante (AF) : appendices

+ mesure d'accumulation en Cd, Pb et Zn

* Paramètres étudiés dans le cadre d'un suivi saisonnier (printemps et autonome 2008)

● Caractérisation de leurs milieux de vie

Nature des litières

Description pédologique des sols

Paramètres physicochimiques des horizons organiques et organo-minéraux des sols:

pH, teneur en CaCO₃ total et en MO, ratio C/N,
concentrations pseudo-totales et extraite au CaCl₂ en Cd, Pb, Zn, Cu

▪ Phase de laboratoire

Objectifs spécifiques :

- Mise en place d'élevages afin de disposer d'individus issus de populations connues et caractérisées pour les expérimentations en milieu contrôlé (Chap II, A).
- Etude des préférences alimentaires des isopodes afin d'orienter le choix de l'essence végétale pour les études *ex situ* (Chap II, C).
- Collecte, préparation et caractérisation des différentes litières sélectionnées (Chap IV, A)
- Recherche de paramètres indicateurs chez des isopodes, exposés en conditions contrôlées, à différentes litières issues du terrain et présentant un gradient de contamination en ETM (Chap IV, B, C, D, E).

Paramètres étudiés :

● Microcosmes

Étude de la dynamique de populations

● Tests d'écotoxicité

Bioaccumulation en Cd, Pb et Zn

Croissance (gain de poids)

Évitement

● Caractérisations des litières

Nature

concentrations pseudo-totales et extraites au CaCl_2 en Cd, Pb, Zn, Cu

Objectif final

L'objectif final de ce travail repose sur la synthèse et l'interprétation du croisement de l'ensemble des données acquises, à la fois sur le terrain et en laboratoire, dans le but de contribuer à la proposition d'outils à destination des gestionnaires de l'environnement pour le diagnostic et le suivi des milieux terrestre pollués par des ETM.

Chapitre II :

Mises au point méthodologiques

A) Mise en place d'élevages au laboratoire

Avant - propos

*Les expérimentations en conditions contrôlées ont nécessité la mise en place d'élevages au laboratoire, afin de disposer d'un nombre important d'individus issus de populations connues et vivant dans des conditions optimales de température, d'humidité et de luminosité, propices à la croissance et à la reproduction des individus. Dans le but d'établir un lien entre les expérimentations en conditions contrôlées et la démarche de terrain, il a été fait le choix d'élever ces individus dans des enceintes simulant au mieux les conditions vie des isopodes in situ, notamment en termes de substrat et d'alimentation. Ce premier volet décrit les conditions de vie de trois populations d'élevage (*Porcellio scaber*), définies sur la base de données bibliographiques (Annexe A) et au regard des objectifs fixés.*

1. Choix du modèle biologique d'élevage

Porcellio scaber a été retenu comme modèle biologique pour les expérimentations en conditions contrôlées. Ce choix repose sur le fait que cette espèce est beaucoup plus étudiée qu'*O. asellus*, qu'elle présente une distribution géographique et un caractère anthropophile plus important, qu'elle est plus abondante sur les sites contaminés par des ETM, et qu'elle semble mieux résister à des changements d'environnement.

2. Origine des populations

Il a été fait l'hypothèse que les traits de vie des isopodes pouvaient être sensibles aux conditions climatiques. Pour s'affranchir de cette hypothèse, il a été fait le choix de travailler avec deux populations (nommées A et B) issues de différents contextes environnementaux. La population A est issue de la Forêt Domaniale de Mormal (Avesnois, station MOR 2), la population B provient du Bois de Souverain-Moulin non loin de la Forêt Domaniale de Boulogne (Boulonnais, station BOU 1).

Bien que ces deux populations soient issues de milieux forestiers présentant des caractéristiques physico-chimiques à peu près semblables, ces stations diffèrent quant à la nature des litières (alimentation) mais aussi quant à leur situation géographique (i.e. conditions climatiques). En effet, le Boulonnais est sous un climat océanique avec des automnes pluvieux, des amplitudes thermiques réduites et peu de jours de gelée. Le vent est très présent, notamment l'hiver, mais aussi l'été avec des phénomènes de brises côtières. En revanche, l'Avesnois est sensiblement sous un climat plus continental, avec des hivers plus froids, de la neige plus fréquente, ainsi que de fortes précipitations estivales supérieures à celles des zones côtières malgré un ensoleillement plus important.

Ces deux populations ont été mises en élevage au laboratoire en février 2007. De plus, l'une des expérimentations a nécessité l'utilisation d'isopodes vivant sur un site massivement contaminé par des ETM. Un troisième élevage (C) a donc été mis en place en novembre 2009. La population C provient d'un bosquet fortement anthropisé (station MET 3) jouxtant une parcelle agricole située à 1 km au nord de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord.

3. Conditions d'élevage

Les trois populations ont été maintenues au laboratoire dans les mêmes conditions de température ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), d'humidité ($> 80\%$) et de luminosité (16 h jour / 8 h nuit), dans des vivariums (Figure 10a) contenant une couche de 2 cm de terre prélevée dans l'horizon organo-minéral issu de leur station respective. Chaque population a été nourrie *ad libitum* avec leur

litière d'origine. Les litières ont été collectées sur chacun des sites, triées, séchées à une température inférieure à 40°C durant 48 h, puis conservées à 20°C.

La litière collectée dans la Forêt Domaniale de Mormal est constituée principalement de feuilles de chêne, de charme, de hêtre et de feuilles d'érable en plus faibles quantités. Les concentrations pseudo-totales en ETM mesurées dans cette litière sont 0,2 mg Cd kg⁻¹, 9,4 mg Pb kg⁻¹ et 61,5 mg Zn kg⁻¹. La litière collectée sur la station BOU 1 est essentiellement constituée de feuilles d'érable et pour une faible part, de feuilles de chêne et de châtaignier. Les concentrations pseudo-totales en ETM mesurées dans cette litière sont 0,2 mg Cd kg⁻¹, 10,1 mg Pb kg⁻¹ et 45,1 mg Zn kg⁻¹. La litière collectée sur la station MET 3 à proximité de Metaleurop Nord est essentiellement constituée de feuilles de peuplier, et présentent de fortes teneurs en ETM (33 mg Cd kg⁻¹, 167 mg Pb kg⁻¹ et 1 521 mg Zn kg⁻¹).

Les trois populations ont été nourries chaque semaine avec leurs litières respectives, préalablement réhumidifiées sous une cloche durant une semaine pour favoriser la colonisation microbienne et ainsi l'appétence des individus (Figure 10b).

Afin de faire face à une diminution éventuelle de la diversité génétique des populations liée à la consanguinité, des individus issus de leurs stations respectives ont été réintroduits dans chacun des élevages plusieurs fois par an, et ceci quelques mois avant le début de chaque expérimentation.

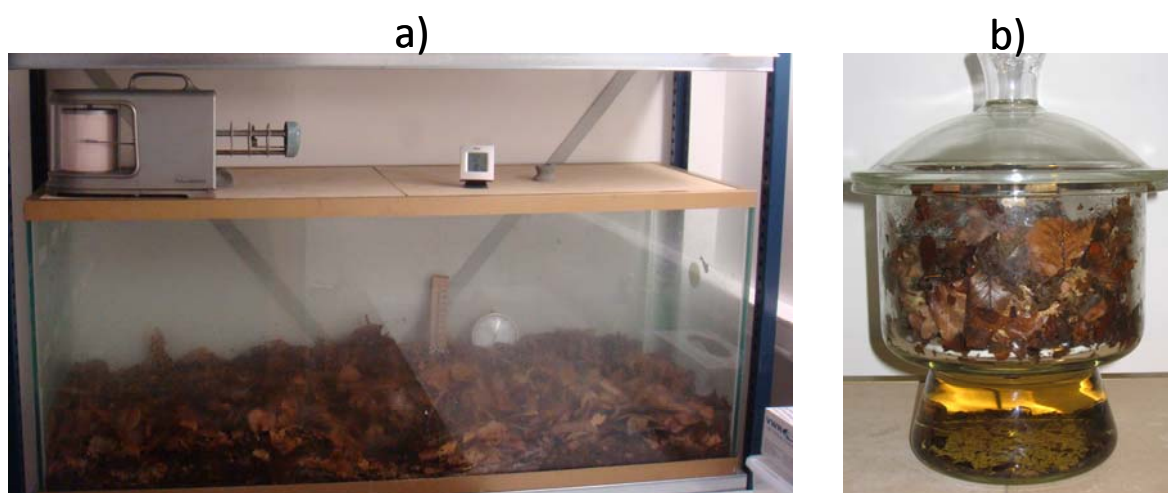


Figure 10 : Elevage B, population de *Porcellio scaber* issue de la station BOU 1 (a) et Mode de préparation des litières destinées à alimenter les élevages (b)

B) Effets du mode de conservation sur la biométrie et les bioconcentrations métalliques des isopodes terrestres

Avant - propos

La démarche expérimentale a nécessité d'acquérir des mesures fiables, précises et répétables dans le temps, sur des isopodes terrestres issus du terrain et conservés au laboratoire. Au regard des objectifs fixés, il a été nécessaire d'utiliser un mode de conservation permettant à la fois de préserver au mieux les paramètres biométriques des individus, mais également les bioconcentrations métalliques. Plusieurs modes de conservation (congélation, éthanol, éthylène glycol, formol, AGA...) peuvent être utilisés pour conserver des organismes tels que des invertébrés terrestres. Cependant, peu de données bibliographiques renseignent aujourd'hui sur l'effet des modes de conservation sur la biométrie ou sur les concentrations métalliques internes. En effet, le mode de conservation pourrait modifier la morphologie ou la masse de l'animal ou encore influencer les concentrations métalliques mesurées dans les organismes. Hendrickx et al. (2003) ont montré qu'une solution de formaldéhyde contenant un peu de détergent, souvent utilisée dans les pièges Barber, affectait le poids sec des individus et ils ont émis l'hypothèse que cela augmenterait les concentrations en Cd, Pb et Zn mesurées chez des isopodes terrestres dont P. scaber. D'autre part, la congélation est une méthode fréquemment utilisée et fiable lorsqu'il s'agit d'étudier des concentrations internes (enzymes, réserves énergétiques, systèmes antioxydants, concentrations métalliques...) dans les organismes. Cependant, une phase de congélation suivie d'une phase de décongélation pourrait affecter la morphologie des individus et ainsi biaiser les mesures biométriques. Par ailleurs, l'éthanol (70 à 80%) est souvent utilisé dans la conservation des insectes, mais ce liquide aurait tendance à trop déshydrater les organismes, et pourrait ainsi affecter leur morphologie et/ou leurs teneurs en ETM. De plus, l'éthanol est connu pour sa capacité à extraire des éléments métalliques. Enfin, l'éthylène glycol est aussi utilisé dans les pièges Barber pour sa faible capacité d'évaporation et sa toxicité sur les organismes vivants. Néanmoins, aucune donnée ne renseigne sur les effets potentiels de ce mode de conservation. Outre la conservation des individus, la qualité de la préparation des organismes avant la détermination des concentrations métalliques pourrait également influencer les mesures. En effet, Peters et al. (2001) préconisent un lavage des isopodes terrestres aux ultrasons (deux fois deux minutes) pour détacher les éventuelles particules métalliques déposés sur le corps de l'animal. Même si ce type de lavage semble pertinent pour l'obtention d'une mesure de qualité, les ultrasons seraient susceptibles d'occasionner des lésions sur l'animal et ainsi libérer des éléments métalliques.

Cette partie présente les résultats de quatre expérimentations visant à évaluer les effets de différents modes de conservation sur la biométrie et les bioconcentrations internes des isopodes terrestres, afin de définir et de valider le mode de conservation adopté pour la phase de terrain. La première, vise à étudier l'effet du lavage aux ultrasons sur les bioconcentrations métalliques des isopodes. La deuxième expérimentation concerne l'effet de la conservation à l'éthylène glycol et à l'éthanol à 70% sur les concentrations en Cd, Pb et Zn des isopodes. La troisième expérimentation vise à étudier l'effet de la congélation et de la conservation à l'éthanol (70%) sur la qualité des mesures biométriques. Enfin, la quatrième expérimentation étudie l'effet de la conservation à l'éthanol sur la masse des individus.

1. Effet du lavage aux ultrasons sur les bioconcentrations métalliques des isopodes

1.1 Matériels et méthodes

50 individus adultes (*Porcellio scaber* et *Oniscus asellus*) ont été collectés à proximité de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord. Ils ont été placés au laboratoire durant 24 h dans des boîtes de pétri contenant du papier filtre imbibé de 1 mL d'eau osmosée, afin de vider le contenu de leur tube digestif, puis congelés à -80°C durant 24 h. Ils ont ensuite été décongelés à 4°C durant 1 h 30, puis placés dans un tube en polypropylène de 50 mL contenant 20 mL d'eau osmosée.

Un premier lavage manuel (L0) a consisté à agiter le tube durant quelques secondes. Les isopodes ont été extraits de l'eau de rinçage, celle-ci a été filtrée à l'aide d'une membrane d'acétate de cellulose ($0,45\ \mu\text{m}$ de porosité) et $62\ \mu\text{L}$ de HNO_3 à 69% ont été ajoutés. Les mêmes individus ont été replacés dans un tube en polypropylène contenant 20 mL d'eau osmosée, puis lavés 2 min dans un bain à ultrason (L1). L'eau de lavage a été traitée comme précédemment. Cinq lavages successifs (L2 - L6) ont ensuite été réalisés. Les concentrations en Cd, Pb et Zn des sept eaux de rinçage (L0 à L6) ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique. Les résultats sont exprimés en mg L^{-1} .

1.2. Résultats et discussion

Les résultats (Figure 11) montrent que l'eau de rinçage du premier lavage (L0) contenait $0,0001\ \text{mg L}^{-1}$ de Cd, $0,002\ \text{mg L}^{-1}$ de Pb et $0,002\ \text{mg L}^{-1}$ de Zn, ce qui prouve le dépôt de particules métalliques sur les animaux. Les concentrations mesurées dans l'eau de rinçage du premier lavage aux ultrasons (L1) sont supérieures à celles obtenues après le lavage manuel. Ces résultats montrent à la fois l'insuffisance d'un unique lavage à l'eau et la capacité des ultrasons à décrocher des particules métalliques accrochées sur les animaux. Après le deuxième lavage aux ultrasons (L2), l'eau de rinçage contenait encore des éléments métalliques mais en moindre quantité. Par ailleurs, à partir du 3^{ème} lavage aux ultrasons, une augmentation des concentrations en Cd, Pb et Zn est observée dans les eaux de rinçage, et ce jusqu'au 5^{ème} lavage pour lequel les eaux de lavage présentent des concentrations maximales. Cette augmentation observée après plusieurs lavages successifs de 2 min aux ultrasons (Figure 12) pourrait être due à une détérioration du matériel biologique induite par les ultrasons, provoquant des lésions profondes chez l'animal et permettant ainsi la libération dans les eaux de rinçage, d'éléments métalliques contenus majoritairement dans l'hépatopancréas des isopodes. La diminution des concentrations observée dans l'eau de rinçage du dernier lavage (L6) signifierait peut-être le début de l'épuisement des concentrations métalliques au sein de l'échantillon d'individus ou une plus grande difficulté à mobiliser les ETM dans l'animal lors du lavage. L'ensemble de ces résultats confirmerait

l'efficacité du lavage aux ultrasons après 2 fois 2 min de lavage comme le préconise Peters et al. (2001). Toutefois, après ce délai, les ultrasons sont susceptibles de détériorer le matériel biologique et ainsi affecter la qualité de la mesure des éléments métalliques tels que Cd, Pb et Zn.

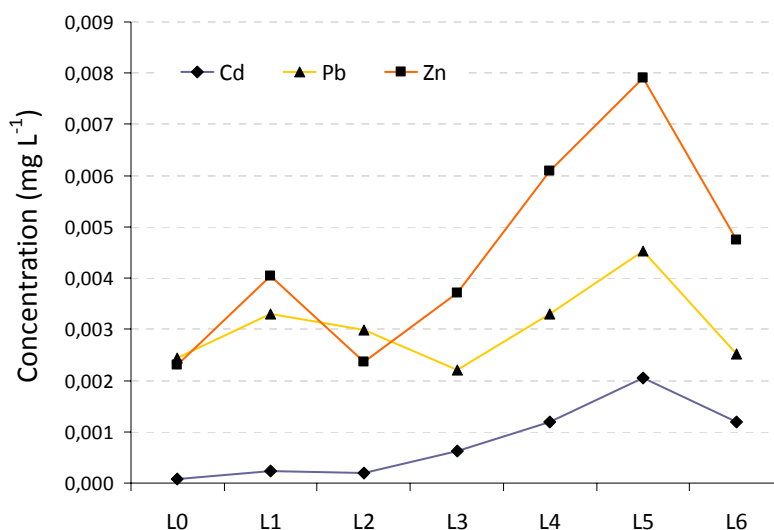


Figure 11 : Concentrations en Cd, Pb et Zn (mg L⁻¹) mesurés dans les eaux de rinçage (L0 – L1)

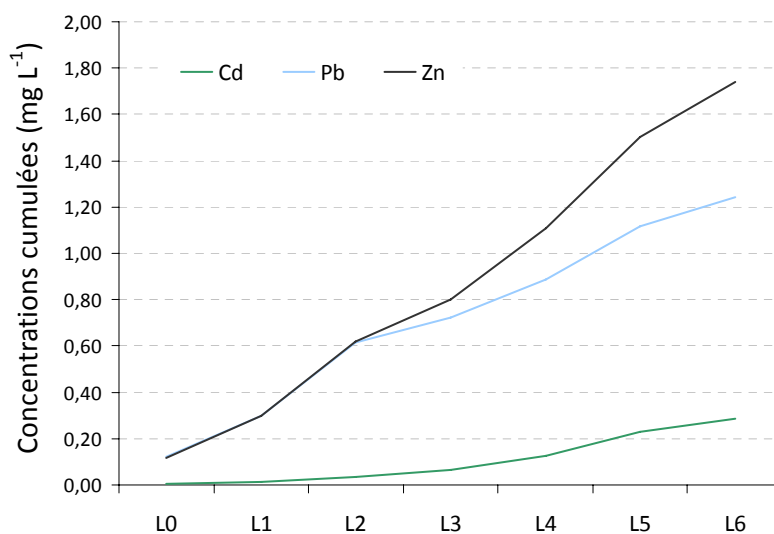


Figure 12 : Concentrations cumulées en Cd, Pb et Zn des eaux de rinçage

2. Effet du mode de conservation (congélation, éthylène glycol et éthanol 70%) sur les bioconcentrations métalliques (Cd, Pb et Zn)

2.1 Matériels et méthodes

Porcellio scaber a été échantillonné au printemps 2008 dans un bosquet situé à proximité de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord. Au laboratoire, des individus mâles et femelles

(non gravides) dont la masse était comprise entre 15 et 25 mg ont été sélectionnés. Afin de vider le contenu de leur tube digestif, les individus ont été placés individuellement durant 24 h dans une boîte de Pétri (\varnothing 5 cm) contenant un filtre de cellulose imbibé de 1 mL d'eau osmosée. Dans le but d'éliminer les éventuelles particules accrochées sur le corps des animaux, les individus ont ensuite été lavés 2 x 2 min dans un bain à ultrason puis séchés sur du papier absorbant.

39 lots de 3 individus ont été formés, pesés et placés dans des tubes en polypropylène de 5 mL de contenance. 13 lots ont été congelés à -20°C , 13 autres ont été conservés dans 3 mL d'éthylène glycol et les 13 derniers ont été conservés dans 3 mL d'éthanol à 70%. Les individus conservés dans l'éthylène glycol et dans l'éthanol à 70% ont été conservés 6 mois à 20°C .

Après conservation, chacun des lots (à l'exception des lots congelés) a été rincé à l'eau osmosée. Les 39 lots d'individus ont ensuite été séchés à 40°C durant 24 h, pesés ($\pm 0,1$ mg), puis minéralisés dans des réacteurs en TFM contenant 5 mL de HNO_3 à 69%. Les réacteurs ont été placés dans un four à micro-ondes. Les solutions obtenues ont été filtrées sur des membranes d'acétate de cellulose ($0,45 \mu\text{m}$ de porosité), et leur volume a été ajusté à 25 mL avec de l'eau osmosée. Les teneurs en Cd, Pb et Zn de chacun des lots d'individus ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique. Les teneurs métalliques mesurées dans les lots d'individus sont exprimées en mg kg^{-1} (poids sec à 105°C). Les concentrations en Cd, Pb et Zn mesurées dans les lots d'individus ont été comparées entre les 3 modes de conservation à l'aide de tests de Kruskal-Wallis (comparaison des médianes).

2.2 Résultats et discussion

La figure 13 montre les concentrations médianes en Cd, Pb et Zn mesurées chez des individus congelés, conservés 6 mois dans l'éthanol à 70% ou conservés dans l'éthylène glycol. Les concentrations en Cd, Pb et Zn mesurées dans les individus congelés et dans les individus conservés 6 mois dans l'éthanol à 70% sont relativement similaires (environ $120 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, $400 \text{ mg Pb kg}^{-1}$ et $550 \text{ mg Zn kg}^{-1}$). Cependant, les concentrations en Cd mesurées dans les isopodes conservés à l'éthylène glycol sont significativement inférieures à celles des individus congelés ou conservés à l'éthanol ($p < 0,05$). De plus, les concentrations en Zn mesurées dans les individus conservés à l'éthylène glycol sont inférieures à celles des individus conservés dans l'éthanol ($p < 0,05$). Aucune différence significative n'a été observée pour les concentrations en Pb entre les 3 modes de conservation (congélation, éthanol 70%, éthylène glycol). Ces résultats montrent que l'éthylène glycol pourrait influencer les concentrations en Cd et Zn des isopodes. En effet, l'éthylène glycol pourrait soit causer des lésions sur le matériel biologique et ainsi permettre la libération d'éléments métalliques tels que Cd et Zn dans le liquide de conservation, soit avoir un pouvoir extractant sur les métaux contenus dans les individus. D'autre part, les résultats ne

montrent pas d'effet de la conservation à l'éthanol durant 6 mois sur les bioconcentrations en Cd, Pb et Zn des isopodes.

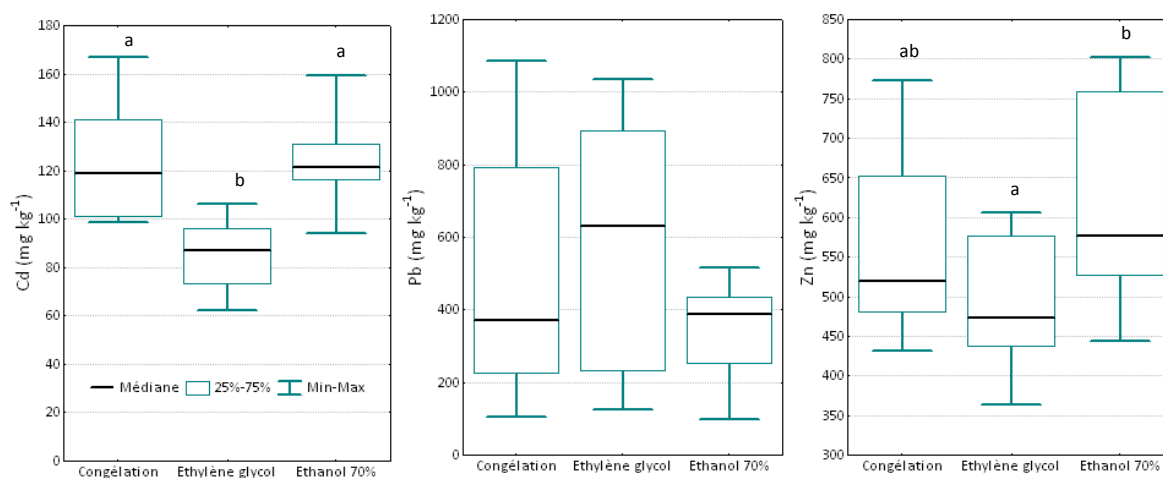


Figure 13 : Teneurs en Cd, Pb et Zn (mg kg^{-1} poids sec à 105°C) mesurées chez des individus de *Porcellio scaber* conservés 6 mois selon 3 modalités (congélation, éthylène glycol et éthanol à 70%). Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, tests de Kruskal-Wallis).

3. Effet de la congélation et de la conservation à l'éthanol sur la biométrie des isopodes

3.1. Matériels et méthodes

60 individus de tailles hétérogènes (*P. scaber* et *O. asellus*) issus du laboratoire ont été tués individuellement dans une cloche contenant du coton imbibé d'éther. Chaque individu a fait l'objet de mesures biométriques (M1) : la taille du corps (de l'extrémité du céphalon à l'extrémité du telson), la largeur du corps (mesurée à mi-longueur de l'animal) ainsi que la largeur du céphalon (plus grande largeur du céphalon mesurée au niveau des ocelles). Les méthodes de mesure sont présentées en détail dans la deuxième partie du chapitre III. Chaque paramètre biométrique a été mesuré 3 fois à partir du même cliché photographique.

30 individus ont ensuite été conservés individuellement dans des tubes en polypropylène contenant 3 mL d'éthanol à 70%, et 30 autres ont été congelés à -80°C , durant 4 semaines. Les individus placés à -80°C ont été décongelés à 4°C durant 1 h 30. L'ensemble des individus a fait l'objet des mêmes mesures biométriques (M2) comme décrit précédemment.

Pour chacun des 3 paramètres biométriques, la moyenne des mesures réalisées avant la conservation a été comparée à la moyenne des mesures réalisées après conservation au moyen de tests de Wilcoxon (pour échantillons appariés). De plus, pour chaque paramètre biométrique et pour l'ensemble des individus, la différence moyenne entre les deux mesures (M1 et M2) a été calculée. Les moyennes des valeurs absolues de $M1 - M2$ ont été comparées entre les 2 modalités

de conservation (congélation et éthanol 70%) à l'aide de tests Mann-Whitney-Wilcoxon (pour deux échantillons indépendants).

3.2. Résultats et discussion

Des différences ont été observées entre les mesures réalisées avant conservation et les mesures réalisées après la conservation (Figure 14).

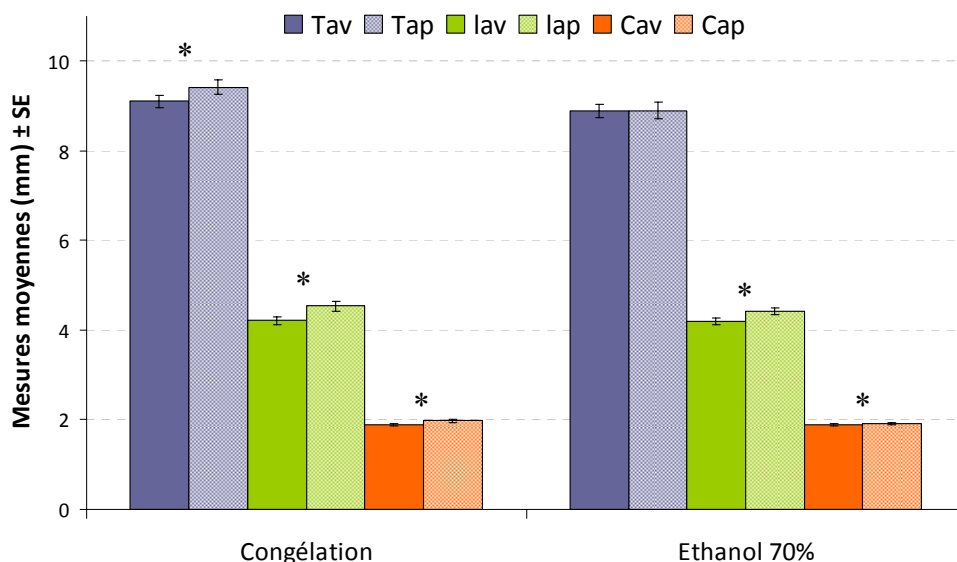


Figure 14 : Moyennes \pm SE des mesures biométriques (taille : T ; largeur du corps : L ; largeur du céphalon : C) réalisées avant (av) et après (ap) conservation sur des lots de 30 isopodes selon deux modes (congélation et conservation dans l'éthanol à 70%). * Différences significatives entre les mesures réalisées avant et après conservation ($p < 0,05$, test de Wilcoxon).

Les moyennes des mesures réalisées (largeur du corps et largeur du céphalon) sur les individus après conservation sont supérieures aux moyennes des mesures initiales, que ce soit après congélation ou après conservation dans l'éthanol 70% ($p < 0,05$, test de Wilcoxon). Toutefois, les mesures de la taille des individus conservés à l'éthanol ne présentent pas de différences significatives avec les mesures initiales. Ces résultats supposeraient que la conservation des individus influencerait la morphologie des individus et ainsi les mesures biométriques. Par ailleurs, les différences de mesures (avant et après conservation) sont plus importantes en ce qui concerne la taille et la largeur des individus, alors que la différence est plus faible pour le céphalon (Figure 15). Ce résultat supposerait que les deux modes de conservation étudiés ont un effet plus important sur les mesures de la taille et la largeur du corps que sur la largeur du céphalon. Ils pourraient influencer sur le degré de contraction des tergites et ainsi biaiser les mesures de la taille et de la largeur des individus. Toutefois, l'unité et la rigidité du céphalon pourraient fournir une mesure plus fiable. Donker et al. (1993) ont par ailleurs observé que la mesure du céphalon était plus précise que celle de la taille des individus. Enfin, en ce qui concerne la largeur

des individus et la largeur du céphalon, les différences de mesures (avant et après conservation) sont moins importantes après la conservation des individus dans l'éthanol à 70% qu'après congélation ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

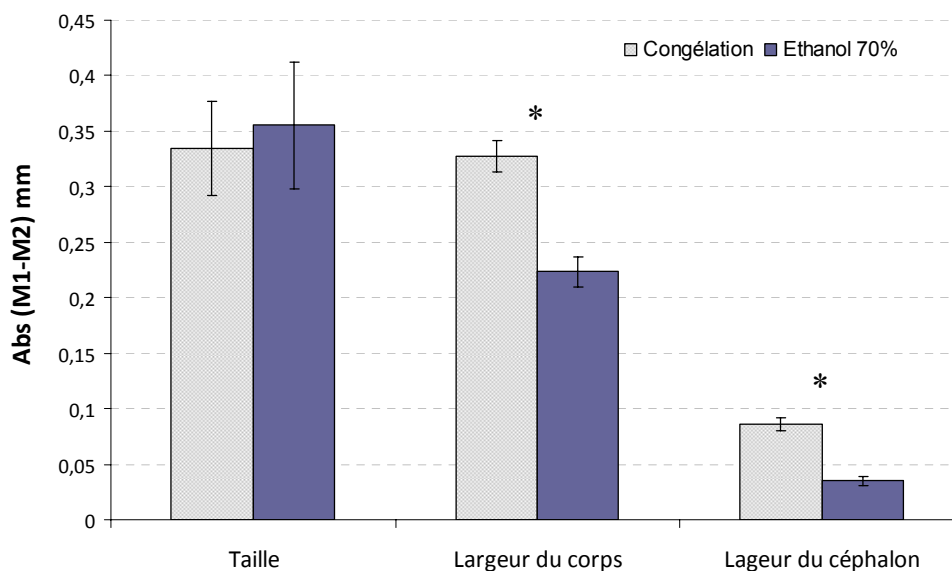


Figure 15 : Différences moyennes (\pm SE) observées entre la première mesure (avant conservation, M1) et la deuxième mesure (après conservation, M2) réalisées sur 3 paramètres biométriques des isopodes (taille, largeur du corps et largeur du céphalon) selon 2 modes (congélation et conservation à l'éthanol 70%). * différences significatives observées entre les modalités de conservation (test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Ces résultats montrent d'une part, que la conservation dans l'éthanol à 70% préserve mieux les paramètres biométriques que la congélation et d'autre part, que la mesure du céphalon après conservation serait plus fiable que la mesure de la taille ou de largeur des individus.

4. Effet de la conservation à l'éthanol 70° sur la masse des isopodes

4.1 Matériels et méthodes

10 individus de masses hétérogènes (de 8,2 à 26,8 mg) ont été pesés (\pm 0,1 mg) à T_0 , puis conservés individuellement dans un tube en polypropylène contenant 3 mL d'éthanol à 70%. Chaque individu a ensuite été pesé à 7, 14, 21 et 28 jours, ainsi qu'après 12 et 18 mois de conservation. Les individus avaient été préalablement séchés 15 secondes sur du papier absorbant, puis pesés et replacés dans leur tube d'origine. La masse des individus à T_0 a été comparée avec la masse des mêmes individus mesurés aux différents pas de temps à l'aide de tests de Wilcoxon (pour échantillons appariés).

4.2 Résultats et discussion

Les résultats montrent un effet significatif de la conservation à l'éthanol à 70% sur la masse des isopodes. En effet, la masse moyenne des individus à T_0 est significativement plus importante que celle des mêmes individus après plusieurs jours ou plusieurs mois de conservations dans l'éthanol ($p < 0,05$, Figure 16). De plus, la masse des individus semble décroître avec la durée de la conservation, mais semble se stabiliser après 28 jours de conservation. Ces résultats corroborent l'effet des solutions de conservation sur la perte de biomasse des organismes, comme Hendrickx et al. (2003) l'avaient montré avec une solution de conservation à base de formaldéhyde. Toutefois, la perte de masse observée chez les individus conservés à l'éthanol à 70% n'aurait pas d'influence significative sur les teneurs en ETM des isopodes.

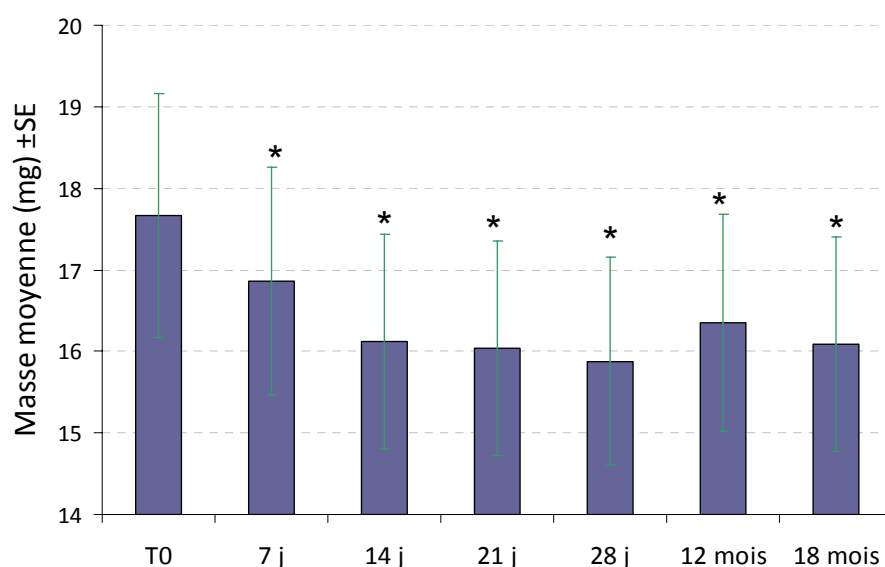


Figure 16 : Masse moyenne \pm SE des isopodes ($n = 10$) à T_0 et après 7, 14, 21 et 28 jours, 12 et 18 mois de conservation dans l'éthanol à 70%. * différences significatives ($p < 0,05$, test de Wilcoxon).

5. Bilan

L'ensemble de ces résultats atteste de l'importance du mode de conservation des isopodes avant la détermination des teneurs en ETM ou avant la réalisation des mesures biométriques. Dans le cadre de cette thèse, il était nécessaire d'adopter un mode de conservation commun, permettant de préserver au mieux les paramètres biométriques et n'affectant pas la mesure des teneurs en Cd, Pb et Zn des isopodes. Les résultats ont révélé que la mesure des paramètres biométriques (taille, largeur du corps et largeur du céphalon) après conservation pouvait différer des mesures réelles (avant conservation). Cette différence peut être liée soit à l'imprécision de la mesure (positionnement de l'animal, erreur de l'opérateur...), soit à l'effet du mode de conservation sur la morphologie des isopodes. Toutefois, la conservation dans l'éthanol à 70% semble mieux

préserver la morphologie des isopodes que la congélation. Par ailleurs, la mesure de la largeur du céphalon semble être plus fiable que la mesure de la taille ou de la largeur du corps. De plus, les résultats montrent que seule la conservation à l'éthylène glycol pouvait influencer la mesure des teneurs en Cd, Pb et Zn des isopodes. Puisque la conservation à l'éthanol préserve le mieux la biométrie des isopodes, et que ce mode de conservation n'affecte pas les concentrations métalliques des isopodes, il a été choisi de conserver les individus dans l'éthanol à 70% lorsque les études portaient à la fois sur l'acquisition de mesures biométriques et de mesures des bioconcentrations. Enfin, un lavage systématique des isopodes dans un bain à ultrasons (2 x 2 min) est préconisé pour la détermination des concentrations en ETM des organismes étudiés.

C) Etude préalable aux expérimentations en conditions contrôlées

Préférences alimentaires chez *Porcellio scaber* exposé simultanément à différentes essences végétales non massivement contaminées par des ETM

Avant - propos

*Il est connu que la qualité de l'alimentation peut influencer les traits de vie des isopodes, et de nombreux travaux ont montré la capacité des isopodes à sélectionner leur nourriture en fonction de la qualité de celle-ci. Afin de mieux comprendre le comportement alimentaire de ces crustacés, d'optimiser les conditions de vie des isopodes et afin de valider le choix de l'essence végétale à utiliser lors des futures expérimentations, une étude a été mise en place au laboratoire pour évaluer l'appétence spécifique des *P. scaber*. Dans la présente démarche, les préférences alimentaires ont été étudiées au regard de la nature des feuilles (charme, chêne, érable, hêtre et peuplier) et ceci au travers de tests de préférence et de mesures de la consommation des différentes nourritures proposées.*

1. Matériels et méthodes

1.1. Origine et préparation des essences végétales

Des litières contenant différentes essences végétales (charme, chêne, érable, hêtre et peuplier) ont été collectées au printemps 2008 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais non massivement contaminés par des ETM. Les litières composées de chêne, de charme et de hêtre ont été collectées dans la Forêt Domaniale de Mormal (station MOR 2). Les feuilles de peuplier ont été collectées dans un bosquet jouxtant la Forêt de Mormal. Les litières d'érable ont été collectées dans le Bois de Souverain-Moulin situé à proximité de la Forêt Domaniale de Boulogne (station BOU 1).

Les litières ont été triées au laboratoire selon la nature des feuilles, et seules les feuilles entières ont été conservées. Elles ont été séchées dans une étuve à une température inférieure à 40°C durant 48 h.

1.2. Dispositif expérimental

P. scaber a été exposé simultanément à cinq essences végétales (charme, chêne, érable, hêtre et peuplier). Le dispositif expérimental était composé de trois bacs en plastique (60 x 40 x 5 cm) contenant une couche (2 cm) de plâtre de Paris dans laquelle ont été insérées six boîtes de Pétri (Ø 90 mm) comme décrit sur la figure 17. Environ 100 mg de chacune des essences ont été placés dans une des boîtes de Pétri. La sixième boîte ne contenait pas de matériel végétal. Les positions des boîtes de Pétri variaient de façon aléatoire parmi les trois répliqués.

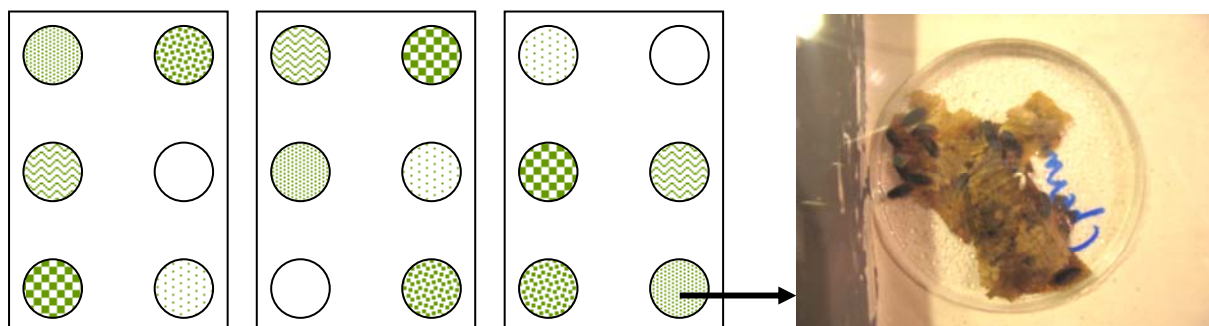


Figure 17 : Dispositif expérimental. Préférences alimentaires chez *Porcellio scaber* exposé simultanément à différentes essences végétales non massivement contaminées par des ETM

Chaque bac (boîte de Pétri, alimentation et plâtre) a été humidifié 24 h avant le début de l'expérimentation, avec de l'eau osmosée à l'aide d'un spray, et recouvert d'une plaque de plexiglas transparente, afin de maintenir un degré d'humidité supérieur à 80%. Le dispositif expérimental a été placé à 20°C avec une photopériode de 16 h jour/8 h nuit.

Des individus mâles et femelles (non gravides) issus de l'élevage A, avec une masse comprise entre 30 et 40 mg ont été sélectionnés, puis placés durant 24 h dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre imbibé de 1 mL d'eau osmosée, afin de vider le contenu de leur tube digestif et d'augmenter leur appétit. 15 individus (7 mâles et 8 femelles) ont été placés à T_0 dans chacune des boîtes de Pétri ne contenant pas de matériel végétal. Le nombre d'individus dans chacune des boîtes de Pétri (avec ou sans feuilles) et le nombre d'individus situés sur le plâtre ont été comptés durant 5 jours selon 10 pas de temps : $T_0+10\text{min}$, $T_0+20\text{min}$, $T_0+30\text{min}$, $T_0+1\text{h}$, $T_0+2\text{h}$, $T_0+24\text{h}$, $T_0+48\text{h}$, $T_0+72\text{h}$, $T_0+96\text{h}$ et $T_0+120\text{h}$. A la fin de l'expérimentation, la nourriture restante a été séchée ($<40^\circ\text{C}$) durant 48 h, et pesée.

1.3. Analyses statistiques

Les quantités de feuilles consommées durant l'expérimentation ont été calculées pour chacune des essences végétales. Les masses consommées ont ensuite été comparées entre les différentes essences à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis. La fréquentation des isopodes pour chacune des différentes essences végétales a été calculée en cumulant le nombre d'individus observés dans chacune des boîtes de Pétri durant toute la durée de l'expérimentation. Un diagramme de dispersion entre la fréquentation des isopodes pour les différentes essences végétales et la masse de feuilles consommées a été réalisé.

2. Résultats et discussion

Le tableau 2 présente le nombre d'individus observés (tous pas de temps confondus) dans chacune des boîtes contenant l'une des cinq essences végétales proposées (nombre d'observations pour chacun des réplicats et nombre total d'observations). La fréquentation des essences végétales par les isopodes était par ordre de préférence : charme > peuplier > chêne > hêtre > érable. Le charme a été de loin l'essence la plus fréquentée par les isopodes, et l'érable l'essence la moins fréquentée.

	Charme	Chêne	Erable	Hêtre	Peuplier
Réplicat 1	34	6	0	0	7
Réplicat 2	48	5	1	12	12
Réplicat 3	21	9	0	6	5
Total	103	20	1	18	24

Tableau 2 : Cumuls du nombre d'individus observés dans chacune des boîtes de Pétri contenant l'une des cinq essences végétales.

La consommation des différentes essences végétales corrobore ces observations (Figure 18). En effet, le charme a également été l'essence la plus consommée, et des différences significatives

ont été observées entre la quantité de charme consommée et celle des autres essences ($p < 0,1$). De plus, les quantités de chêne et de peuplier consommées sont significativement supérieures à celles de l'érable et du hêtre ($p < 0,1$). Toutefois, même si le hêtre a été plus fréquenté par les isopodes que l'érable, aucune différence n'a été observée entre la consommation de ces deux essences par les individus.

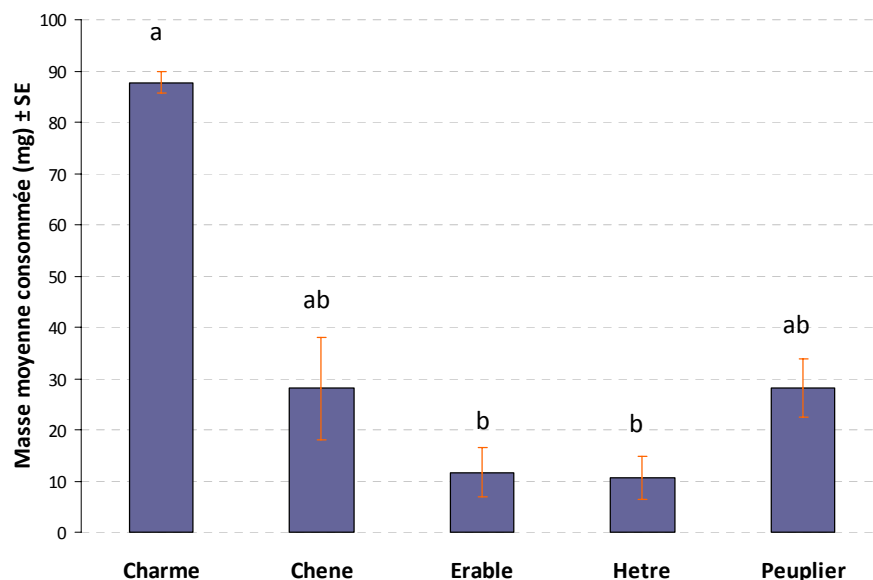


Figure 18 : Masses moyennes de feuilles consommées par *Porcellio scaber* exposé simultanément à cinq essences végétales (Charme, chêne, érable, hêtre et Peuplier). Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,1$, test de Kruskal-Wallis), $n = 3$.

La figure 19 fait état des préférences alimentaires observées en fonction de la fréquentation et de la masse végétale consommée pour chacune des essences.

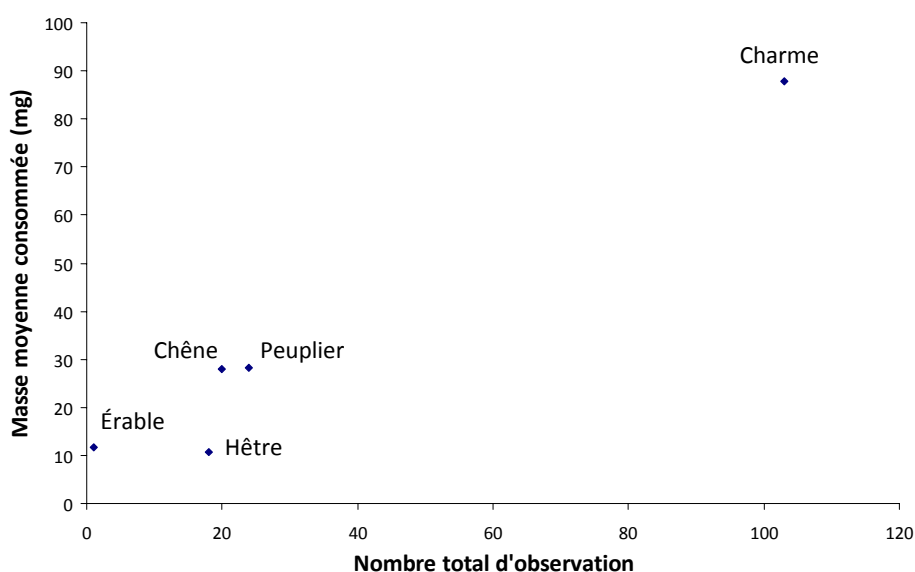


Figure 19 : Diagramme de dispersion entre la fréquentation de *Porcellio scaber* pour chacune des essences végétales et leurs consommations.

Les résultats de cette expérimentation montrent au travers de l'étude de la fréquentation et de la consommation, que la nature des feuilles joue un rôle essentiel dans les préférences alimentaires de *P. scaber*. Il a été montré que *P. scaber* consommait par ordre de préférence : charme > peuplier ≈ chêne > hêtre ≈ érable. Cependant, de nombreux paramètres tels que les caractéristiques biologiques et physico-chimiques des feuilles peuvent influencer la préférence alimentaire des isopodes. En effet, il est connu que les isopodes terrestres ont une préférence pour des litières pauvres en azote (Zimmer, 2002) et qu'ils sont fortement dépendants de l'activité des microorganismes (Topp, 1981). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer le rôle des microorganismes dans l'alimentation des isopodes terrestres. Tout d'abord, leur nourriture est principalement constituée de polysaccharides tels que la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Kozlovskaja et Striganova, 1977 ; Szegi, 1988 ; Beck, 1993), constituant de la matière végétale. Environ 90% des nutriments stockés dans la MO sont libérés par les microorganismes (Dunger, 1983). Cependant, les organismes saprophages tels que les isopodes ne produisent pas d'enzymes permettant l'hydrolyse des composés végétaux (Urich, 1990), ils dépendraient donc d'enzymes d'origines microbiennes (Zimmer et Topp, 1997). Ensuite, la biomasse microbienne digérée par les isopodes peut être utilisée comme source de nutriments (Reyes et Tiedje 1976 ; Coughtrey et al. 1980 ; Marialigeti et al. 1984 ; Gunnarsson et Tunlid 1986 ; Hassall et al. 1987 ; Zimmer et Topp, 1998). Enfin, l'ingestion des microorganismes pourrait aider à maintenir des conditions favorables à la digestion dans l'intestin des isopodes (Zimmer 1997 ; Zimmer et Topp, 1997). Plusieurs expérimentations ont clairement montré la préférence des isopodes terrestres pour des litières colonisées par des microorganismes plutôt que des litières présentant une faible activité microbienne (Gunnarsson, 1987 ; Stöckli, 1990 ; Zimmer et al., 2003). Les feuilles utilisées dans cette expérimentation sont issues de litières collectées dans différents habitats ligneux, et pouvant présenter des activités microbiennes différentes. Bien que l'activité microbienne a été stoppée ou ralentie par le séchage des feuilles à l'étuve lors de leur préparation, l'humidification des feuilles au cours de l'expérimentation a certainement contribué à une reprise de cette activité, dont le degré peut être fortement dépendant de l'activité initiale. Il est probable que ces feuilles différaient en termes de colonisation microbienne, ce qui peut contribuer à expliquer l'appétence ou non des individus pour les différentes essences végétales testées.

Par ailleurs, l'épaisseur et la dureté des feuilles, les teneurs en nutriments ou encore la présence de répulsifs ont été suggérées par certains auteurs pour expliquer les préférences alimentaires des isopodes (Dunger, 1958 ; Biber, 1961 ; Rushton et Hassall, 1983a ; Hassall et Rushton, 1984). En effet, la souplesse et la finesse des feuilles de charme peuvent aussi expliquer l'appétence des isopodes pour cette essence, contrairement à d'autres telles que les feuilles de hêtre et de chêne qui sont plus rigides et plus épaisses. De plus, la présence dans les feuilles de composés phénoliques tels que les tannins diminue l'appétence des isopodes (Neuhauser et Hartenstein,

1978). Ceci peut s'expliquer par le fait que la présence de tannins, même à de faibles concentrations peut augmenter la mortalité et impacter la reproduction chez *P. scaber* (Zimmer et Topp, 1997).

Enfin, l'origine de la population testée (élevage A) pourrait également expliquer la préférence de *P. scaber* pour les feuilles de charme, mais aussi les fréquentations observées pour les feuilles de chêne et de hêtre. En effet, puisque les feuilles de charme, de chêne et de hêtre sont issues de la station MOR 2 (station d'origine de la population A, et d'échantillonnage des essences testées), les individus pourraient reconnaître un environnement apparenté et avoir une préférence pour un milieu de vie similaire à leur milieu habituel. Toutefois ces résultats supposeraient que les individus de l'élevage A, nourris avec de la litière issue de la station MOR 2, ainsi que les individus collectés sur la station MOR 2 auraient une préférence et consommeraient d'avantage le charme lorsque les litières seraient composées essentiellement de charme, de chêne et de hêtre.

Cependant, dans le cadre de cette expérimentation, les individus ont été exposés simultanément à différentes essences qui ont toutes été consommées. Plusieurs auteurs suggèrent qu'une seule source de nourriture n'est pas suffisante pour satisfaire les besoins alimentaires des isopodes, et que ceux-ci préfèrent varier leur nourriture lorsque un choix leur est proposé (Hassall et Rushton, 1984 ; Wieser, 1984 ; Dudgeon et al., 1990 ; Ma et al., 1991). De plus, du fait de l'existence de phénomènes d'agrégation, bien connus chez les isopodes, il serait souhaitable dans des futures expérimentations où les paramètres étudiés concerneraient les préférences alimentaires et/ou la qualité de la nourriture (i.e. contamination métallique), d'exposer individuellement les individus.

Chapitre III :

Etude in situ

A) Intérêt de l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn)

Avant - propos

*L'objectif du travail a été d'étudier certaines caractéristiques morphologiques et populationnelles d'*Oniscus asellus* et *Porcellio scaber* le long d'un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn des sols aux alentours de l'ancienne fonderie de plomb (Metaleurop Nord). Plusieurs paramètres biométriques ont été analysés en fonction du degré de contamination des sols. Chez des individus collectés sur trois sites pollués à des degrés divers, la taille, le poids, la longueur des antennes et la taille des œufs ont été mesurés ; il a été compté le nombre d'œufs par femelle gravis. Les relations entre la taille et le poids des individus prélevés sur chacun des sites ont été étudiées au moyen de régressions linéaires et d'analyses de corrélations.*

En résumé, ce travail a permis de mettre en évidence une diminution du nombre de femelles gravides et de la taille des œufs avec l'accroissement de la contamination des sols. Ces premiers résultats ont conforté l'intérêt de la biométrie chez les isopodes terrestres comme outil de diagnostic dans l'évaluation la qualité des écosystèmes, notamment ceux pollués par les éléments traces métalliques. Parmi les paramètres morphologiques étudiés, la taille des œufs semble un paramètre intéressant.

Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale lors du congrès « Sol, Société et Politique » organisé à l'université de Neuchâtel par la Société Suisse de Pédologie (SSP) et l'Association Française pour l'Etude des Sols (AFES) en février 2008. De plus, suite à cette participation, un article scientifique reprenant l'ensemble du travail réalisé a été soumis à la SSP. Il s'intitule « Intérêt de l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn) » et est présenté ci-dessous.

Intérêt de l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn)

J.P Godet^{1,2}, S. Demuynck², C. Waterlot¹, A. Follet³, F. Douay¹, A. Leprêtre², C. Pruvot¹

¹Laboratoire Sols et Environnement, ISA, 48 boulevard Vauban 59000 Lille – c.pruvot@isa-lille.fr

²Laboratoire d'Ecologie Numérique et d'Ecotoxicologie, USTL, cité scientifique 59655 Villeneuve d'Ascq

³Laboratoire Environnement Santé, FLST, 41 rue du Port 59046 Lille

Résumé

Certaines caractéristiques morphologiques et populationnelles d'*Oniscus asellus* et *Porcellio scaber* ont été étudiées le long d'un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn des sols aux alentours d'une ancienne fonderie de plomb. La taille, le poids, la longueur des antennes, le nombre d'œufs par femelles gravides et la taille des œufs ont été mesurés chez des individus collectés sur trois sites, pollués à des degrés divers. Les caractéristiques physico-chimiques des sols (pH, CEC, teneurs totales en métaux, CaCO₃, et matières organiques) et les caractéristiques écologiques (abondance de différents groupes faunistiques) ont été déterminées. Une diminution du nombre de femelles gravides et de la taille des œufs a été observée avec l'accroissement de la contamination. Au regard des résultats obtenus, l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres pourrait se révéler être un outil simple et efficace pour évaluer la qualité des écosystèmes, notamment ceux pollués par les éléments en traces métalliques.

Abstract: Interest of the use of terrestrial isopod biometry for metal-polluted soil quality assessment

Several morphologic and populational parameters of *Porcellio scaber* and *Oniscus asellus* were studied along a gradient of metal contamination (Cd, Pb and Zn) near a former smelter. Body size, weight, antennas length, number of eggs by gravid female and egg size were measured for individuals collected in three sites with different level of soil contamination. Soil physico-chemical parameters (pH, CEC, total metal concentration, CaCO₃, and organic matter) and ecological parameters (abundance of different taxons) were determined. The decrease of the number of gravid females and egg size were observed with the increase of contamination. The results and literature show that the use of terrestrial isopod biometry could be a simple and efficient field tool for ecosystem quality evaluation.

Keywords: terrestrial isopods, contaminated soil, Cd, Pb, Zn, biometry

1. Introduction

Les activités industrielles, présentes ou passées, affectent par leurs émissions atmosphériques la qualité des écosystèmes terrestres. C'est notamment le cas dans l'ancien bassin minier du Nord-Pas-de-Calais, et particulièrement aux alentours de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord à Noyelles-Godault. Cette usine, fermée en 2003, était le principal producteur de plomb en Europe. Elle a émis par le passé des quantités considérables de poussières engendrant une forte contamination en Cd, Pb et Zn des sols alentours (LUTTRINGER & DE CORMIS 1979; GODIN et al 1985; STERCKEMAN et al 2002; DOUAY et al 2008).

Dans le cadre de la gestion des sites et sols pollués, il est préconisé en France la réalisation de procédures d'évaluation des risques dont la mise en œuvre peut souffrir de l'absence d'outils

de terrain pertinents. L'utilisation des invertébrés en biomonitoring présente des avantages tels que l'intégration des polluants présents dans leur milieu de vie, une facilité d'échantillonnage, une forte abondance... (ZODL & WITTMANN 2003). Les vers de terre, les collemboles ou les gastéropodes accumulent les contaminants métalliques et sont utilisés en tant qu'organismes indicateurs pour l'évaluation de la qualité des milieux, notamment dans les milieux fortement pollués par les éléments traces métalliques (NICOLAIDOU & NOTT 1998; KANG et al 1999; KOECKRITZ et al 1999). Selon les modèles biologiques, des variabilités importantes dans la capacité d'accumulation des polluants sont toutefois observées (HOPKIN 1989).

Parmi les invertébrés terrestres, les isopodes sont d'importance majeure dans la chaîne trophique. En effet, ils jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement de l'interface sol/litière, et plus particulièrement dans le cycle du carbone en

participant à la dégradation des matières organiques. Ils se nourrissent principalement de débris végétaux en fragmentant des litières, en stimulant et/ou en ingérant des champignons et des bactéries (LOUREIRO et al 2006). Contrairement à d'autres invertébrés tels que les vers de terre ou les escargots, les isopodes sont bien représentés dans les sites contaminés par des éléments traces métalliques (ETM) aux alentours de Metaleurop Nord où ils semblent être résistants à de fortes concentrations. Deux espèces y sont abondantes : *Oniscus asellus* et *Porcellio scaber*.

Bien que les aspects de bioconcentrations métalliques chez les isopodes soient souvent cités dans la littérature, d'autres critères pourraient se révéler intéressants pour l'évaluation de la qualité des sols. En effet, une réduction de la taille maximale chez *P. scaber* a été mise en évidence le long d'un gradient de contamination en ETM des sols (JONES & HOPKIN 1998). PETERS et al. (2001) ont montré par ailleurs qu'il existait une forte asymétrie du nombre d'ommatidies (récepteurs sensible à la lumière qui composent les yeux à facettes de certains arthropodes) chez des populations d'*Armadillidium vulgare* vivant dans des sites contaminés par les ETM.

L'objectif de ce travail a été d'étudier différents paramètres morphologiques et populationnels chez *O. asellus* et *P. scaber* le long d'un gradient de contamination en ETM des sols, afin d'évaluer l'intérêt de l'utilisation de ces paramètres dans le biomonitoring des sites contaminés.

2. Matériel et méthode

2.1 Les sites étudiés

Trois sites (A, B et C) ont été choisis aux alentours de l'ancienne fonderie de Metaleurop Nord le long d'un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn des sols d'habitats ligneux. Le site A se situe à 250 m à l'est de l'usine. Il s'agit d'un petit bosquet fortement anthropisé. Les sols sont de texture limoneuse à limono-argileuse et présentent des signes d'hydromorphie dès la surface. Le site B correspond à un petit bosquet anthropisé situé à 700 m au nord de la fonderie. La texture des sols est à dominance limoneuse, et présente des signes d'hydromorphie dès la surface. Le site C est localisé en lisière de la Forêt Domaniale de Phalempin à 3 km au nord-est de Metaleurop Nord. Les sols sont de texture limono-argileuse et reposent vers 80 cm sur une argile. Des signes d'hydromorphie apparaissent dès la surface.

2.2 Echantillonnage et caractérisation physico-chimique des sols

Sur chacun des sites, l'horizon organo-minéral supérieur (0-25 cm) a été échantillonné au moyen

d'une tarière. Il s'agit d'échantillons composites constitués d'une quinzaine de prélèvements élémentaires. Les échantillons ont été séchés à l'air ambiant puis tamisés à 2 mm. Le pH_{eau} et la concentration en CaCO₃ totale ont été mesurés selon les protocoles standard NF ISO 10390 et NF ISO 10693 respectivement. La capacité d'échange cationique (CEC) a été mesurée selon le protocole NF X 31.130. Un aliquot a été broyé pour passer au travers d'un tamis de 250 µm. La minéralisation a été réalisée selon le protocole NF X 31-147. Les teneurs totales en Cd, Pb et Zn ont été déterminées par ICP-AES.

2.3 Echantillonnage et dénombrement de la pédofaune

Afin de caractériser de façon plus approfondie les milieux de vie des isopodes terrestres, la pédofaune associée a été échantillonnée. En juin 2006, sept pièges de type Baber distants de 1 m les uns des autres ont été disposés sur chacun des trois sites afin de capturer les invertébrés rampants. Les récoltes ont été réalisées hebdomadairement durant les trois semaines de l'expérimentation. La campagne a été complétée par trois prélèvements composites de litière et de bois mort pour récolter plus spécifiquement les isopodes. Les spécimens ont été conservés dans l'éthanol 75°, et identifiés jusqu'à l'espèce chaque fois que cela était possible. Les abondances taxonomiques de l'ensemble des groupes faunistiques et les abondances spécifiques des isopodes terrestres ont été déterminées en cumulant les effectifs des deux types de collecte.

2.4 Mesures et analyses biométriques des isopodes terrestres

Les mesures biométriques ont été réalisées sur *O. asellus* et *P. scaber*. Après détermination du sexe et du poids de chacun des individus, la taille (de l'extrémité du céphalon au telson), la longueur des antennes (du céphalon au dernier flagelle) et la taille des œufs ont été mesurées à l'aide d'une loupe binoculaire (ZEISS Discovery.V8) et d'un réticule micrométrique (100 µm de précision). Le nombre d'œufs pour chacune des femelles gravides a été comptabilisé. La figure 1 schématise la morphologie générale d'un isopode terrestre. Les relations entre la taille et le poids des individus prélevés sur chacun des sites ont été étudiées au moyen de régressions linéaires et d'analyses de corrélations (logiciel XLSTAT). La croissance relative des individus peut s'exprimer par une relation d'allométrie (HUXLEY 1933) selon l'équation $Y = b.X^k$, où Y représente le poids des individus, X la taille, b une constante et k le coefficient d'allométrie. Les variables ont subi une transformation logarithmique selon la formule : $\text{Log } Y = k \text{ Log } X + \text{Log } b$. Le coefficient d'allométrie (k), l'intervalle de confiance de k à

95% et le coefficient de détermination (r^2) ont été déterminés. Il est classiquement admis qu'un coefficient d'allométrie égale à 3 correspond à une croissance isométrique et qu'un coefficient supérieur à 3 atteste une allométrie majorante (croissance plutôt en poids), tandis qu'une valeur inférieure à 3 indique une allométrie minorante (croissance plutôt en taille).



Figure 1. Morphologie générale de *Porcellio scaber*, vue dorsale. Antenne (a), flagelle (b), ommatidies (c), céphalon (d) et telson (e).

2.5 Analyse statistique des données

Des tests χ^2 au risque de 5% ont été réalisés afin de comparer la composition des populations (sexe-ratio et % de femelles gravides) entre les sites A, B et C. Les différents paramètres morphologiques mesurés ont été comparés entre les différents sites à l'aide de tests statistiques non paramétriques (test U de Mann-Whitney, logiciel Statistica). Parallèlement, les 20 à 30 plus grands individus de chaque espèce ont été isolés en distinguant les sexes et les femelles gravides, afin de réaliser des analyses statistiques similaires. Il est fait l'hypothèse que de travailler sur les individus les plus grands minimise les erreurs de mesures tout en renforçant la robustesse statistique des relations recherchées.

3. Résultats

3.1 Caractéristiques physico-chimiques des sols

Le sol A présente un pH basique, alors que le sol C est acide. Le sol B présente un pH légèrement acide (Tableau 1).

	Site A	Site B	Site C
pH	7,97	6,84	4,23
CaCO ₃ total (g kg ⁻¹)	99,49	<1	<1
MO (g kg ⁻¹)	31,50	72,94	39,17
CEC (cmol kg ⁻¹)	12,54	12,41	7,45
Cd (mg kg ⁻¹)	35,9	16,5	5,4
Pb (mg kg ⁻¹)	989	1160	275
Zn (mg kg ⁻¹)	1442	1200	364

Tableau 1. Caractéristiques physico-chimiques des sols des trois sites étudiés.

Les teneurs en matières organiques des sols des sites A et B sont environ deux fois inférieures à

celles du site B. La CEC est comparable pour les sites A et B. Elle est nettement plus faible pour le site C. Les résultats confirment le gradient présumé de contamination en ETM des sols avec des teneurs variant de 5,4 à 35,9 mg kg⁻¹ pour Cd, entre 275 et 1160 mg kg⁻¹ pour Pb et entre 364 et 1442 mg kg⁻¹ pour Zn.

3.2 Abondance taxonomique

Sur l'ensemble des 6074 individus récoltés, 55 espèces ont été identifiées. Elles se répartissent en 9 groupes faunistiques en abondance variable selon les sites. On constate d'une part, la disparition progressive, le long du gradient de contamination des sols, de groupes réputés sensibles à la pollution comme les vers, les myriapodes, les coléoptères, les arachnides et les gastéropodes, et d'autre part, l'explosion démographique d'autres groupes considérés comme résistants à la pollution métallique tels que les dermaptères, les collemboles et les isopodes. Ce constat se confirme avec une richesse spécifique décroissante selon la contamination : 43 espèces sur le site C, 40 sur le site B et 32 sur le site A (Tableau 2). En revanche, les abondances individuelles ne montrent pas de corrélation avec le gradient de contamination métallique.

Groupes faunistiques	Site A		Site B		Site C	
	R	A	R	A	R	A
Oligochètes	1	4	2	11	2	93
Myriapodes	3	11	5	34	6	117
Coléoptères	13	88	14	124	18	201
Dermaptères	1	183	1	98	1	5
Hyménoptères	1	378	2	129	1	301
Collemboles	1	306	1	1107	1	93
Arachnides	7	99	8	109	6	148
Gastéropodes	2	28	2	46	4	65
Isopodes	3	356	5	1082	4	858
Total	32	1453	40	2740	43	1881

Tableau 2. Richesse spécifique (nombre d'espèces R) et abondance (nombre d'individus A) des groupes faunistiques récoltés sur les sites étudiés.

3.3 Abondance spécifique des isopodes

Sur l'ensemble des trois sites, seules 5 espèces d'isopodes ont été récoltées (Figure 2). Parmi elles, deux espèces sont dominantes : *O. asellus* et *P. scaber*. Cette dernière, est fortement représentée sur les sites A ($n_A=619$) et B ($n_B=587$), alors que son effectif est faible sur le site C ($n_C=14$). En revanche *O. asellus* est représentée de façon quasi similaire sur les trois sites ($n_A=227$, $n_B=366$, $n_C=271$). Parmi les autres espèces récoltées, on constate la présence de *Philoscia muscorum* en faible abondance sur les sites B et C ($n_B=118$, $n_C=52$), ainsi que la présence occasionnelle de *Porcellio dilatatus* et de *Ligidium hypnorum* (respectivement : $n_A=13$, $n_B=6$, $n_C=0$; $n_A=0$, $n_B=5$, $n_C=18$).

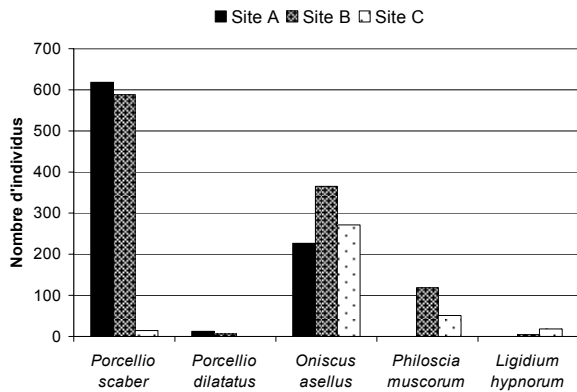


Figure 2. Abondance des différentes espèces d'isopodes terrestres échantillonnées sur les sites A, B et C.

3.3 Paramètres populationnels et morphologiques

Au sein des *O. asellus* et *P. scaber* dénombrés, les paramètres morphologiques ont été étudiés sur un nombre aléatoire d'individus (de 156 à 308 pour *O. asellus* ; 189 et 290 pour *P. scaber*). Du fait de la non représentativité de l'effectif de *P. scaber* sur le site C (n=14), ces individus n'ont pas été pris en compte.

Le sexe-ratio ne diffère pas entre les trois sites pour *O. asellus* et *P. scaber* (respectivement, $\chi^2 = 1,1$, ddl=2, $P = 0,56$; $\chi^2 = 0,6$, ddl=1, $P = 0,43$), mais on remarque un pourcentage de femelles décroissant le long du gradient de contamination des sols (Tableau 3). En revanche le pourcentage de femelles gravides diffère entre les sites pour les deux espèces ($\chi^2 = 38,4$, ddl=2, $P < 0,0001$; $\chi^2 = 3,9$, ddl=1, $P=0,047$). Une diminution du nombre de femelles gravides a été constatée avec l'augmentation de la pollution. Parallèlement, on observe une diminution non significative de la taille et du poids d'*O. asellus*. Cependant, la taille, le poids et la longueur des antennes des individus de *P. scaber* sont plus élevés sur le site A que le site B ($p < 0,05$). On observe aussi une différence significative pour le nombre d'œufs par femelle gravide entre les sites A et B chez *O. asellus*. Par ailleurs la taille des œufs diminue avec l'accroissement de la contamination de manière significative (Figure 3).

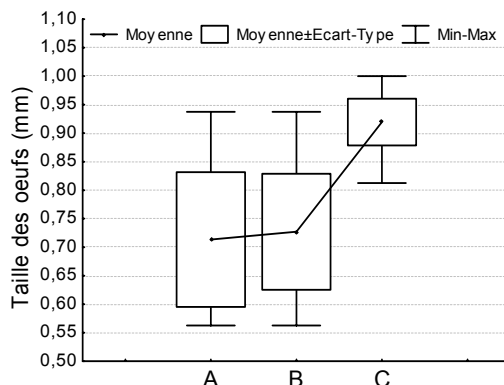


Figure 3. Taille moyenne des œufs (mm) d'*O.asellus* sur les sites A, B et C.

De fortes corrélations linéaires ont été mises en évidence entre la taille et le poids des individus d'*O. asellus* sur les trois sites. Le coefficient de corrélation est supérieur à 0,93 et atteint même 0,97 pour le site C (Figure 4). La corrélation entre ces deux paramètres morphologiques est toutefois moins marquée chez *P. scaber* sur les sites A et B ($r^2=0,67$ et $r^2=0,65$ respectivement)

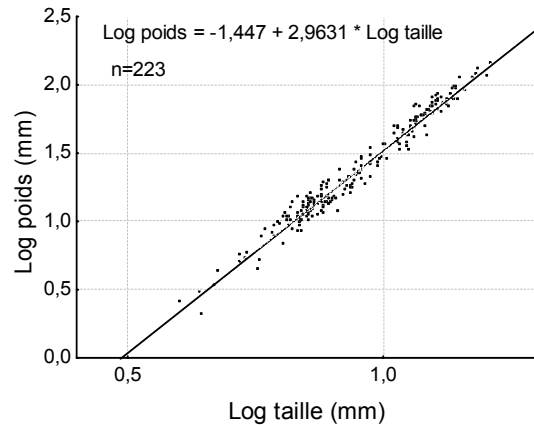


Figure 4. Corrélation entre la taille et le poids des individus d'*Oniscus asellus* sur le site C. Coefficient d'allométrie $k = 2,96$.

Les coefficients d'allométrie sont significativement inférieurs à 3 ($p < 0,05$) pour *O. asellus* sur les sites A et B et indiquent une allométrie minorante. Par contre, ils ne sont pas différents de 3 pour *O. asellus* sur le site C et pour *P. scaber* sur les sites A et B, et attestent d'une croissance isométrique.

Parmi les plus grands individus mâles (n=23) et femelles (n=20) d'*O. asellus*, la taille, le poids, la longueur des antennes et le nombre d'œufs sont en moyenne supérieurs sur le site B. On observe une diminution significative de la taille des œufs avec l'augmentation de la contamination. Les femelles non gravides (n=25) du site C se distinguent de celles du site B par une plus grande morphologie ($p < 0,05$). Les femelles gravides chez *P. scaber* (n=29) sont significativement plus grandes sur le site A que sur le site B ($p < 0,05$).

4. Discussion

Les sols des sites A, B et C présentent des caractéristiques physico-chimiques différentes et un gradient de contamination en ETM. Les teneurs à la surface des sols décroissent avec l'éloignement à la source. Ceci avait déjà été montré pour les sols agricoles. (DOUAY et al 2001; DOUAY et al 2003). Les différences entre les propriétés physico-chimiques des sols pourraient influencer sur la mobilité et la biodisponibilité des ETM dans les sols (PEIJNENBURG et al 1997; LANNO et al 2004) Parmi celles-ci, le pH, la CEC et la teneur en matières organiques jouent un rôle majeur (MA et al 1983; BEYER et al 1987).

Site	Espèce	n♂	n♀NG	n♀G	n total	Sexe-ratio (% femelles)	% femelles gravides	Taille (mm)	Poids (mg)	Longueur des antennes (mm)	Nombre d'œufs par femelle gravide	Taille des œufs (mm)	k	Intervalle de confiance de k à 95%	r ²
A	<i>Oniscus asellus</i>	70	65	21	156	55,13	24,42	9,05±2,56	29,77±25,67	3,54±0,98	28,52±10,86 ^a	0,72±0,12 ^b	2,83	2,71-2,95	0,93
B		131	71	106	308	57,47	59,89	9,19±2,71	30,89±27,16	3,46±1,07	34,05±8,37 ^a	0,73±0,10 ^c	2,83	2,76-2,89	0,95
C		88	48	87	223	60,54	64,44	9,35±2,68	34,13±28,84	3,47±1,10	30,39±9,88	0,90±0,05 ^{bc}	2,96	2,89-3,03	0,97
A	<i>Porcellio scaber</i>	38	104	47	189	57,30	31,13	10,69±6,52 ^a	40,34±17,97 ^a	3,91±0,62 ^a	23,69±9,78	0,87±0,11	2,76	2,48-3,03	0,67
B		67	136	87	290	76,90	39,01	9,66±5,39 ^a	29,34±14,90 ^a	3,58±0,63 ^a	22,45±8,61	0,85±0,12	2,94	2,69-3,19	0,65
A		23	-	-	-	-	-	9,74±0,70 ^a	29,81±10,81 ^a	3,79±0,56 ^a	-	-	-	-	-
B		23	-	-	-	-	-	11,38±0,70 ^{ac}	44,15±6,62 ^{ac}	4,51±0,47 ^{ac}	-	-	-	-	-
C		23	-	-	-	-	-	10,27±0,96 ^c	31,91±7,99 ^c	3,74±0,62 ^c	-	-	-	-	-
A	<i>Oniscus asellus</i>	-	-	20	-	-	-	12,40±1,65 ^a	66,15±22,93 ^a	4,56±0,59 ^a	27,65±8,28 ^{ab}	0,71±0,10 ^b	-	-	-
B		-	-	20	-	-	-	14,82±0,57 ^{ac}	92,48±10,84 ^{ac}	5,28±0,45 ^{ac}	40,8±5,9 ^{ac}	0,72±0,08 ^c	-	-	-
C		-	-	20	-	-	-	13,23±0,52 ^c	79,33±7,36 ^c	4,96±0,28 ^c	34,55±7,08 ^{bc}	0,91±0,03 ^{bc}	-	-	-
A		-	25	-	-	-	-	11,81±2,10	54,67±24,81 ^b	4,56±0,84 ^a	-	-	-	-	-
B		-	25	-	-	-	-	10,74±1,55 ^c	41,96±19,32 ^c	3,92±0,64 ^{ac}	-	-	-	-	-
C		-	25	-	-	-	-	13,31±1,09 ^c	80,76±21,05 ^{bc}	4,71±0,87 ^c	-	-	-	-	-
A		30	-	-	-	-	-	10,31±1,15	34,28±12,43	4,29±0,77	-	-	-	-	-
B		30	-	-	-	-	-	10,52±0,83	34,26±13,55	4,26±0,53	-	-	-	-	-
A	<i>Porcellio scaber</i>	-	-	29	-	-	-	11,66±0,57 ^a	58,23±17,11	4,27±0,33	24,17±10,73	0,86±0,08	-	-	-
B		-	-	29	-	-	-	11,09±0,39 ^a	47,46±10,43	4,15±0,33	27,31±7,28	0,91±0,10	-	-	-
A		-	30	-	-	-	-	11,20±0,78	50,81±13,06	4,12±0,33	-	-	-	-	-
B		-	30	-	-	-	-	11,20±0,69	47,09±10,80	4,23±0,50	-	-	-	-	-

Tableau 3. Paramètres morphologiques et populationnels chez *Oniscus asellus* et *Porcellio scaber* (mâles, femelles non gravides NG et femelles gravides G) collectés sur les sites A, B et C. Les paramètres biométriques sont exprimés en moyenne ± écart-type. k représente le coefficient d'allométrie et r² le coefficient de détermination. ^a : différence significative (p<0.05) entre les sites A et B ; ^b : entre les sites A et C ; ^c : entre les sites B et C.

Des pH acides tendent à accroître la mobilité et la biodisponibilité des ETM, alors que des teneurs élevées en matières organiques et en argile favorisent l'immobilisation par complexation des ETM (SAUVE 2002; LUKKARI et al 2004). Au regard des caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés, il est à penser que les ETM présentent des comportements différents. Bien que les concentrations soient les plus faibles pour le sol C, les éléments pourraient être davantage mobiles (pH acide et faible CEC). A l'inverse, la mobilité pourrait être moindre dans le sol du site A, du fait notamment d'un pH alcalin et d'une teneur en carbonate totale élevée par rapport au site B. La collecte de la pédofaune a montré une diminution de la richesse spécifique avec l'accroissement de la contamination. Ces observations corroborent des travaux antérieurs réalisés sur le secteur étudié (GRELLE 1998; GRELLE et al 2000) qui avaient montré la disparition progressive, le long d'un gradient de contamination des sols, d'organismes sensibles tels que les vers de terre, les gastéropodes et les coléoptères. En revanche, les collemboles et les isopodes sont très présents sur l'ensemble des sites à proximité de Metaleurop. Les isopodes sont capables d'accumuler de fortes concentrations en ETM et les effets létaux apparaissent à des stades d'accumulation avancés (CORTET et al 1999).

Au regard des 14 espèces d'isopodes communément recensées dans le Nord de la France, la richesse spécifique des isopodes au sein de chacun des trois sites s'avère relativement faible. En outre, *O. asellus* et *P. scaber* sont bien représentés sur le site étudié. Leurs fortes abondances reflètent probablement une grande diversité des microhabitats et une bonne qualité de la nourriture (RUSHTON & HASSALL 1983). On peut donc déduire de ceci que les conditions des sites A et B seraient plus favorables au développement des populations d'*O. asellus* et de *P. scaber*, alors que sur le site C, *P. scaber* est très peu présent. Or ce site a été choisi dans un milieu forestier peu anthropisé et donc *a priori* plus propice au développement des isopodes. Ce constat peut être rapproché des observations de VILISICS (2007) qui a montré une diminution du nombre d'individus de différentes espèces d'isopodes dont *O. asellus* et *P. scaber* avec la réduction de l'urbanisation. L'acidité du sol C et l'engorgement temporaire de ce dernier en période hivernale pourraient expliquer la faible abondance de *P. scaber* dont les paramètres populationnels sont connus pour dépendre du pH et de l'activité microbienne des litières (ZIMMER & TOPP 1997).

Entre les sites, aucune différence n'a été montrée concernant le sexe-ratio des deux espèces. Toutefois, au sein d'un même site, ce sexe ratio est déséquilibré en faveur des femelles. Ceci est généralement observé chez les deux espèces

(VANDEL 1941; MEINERTZ 1950). Cependant, une diminution du pourcentage de femelles gravides est observée chez *O. asellus* et *P. scaber* lorsque la contamination des sols augmente. Il est à penser que le coût énergétique lié à la détoxification induit un faible investissement des réserves énergétiques pour la reproduction. En effet, différents auteurs ont montré qu'un stress engendré par un environnement pollué peut induire un accroissement des dépenses énergétiques des organismes en liaison avec la mise en place de mécanismes de défense, de réparation physiologique ou à un comportement d'évitement (SIBLY & CALOW 1989; WIDDOWS & DONKIN 1992). DONKER (1992) a observé plus particulièrement une diminution des réserves énergétiques de *P. scaber* vivant sur des sites contaminés par des ETM.

Le faible taux de femelles gravides observé en juin 2006 chez *P. scaber* en comparaison avec *O. asellus* s'explique par un décalage des périodes de reproduction des espèces. En effet, *P. scaber* se reproduit de la fin du printemps à l'été, alors qu'*O. asellus* se reproduit plutôt en été jusqu'au début de l'automne (ZIMMER 2004).

Une différence de la taille des œufs d'*O. asellus* est observée entre le site C et les sites A et B plus contaminés. Elle pourrait aussi s'expliquer par le coût de la détoxification et la diminution des réserves énergétiques.

Une diminution de la taille et du poids chez *O. asellus* est observée avec l'accroissement de la contamination des sols, même si elle n'est pas significative. Ce constat n'est pas vérifié pour *P. scaber* pour lequel la taille, le poids et la longueur des antennes sont supérieurs sur le site A ($p < 0,05$). Ce constat va à l'encontre de celui de JONES & HOPKIN (1998) qui ont montré une réduction de la taille de *P. scaber* dans un environnement pollué par les ETM. Cette réduction n'a pas été observée entre les sites A et B bien que le degré de contamination des sols décroisse pour Cd et Zn. L'explication pourrait résider dans un comportement différent des ETM au regard notamment d'un pH du sol A plus élevé A, lequel pourrait induire une moindre mobilité des polluants, voire de leur biodisponibilité.

Les régressions établies entre la taille et le poids des individus montrent qu'il existe de fortes corrélations entre ces deux paramètres pour *O. asellus*. Elles sont moins significatives chez *P. scaber*. Pour les deux espèces, ces relations ne semblent pas être affectées par les caractéristiques des sites étudiés. Ces observations pourraient dans des études ultérieures, conduire à privilégier les individus les plus grands lors de la caractérisation de certains paramètres biométriques. Plusieurs arguments plaident en faveur de ce choix : minimisation des erreurs de mesures, extrapolation des données aux individus les plus petits et probabilité plus

grande d'avoir des femelles gravides dans l'échantillon.

Les coefficients allométriques k attestent l'existence d'une allométrie minorante chez *O. asellus* pour les sites A et B, laquelle signifie que la croissance s'effectue plutôt en taille qu'en poids. En revanche, il a été observé chez *O. asellus* sur le site C et chez *P. scaber* sur les sites A et B, des coefficients allométriques non significativement différents de 3. Ce constat indique une croissance isométrique, à savoir une proportionnalité de la taille et du poids conservée lors de la croissance. Dans le cas présent, une allométrie minorante pourrait s'expliquer par une sollicitation plus importante des réserves énergétiques nécessaires à la mise en place de mécanismes de défense, qui induirait une perte en poids des individus. De ce fait, il semble que le degré de contamination des sols du site C ne constitue pas une contrainte suffisante pour générer un stress perturbant la croissance d'*O. asellus*. En revanche, les constats réalisés sur les sites A et B pour *P. scaber* restent difficiles à interpréter. La valeur de k plus faible pour *P. scaber* sur le site A au regard du site B laisse penser que le stress environnemental subit par les individus perturbe davantage leur croissance. Néanmoins, statistiquement, aucune différence n'est observée par rapport au coefficient isométrique ($k=3$). La présence en abondance de juvéniles dans les populations étudiées (comme le laisse penser les écart-types des paramètres morphologiques) pourrait influencer sur le coefficient k . Il conviendrait donc à l'avenir d'étudier la croissance des isopodes par classes de taille.

Aujourd'hui, certaines espèces (*Helix aspersa*, *Eisenia fetida*, *Cetonia aurata* et *Folsomia candida*) sont le support de normes en France et utilisées en laboratoire pour évaluer la santé des écosystèmes terrestres au travers de l'étude de la croissance, de la reproduction ou encore de l'évitement. Ces tests écotoxicologiques restent parfois éloignés des réalités de terrain, du fait de la complexité des interactions entre les systèmes biologiques et les paramètres des milieux.

Bien que très peu étudiés en milieux terrestres, les aspects biométriques pourraient renseigner sur les dysfonctionnements des écosystèmes *in situ*. C'est le cas avec les isopodes terrestres tels que *O. asellus* et *P. scaber* qui apparaissent comme des candidats potentiels pour l'évaluation de la qualité des sols compte tenu de leur abondance sur les sites contaminés. Les résultats obtenus montrent que la biométrie chez ces espèces pourrait être un outil simple et efficace en termes de biomonitoring sur les sites pollués par les ETM. Il a en effet été montré une diminution de la taille des œufs chez *O. asellus* avec l'accroissement de la contamination. Dans les prochaines étapes du travail, d'autres paramètres biométriques, tels que la largeur du

céphalon et la taille des appendices (antennes, pattes), seront étudiés pour confirmer l'intérêt de l'outil proposé.

Remerciements

Les auteurs remercient l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) ainsi que l'Université Catholique de Lille pour leur soutien financier.

Références

- BEYER, W. N., HENSLER, G., MOORE, J. (1987) Relation of pH and other soil variables to concentrations of Pb, Cu, Zn, Cd, and Se in earthworms. *Pedobiologia* 30: 167-172
- CORTET, J., GOMOT-DE VAUFLERY, A., POINSOT-BALAGUER, N., GOMOT, L., TEXIER, C., CLUZEAU, D. (1999) The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.* 35: 115-134
- DONKER, M. H. (1992) Energy Reserves and Distribution of Metals in Populations of the Isopod *Porcellio scaber* from Metal-Contaminated Sites. *Functional Ecology* 6: 445-454
- DOUAY, F., PERDRIX, E., FOURRIER, H., PLAISANCE, H. (2001) Programme de Recherches Concertées. *Environnement et Activités humaines*. Cartographie des teneurs en cadmium, plomb et zinc dans les horizons organo-minéraux des parcelles agricoles autour des sites métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. 27 p
- DOUAY, F., PRUVOT, C., FOURRIER, H., WARIN, A. (2003) Evaluation du degré de contamination des pelouses autour des industries métallurgiques d'Auby et de Noyelles-Godault. Proposition d'une démarche en vue d'intégrer ces espaces récréatifs lors des diagnostics environnementaux. Document Programme Régional Action Santé Environnement - ISA: 173 p
- DOUAY, F., PRUVOT, C., ROUSSEL, H., CIESIELSKI, H., FOURRIER, H., PROIX, N., WATERLOT, C. (2008) Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters. *Water Air and Soil Pollution* 188: 247-260
- GODIN, P., FEINBERG, M., DUCAUZE, C. (1985) Modelling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environ pollut ser B* 10: 97-114
- GRELLE, C. (1998) Impact des métaux lourds sur les peuplements de macroinvertébrés de la faune du sol - Influence du cadmium et du plomb sur différents aspects de la physiologie de deux modèles biologiques : *Lithobius forficatus* (Myriapode Chilopode) et *Eisenia fetida* (Annélide Oligochète). Université de Lille 1, Villeneuve-d'Ascq, FRANCE (Université de soutenance)
- GRELLE, C., FABRE, M.-C., LEPRETRE, A., DESCAMPS, M. (2000) Myriapod and isopod

- communities in soils contaminated by heavy metals in northern France. *European Journal of Soil Science* 51: 425-433
- HOPKIN, S. P. (1989) Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Sciences, London: 1-366
- HUXLEY, J. S. (1933) Problems of Relative Growth. *J. Anat.* 67: 484-485
- JONES, D. T., HOPKIN, S. P. (1998) Reduced survival and body size in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from a metal-polluted environment. *Environmental Pollution* 99: 215-223
- KANG, S. G., CHOI, M. S., OH, I. S., WRIGHT, D. A., KOH, C. H. (1999) Assessment of metal pollution in Onsan Bay, Korea using Asian periwinkle *Littorina brevicula* as a biomonitor. *Sci. Total Environ.* 234: 127-137
- KOECKRITZ, T., IRMLER, U., WEPPE, P. (1999) Heavy metal content in *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta, Lumbricidae) in the city of Kiel (Germany, Schleswig-Holstein). *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 162: 477-482
- LANNO, R., WELLS, J., CONDER, J., BRADHAM, K., BASTA, N. (2004) The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 39-47
- LOUREIRO, S., SAMPAIO, A., BRANDAO, A., NOGUEIRA, A. J. A., SOARES, A. M. V. M. (2006) Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment* 369: 119-128
- LUKKARI, T., TAAVITSAINEN, M., VAISANEN, A., HAIMI, J. (2004) Effects of heavy metals on earthworms along contamination gradients in organic rich soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59: 340-348
- LUTTRINGER, M., DE CORMIS, L. (1979) La pollution par les métaux lourds à Noyelles-Godault et ses environs (Pas de Calais). INRA - Station d'Etude de la pollution atmosphérique: 12 p et annexes
- MA, W., EDELMAN, T., VAN BEERSUM, I., JANS, T. (1983) Uptake of cadmium, zinc, lead, and copper by earthworms near a zinc-smelting complex: influence of soil pH and organic matter. *Bull Environ Contam Toxicol* 30: 424-7
- MEINERTZ, T. (1950) Ueber die Geschlechtsverhältnisse und die Brutzeit der dänischen Landisopoden. *Archivum Societatis zoologicae-botanicae fennicae Vanamo* 4: 143-150
- NICOLAIDOU, A., NOTT, J. A. (1998) Metals in sediment, seagrass and gastropods near a nickel smelter in Greece: possible interactions. *Mar. Pollut. Bull.* 36: 360-365
- PEIJNENBURG, W. J. G. M., POSTHUMA, L., EIJSACKERS, H. J. P., ALLEN, H. E. (1997) A Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes. *Ecotoxicology And Environmental Safety* 37: 163-172
- PETERS, E. L., KAUFMANN-DASZCZUK, B., BRANT, H. A., JAGOE, C. H., RICHTER, R. (2001) In: Element concentrations and fluctuating asymmetry in a terrestrial isopod (*Armadillidium vulgare*) in metropolitan Chicago Parklands. Department of Biological Sciences, Chicago State University, p 1p
- RUSHTON, S. P., HASSALL, M. (1983) The effects of food quality on the life history parameters of the terrestrial isopod (*Armadillidium vulgare* (Latreille)). *Oecologia* 57: 257-261
- SAUVÉ, S. (2002) Speciation of metals in soils Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems : Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes, and Plants, pp 7-37
- SIBLY, R. M., CALOW, P. (1989) A life-cycle theory of responses to stress. *Biological Journal of the Linnean Society* 37: 101-116
- STERCKEMAN, T., DOUAY, F., FOURRIER, H., PROIX, N. (2002) Référentiel Pédologie-Géochimique du Nord-Pas de Calais. Rapport technique, Conseil Régional Nord-Pas de Calais - Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement: 128 p
- VANDEL, A. (1941) Recherches sur la génétique et la sexualité des isopodes terrestres. VII. Sur la longévité des spermatozoïdes à l'intérieur de l'ovaire d'*Armadillidium vulgare*. *Bulletin biologique de la France et de la Belgique* 75: 364-368
- VILISICS, F., ELEKA, Z., LOVEI, G. L., HORNING, E. (2007) Composition of terrestrial isopod assemblages along an urbanisation gradient in Denmark. *Pedobiologia* 51: 45-53
- WIDDOWS, J., DONKIN, P. (1992) Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects, in *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture*. In: (ed), G. E. (ed.). Elsevier, Amsterdam
- ZIMMER, M. (2004) Effects of temperature and precipitation on a flood plain isopod community: a field study. *European Journal of Soil Biology* 40: 139-146
- ZIMMER, M., TOPP, W. (1997) Does leaf litter quality influence population parameters of the common woodlouse, *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)? *Biol Fertil Soils* 24: 435-441
- ZODL, B., WITTMANN, K. J. (2003) Effects of sampling, preparation and defecation on metal concentrations in selected invertebrates at urban sites. *Chemosphere* 52: 1095-1103

B) Etude de la variabilité biométrique de populations d'isopodes au regard des caractéristiques physico-chimiques des sols

Avant - propos

*Cette étude a pour objectif de caractériser des populations d'isopodes (*P. scaber* et *O. asellus*) vivants dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais, non ou massivement contaminés par des ETM, et ce au regard des caractéristiques pédologiques et physico-chimiques des sols et des teneurs internes en ETM des isopodes.*

Les outils mis en jeu sont ceux de l'écologie de terrain avec des paramètres tels que l'abondance, le sexe ratio ou encore des paramètres liés à la reproduction (structuration par âge, nombre et taille des œufs...). Toutefois, l'objectif de ce travail a été d'étudier spécifiquement des paramètres biométriques. Cette approche a concerné différentes mesures telles que la masse, la taille, la largeur du céphalon et la longueur d'appendices tels que les antennes et les péréiopodes. Cette étude répond spécifiquement à 3 questions :

- *Existe-t-il une variabilité biométrique chez des populations d'isopodes issues d'habitats non massivement contaminés par des ETM ?*
- *Existe-t-il une variabilité biométrique saisonnière ?*
- *Existe-t-il un lien entre la biométrie des individus et les caractéristiques de leurs milieux de vie dont la contamination des sols ?*

Par ailleurs, la caractérisation des milieux de vie a concerné des paramètres pédologiques (profil et la texture des sols, le type d'humus...) et des paramètres physico-chimiques (pH, teneurs en CaCO₃ total et en matière organique, ratio C/N, et les concentrations en Cd, Pb et Zn) et ce, en considérant différents horizons des sols (OL, OF et A).

1. Matériels et méthodes

1.1. Les sites et les stations étudiées

Au cours de 3 saisons successives (automne 2007, printemps et automne 2008), 44 stations ont été prospectées dans la région Nord – Pas de Calais le long d'un gradient de continentalité, allant du littoral vers le massif ardennais. Chaque station correspond à une zone d'une centaine de m², plus ou moins anthropisée, située dans des habitats ligneux (forêts, bois ou bosquet). Elles s'étendent du Boulonnais à l'Avesnois, couvrant ainsi l'ensemble du territoire régional et l'étendue des variations pédo-climatiques (Figure 20).

▪ Le premier objectif spécifique de cette étude reposait sur l'inventaire et la caractérisation de populations d'isopodes (*P. scaber* et *O. asellus*), issues de stations non massivement contaminées par des ETM, et ceci afin d'établir une distribution des paramètres biométriques à l'échelle de la région. Pour cela, 34 stations ont été prospectées à l'automne 2007. Parmi-elles, 11 stations dont les sols sont connus pour être non massivement contaminés par des ETM ont été choisies sur la base de données du Référentiel Pédo-Géochimique (RPG) du Nord – Pas de Calais (Sterckeman et al., 2002). Ces stations peuvent être regroupées en 4 sites distincts :

- **BOU** : Forêt Domaniale de Boulogne (stations BOU 1 et BOU 2),
- **MAR** : Forêt Domaniale de Marchiennes (stations MAR 1, MAR 2 et MAR 3),
- **RSAW** : Forêt Domaniale de Raismes - Saint-Amand - Wallers (stations RSAW 1 et RSAW 2),
- **MOR** : Forêt Domaniale de Mormal (stations MOR 1, MOR 2 et MOR 3).

La 11^{ème} station (CAM), choisie aussi sur la base du RPG, se situe dans un bois du Cambrésis. Les 23 autres stations (S₁ à S₂₃) correspondent à des habitats ligneux qui ont été choisis en lien avec leur localisation, à savoir l'éloignement par rapport à toute source potentielle de contamination.

▪ Le deuxième objectif spécifique a concerné l'étude de la variabilité biométrique saisonnière de populations d'isopodes (*P. scaber*) issues d'habitats ligneux non ou massivement. Pour cela, les isopodes ont été collectés à l'automne 2008 sur les 20 stations prospectées au printemps 2008.

▪ Le troisième objectif spécifique visait à étudier la variabilité biométrique de populations d'isopodes (*P. scaber* et *O. asellus*) d'une part, au regard des caractéristiques pédologiques et

physico-chimiques des sols dont la contamination par des ETM et d'autre part, au regard des bioconcentrations en ETM des isopodes. Ce travail a concerné un total de 20 stations. Il s'agit de 10 stations non massivement contaminées prospectées à l'automne 2007 (BOU 1, BOU 2, MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3) et de 10 stations situées à proximité de sites métallurgiques (en activité ou non). Ces dernières stations ont été choisies parmi les quatre contextes industriels présentés dans le chapitre I correspondant à 4 sites distincts :

- **APO** : 2 stations (APO 1 et APO 2) sont situées à proximité de l'ancienne usine de ferromanganèse des Aciéries Paris Outreau (APO) située à Manihen,
- **MET** : 3 stations (MET 1, MET 2 et MET 3) sont situées à proximité de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord située à Noyelles-Godault,
- **UMI** : 3 stations (UMI 1, UMI 2 et UMI 3) sont situées à proximité d'Umicore à Aubry, usine de zinc en activité,
- **CRAM** : 2 stations (CRAM 1 et CRAM 2) concernent la friche de la CRAM à Mortagne-du-Nord.

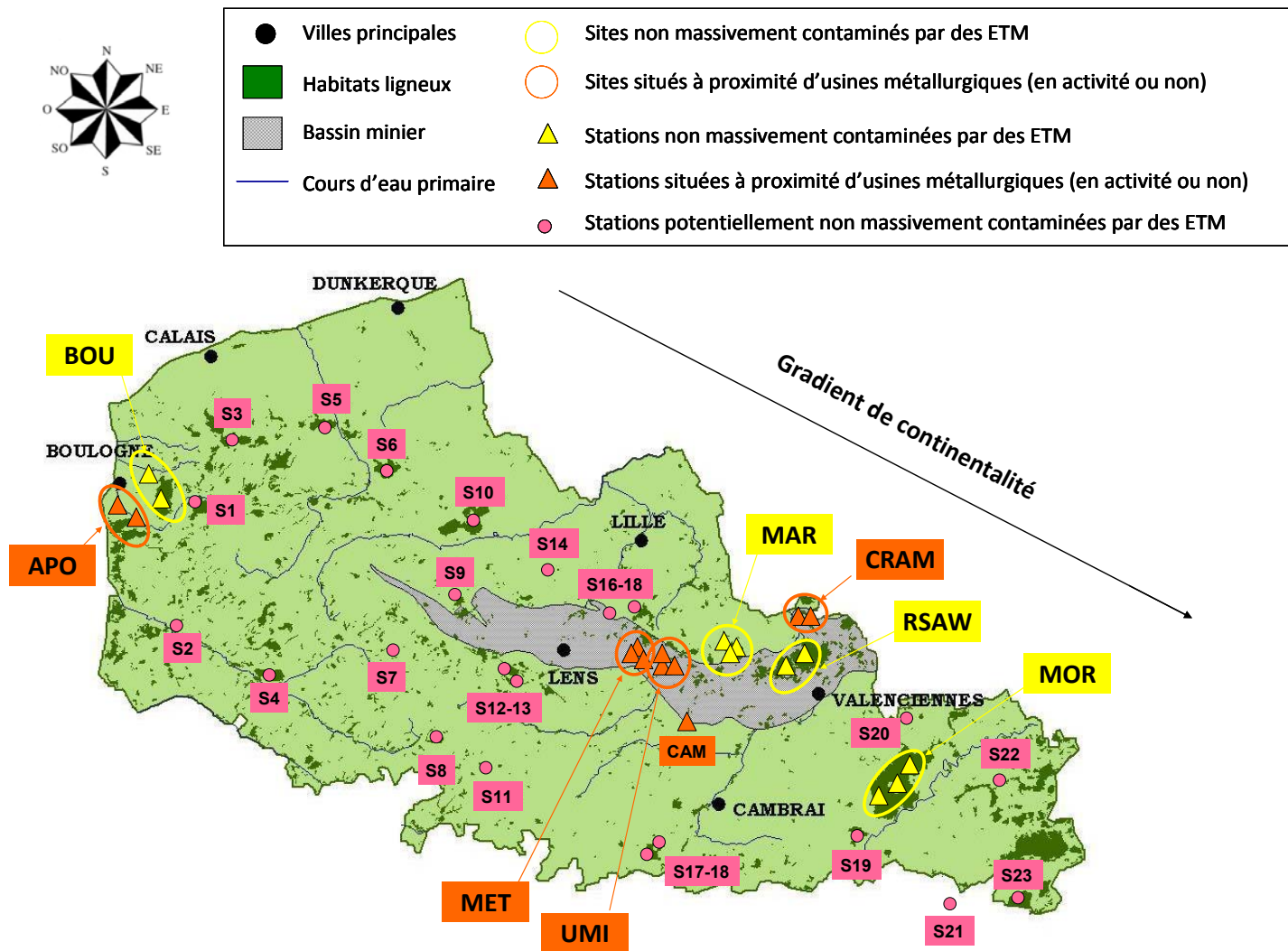


Figure 20 : Localisation géographique des 8 sites et 44 stations étudiées.

1.2. Caractérisation pédologique et physicochimique des sols

1.2.1. Stratégie d'échantillonnage

Dans un premier temps, afin d'évaluer le degré de contamination en ETM des sols de chacune des stations étudiées, l'horizon 0 – 25 cm a été prélevé en dessous des litières à l'aide d'une gouge, et un échantillon composite a été constitué à partir de 7 prélèvements répartis sur la zone d'étude. Cette approche constitue un premier indicateur de la contamination des sols, transposable à d'autres contextes environnementaux.

Dans un second temps, une caractérisation plus précise des sols a été réalisée sur chacune des 20 stations retenues pour le suivi saisonnier (printemps et automne 2008). Des sondages à la tarière ont été réalisés jusqu'à une profondeur maximale de 1,20m, afin de déterminer la typologie dominante des sols, d'évaluer la variabilité de l'épaisseur des différents horizons et ainsi de juger de l'hétérogénéité spatiale des sols. Des tests de réaction à l'HCl (effervescence) ont ensuite permis d'évaluer la présence de carbonates. En fonction de l'hétérogénéité spatiale des sols, une ou trois fosses ont été creusées (jusqu'à 60 cm de profondeur) sur chacune des 20 stations, afin d'une part, de décrire les horizons supérieurs des sols et d'autre part, de prélever des échantillons destinés à l'analyse. En fonction du profil pédologique des sols de chacune des stations, plusieurs horizons ont été définis (OLn, OLv, OF, OH, A et B). Pour chaque horizon, trois échantillons de terre et de litière ont été prélevés et placés dans des sacs en polypropylène.

1.2.2. Préparation et stockage des échantillons

Au laboratoire, les horizons OL et OF ont été débarrassés des constituants indésirables (animaux, bois mort...). Les échantillons ont été séchés (<40°C), puis broyés manuellement ou à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Une part représentative des échantillons a été prélevée, puis tamisée sur une maille de 2 mm. Pour les litières (horizon OL), un aliquot des échantillons (<2 mm) a été broyé à l'aide d'un broyeur à couteau (Grindomix, Rescht), puis tamisé pour passer au travers d'une maille de 350 µm. Pour les horizons sous-jacents (OF, OH et A) et les échantillons constitués à la gouge (horizon 0 – 25 cm), un aliquot a été broyé à l'aide d'un broyeur centrifuge (Rescht) pour passer au travers d'un tamis de 250 µm. Les échantillons ont été stockés dans des pots en polypropylène.

1.2.3. Minéralisation des échantillons et dosage des ETM

La minéralisation a été réalisée avec les échantillons broyés à 315 µm pour les horizons OL, et avec les échantillons broyés à 250 µm pour les horizons 0 – 25 cm, OF, OH et A.

Pour les horizons 0 – 25 cm des sols, un aliquot de 300 mg par échantillon a été minéralisé au Hotblock (SC-154) à l'eau régale (4,5 mL d'HCl à 37% + 1,5 mL d'HNO₃ à 69%) et 0,5 mL d'H₂O₂ (Baker for metal trace element analysis, Deventer), durant 1 h 15 à 95°C.

Pour les autres horizons (OL, OF, OH et A), un aliquot de 300 mg par échantillon a été minéralisé dans un four à micro-ondes (MWS-2, Berghof) à l'eau régale et 0,5 mL d'H₂O₂. Les solutions obtenues ont ensuite été filtrées sur des membranes d'acétate de cellulose d'une porosité de 0,45 µm (Minisart, Sartorius stedim) et le volume a été ajusté à 25 mL avec de l'eau osmosée.

Afin d'estimer la mobilité des ETM dans les horizons OL, OF, OH et A des sols, un aliquot de 3 g par échantillon a été mélangé à l'aide d'un rotor avec 30 mL de CaCl₂ à 0,01 M durant 2 heures, puis centrifugé durant 20 minutes à 4 500 g. Le surnageant a ensuite été filtré sur des membranes d'acétate de cellulose d'une porosité de 0,45 µm (Minisart, Sartorius stedim) et 92 µL d'HNO₃ (69%) ont été ajoutés.

Les solutions ont été stockées à 4°C jusqu'au dosage des ETM. Les concentrations en Cd, Pb, Zn et Cu (pseudo-totales et extraites au CaCl₂) ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique (AA-6800, Shimadzu), la flamme ou au four selon les concentrations des ETM.

1.2.4. Humidité résiduelle

Le taux d'humidité résiduelle des échantillons de sol (broyés à 250 ou 315 µm) a été déterminé selon la norme NF ISO 11465. Il a permis d'exprimer les concentrations pseudo-totales mesurées en mg kg⁻¹ (poids sec à 105°C).

1.2.5. pH

Le pH_{eau} a été déterminé sur les échantillons broyés à 2 mm selon la norme NF ISO 10390.

1.2.6. Teneurs en MO

Les teneurs en MO ont été déterminées par perte au feu après calcination selon une méthode inspirée par plusieurs auteurs (Dean, 1974 ; Bengtsson and Enell, 1986 ; Heiri et al., 2001). En effet, la calcination à température élevée d'un l'échantillon de sol induit la volatilisation de la MO. Le matériel après calcination correspond à la fraction minérale de l'échantillon. La différence de masse entre cette fraction minérale et l'échantillon sec de départ correspond à la « perte au feu » et correspond à la quantité de MO de l'échantillon lorsque celui-ci est peu ou pas carbonaté. Néanmoins, cette fraction organique peut être surestimée sur les matériaux fortement carbonatés. Les températures de calcination citées dans la littérature sont nombreuses et s'échelonnent de 350 à 900°C. La température la plus fréquemment citée pour les sédiments et les sols agricoles est 500°C.

De fortes températures (au-delà de 700°C) peuvent entraîner une volatilisation des ETM tels que Cd, Pb et Zn. Du fait des fortes teneurs en MO des horizons OL, OF et OH, il a été choisi, comme le suggère Baize (2000), de calciner l'ensemble des échantillons à 650°C.

1.2.7. Teneurs en CaCO₃ total

Les teneurs en CaCO₃ total des échantillons ont été déterminées selon la norme NF ISO 10693, sur les échantillons tamisés à 2mm par réaction à l'acide chlorhydrique (69%).

1.2.8. Carbone organique et azote total

Les dosages ont été réalisés au moyen d'un TOC (total organic carbon) au Laboratoire d'analyse des sols de l'INRA d'ARRAS selon la norme NF ISO 10694 pour la détermination du carbone organique et selon la norme NF ISO 13878 pour la détermination en azote total. Ces dosages ont été réalisés sur les échantillons broyés à 250 ou 315 µm selon les échantillons, et ce pour un échantillon de chaque horizon.

1.3. Mesures biométriques sur les populations d'isopodes

1.3.1. Stratégie d'échantillonnage

Oniscus asellus et *Porcellio scaber* ont été échantillonnés à l'automne 2007 sur les 11 stations non massivement contaminées par des ETM (BOU 1, BOU 2, CAM, MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3) et sur les 23 stations potentiellement non contaminées (S₁ à S₂₃).

Au printemps 2008, ces deux espèces ont été collectées sur 10 stations non massivement contaminées par des ETM (BOU 1, BOU 2, MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3) et sur les 10 stations situées à proximité des sites métallurgiques (APO 1, APO 2, MET 1, MET 2, MET 3, UMI 1, UMI 2, UMI 3, CRAM 1 et CRAM 2).

A l'automne 2008, seul *P. scaber* a fait l'objet d'un échantillonnage sur les 20 stations retenues pour le suivi saisonnier.

Les collectes réalisées à l'automne (2007 et 2008) correspondent à une période qui s'étale de fin octobre à fin novembre. Au printemps 2008, les individus ont été collectés entre mi-mai et mi-juin, à une période correspondant à la reproduction des deux espèces.

Du fait que la localisation des isopodes est souvent spatialement hétérogène et variable dans le temps, plusieurs types d'habitats par stations ont ainsi été prospectés. En effet, les deux espèces ont été collectées manuellement directement dans les litières, sous des pierres, dans des souches ou dans les anfractuosités des arbres, entre l'écorce et l'aubier d'arbres morts, ou encore dans des amas de bois mort.

De plus, en janvier 2008, trois habitats artificiels (Figure 21) ont été déposés sur chacune des 20 stations retenues pour le suivi saisonnier. Ils étaient constitués d'un carré de toile de jute (50 x 50 cm) déposé sur la litière fragmentée et recouvert par une plaque d'Isorel de même dimension, elle-même recouverte de feuilles et d'un lest (pierres, morceaux de bois...) afin de camoufler et d'immobiliser l'habitat. Outre le fait d'augmenter le nombre de niches potentielles, l'intérêt de l'utilisation des habitats artificiels repose sur le fait qu'ils sont moins destructeurs que les prélèvements manuels. Ils permettent de préserver l'habitat naturel, tout en facilitant des échantillonnages successifs au cours du temps sur une même station.



Figure 21 : Habitat artificiel recouvert par une pierre sur le sol de MET 2

De manière à évaluer l'abondance des différentes populations issues de chacune des stations, et ce au cours du temps, une durée d'échantillonnage de deux heures par station a été respectée. Toutefois, sur les stations où les isopodes étaient très abondants, la durée d'échantillonnage a été écourtée. Les prélèvements ont aussi concerné tous les individus quelque soit leur taille. Les isopodes collectés ont été placés dans des sacs en polypropylène avec un échantillon de litière pour leur confort lors du transport.

1.3.3. Mode de conservation et sélection des individus

Au laboratoire, les individus vivants ont été triés des débris végétaux, puis par espèce, et conservés dans des pots en polypropylène de 500 mL contenant 200 mL d'éthanol à 70%. Cette quantité d'éthanol a été jugée suffisante pour une conservation optimale des individus.

Préalablement à l'acquisition des clichés photographiques des différents paramètres biométriques étudiés, les individus ont été lavés 2 x 2 min à l'eau osmosée dans un bain à ultrason, avec un rinçage entre chacun des deux lavages. Les individus ont ensuite été triés par sexe, puis pesés avant d'être stockés individuellement dans des tubes en polypropylène contenant 3 mL d'éthanol à 70% et fermés par un bouchon à ailettes.

A l'automne 2007, la totalité des individus collectés sur les 11 stations non massivement contaminées (BOU 1, BOU 2, CAM, MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3) a été pesée et a fait l'objet de mesures biométriques. Par la suite, compte tenu du temps nécessaire à l'acquisition des données biométriques, il a été décidé de peser et de mesurer sur les 23 stations potentiellement non contaminées (S_1 à S_{23}), jusqu'à 25 individus au maximum par espèces, sexes confondus. Pour cela, ces individus ont été choisis de manière aléatoire parmi la totalité des individus collectés sur une station.

Au printemps 2008, compte tenu des effectifs importants collectés sur certaines des 20 stations prospectées, il a été décidé de ne peser qu'un maximum de 100 individus par station (lorsque l'effectif le permettait), sexes séparés, et pour les deux espèces. Parmi ces individus, les 25 plus lourds, mâles et femelles gravides, par station, ont été sélectionnés pour les mesures biométriques. Ce choix a été basé sur le fait que la taille maximale des individus pouvait être plus pertinente que la sélection aléatoire d'individus. De plus, compte tenu de la dominance des femelles gravides au printemps par rapport aux femelles non gravides, seules les premières ont fait l'objet de mesures biométriques.

A l'automne 2008, la totalité des individus de *P. scaber* collectés sur les 20 stations a été pesée. Parmi eux et pour chaque sexe, 25 individus ont été sélectionnés de manière aléatoire pour les mesures biométriques.

Pour des raisons pratiques lors de l'acquisition des clichés photographiques, seuls les individus dont la masse était supérieure à 10 mg ont fait l'objet de mesures biométriques.

1.3.4. Paramètres biométriques étudiés

Outre l'acquisition de la masse individuelle, les paramètres biométriques ont concerné la taille des individus (de l'extrémité du telson jusqu'à l'extrémité du céphalon), la largeur du céphalon (plus grande distance passant au niveau des ommatidies dans un plan horizontal), la longueur des différents segments des deux antennes, la longueur des différents segments des 6^{ème} et 7^{ème} paires de péréiopodes (Figure 22), ainsi que la taille des œufs chez les femelles gravides (n = 5 par femelle, choisis de manière aléatoire). Le nombre d'œufs par femelle gravide, paramètre directement lié à la reproduction, a également été étudié.

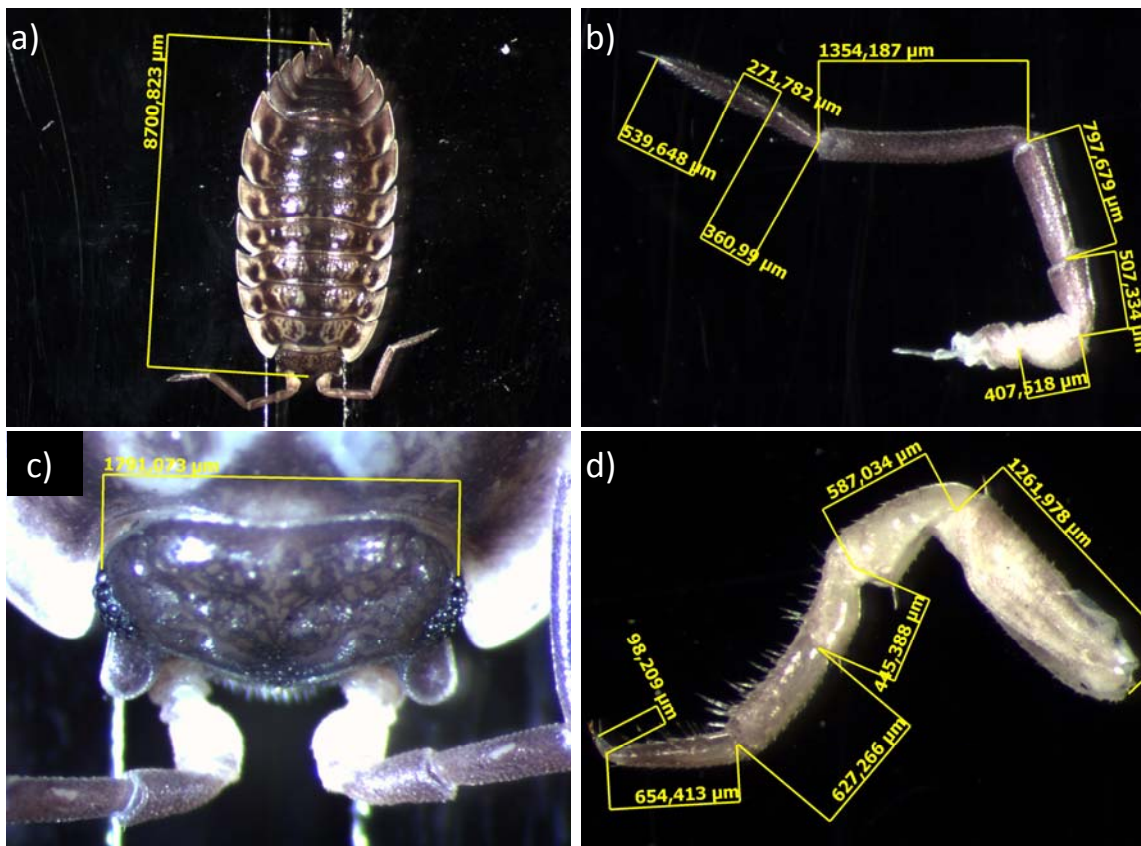


Figure 22 : Paramètres morphologiques mesurés sur les populations d'isopodes. (a) longueur du corps, (b) longueurs des différents articles constituant l'antenne, (c) largeur du céphalon et (d) longueurs des différents articles constituant un péréiopode.

Au regard des objectifs fixés, de l'importance du temps de travail relatif à l'acquisition des paramètres biométriques et des résultats obtenus au cours du temps, les études ont été orientées de la manière suivante :

- à l'automne 2007, l'étude de la variabilité biométrique régionale de populations issues de milieux non contaminés ou potentiellement non contaminés par des ETM a concerné la masse, la longueur des individus, la largeur du céphalon, la longueur des segments de l'antenne gauche et la longueur des segments du 6^{ème} péréiopode gauche, chez les mâles et les femelles des deux espèces ;

- au printemps 2008, l'étude de la variabilité biométrique, au regard des caractéristiques physico-chimiques des sols, a été menée chez des individus des deux espèces, pour lesquels la masse, la taille, la largeur du céphalon, le nombre et la taille des œufs ont été étudiés. De plus, pour *P. scaber*, les mesures ont concerné la longueur des antennes et la longueur des 6^{ème} et 7^{ème} péréiopodes ;
- à l'automne 2008, les mesures ont concerné chez *P. scaber*, la masse, la largeur du céphalon, la longueur des antennes et la longueur des 6^{ème} et 7^{ème} péréiopodes.

1.3.5. Acquisition des clichés photographiques et mesure des individus

Les paramètres biométriques ont été acquis au moyen d'une loupe binoculaire (ZEISS Discovery.V8) munie d'une camera numérique couleur (ZEISS Axiocam ICc3) et d'un logiciel de traitement d'images (Axiovision, version 4.6) (Figure 23a). Les prises de mesures ont été réalisées avec une précision de l'ordre du dixième de micromètre.

Les clichés photographiques ont été réalisés au moyen d'un support constitué de lames de verre (Figure 23b) permettant ainsi de limiter les erreurs de mesure liées notamment à la courbure du corps de l'animal. Les péréiopodes placés dans le vide permettent de positionner l'animal dans un unique plan horizontal en le maintenant à plat à l'aide une lame de verre déposée sur la face dorsale. Cette disposition a permis d'obtenir les clichés photographiques en vue de la mesure de la longueur des individus et de la largeur du céphalon. Après ces prises de vue, les antennes et les péréiopodes ont été arrachés à leur base et positionnés entre deux lames pour les maintenir dans un plan et ainsi limiter les biais de mesure. Après la réalisation des clichés relatifs à ces appendices, l'ensemble du corps de l'animal a été replacé dans son tube en polypropylène d'origine vidé de l'éthanol, puis congelé à -20°C en vue du dosage des concentrations en Cd, Pb et Zn des isopodes.

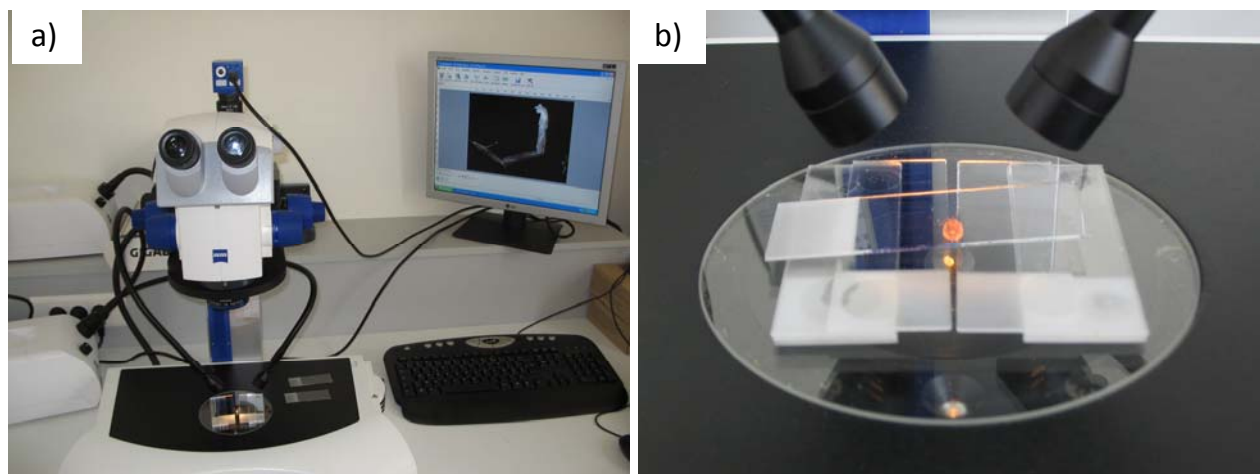


Figure 23 : Matériel d'observation et de mesure utilisé (a), et dispositif mis en œuvre pour la réalisation des clichés en vue de la mesure de la longueur totale et la largeur du céphalon des isopodes (b).

1.3.6. Mesure des concentrations en ETM chez *P. scaber*

Au printemps 2008, afin d'évaluer le degré d'imprégnation de *P. scaber* par des ETM, 5 individus mâles par station, et dont la masse était comprise entre 20 et 30 mg, ont été sélectionnés parmi les individus mesurés. Ces individus ont été séchés 24 h à 40°C, pesés ($\pm 0,1$ mg), puis minéralisés dans des réacteurs en TFM contenant 5 mL de HNO₃ à 69%. Les réacteurs ont été placés dans un four à micro-ondes. Les solutions obtenues ont été filtrées sur des membranes d'acétate de cellulose (0,45 μ m de porosité) et leur volume a été ajusté à 25 mL avec de l'eau osmosée. Les teneurs en Cd, Pb et Zn des individus ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique et exprimées en mg kg⁻¹ de poids sec.

1.4. Traitement et analyse statistique des données

Pour chacune des 20 stations considérées, les sex-ratios ont été calculés chez *O. asellus* et *P. scaber* au printemps 2008, et à l'automne 2008 pour *P. scaber*.

Les données biométriques acquises à l'automne 2007 ont permis la réalisation de pyramides d'âges afin d'étudier la structuration par âge des populations régionales d'*O. asellus* et de *P. scaber* issues d'habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM. La structuration par âge des populations a également été étudiée à l'échelle des sites chez *O. asellus* et *P. scaber* au printemps 2008, et chez *P. scaber* à l'automne 2008.

Des relations ont été recherchées au moyen de régressions linéaires entre la masse des femelles gravides (*O. asellus* et *P. scaber*) et le nombre d'œufs et ceci en considérant des habitats massivement contaminés par des ETM ou non.

Les paramètres liés à la reproduction (nombre et taille des œufs) ont été comparés entre les stations d'un même site à l'aide de tests de Mann-Whitney-Wilcoxon (comparaison de deux stations) ou de tests de Kruskal-Wallis (comparaison de trois stations) et ceci chez *O. asellus* et *P. scaber* collectés au printemps 2008.

Les données biométriques acquises à l'automne 2007 ont également permis d'étudier le dimorphisme sexuel chez les deux espèces. Pour cela, les paramètres biométriques ont été comparés entre les deux sexes au moyen de tests de Mann-Whitney-Wilcoxon. L'ensemble des paramètres biométriques a également fait l'objet d'analyses de corrélation.

Afin d'atténuer l'effet « taille » au sein des populations deux indices biométriques ont été mis en place. Il s'agit des rapports $\log(\text{largeur du céphalon}) / \log(\text{masse})$, et longueur du 6^{ème} carpos gauche / longueur de l'article 3 de l'antenne gauche.

L'étude de la variabilité biométrique à l'échelle régionale de populations d'isopodes issues d'habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM a été réalisée sur la base des ces deux indices.

Pour cela ces indices ont été comparés à l'échelle des sites chez les deux espèces et pour chaque sexe, à l'aide de tests de Kruskal-Wallis. De plus ces indices ont aussi été comparés par rapport à l'indice régional calculé.

L'étude de la variabilité saisonnière a été étudiée chez *P. scaber* (mâles) sur la base des deux indices biométriques. Pour chacune des stations considérées, ces indices ont été comparés entre le printemps et l'automne 2008 à l'aide de tests de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Des relations ont été recherchées entre les paramètres biométriques des populations d'isopodes, leurs concentrations en ETM, et les paramètres physico-chimiques (pH, teneurs en CaCO₃ et en MO, ratio C/N, Cd, Pb, Zn, Cu) des sols à l'aide d'analyses de corrélations.

Afin de regrouper des stations ayant des paramètres physico-chimiques similaires (pH, teneurs en CaCO₃ et en MO, ratio C/N) et ceci indépendamment du degré de contamination des sols, des analyses en composantes principales ont été réalisées pour chacun des horizons (OL, OF et A). L'objectif a été de réaliser des regroupements de stations similaires en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, et ceci indépendamment de leur degré de contamination. Ensuite, les deux indices biométriques considérés ont été comparés entre ces stations au moyen de tests statistiques non paramétriques, et ce pour les mâles et les femelles (*P. scaber*) collectés au printemps et à l'automne 2008.

2. Résultats

2.1. Caractéristiques pédologiques et physicochimique des sols

2.1.1. Degré de contamination en ETM des sols (horizon 0 – 25 cm)

Afin d'estimer le degré de contamination des sols des 44 stations prospectées, les concentrations pseudo-totales en Cd, Pb et Zn ont été déterminées dans les horizons 0 – 25 cm (Tableau 3).

Sur les 34 stations non massivement contaminées (BOU 1, BOU 2, CAM, MAR1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3) ou éloignées de toute source de contamination (S1 à S23), les concentrations dans les horizons 0 – 25 cm varient de 0,2 à 2,7 mg kg⁻¹ pour Cd, de 7 à 125 mg kg⁻¹ pour Pb, et de 12 à 164 mg kg⁻¹ pour Zn. En considérant les sites BOU, MAR, RSAW et MOR, la variabilité intra-site semble peu importante.

Les sols des stations situées à proximité d'usines métallurgiques (i.e. sites : MET, UMI et CRAM) montrent des concentrations très élevées en Cd, Pb et Zn, contrairement aux autres stations. Les sols des sites MET et CRAM présentent des concentrations très variables entre les stations, alors que sur le site UMI, la contamination semble plus homogène. En effet, sur le site MET, les concentrations

varient de 31,5 à 108,3 mg kg⁻¹ pour Cd, de 1 707 à 8 173 mg kg⁻¹ pour Pb, et varient de 905 à 6 225 mg kg⁻¹ pour Zn. La station CRAM 1 montre des concentrations en ETM nettement supérieures à celles de la station CRAM 2. Enfin, sur le site UMI, la variabilité intra-site semble moins importante, et les concentrations varient de 11,9 à 15,6 mg kg⁻¹ pour Cd, de 216 à 303 mg kg⁻¹ pour Pb, et de 1 267 à 1 748 mg kg⁻¹ pour Zn. Les plus fortes concentrations en Cd et Pb ont été observées sur la station MET 3 avec 108,3 mg Cd kg⁻¹ et 8 173 mg Pb kg⁻¹. La plus forte concentration en Zn a été observée pour la station CRAM 1 avec 10 476 mg kg⁻¹.

Station	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Station	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
APO 1	0,85	246	139	S2	0,33	46	88
APO 2	1,21	101	106	S3	0,30	54	60
BOU 1	0,18	52	20	S4	0,18	7	33
BOU 2	0,27	52	43	S5	0,29	37	12
MET 1	48,18	2497	3356	S6	0,53	36	48
MET 2	31,45	1707	905	S7	0,18	46	53
MET 3	108,30	8173	6225	S8	0,28	97	41
UMI 1	15,63	276	1748	S9	0,21	82	23
UMI 2	15,33	303	1566	S10	0,68	62	55
UMI 3	11,85	216	1267	S11	0,59	67	24
MAR 1	1,02	38	22	S12	0,89	53	78
MAR 2	0,96	68	26	S13	0,32	62	44
MAR 3	1,43	64	35	S14	1,04	109	43
RSAW 1	0,68	71	20	S15	2,70	93	164
RSAW 2	0,54	53	45	S16	1,06	61	110
CRAM 1	63,83	3654	10476	S17	0,45	125	62
CRAM 2	24,60	1361	4230	S18	0,18	1	61
MOR 1	0,68	39	29	S19	0,34	38	27
MOR 2	0,97	56	41	S20	0,53	45	56
MOR 3	0,24	38	29	S21	0,18	26	31
CAM	0,93	63	95	S22	0,53	36	48
S1	0,42	41	33	S23	0,20	33	38

Tableau 3 : Concentrations pseudo-totales en Cd, Pb et Zn mesurées dans les horizons 0 – 25 cm des sols des 44 stations étudiées. Les stations en gras sont celles situées à proximité d'usines métallurgiques (en activité ou non).

Par ailleurs, les sols des stations APO 1 et APO 2, situées elles aussi à proximité d'un ancien site métallurgique (APO) montrent des concentrations en Cd, Pb et Zn nettement plus faibles que celles observées pour les sites MET, UMI et CRAM. Bien que ces deux stations soient situées à proximité d'un ancien site métallurgique, les concentrations en Pb et Zn ne sont que légèrement supérieures à celles des stations non massivement contaminées et de ce fait, ce site (APO) a été considéré comme non massivement contaminé au regard des éléments dosés. Par ailleurs, parmi les stations non massivement contaminées, S8, S14, S15 et S16 peuvent présenter des concentrations en ETM légèrement plus fortes que sur les autres stations.

2.1.2. Caractéristiques pédologiques

Pour chacune des 20 stations concernées, l'occupation des sols, le type d'humus rencontré, la texture des sols et les signes d'hydromorphie sont décrits dans le tableau 4. Les photographies de leurs profils pédologiques sont présentées en annexe B.

Les stations APO 1, APO 2, BOU 1, BOU 2 et UMI 1 sont caractérisées par des sols à Eumull, traduisant un bon fonctionnement biologique avec une disparition rapide de la MO fraîche. Les stations MET 1, MAR 1, MAR 3, RSAW 1 et RSAW 2 présentent plutôt des sols à Oligomull, traduisant une plus faible activité des vers anéciques dans les horizons organo-minéraux (A). Les sols de stations UMI 3 et MOR 1 sont de type Mésomull à Oligomull, présentant une vitesse de disparition intermédiaire des MO. L'humus des sols des stations MET 2, MOR 2 et MOR 3 sont du type Dysmull, et celui de la station UMI 2 de type Dysmull à Hémimoder traduisant une très faible activité des vers anéciques dans les horizons organo-minéraux (A). Les stations MET 3 et MAR 2 sont caractérisées par des sols à Héli- ou à Eu-moder, où la destruction des litières est principalement due à l'activité de la mésofaune de surface (isopodes, vers épigés, enchytréides...). Enfin, les sols des stations CRAM 1 et CRAM 2 présentent un humus de type Mor traduisant un dysfonctionnement des sols.

La plupart de stations, à l'exception de BOU 1, MET 1 et MET 2, présentent des sols à hydromorphie temporaire, variable en profondeur selon les stations, et pouvant influencer la dégradation des MO.

Site	Occupation	Nature des litières	Type d'humus	Texture du sol et hydromorphie
APO 1	Bosquet	Érable	Eumull	Sol limono-argileux à argilo-sableux à hydromorphie temporaire à partir de 40 cm.
APO 2	Bosquet	Érable, Bouleau	Eumull	Sol argilo-limoneux à argileux à hydromorphie temporaire à partir de 40 cm
BOU 1	Bois	Charme, chêne, érable, hêtre, châtaigner	Eumull	Sol limoneux non hydromorphe
BOU 2	Forêt	Charme, chêne, noisetier	Eumull	Sol sablo-limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 50-60 cm
MET 1	Bosquet	Érable, platane	Oligomull carbonaté	Sol limono-argileux anthropisé, carbonaté
MET 2	Bosquet	Érable	Dysmull carbonaté	Sol limono-argileux carbonaté
MET 3	Bosquet	Peuplier	Hémimoder à Eumoder	Sol sur schiste noir et grès rouge, fortement anthropisé jusque 25 cm, à hydromorphie temporaire à partir de 25 cm
UMI 1	Bois	Peuplier, érable	Eumull carbonaté	Sol limoneux carbonaté organique, anthropisé jusque 70 cm, à hydromorphie temporaire visible à partir de 70 cm
UMI 2	Bosquet	Érable, noisetier	Dysmull à Hémimoder	Sol schisteux noir, anthropisé jusque 50-55 cm, carbonaté à partir de 40cm, à hydromorphie temporaire visible à partir de 50-55 cm
UMI 3	Bois	Peuplier, érable	Mésomull à Oligomull	Sol limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 5 cm
MAR 1	Bois	Charme, chêne, bouleau	Oligomull	Sol sablo-limoneux, à hydromorphie temporaire nette à partir de 20 cm
MAR 2	Forêt	Charme, chêne, bouleau, noisetier	Hémimoder	Sol sablo-limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 40 cm
MAR 3	Forêt	Charme, chêne,	Oligomull	Sol sablo-limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 30 cm
RSAW 1	Forêt	Charme, chêne, hêtre, érable	Oligomull	Sol sablo-limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 30 cm
RSAW 2	Forêt	Charme, chêne, érable	Oligomull	Sol limono-sableux à hydromorphie temporaire à partir de 50 cm
CRAM 1	Bois	Peuplier, érable	Mor	Sol argilo-limoneux à hydromorphie temporaire très marquée dès la surface
CRAM 2	pelouse métallicole	Peuplier, graminées	Mor	Sol sablo-limoneux à hydromorphie temporaire très peu marquée dès la surface du sol.
MOR 1	Forêt	Charme, chêne, hêtre	Mésomull à oligomull	Sol limoneux à hydromorphie temporaire à partir de 40cm.
MOR 2	Forêt	Charme, chêne, hêtre, érable	Dysmull	Sol limoneux à hydromorphie temporaire bien marquée dès 10 cm
MOR 3	Forêt	Charme, chêne, hêtre	Dysmull	Sol limoneux à hydromorphie temporaire bien marquée dès 10 cm.

Tableau 4 : Principales caractéristiques pédologiques des sols des 20 stations étudiées.

2.1.3. Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques des horizons OL, OF et A des 20 stations étudiées sont présentées dans les tableaux 5, 6 et 7 respectivement.

▪ pH

Les stations MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, RSAW 2, MOR 1, MOR 2 et MOR 3 présentent des sols acides où le pH des litières (OL) varie de 4,9 à 5,7, et celui des horizons organo-minéraux entre 3,6 et 4,3. Les sols des stations BOU 1 et BOU 2 montrent un pH de 5,8 pour les litières, alors que l'horizon

organo-minéral de la station BOU 1 est plus acide que celui de la station BOU 2 (respectivement 4,7 et 6,3).

Les stations APO 1, APO 2, MET 1, MET 2, MET 3, UMI 1, UMI 2, UMI 3 et CRAM 1 présentent des litières plutôt à pH légèrement acide à neutre variant de 6,0 à 6,8. Les horizons organo-minéraux des stations APO 2 et UMI 2 montrent aussi un pH légèrement acide (6,8 et 6,4 respectivement), alors que les stations APO 1, MET 1, MET 2, MET 3, UMI1, UMI 3 et CRAM 1 présentent un pH plutôt basique, variant de 7,1 à 7,8. Enfin, le sol de la station CRAM 2 montre un pH égal à 6 pour les deux horizons OL et A.

L'acidité des sols des stations non massivement contaminées tend à augmenter avec le degré de dégradation des MO. En effet, sur les stations MAR 1, MAR 2, MAR 3, RSAW 1, MOR 1, MOR 2 et MOR 3, le pH est intermédiaire entre celui des horizons OL et A. Cependant, sur les stations massivement contaminées par des ETM, MET 1, MET 2, MET 3, UMI 2, UMI 3 et CRAM 1, les horizons OF présentent plutôt un pH basique, supérieur à celui des horizons OL. Enfin, l'horizon OF de la station CRAM 2 présente un pH plus acide que celui des horizons OL et A.

▪ Teneurs en CaCO_3 total

Pour toutes les stations, les teneurs en CaCO_3 sont relativement faibles dans les horizons OL, variant de 2,1 à 7,2 g kg^{-1} (pour les stations MOR 1 et CRAM 1 respectivement). Les horizons OF des stations MET 1, MET 2 et CRAM 1 montrent des teneurs en CaCO_3 plus élevées que sur les autres stations avec respectivement 37, 19 et 15 g kg^{-1} . Les horizons organo-minéraux des ces stations sont également fortement carbonatés avec 85, 51 et 70 g kg^{-1} respectivement. De plus, l'horizon A de la station UMI 1 est aussi fortement carbonaté avec 68 g kg^{-1} .

▪ Teneurs en MO

Les teneurs en MO des horizons organo-minéraux des stations APO 1, APO 2, BOU 1, MET 2, MAR 3, RSAW 2, MOR 1 et MOR 2 varient de 10,9 à 17,8 %. Pour la station CRAM 2, la teneur n'est que de 2,1%. Les autres stations montrent des horizons A contenant plus de 20% de MO. Enfin, la station MET 3 présente un horizon A contenant plus de 36% de MO.

▪ Ratio C/N

Concernant les horizons OL, les ratios C/N sont le plus souvent compris entre 20 et 30, traduisant ainsi une minéralisation lente de la MO. Certaines stations comme MET 1, MAR 3, RSAW 1 et MOR 3 présentent même des ratios C/N supérieur à 30 attestant d'un fort ralentissement de la dégradation des MO. Enfin, les horizons OL des stations MAR 1, CRAM 1 et CRAM 2 montrent des ratios C/N compris entre 15 et 20, traduisant une bonne décomposition des MO.

La plupart des horizons OF présente aussi des ratios C/N compris entre 15 et 20. Les horizons OF de certaines stations présentent des ratios légèrement supérieurs à 20 (stations RSAW 1 et MOR 3). Pour la station CRAM 1, il est légèrement inférieur à 15. Un ratio C/N supérieur à 30 a été constaté pour la station MAR 1.

La plupart des horizons A présente aussi des ratios C/N compris entre 15 et 20. Les stations APO 2, BOU 1, UMI 1 et MOR 2 montrent même des ratios légèrement inférieurs à 15. En revanche, les stations MET 1 et MET 2 présentent des ratios C/N supérieurs à 20, et les stations MET 3 et UMI 2 présentent des ratios supérieurs à 30.

▪ Concentration en ETM

Les concentrations pseudo-totales en Cd, Pb et Zn des différents horizons étudiés (OL, OF et A) sont présentées figure 24.

Horizon OL : En ce qui concerne les stations non massivement contaminées, les concentrations en ETM des litières sont relativement faibles, et généralement inférieures à 0,5 mg Cd kg⁻¹, à 21 mg Pb kg⁻¹, à 113 mg Zn kg⁻¹ et à 32,5 mg Cu kg⁻¹. Cependant, les stations APO 1, APO 2 et MOR 3 montrent des concentrations en Cd légèrement plus importantes marquées par une plus forte hétérogénéité du milieu (cf écarts-types).

L'hétérogénéité du milieu est d'autant plus marquée sur les stations massivement contaminées. Sur le site MET, les concentrations varient de 5,3 à 33,4 mg Cd kg⁻¹, de 167 à 407 mg Pb kg⁻¹ et de 514 à 1 521 mg Zn kg⁻¹. Sur le site UMI, les concentrations varient de 3,9 à 24,1 mg Cd kg⁻¹, de 51 à 134 mg Pb kg⁻¹ et de 1 363 à 2 372 mg Zn kg⁻¹. Enfin, les stations CRAM 1 et CRAM 2 montrent aussi des degrés de contamination variables pour les horizons OL, avec des concentrations respectives de 25,4 et 65,3 mg Cd kg⁻¹, de 92 et 261 mg Pb kg⁻¹ et de 1 546 et 6 817 mg Zn kg⁻¹.

Horizon OF : Les horizons fragmentés (OF) montrent souvent des concentrations en ETM plus élevées que les horizons OL, et ceci quel que soit le degré de contamination des sols. Toutefois, ces différences sont plus marquées sur les sites massivement contaminés. Sur le site MET, les concentrations varient de 82,8 à 142,9 mg Cd kg⁻¹, de 3 817 à 7 594 mg Pb kg⁻¹ et de 4 355 à 6 163 mg Zn kg⁻¹. De plus, les stations UMI 2 et UMI 3 montrent des concentrations respectives de 16,5 et 27,6 mg Cd kg⁻¹, de 297 et 319 mg Pb kg⁻¹ et de 2 603 et 2 811 mg Zn kg⁻¹. Enfin, les stations CRAM 1 et CRAM 2 montrent des concentrations respectives de 64,4 et 66,8 mg Cd kg⁻¹, de 1 108 et 1 657 mg Pb kg⁻¹ et de 6 518 et 15 238 mg Zn kg⁻¹. Par ailleurs, l'horizon OF de ces stations présente également des concentrations plus importantes en Cu que les litières, elles varient de 37,4 à 168,1 mg kg⁻¹.

Horizon A : Les horizons organo-minéraux des stations non massivement contaminées montrent des concentrations en Cd, Pb et Zn relativement proches de celles mesurées dans les litières. En ce qui concerne les horizons organo-minéraux des stations massivement contaminées, leurs concentrations en ETM sont plus faibles que dans les horizons fragmentés OF (à l'exception de la station CRAM 1). Des concentrations similaires ont été observées pour les horizons A des stations MET 1 et MET 2, avec environ 30,5 mg Cd kg⁻¹, 1 800 mg Pb kg⁻¹ et 2 300 mg Zn kg⁻¹. La station MET 3 présente un horizon A plus contaminé avec 83,6 mg Cd kg⁻¹, 5 754 mg Pb kg⁻¹ et 4 184 mg Zn kg⁻¹. Sur le site UMI, les concentrations varient de 7,6 à 32,1 mg Cd kg⁻¹, de 262 à 478 mg Pb kg⁻¹ et de 1 082 à 2 871 mg Zn kg⁻¹. Enfin, les stations CRAM 1 et CRAM 2 montrent des concentrations respectives de 48,4 et 8,7 mg Cd kg⁻¹, de 7 291 et 357 mg Pb kg⁻¹ et de 20 618 et 1 098 mg Zn kg⁻¹.

Station	pH _{eau}	CaCO ₃ (g kg ⁻¹)	MO (%)	C/N	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn(mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)
APO 1	6,1 ± 0,1	3,0 ± 0,2	78,9 ± 4,5	22,0	2,3 ± 1,8	17 ± 14	63 ± 11	4,7 ± 1,5
APO 2	6,3 ± 0,1	3,6 ± 0,2	82,9 ± 2,5	28,4	1,2 ± 0,2	16 ± 1	80 ± 6	10,2 ± 1,0
BOU 1	5,8 ± 0,1	2,8 ± 0,2	77,3 ± 4,4	20,3	0,2 ± 0,0	10 ± 5	45 ± 1	18,3 ± 2,1
BOU 2	5,8 ± 0,1	2,3 ± 0,3	57,0 ± 2,2	23,0	0,2 ± 0,0	10 ± 2	49 ± 2	32,5 ± 6,5
MET 1	6,0 ± 0,3	4,3 ± 2,5	88,3 ± 5,9	33,2	5,3 ± 2,5	252 ± 171	514 ± 159	21,0 ± 9,3
MET 2	6,5 ± 0,1	6,8 ± 0,4	82,9 ± 6,1	22,1	11,1 ± 5,4	407 ± 161	608 ± 178	34,2 ± 4,3
MET 3	6,6 ± 0,2	4,4 ± 0,4	86,3 ± 4,0	25,3	33,4 ± 1,4	167 ± 33	1521 ± 132	21,7 ± 2,6
UMI 1	6,6 ± 0,1	5,9 ± 2,9	86,1 ± 2,6	25,1	10,8 ± 1,4	82 ± 8	2372 ± 284	29,7 ± 4,5
UMI 2	6,2 ± 0,1	4,9 ± 1,8	89,8 ± 0,1	23,3	3,9 ± 1,3	51 ± 2	1363 ± 254	27,0 ± 4,7
UMI 3	6,8 ± 0,0	4,5 ± 0,6	88,3 ± 8,2	22,2	24,1 ± 1,2	134 ± 85	2296 ± 44	27,6 ± 7,7
MAR 1	4,9 ± 0,1	4,6 ± 1,0	94,8 ± 0,1	19,6	0,1 ± 0,0	13 ± 4	56 ± 3	9,4 ± 0,5
MAR 2	5,1 ± 0,1	3,8 ± 1,3	92,2 ± 2,7	25,2	0,3 ± 0,2	21 ± 16	113 ± 50	15,9 ± 4,0
MAR 3	5,2 ± 0,2	4,0 ± 2,1	92,5 ± 1,0	31,6	0,3 ± 0,0	11 ± 2	93 ± 10	11,3 ± 3,4
RSAW 1	5,7 ± 0,0	4,3 ± 1,1	93,4 ± 0,5	33,6	0,9 ± 0,1	8 ± 1	69 ± 5	4,8 ± 0,5
RSAW 2	5,3 ± 0,2	3,4 ± 0,6	94,1 ± 0,1	27,3	0,5 ± 0,5	6 ± 1	89 ± 6	10,0 ± 0,4
CRAM 1	6,7 ± 0,1	7,2 ± 2,0	87,5 ± 0,2	17,7	25,4 ± 7,9	92 ± 133	1546 ± 584	23,8 ± 16,7
CRAM 2	6,0 ± 0,1	3,6 ± 1,4	73,3 ± 12,0	16,3	65,3 ± 40,8	261 ± 53	6817 ± 2189	33,5 ± 7,2
MOR 1	5,1 ± 0,1	2,1 ± 1,0	83,8 ± 2,1	28,4	0,2 ± 0,0	15 ± 2	58 ± 1	6,4 ± 0,4
MOR 2	5,6 ± 0,2	3,8 ± 0,9	90,0 ± 6,6	26,4	0,3 ± 0,1	10 ± 2	65 ± 5	10,1 ± 0,9
MOR 3	5,2 ± 0,2	3,3 ± 0,7	94,1 ± 0,9	31,7	1,6 ± 2,3	10 ± 9	83 ± 27	10,4 ± 3,0

Tableau 5 : Paramètres physico-chimiques des litières (OL) des 20 stations étudiées.

Station	pH _{eau}	CaCO ₃ (g kg ⁻¹)	MO (%)	C/N	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn(mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)
APO 1	-	-	-	-	-	-	-	-
APO 2	-	-	-	-	-	-	-	-
BOU 1	-	-	-	-	-	-	-	-
BOU 2	-	-	-	-	-	-	-	-
MET 1	7,4 ± 0,1	37,4 ± 9,3	46,5 ± 7,4	18,3	82,8 ± 4,7	3817 ± 796	4355 ± 924	148,5 ± 69,7
MET 2	7,1 ± 0,1	19,3 ± 3,7	60,5 ± 12,7	15,0	99,6 ± 20,5	4783 ± 482	4577 ± 902	224,6 ± 3,5
MET 3	7,4 ± 0,1	6,9 ± 3,7	66,0 ± 6,7	15,3	142,9 ± 25,6	7594 ± 1603	6163 ± 881	240,6 ± 29,9
UMI 1	-	-	-	-	-	-	-	-
UMI 2	7,1 ± 0,1	9,3 ± 1,7	63,1 ± 4,3	18,1	16,5 ± 2,0	319 ± 65	2811 ± 528	111,8 ± 10,4
UMI 3	7,2 ± 0,1	9,4 ± 3,3	46,3 ± 1,2	19,9	27,6 ± 2,4	297 ± 127	2603 ± 125	37,4 ± 5,8
MAR 1	4,9 ± 0,3	1,8 ± 0,8	70,1 ± 2,3	33,8	1,3 ± 0,3	41 ± 14	134 ± 23	12,0 ± 0,8
MAR 2	4,4 ± 0,2	2,6 ± 0,6	83,5 ± 0,6	18,5	1,3 ± 0,1	68 ± 4	167 ± 12	18,9 ± 0,8
MAR 3	4,7 ± 0,2	2,9 ± 1,1	76,9 ± 10,4	19,8	1,7 ± 0,1	47 ± 12	131 ± 7	26,8 ± 2,4
RSAW 1	4,7 ± 0,1	3,3 ± 1,0	76,2 ± 1,9	22,6	0,7 ± 0,4	42 ± 8	104 ± 15	13,2 ± 1,3
RSAW 2	5,6 ± 0,1	2,9 ± 0,9	82,8 ± 3,4	19,2	2,2 ± 0,9	22 ± 4	146 ± 1	18,3 ± 1,4
CRAM 1	7,0 ± 0,2	15,0 ± 3,2	76,4 ± 3,6	13,3	64,4 ± 3,2	1108 ± 277	6518 ± 503	168,1 ± 41,5
CRAM 2	5,5 ± 0,1	3,2 ± 0,4	57,5 ± 2,4	15,5	66,8 ± 19,1	1657 ± 691	15238 ± 6202	143,0 ± 54,9
MOR 1	4,7 ± 0,2	1,8 ± 0,3	43,1 ± 2,4	17,2	0,2 ± 0,0	47 ± 5	61 ± 5	8,3 ± 0,4
MOR 2	5,0 ± 0,1	2,6 ± 0,5	67,6 ± 1,6	18,0	5,3 ± 0,3	42 ± 3	88 ± 7	13,8 ± 1,0
MOR 3	4,4 ± 0,2	1,7 ± 0,4	82,6 ± 7,2	20,5	6,2 ± 1,4	54 ± 8	98 ± 2	14,5 ± 1,3

Tableau 6 : Paramètres physico-chimiques des horizons fragmentés (OF) des 20 stations étudiées.

Station	pH _{eau}	CaCO ₃ (g kg ⁻¹)	MO (%)	C/N	Cd (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn(mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)
APO 1	7,2 ± 0,1	3,8 ± 1,5	11,3 ± 0,8	15,7	0,2 ± 0,0	90 ± 9	139 ± 6	28,0 ± 1,9
APO 2	6,8 ± 0,2	2,1 ± 0,4	10,9 ± 1,2	12,4	0,8 ± 0,3	126 ± 7	124 ± 7	20,4 ± 1,5
BOU 1	4,7 ± 0,1	2,3 ± 0,7	12,4 ± 2,6	13,3	0,1 ± 0,0	36 ± 8	28 ± 1	14,8 ± 4,2
BOU 2	6,3 ± 0,2	3,6 ± 0,7	21,8 ± 1,7	17,1	0,2 ± 0,0	18 ± 2	59 ± 2	27,1 ± 1,5
MET 1	7,8 ± 0,2	85,2 ± 18,5	23,5 ± 11,9	26,6	30,5 ± 5,5	1747 ± 378	2683 ± 663	80,4 ± 2,9
MET 2	7,4 ± 0,2	51,5 ± 23,2	13,6 ± 6,0	23,6	30,5 ± 5,5	1878 ± 437	2139 ± 314	111,3 ± 24,4
MET 3	7,4 ± 0,0	3,7 ± 0,0	36,6 ± 0,0	32,7	83,6 ± 0,0	5754 ± 0	4184 ± 0	187,7 ± 0,0
UMI 1	7,5 ± 0,1	67,9 ± 3,3	25,4 ± 2,1	13,8	19,4 ± 5,2	310 ± 101	2531 ± 666	64,1 ± 8,7
UMI 2	6,4 ± 1,8	4,4 ± 0,5	27,2 ± 3,3	38,9	7,6 ± 5,5	262 ± 239	1082 ± 1023	115,0 ± 80,2
UMI 3	7,1 ± 0,3	3,7 ± 1,0	24,2 ± 3,6	17,2	32,1 ± 8,1	478 ± 263	2871 ± 416	51,1 ± 18,6
MAR 1	4,3 ± 0,1	1,6 ± 0,6	28,8 ± 6,9	17,2	0,4 ± 0,0	94 ± 8	58 ± 1	7,0 ± 0,0
MAR 2	3,9 ± 0,0	1,8 ± 0,5	24,9 ± 6,6	19,9	1,0 ± 1,0	294 ± 98	173 ± 164	17,0 ± 11,7
MAR 3	3,6 ± 0,2	1,8 ± 0,5	17,8 ± 7,0	18,4	0,3 ± 0,0	113 ± 13	41 ± 4	15,1 ± 6,9
RSAW 1	3,8 ± 0,2	3,3 ± 0,6	21,0 ± 3,9	18,3	0,6 ± 0,1	140 ± 13	51 ± 11	8,4 ± 2,5
RSAW 2	4,1 ± 0,0	1,3 ± 0,4	13,1 ± 1,6	15,4	0,5 ± 0,0	140 ± 57	59 ± 2	9,4 ± 0,7
CRAM 1	7,3 ± 0,1	69,6 ± 21,3	27,1 ± 2,6	19,4	48,4 ± 1,6	7291 ± 817	20618 ± 1370	891,9 ± 81,5
CRAM 2	6,0 ± 0,2	2,7 ± 0,6	2,1 ± 0,2	16,0	8,7 ± 2,4	357 ± 143	1098 ± 403	47,5 ± 18,1
MOR 1	4,2 ± 0,1	2,0 ± 0,4	12,6 ± 1,3	17,3	0,2 ± 0,1	62 ± 4	51 ± 6	13,3 ± 1,5
MOR 2	4,0 ± 0,1	1,9 ± 0,5	17,2 ± 3,2	14,9	0,8 ± 0,4	76 ± 17	63 ± 21	9,3 ± 2,1
MOR 3	4,2 ± 0,1	2,5 ± 0,3	20,8 ± 2,1	17,6	0,2 ± 0,0	97 ± 1	46 ± 2	9,2 ± 0,8

Tableau 7 : Paramètres physico-chimiques des horizons organo-minéraux (A) des 20 stations étudiées.

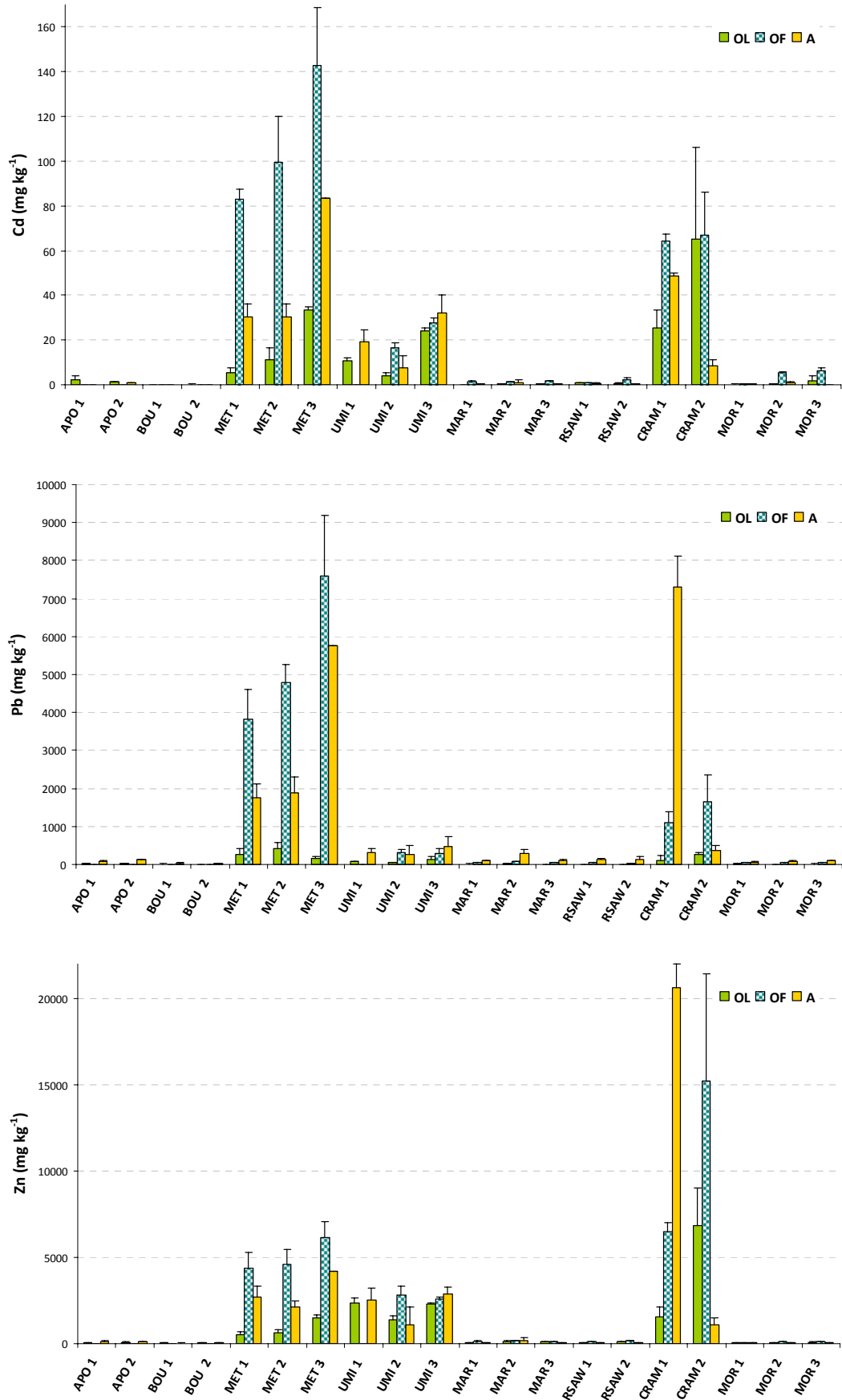


Figure 24 : Concentrations moyennes (\pm ET) en mg kg⁻¹ (105°C) en Cd, Pb et Zn des horizons OL, OF et A collectés sur les 20 stations étudiées.

2.1.4. Analyse en composantes principales

Des ACP ont été réalisées dans le but de regrouper des stations présentant des caractéristiques physico-chimiques semblables indépendamment de la contamination métallique des sols, et ce pour les différents horizons OL, OF et A. Les paramètres considérés sont le pH, les teneurs en CaCO_3 total, la teneur en MO et le ratio C/N. Il est à noter que la teneur en MO n'a pas été incluse dans l'ACP qui concerne les horizons OL.

Les caractéristiques physico-chimiques des litières sont très variables selon les stations. Cependant, il a été observé que les stations fortement anthropisées telles que APO 2, MET 2, MET 3, UMI 1, UMI 2, UMI 3 et CRAM 1 présentent des litières moins acides que les autres stations, avec un pH supérieur à 6,2 (Figure 25). Par ailleurs, les stations MET 1, MAR 3, RSAW 1 et MOR 3 présentent des litières avec un ratio C/N supérieur à 30. De plus, les litières des stations MET 2 et CRAM 1 présentent des teneurs en CaCO_3 plus élevées que les autres litières.

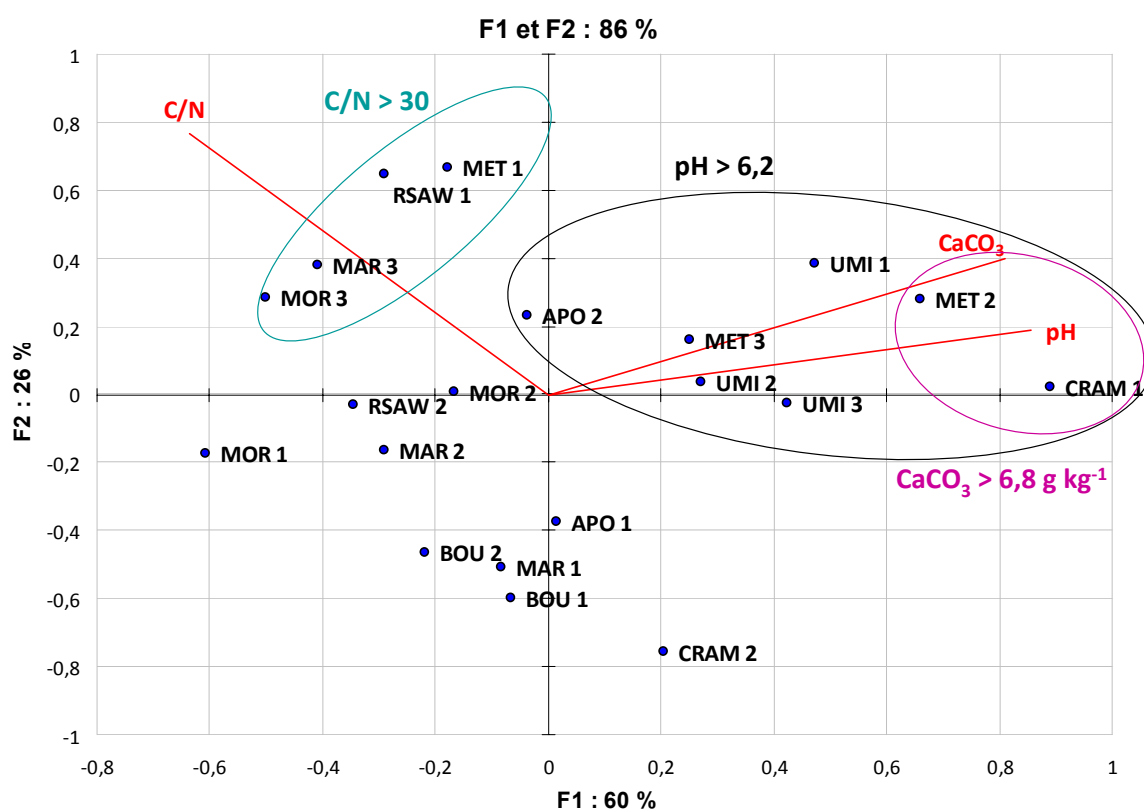


Figure 25 : Résultats de l'ACP concernant les litières (horizon OL) échantillonnées sur les 20 stations étudiées. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO_3 total et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physicochimiques proches.

Parmi les sols des 20 stations échantillonnées, 15 présentaient un horizon OF. Comme pour les horizons OL, les horizons OF collectés sur les stations fortement anthropisées (MET 1, MET 2, MET 3, UMI 2, UMI 3 et CRAM 1) montrent un pH neutre à basique, alors que les stations correspondant à des bois ou des forêts montrent des horizons OF à pH acide (< 5,6) avec des teneurs en MO souvent plus élevées (> 60%) (Figure 26). Par ailleurs, les horizons OF des stations MET 1, MET 2 et CRAM 1 sont plus riches en CaCO₃. Enfin, la station MAR 1 montre un ratio C/N élevé pour l'horizon OF en comparaison avec les autres stations.

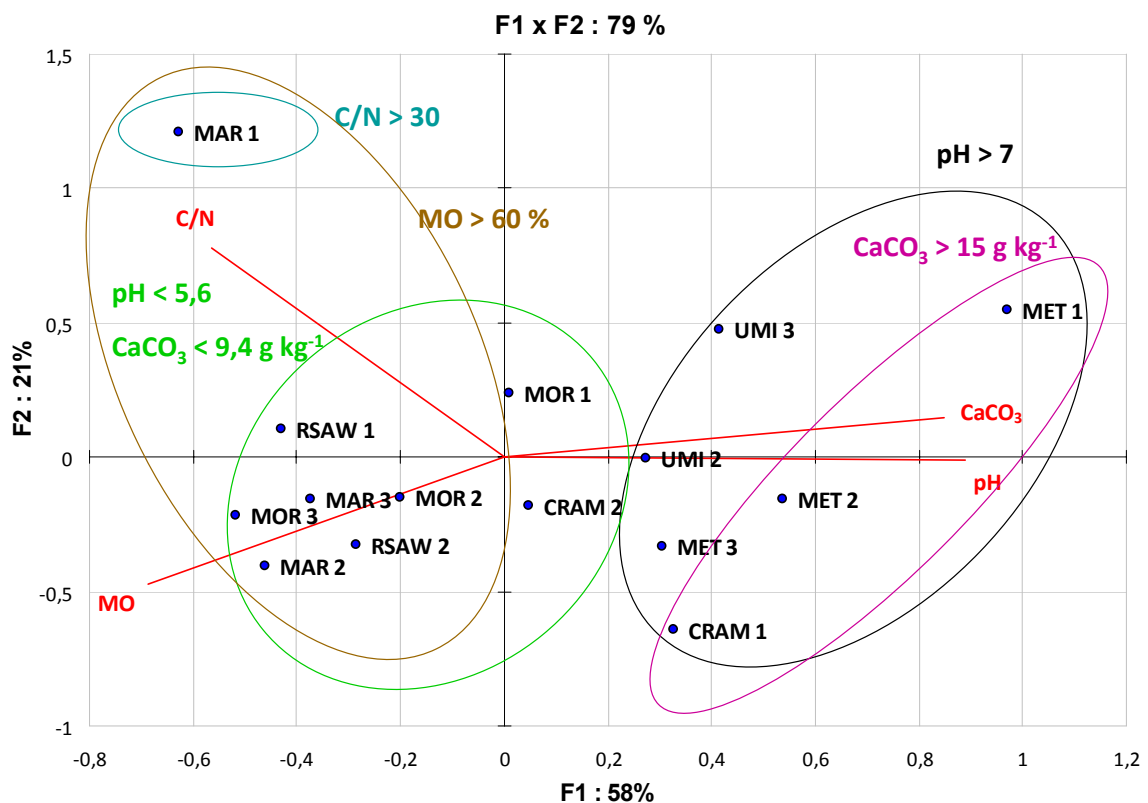


Figure 26 : Résultats de l'ACP concernant les horizons OF échantillonnés sur 15 stations. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO₃ total et en MO et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physico-chimiques proches.

Les résultats de l'ACP concernant les horizons organo-minéraux (Figure 27) montrent que les sols des stations fortement anthropisées MET 1, MET 2, UMI 1 et CRAM 1 présentent un pH basique (> 7,3) avec des fortes teneurs en CaCO₃ (> 51,5 g kg⁻¹). Les horizons organo-minéraux des stations correspondant à des bois ou des forêts présentent en général un pH acide (< 4,7), avec des teneurs plutôt faibles en MO et un ratio C/N également plus faibles. Par ailleurs, il a été observé que les horizons A des stations UMI 2 et MET 3 présentent des teneurs en azote plus faibles que les autres stations.

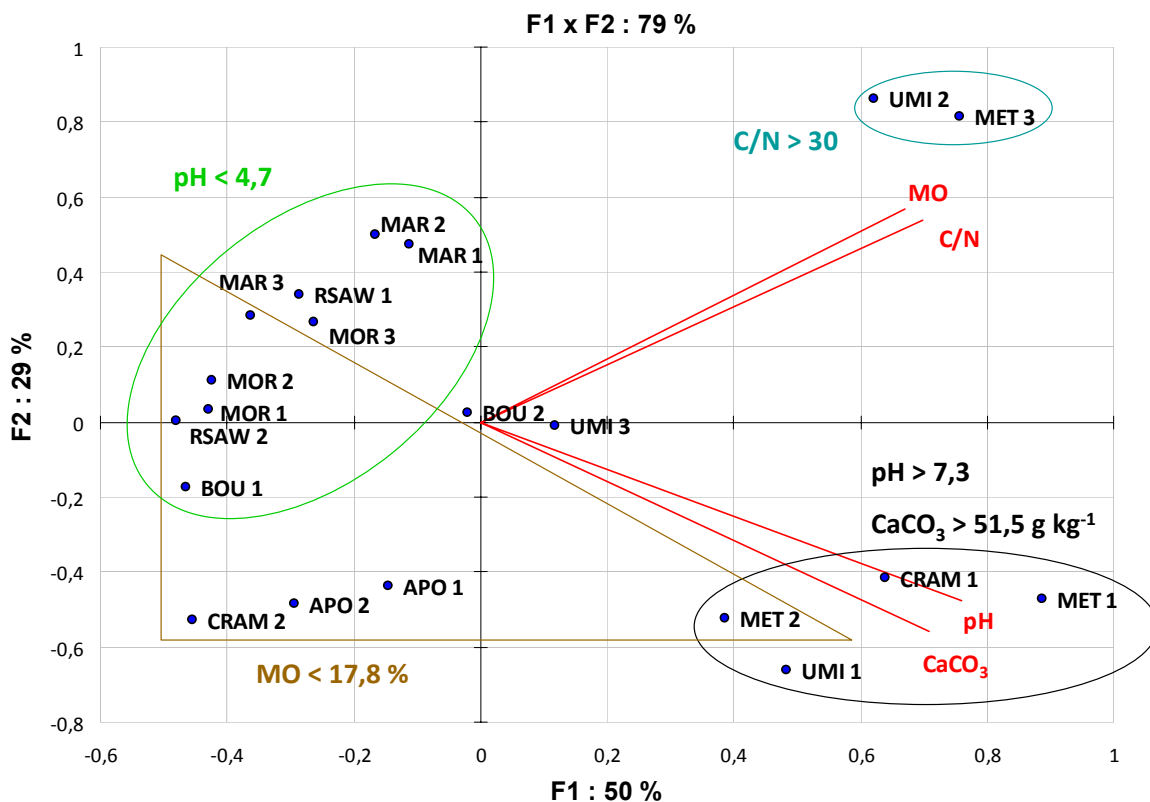


Figure 27 : Résultats de l'ACP concernant les horizons organo-minéraux (A) échantillonnés sur les 20 stations étudiées. Coordonnées des stations dans le plan F1 x F2 et contribution des variables physico-chimiques (pH, teneur en CaCO_3 total et en MO et ratio C/N). Les ellipses englobent des stations présentant des caractéristiques physico-chimiques proches.

Le tableau 8 résume les principales caractéristiques physico-chimiques et le fonctionnement des sols des habitats étudiés.

			APO 1	APO 2	BOU 1	BOU 2	MET 1	MET 2	MET 3	UMI 1	UMI 2	UMI 3	MAR 1	MAR 2	MAR 3	RSAW 1	RSAW 2	CRAM 1	CRAM 2	MOR 1	MOR 2	MOR 3		
Occupation des sols			Bosquet	Bosquet	Bois	Forêt	Bosquet	Bosquet	Bosquet	Bois	Bosquet	Bois	Bois	Forêt	Forêt	Forêt	Forêt	Forêt	Bois	pelouse métallicole	Forêt	Forêt	Forêt	
Proximité de sites industriels (en activité ou pas)			x	x			x	x	x	x	x	x							x					
Sols fortement anthropisés				x				x	x		x	x	x						x					
Sols contaminés par Cd, Pb et Zn							x	x	x	x	x	x							x	x				
Horizons	OL	pH acide (<6,2)	x		x	x	x						x	x	x	x	x		x		x	x	x	
		C/N > 30					x									x	x							x
		Teneurs en CaCO ₃ > 6,8 g kg ⁻¹							x										x					
	OF	pH acide (<7)	-	-	-	-					-			x	x	x	x	x		x		x	x	x
		Teneurs en MO > 600 g kg ⁻¹	-	-	-	-			x	x	-	x		x	x	x	x	x	x				x	x
		C/N > 30												x										
		Teneurs en CaCO ₃ > 6,8 g kg ⁻¹	-	-	-	-	x	x	x		-	x	x							x				
	A	pH acide (<7)		x	x	x						x		x	x	x	x	x		x		x	x	x
		Teneurs en MO > 17,8 g kg ⁻¹				x	x		x		x	x	x	x	x	x	x		x					x
		C/N > 20					x	x	x			x												
		Teneurs en CaCO ₃ > 6,8 g kg ⁻¹					x	x			x									x				
	Hydromorphie avant 40 cm									x			x	x		x	x		x	x			x	x
Degré d'activité biologique et humification			++	++	++	++	+	--	--	++	--	+	+	--	+	+	+	--	--	+	-	-	-	

Tableau 8 : Principales caractéristiques physico-chimiques et fonctionnement des sols des habitats étudiés.

2.2. Caractérisation des populations d'isopodes

2.2.1. Abondance et sex-ratio

L'abondance et le sexe ratio des isopodes collectés sur les 20 stations retenues ont été étudiés chez *O. asellus* au printemps 2008 et chez *P. scaber* au printemps et à l'automne 2008.

▪ *Oniscus asellus* (printemps 2008)

1 894 individus d'*O. asellus* (dont 600 mâles, 361 femelles non gravides et 993 femelles gravides) ont été collectés au printemps 2008 sur les 20 stations prospectées. Les effectifs récoltés par station sont présentés figure 28.

L'abondance maximale est observée sur la station MOR 2 avec plus de 250 individus collectés. Les stations APO 1, APO 2, BOU 1, BOU 2, UMI 1, MAR 1, RASW 1 et MOR 3 montrent des abondances supérieures à une centaine d'individus, et les stations MET 2, UMI 3, MAR 2, RASW 2, CRAM 1 et MOR 1 montrent des abondances supérieures à 50 individus. Il est toutefois à noter que les effectifs sont faibles sur les stations MET 1, UMI 2, MAR 3 et CRAM 2. Aucun individu n'a été trouvé sur la station MET 3, et seulement 2 femelles sur la station CRAM 2.

En considérant les sexe-ratios indiqués sur la figure 28 et les stations dont l'abondance est supérieure à 100 individus, le pourcentage de femelles varie de 57,2% (MOR 2) à 82,1% (BOU 1). Le pourcentage de femelles gravides parmi les femelles varie de 39,7% (station MOR 2) à 99% (station BOU 2).

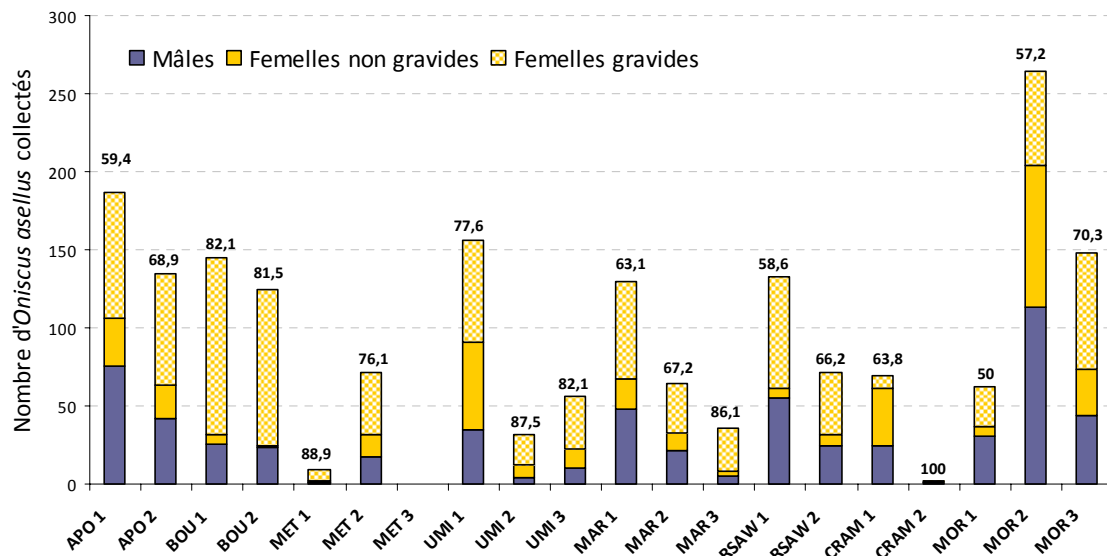


Figure 28 : Nombre d'*Oniscus asellus* collectés au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Le pourcentage de femelles est indiqué pour chacune des stations.

▪ **Porcellio scaber (printemps 2008)**

2 243 individus de *P. scaber* (dont 782 mâles, 369 femelles non gravides et 1 092 femelles gravides) ont été collectés au printemps 2008 sur les 20 stations prospectées. Les effectifs récoltés par station sont présentés figure 29.

L'abondance maximale est observée sur la station MET 2 avec plus de 450 individus collectés. Les stations MET 1, MET 3, UMI 2, CRAM 2 et MOR2 montrent des abondances supérieures à une centaine d'individus, celles des stations APO 1, APO 2, BOU 1, BOU 2, MAR 3 et CRAM 1 sont supérieures à 50 individus. Les effectifs les plus faibles (< 50 individus) concernent les stations UMI 3, MAR 1, MAR 2, RSAW 1, RSAW 2 et MOR 3.

Le pourcentage de femelles observées sur chacune des stations est assez variable. En considérant les stations dont l'abondance est supérieure à 100 individus, le pourcentage de femelles varie de 53,8% (CRAM 2) à 84,7% (MET 3). De même, le pourcentage de femelles gravides parmi les femelles varie de 30,7% (station MOR 2) à 100% (station BOU 2).

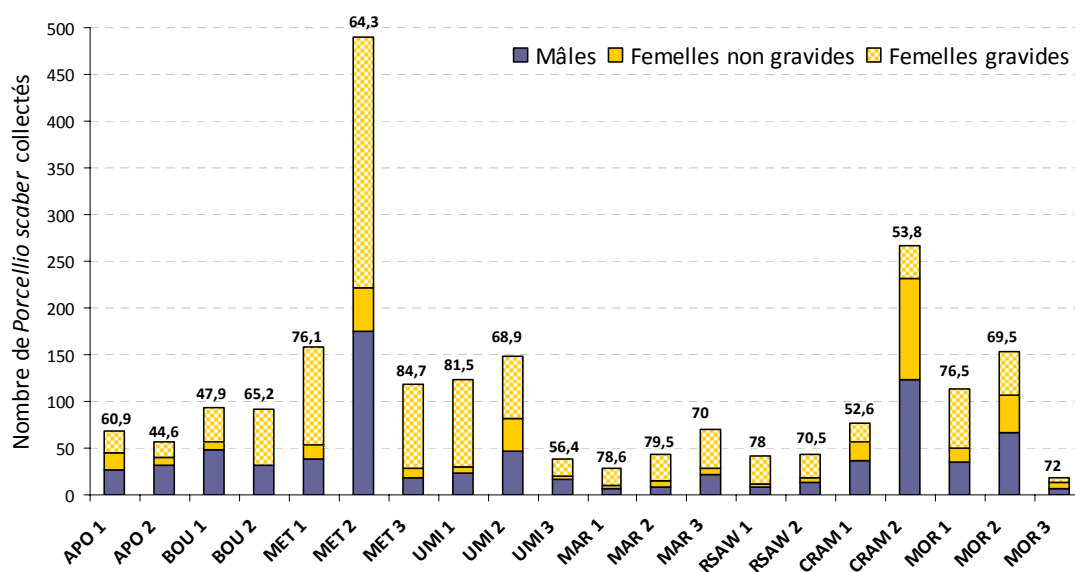


Figure 29 : Nombre de *Porcellio scaber* collectés au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Le pourcentage de femelles est indiqué pour chacune des stations.

▪ **Porcellio scaber (automne 2008)**

2 079 individus de *P. scaber* (876 mâles et 1 203 femelles) ont été collectés à l'automne 2008 sur 18 des 20 stations prospectées. Les effectifs récoltés par station sont présentés figure 30.

L'abondance maximale est observée sur la station BOU 1 avec plus de 350 individus collectés. L'abondance est supérieure à 250 individus sur la station MOR 2, celles des stations MET 1, MET 2, UMI 1, UMI 2 et MOR 1 sont comprises entre 100 et 200 individus. Sur les stations MAR 1 et CRAM 2,

le nombre d'individus collectés sur les stations APO 1, APO 2, MAR 1 et CRAM 2 est compris entre 50 et 100 individus. Les autres stations montrent des effectifs plus faibles (inférieurs à 50 individus). Aucun individu n'a été collecté sur le site RSAW.

Le pourcentage de femelles varie de 54,5% (BOU 2) à 67,6% (MET 1). Aucune femelle gravide n'a été observée.

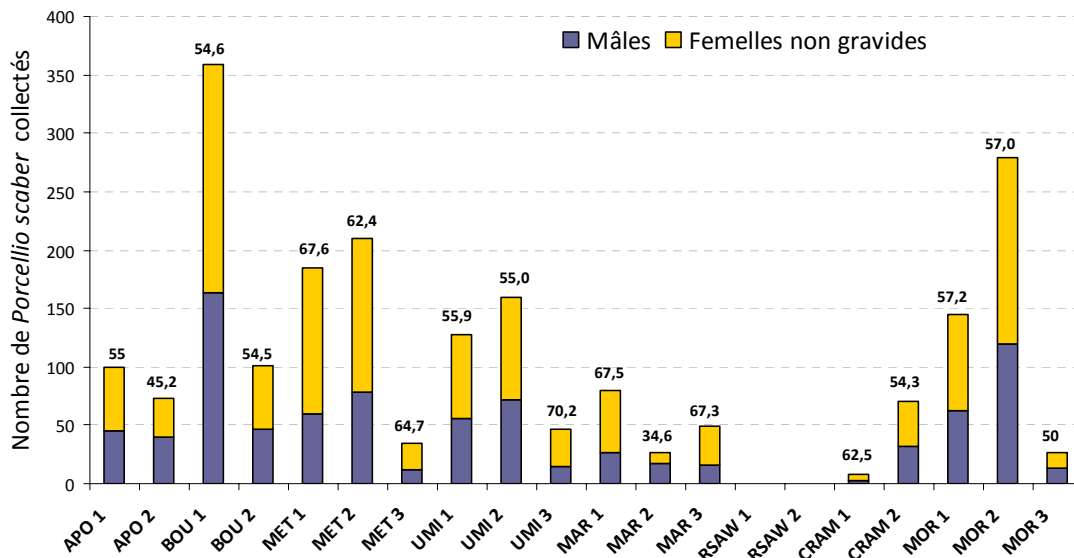


Figure 30 : Nombre de *Porcellio scaber* collectés à l'automne 2008 sur les 20 stations étudiées.

Les effectifs totaux pour chaque espèce sont synthétisés sur la figure 31. Sur les stations qui concernent des bois et des forêts, *O. asellus* semble plus abondant que *P. scaber*. C'est notamment le cas des sites APO, BOU, MOR, MAR, RSAW. Les stations MOR 1 et MOR 2, bien que forestières, se démarquent par une plus forte abondance de *P. scaber*.

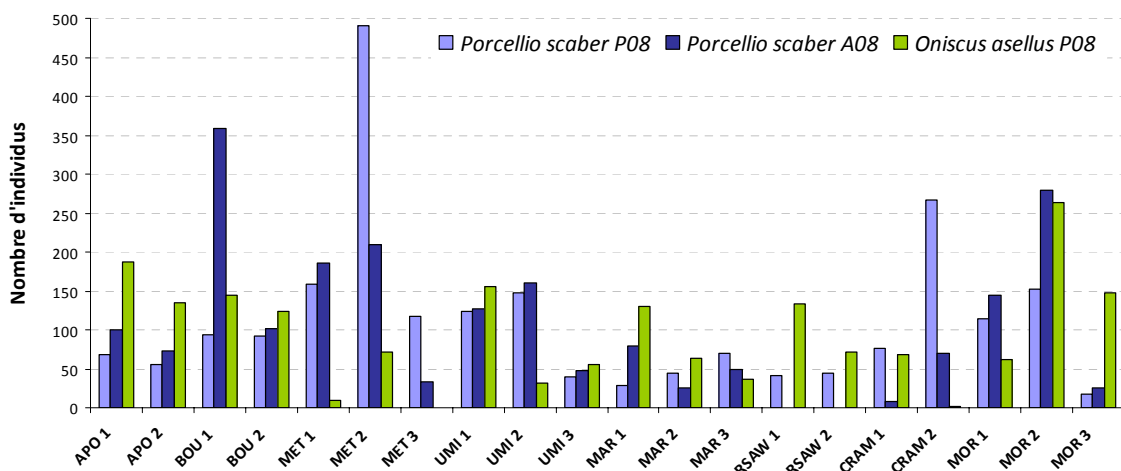


Figure 31 : Nombre total d'individus collectés au printemps (P08) et à l'automne (A08) sur les 20 stations prospectées.

2.2.2. Structuration par âge des métapopulations

La croissance des isopodes terrestres est continue tout au long de leur vie. Ainsi, la mesure des paramètres biométriques peut être un bon indicateur de l'âge des individus. La masse des individus est un des paramètres biométriques ayant été obtenu de façon quasi systématique chez l'ensemble des individus récoltés. Les structurations par âge des populations d'isopodes ont donc été réalisées à partir de ce paramètre. Par ailleurs, la structure des populations a été étudiée chez les deux espèces à deux échelles d'observation : à l'échelle de la région (stations non massivement contaminées par des ETM), et à l'échelle des sites (non ou massivement contaminés par des ETM).

▪ A l'échelle de la région

Les données acquises à l'automne 2007 ont permis de constituer la structure d'âge des populations régionales d'*O. asellus* et de *P. scaber*, afin d'établir la structure des populations régionales dans le but d'établir une référence. La structuration par âge des deux populations a concerné un total de 992 individus d'*O. asellus* et 413 individus de *P. scaber*, mâles et femelles, dont la masse était supérieure à 10 mg.

La structuration en âge (cf masse) de la population régionale montre que les individus d'*O. asellus* (mâles ou femelles) dont la masse est comprise entre 20 et 30 mg sont les plus représentés (Figure 32). La classe [20- 30] mg est également la plus représentée chez les femelles *P. scaber*, alors que la classe de masse dominante chez les mâles est la classe [10-20] mg. Chez les deux espèces, plus l'âge (i.e. masse) augmente, plus le nombre d'individus par classe d'âge diminue. Chez *O. asellus*, les masses maximales observées sont 93,3 et 116,6 mg pour les mâles et les femelles non gravides respectivement. Chez *P. scaber*, les masses maximales observées sont 85 et 78 mg pour les mâles et les femelles non gravides respectivement.

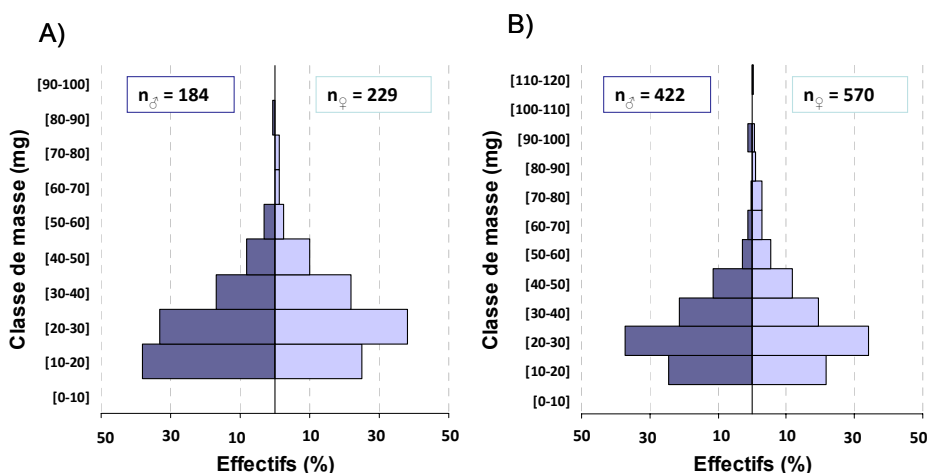


Figure 32 : Pyramides d'âge représentant la proportion d'individus appartenant à une classe de masse définie pour les individus mâles (♂) et femelles (♀), de *P. scaber* (A) et d'*O. asellus* (B) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais, non contaminés par des ETM.

- **A l'échelle des sites**

***Oniscus asellus* (printemps 2008)**

Parmi les individus collectés, jusqu'à 100 individus mâles et femelles gravides par station ont été pesés, et ceux dont la masse était supérieure à 10 mg ont été sélectionnés pour constituer 8 métapopulations (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR), soit 1 500 individus au total. Les structurations par âge, réalisées pour chacune des métapopulations sont présentées figure 33. Les classes [20-30] et [30-40] mg sont les plus représentées pour les mâles. Sur les sites APO, MET, UMI et RSAW, le pourcentage de mâles dont la masse est comprise entre 20 et 30 mg, est supérieur à 30%. Cette classe constitue la classe dominante. Sur les sites BOU, MAR, RSAW et MOR, les mâles dont la masse est comprise entre 30 et 40 mg représentent la classe dominante. En revanche, parmi les individus mâles échantillonnés sur le site CRAM, la classe dominante est la classe [10-20] mg. Par ailleurs, les classes modales sont plus variables entre les sites pour les femelles gravides. En effet, sur les sites MET, MAR et MOR, la classe dominante est la classe [60-70] mg et sur les sites UMI et CRAM la classe dominante est la classe [30-40] mg. De plus, sur les sites APO, BOU et RSAW, les classes dominantes sont respectivement [40-50], [50-60] et [20-30] mg. La masse des mâles atteint 83,5 mg et celle des femelles gravides 233,8 mg (station MOR 3).

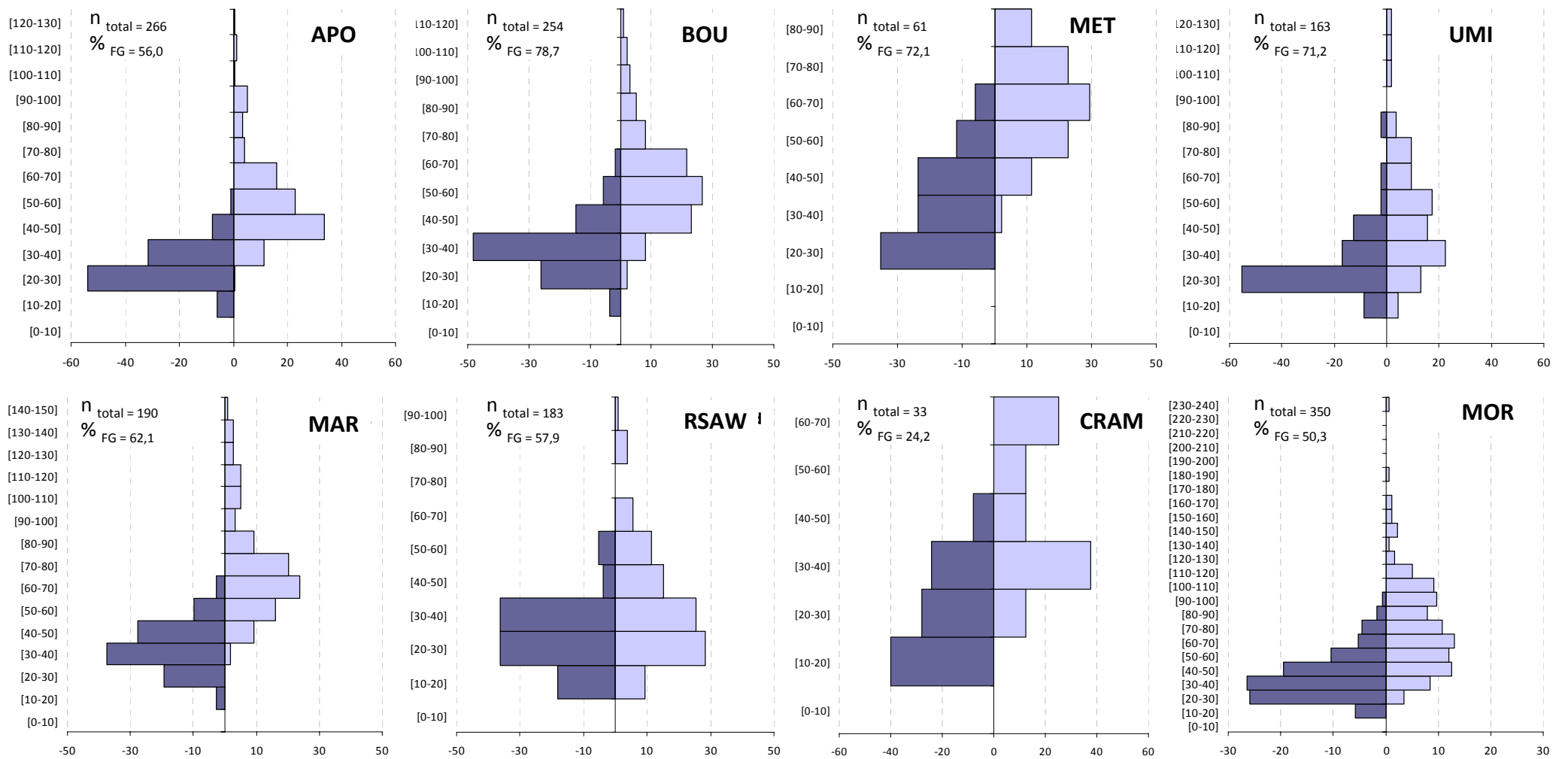


Figure 33 : Structuration par âge chez *Oniscus asellus* pour les 8 métapopulations étudiées (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR), représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles gravides (FG) sont précisés.

***Porcellio scaber* (printemps 2008)**

Parmi les individus collectés, jusqu'à 100 individus mâles et femelles gravides par station ont été pesés, et ceux dont la masse était supérieure à 10 mg ont été sectionnés pour constituer 8 métapopulations (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR), soit 1 402 individus au total. Les structurations par âge, réalisées pour chacune des métapopulations sont présentées figure 34. La classe [10-20] mg est la plus représentée pour les mâles. Plus de 30% de mâles ont une masse comprise entre 10 et 20 mg, et ce quel que soit le site considéré. Elles constituent la classe dominante dans toutes les métapopulations, à l'exception du site MOR où la classe dominante est la classe [20-30] mg.

Chez les femelles gravides collectées sur les sites APO, BOU, MET et UMI, la classe dominante est la classe [30-40] mg, et sur les sites MAR, CRAM et MOR, la classe la plus représentée est la classe [20-30] mg. Sur le site RSAW, la classe modale concerne les femelles dont la masse est comprise entre 10 et 20 mg. La masse maximale observée pour les mâles est 84,2 mg (station UMI 2), celle des femelles gravides est 147,7 mg (station MET 3).

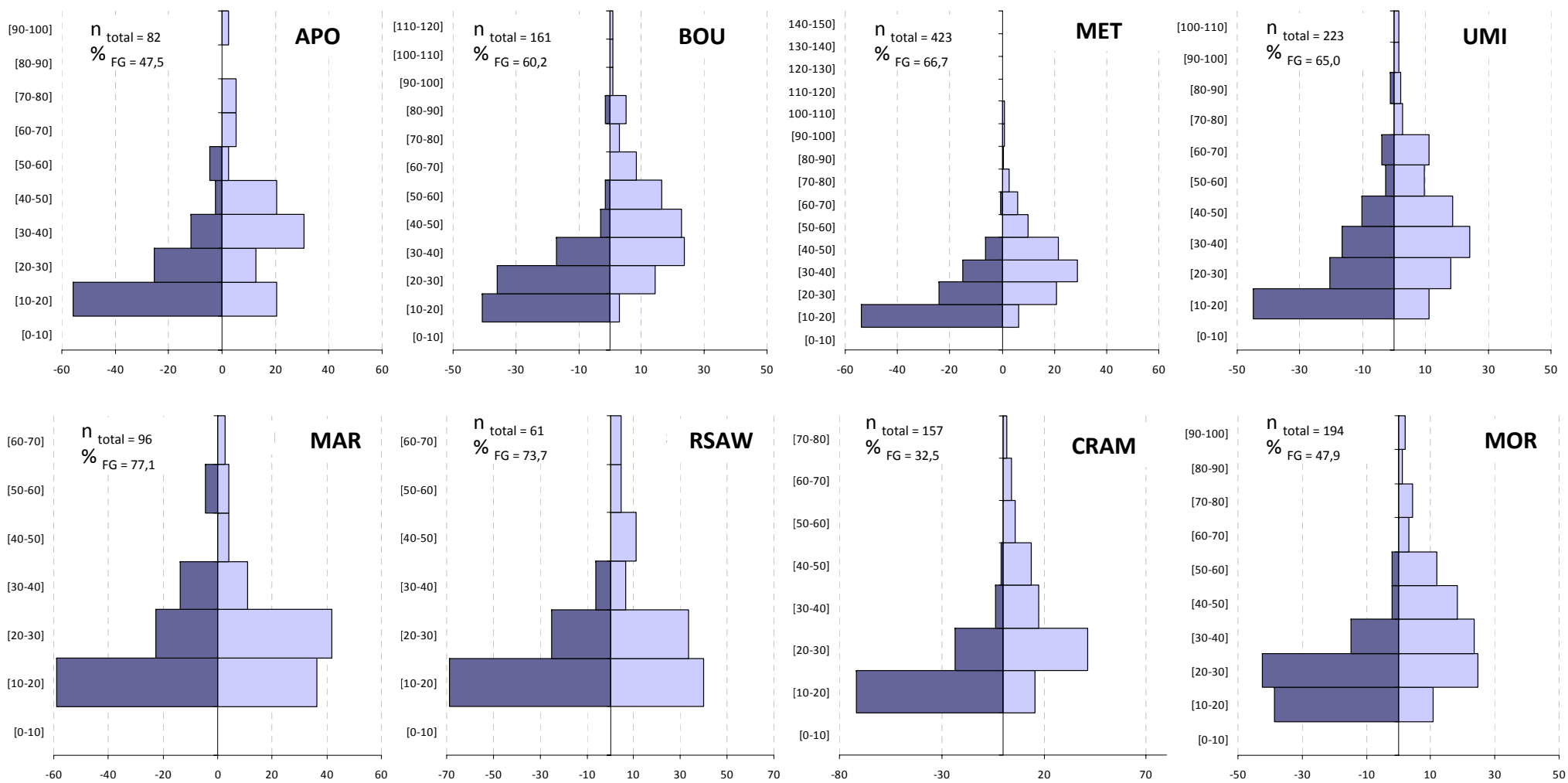


Figure 34 : Structuration par âge chez *Porcellio scaber* pour les 8 métapopulations étudiées (APO, BOU, MET, UMI, MAR, RSAW, CRAM et MOR) représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles gravides (FG) sont précisés.

***Porcellio scaber* (automne 2008)**

Tous les individus collectés ont été pesés et 7 métapopulations (APO, BOU, MET, UMI, MAR, CRAM et MOR) ont été constituées. Les structurations par âge, réalisées pour chacune des métapopulations, ainsi que le nombre total d'individus et le pourcentage de femelles par site, sont présentées figure 35.

Sur les sites APO, BOU, CRAM et MOR, au moins 20% de la population échantillonnée est constituée par des juvéniles (< 10 mg), mâles et femelles, alors que sur les sites MET, UMI et MAR, la classe [0-10] mg constitue moins de 10% de la population, mâles et femelles. La classe [10-20] mg est la plus représentée chez les mâles et les femelles, et constitue plus de 40% de la population échantillonnée sur les sites BOU et MOR, et plus de 30% sur les sites APO et MET. De plus, cette classe est aussi assez bien représentée chez les mâles des sites UMI et MAR, avec plus de 30% de la population. La classe [20-30] mg constitue plus de 30% des mâles et femelles sur les sites MET et MAR, et environ 20% des mâles et des femelles sur le site UMI. Enfin, la classe [30-40] mg constitue plus de 20% des mâles et femelles sur les sites UMI et CRAM, et environ 20% sur le site MAR.

La masse maximale observée pour les mâles est 84,9 mg (station MOR 3), celle des femelles est 156,9 mg (station MET 2).

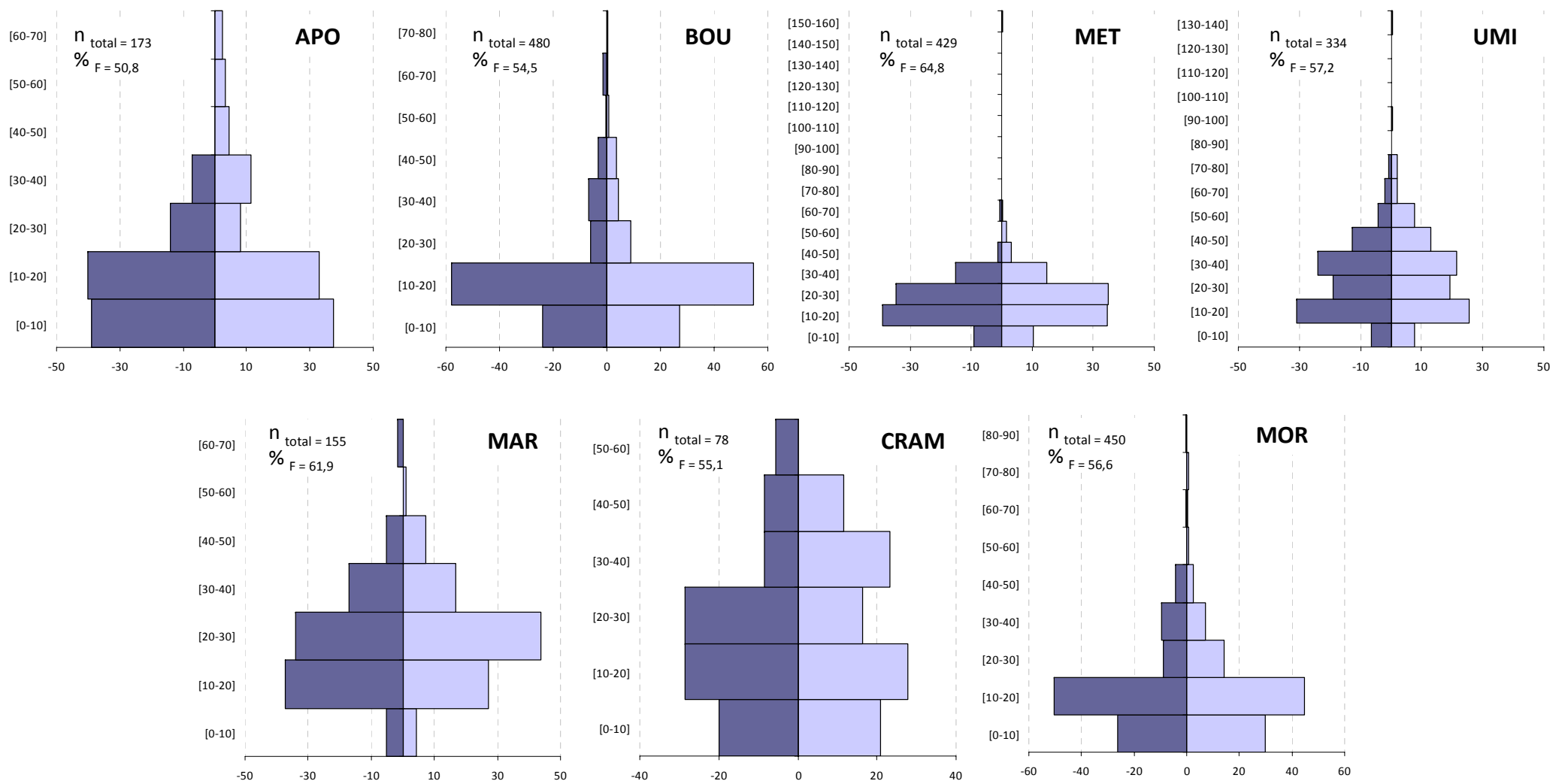


Figure 35 : Structuration par âge (i.e. masse) chez *Porcellio scaber* pour les 7 métapopulations étudiées à l'automne 2008 (APO, BOU, MET, UMI, MAR, CRAM et MOR), représentant le pourcentage d'individus, mâles (bleu foncé) et femelles gravides (bleu ciel) par classe de masse (mg). Les effectifs (n) et le pourcentage de femelles (F) sont précisés.

2.2.3. Paramètres liés à la reproduction

Les paramètres en lien avec la reproduction des individus ont été étudiés au printemps 2008 chez les femelles gravides d'*O. asellus* et de *P. scaber*. Ont été considérés le nombre d'œufs par femelle et la taille des œufs.

▪ Relation entre les paramètres étudiés

Dans un premier temps, des relations entre la masse des femelles gravides et le nombre d'œufs ont été recherchées en distinguant les individus issus d'habitats non ou massivement contaminés par des ETM (Figures 36 et 37). Ces relations ont mis en évidence des corrélations significatives entre ces deux paramètres ($p < 0,05$), et ceci chez les deux espèces. Le même type de relations linéaires est observé pour les individus qu'ils soient issus d'habitats massivement contaminés ou non.

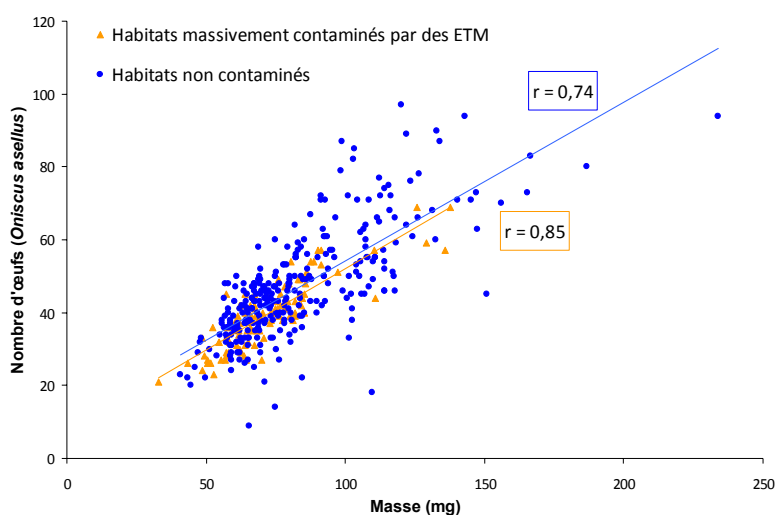


Figure 36 : Relation entre la masse des femelles gravides *O. asellus* et le nombre d'œufs pour les individus issus d'habitats massivement contaminés ou non ($n = 298$ et $n = 100$ respectivement).

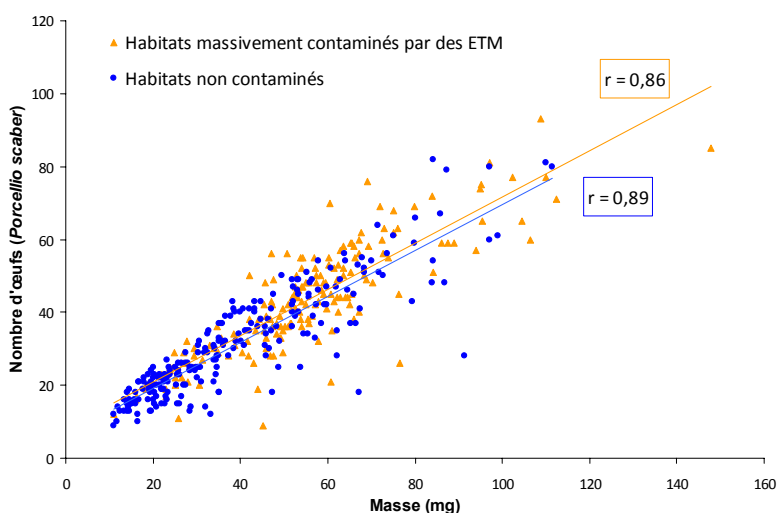


Figure 37 : Relation entre la masse des femelles gravides *P. scaber* et le nombre d'œufs pour les individus issus d'habitats massivement contaminés par des ETM ou non ($n = 179$ et $n = 234$ respectivement).

- Etude de la variabilité intra site des paramètres étudiés

Oniscus asellus (printemps 2008)

En considérant l'ensemble des femelles gravides collectées au printemps 2008, il a été observé que la masse des femelles variée de 22,2 mg (station MOR 2) à 233,8 mg (station MOR 3) (Annexe C).

Des différences inter-populationnelles dans le nombre d'œufs par femelle ont été observées sur les sites UMI, MAR et MOR. En effet, le nombre d'œufs par femelle est supérieur sur la station UMI 1 en comparaison avec les stations UMI2 et UMI 3 ($p < 0,05$, figure 38). De même, il a été observé que le nombre d'œufs était plus élevé pour les femelles issues de la station MAR 1 que pour celles collectées sur les stations MAR 2 et MAR 3 ($p < 0,05$). Celui-ci est également plus élevé sur la station MOR 3 en comparaison des stations MOR 1 et MOR 2 ($p < 0,05$). Cependant, des corrélations significatives ont été observées entre le nombre d'œufs par femelle et la masse des individus. Afin de s'affranchir de l'effet de la taille des individus sur le nombre d'œufs, un autre indicateur a été considéré. Il s'agit du nombre d'œufs par femelle / la largeur du céphalon de la femelle. Les mêmes différences inter-populationnelles ont été observées, à l'exception de la station MET 2 qui montre un rapport supérieur à celui défini pour la station MET 1 ($p < 0,05$).

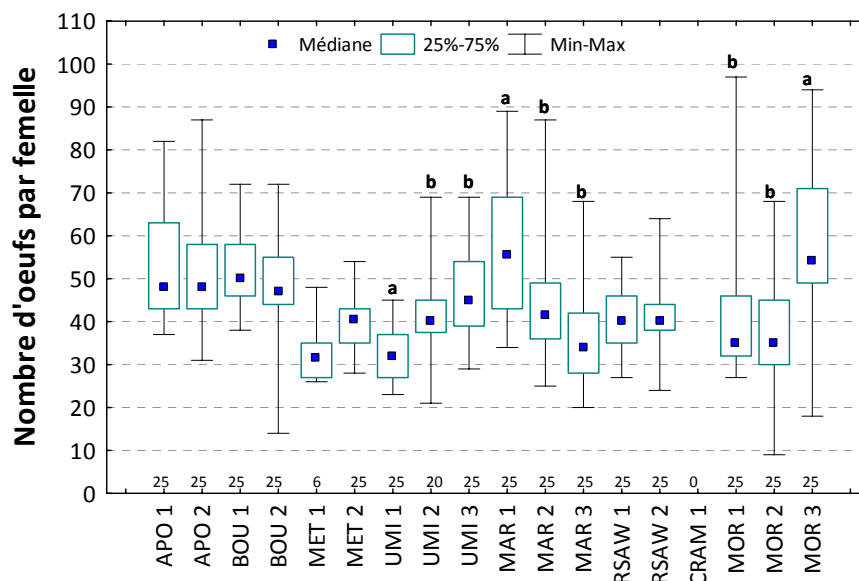
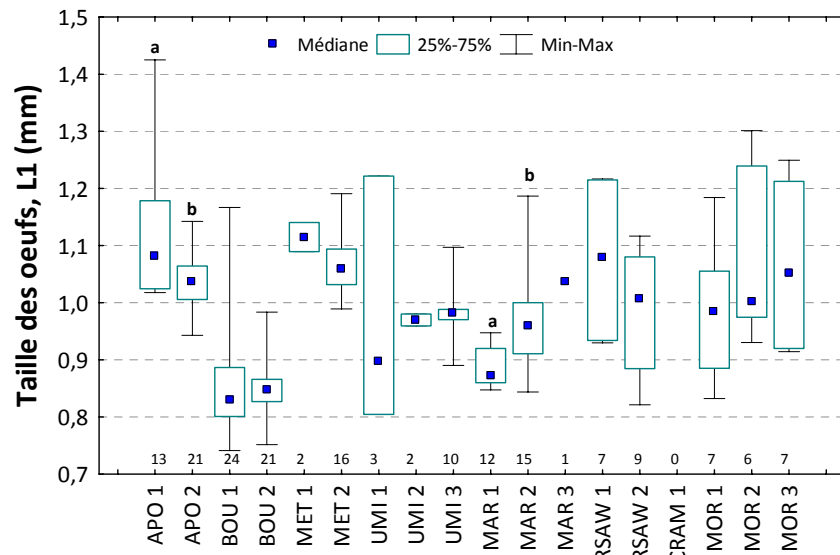


Figure 38 : Nombre d'œufs par femelle chez *O. asellus* collecté au printemps 2008 sur 18 stations. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

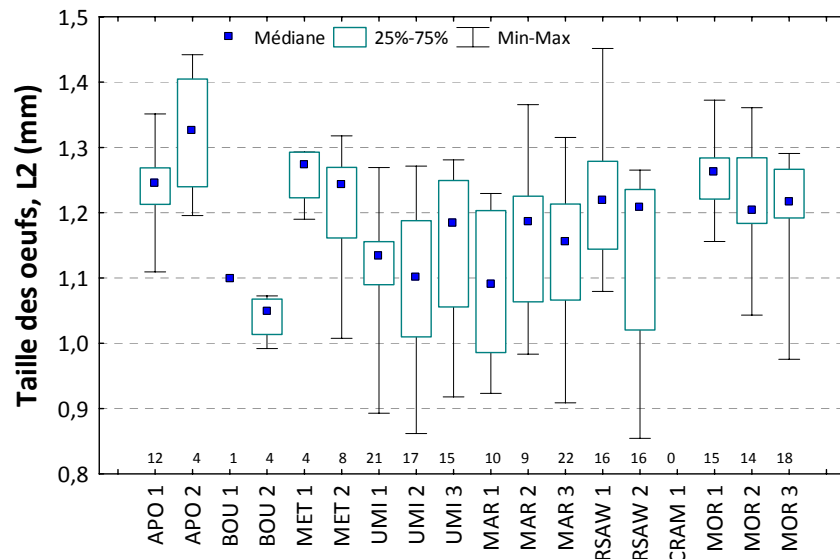
Les femelles gravides sélectionnées pour les mesures biométriques présentaient des stades de gravidité différents. Trois stades ont été distingués selon le développement des individus dans le marsupium : le stade 1 correspondant à l'œuf fécondé, le stade 2, à un état embryonnaire et le

stade 3 à un manca. En raison de la forme variable des mancas, les mesures n'ont pas été réalisées.

En considérant le stade 1, peu de différences inter-populationnelles ont été observées (Figure 39a). Toutefois, la taille des œufs diffère entre les stations APO 1 et APO 2, et entre les stations MAR 1 et MAR 2 ($p < 0,05$). En considérant le stade 2, aucune différence n'a été observée dans la taille des œufs entre les populations d'un même site (Figure 39b).



(a)



(b)

Figure 39 : Taille moyenne des œufs ($n = 5$ œufs mesurés par femelle) chez *O. asellus* collecté au printemps 2008 sur 18 stations. (a) stade 1 de gravidité, (b) stade 2 de gravidité. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

***Porcellio scaber* (printemps 2008)**

En considérant l'ensemble des femelles gravides collectées au printemps 2008, il a été observé que la masse des femelles variée de 8,70 mg (station MAR 3) à 147,7 mg (station MET 3) (Annexe D).

Des différences inter-populationnelles dans le nombre d'œufs par femelles gravides ont été observées sur les sites BOU, UMI, RSAW et MOR. En effet, le nombre est supérieur pour les individus de la station BOU 2 en comparaison de celui obtenu sur la station BOU 1 ($p < 0,05$, figure 40). De plus, le nombre d'œufs par femelle diffère significativement entre les stations UMI 1, UMI 2 et UMI 3 ($p < 0,05$). Le nombre d'œufs chez les femelles issues de la station RSAW 1 est aussi plus élevé que chez les femelles issues de la station RSAW 2 ($p < 0,05$). Enfin, les stations MOR 1 et MOR 2 diffèrent également par le nombre d'œufs par femelle gravide ($p < 0,05$). En revanche, aucune différence n'a été observée pour les sites APO, MET, MAR et CRAM. Les mêmes différences inter-populationnelles ont été observées en considérant le ratio nombre d'œufs par femelle / largeur du céphalon ($p < 0,05$).

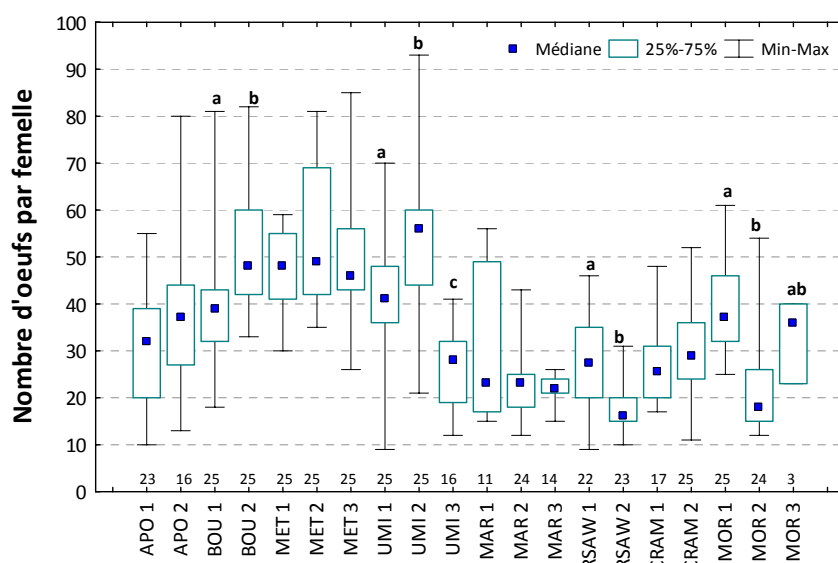
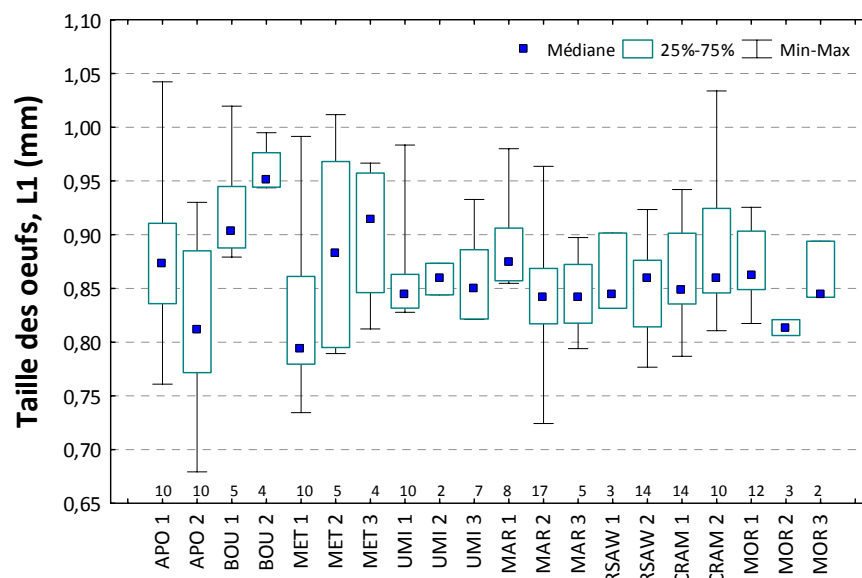
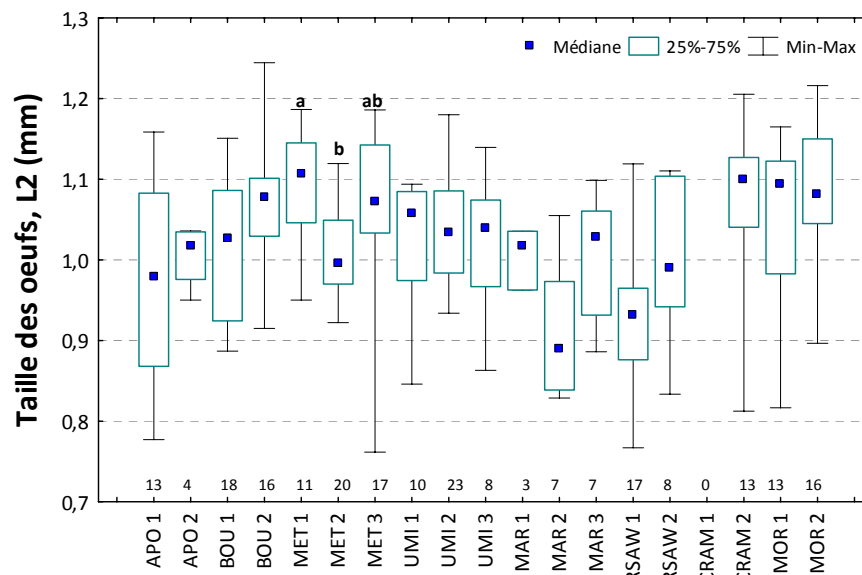


Figure 40 : Nombre d'œufs par femelle chez *P. scaber* collecté au printemps 2008 sur 20 stations. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

En considérant le stade 1, aucune différence n'a été observée dans la taille des œufs entre les populations d'un même site (figure 41a). Toutefois, en considérant le stade 2, la taille des œufs chez les femelles issues de la station MET 1 est supérieure à celle des individus issus de la station MET 2 ($p < 0,05$, figure 41b).



(a)



(b)

Figure 41 : Taille moyenne des œufs ($n = 5$ œufs mesurés par femelle) chez *P. scaber* collecté au printemps 2008 sur 20 stations. (a) stade 1 de gravidité, (b) stade 2 de gravidité. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations d'un même site ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis ou test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Le nombre de femelles étudiées est présenté en abscisse.

2.2.4. Paramètres biométriques

a) Etude de la variabilité biométrique de populations d'isopodes issues d'habitats ligneux non massivement contaminés

A l'automne 2007, 1 083 *O. asellus* (dont 426 mâles, 184 femelles non gravides et 80 femelles gravides) et 419 *P. scaber* (dont 184 mâles, 233 femelles non gravides et une femelle gravide) ont été collectés à l'automne 2007. En ce qui concerne la distribution régionale, sur les 34 stations régionales prospectées, *O. asellus* et *P. scaber* ont été respectivement observés sur 30 et 18 stations.

Parmi l'ensemble des individus récoltés, un total de 992 individus d'*O. asellus* et 413 individus de *P. scaber*, mâles et femelles, dont la masse était supérieure à 10 mg ont été sélectionnés pour les mesures biométriques. Ces mesures ont concerné la masse, la largeur du céphalon, la taille, la longueur des articles de l'antenne gauche et du 6^{ème} péréiopode gauche.

▪ Etude du dimorphisme sexuel

Des dimorphismes sexuels ont été observés pour plusieurs paramètres biométriques, et ceci chez les deux espèces. Chez *O. asellus*, la masse et la largeur du céphalon sont significativement plus élevées chez les femelles que chez les mâles ($p < 0,05$), alors que les articles (F1 et F2) des flagelles de l'antenne gauche sont plus grands chez les mâles. De plus, l'ischion, le méros, le carpos, le propodos et le dactylos sont également plus grands chez les mâles que chez les femelles (Tableau 9).

Chez *P. scaber*, la masse et la largeur du céphalon sont aussi significativement plus élevées chez les femelles que chez les mâles, alors que les articles de l'antenne gauche (Ba, Art 1, Art 2 et Art 3) sont plus grands chez les mâles. Toutefois aucune différence n'a été observée entre les mâles et les femelles pour les longueurs des articles des 6^{ème} péréiopodes gauches, à l'exception du basis dont la longueur est plus grande chez les femelles que chez les mâles (Tableau 10).

	Mâles					Femelles					p
	n	moy	min	max	ET	n	moy	min	max	ET	
Masse (mg)	422	29,46	10,70	96,30	13,33	570	32,59	10,10	116,60	16,50	*
Taille (mm)	422	8,92	5,01	15,30	1,36	570	9,07	4,65	14,34	1,59	
Céphalon	422	1,88	1,42	2,75	0,23	570	1,93	1,32	2,94	0,27	*
Base Ag	296	0,46	0,32	0,70	0,07	442	0,46	0,28	0,73	0,08	
Art 1 Ag	394	0,55	0,36	0,97	0,10	555	0,55	0,30	0,99	0,12	
Art 2 Ag	411	0,91	0,50	1,52	0,16	565	0,90	0,55	1,70	0,19	
Art 3 Ag	412	1,44	0,91	2,25	0,24	561	1,43	0,40	2,53	0,30	
Flag 1 Ag	411	0,45	0,18	1,42	0,11	556	0,43	0,22	0,87	0,11	**
Flag 2 Ag	410	0,32	0,16	0,97	0,07	555	0,30	0,16	0,52	0,06	***
Flag 3 Ag	405	0,56	0,37	0,82	0,07	553	0,56	0,36	0,79	0,08	
Basis 6g	406	1,42	0,89	2,25	0,22	559	1,44	0,89	2,44	0,27	
Ischion 6g	413	0,79	0,49	1,25	0,13	562	0,75	0,42	1,19	0,14	***
Méros 6g	411	0,56	0,32	1,00	0,10	561	0,52	0,30	1,42	0,12	***
Carpos 6g	410	0,82	0,51	1,33	0,15	562	0,80	0,46	1,43	0,17	**
Propodos 6g	409	0,80	0,54	1,25	0,13	560	0,76	0,18	1,39	0,15	***
Dactylos 6g	408	0,15	0,09	0,27	0,03	554	0,14	0,08	0,26	0,03	***

Tableau 9 : Paramètres biométriques mesurés chez *O. asellus* (mâles et femelles non gravides), collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais non contaminés par des ETM. Différences significatives marquées à * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

	n	moy	Mâles			Femelles					p
			min	max	ET	n	moy	min	max	ET	
Masse (mg)	184	25,90	11,50	85,00	11,26	229	28,95	10,90	78,80	12,45	*
Taille (mm)	184	8,87	5,96	12,67	1,33	229	8,87	6,29	13,28	1,33	
Céphalon	184	1,72	1,34	2,22	0,18	229	1,77	1,29	2,28	0,21	*
Base Ag	156	0,46	0,32	0,75	0,08	193	0,41	0,30	0,65	0,07	***
Art 1 Ag	168	0,46	0,32	0,68	0,08	213	0,43	0,28	0,80	0,07	**
Art 2 Ag	181	0,78	0,44	1,25	0,14	225	0,73	0,44	1,12	0,13	**
Art 3 Ag	180	1,29	0,86	2,04	0,22	225	1,20	0,66	1,84	0,20	***
Flag 1 Ag	180	0,47	0,25	0,80	0,10	224	0,46	0,15	0,73	0,10	
Flag 2 Ag	179	0,63	0,44	0,82	0,07	224	0,62	0,36	0,80	0,08	
Basis 6g	180	1,26	0,83	1,93	0,18	222	1,33	0,49	1,90	0,21	***
Ischion 6g	183	0,67	0,46	0,98	0,09	224	0,65	0,37	0,94	0,10	
Méros 6g	183	0,46	0,28	0,74	0,08	223	0,46	0,28	0,70	0,08	
Carpos 6g	183	0,67	0,49	0,96	0,10	223	0,69	0,45	0,98	0,11	
Propodos 6g	183	0,63	0,46	0,87	0,08	223	0,63	0,10	0,86	0,10	
Dactylos 6g	182	0,12	0,06	0,18	0,02	222	0,12	0,08	0,18	0,02	

Tableau 10 : Paramètres biométriques mesurés chez *P. scaber* (mâles et femelles non gravides), collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais non contaminés par des ETM. Différences significatives marquées à * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Du fait de l'existence d'un dimorphisme sexuel, l'analyse de la variabilité biométrique des populations d'isopodes a été réalisée en différenciant les sexes.

▪ Relation entre les paramètres biométriques étudiés

Les résultats montrent que tous les paramètres biométriques étudiés sont significativement corrélés les uns aux autres, et ceci chez *O. asellus* ($p < 0,01$) et *P. scaber* ($p < 0,001$). Les coefficients de Pearson (r) sont présentés dans les tableaux 11 et 12.

	Antenne gauche									6ème péréiopode gauche						
	Masse	Taille	Céphalon	Base	Art1	Art2	Art3	F1	F2	F3	Basis	Ischion	Méros	Carpos	Propodos	Dactylos
Masse	1,00	0,90	0,91	0,77	0,87	0,90	0,90	0,84	0,75	0,78	0,90	0,87	0,81	0,90	0,83	0,65
Taille	0,90	1,00	0,89	0,79	0,83	0,85	0,87	0,81	0,73	0,81	0,88	0,86	0,81	0,88	0,81	0,61
Céphalon	0,91	0,89	1,00	0,85	0,91	0,93	0,94	0,86	0,79	0,88	0,94	0,92	0,84	0,94	0,87	0,67
Base	0,77	0,79	0,85	1,00	0,82	0,87	0,85	0,81	0,78	0,80	0,83	0,83	0,76	0,84	0,81	0,58
Art1	0,87	0,83	0,91	0,82	1,00	0,90	0,91	0,84	0,79	0,84	0,89	0,88	0,80	0,90	0,84	0,65
Art2	0,90	0,85	0,93	0,87	0,90	1,00	0,96	0,85	0,80	0,87	0,92	0,92	0,83	0,94	0,88	0,69
Art3	0,90	0,87	0,94	0,85	0,91	0,96	1,00	0,87	0,81	0,89	0,93	0,93	0,84	0,95	0,90	0,68
F1	0,84	0,81	0,86	0,81	0,84	0,85	0,87	1,00	0,82	0,81	0,85	0,87	0,79	0,88	0,84	0,69
F2	0,75	0,73	0,79	0,78	0,79	0,80	0,81	0,82	1,00	0,81	0,79	0,79	0,73	0,81	0,78	0,61
F3	0,78	0,81	0,88	0,80	0,84	0,87	0,89	0,81	0,81	1,00	0,86	0,86	0,77	0,87	0,84	0,63
Basis	0,90	0,88	0,94	0,83	0,89	0,92	0,93	0,85	0,79	0,86	1,00	0,92	0,84	0,95	0,89	0,68
Ischion	0,87	0,86	0,92	0,83	0,88	0,92	0,93	0,87	0,79	0,86	0,92	1,00	0,86	0,96	0,91	0,71
Méros	0,81	0,81	0,84	0,76	0,80	0,83	0,84	0,79	0,73	0,77	0,84	0,86	1,00	0,86	0,77	0,67
Carpos	0,90	0,88	0,94	0,84	0,90	0,94	0,95	0,88	0,81	0,87	0,95	0,96	0,86	1,00	0,92	0,72
Propodos	0,83	0,81	0,87	0,81	0,84	0,88	0,90	0,84	0,78	0,84	0,89	0,91	0,77	0,92	1,00	0,68
Dactylos	0,65	0,61	0,67	0,58	0,65	0,69	0,68	0,69	0,61	0,63	0,68	0,71	0,67	0,72	0,68	1,00

Tableau 11 : Matrice de corrélation – coefficient de Pearson r – de l'ensemble des paramètres biométriques mesurés chez *O. asellus* ($n = 992$, sexe confondu) collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais. Corrélations significatives en italique ($p < 0,01$).

	Antenne gauche									6ème péréiopode gauche					
	Masse	Taille	Céphalon	Base	Art1	Art2	Art3	F1	F2	Basis	Ischion	Méros	Carpos	Propodos	Dactylos
Masse	1,00	0,88	0,80	0,71	0,69	0,76	0,76	0,79	0,67	0,82	0,81	0,79	0,83	0,77	0,56
Taille	0,88	1,00	0,87	0,76	0,75	0,83	0,83	0,80	0,76	0,83	0,85	0,84	0,86	0,82	0,54
Céphalon	0,80	0,87	1,00	0,74	0,79	0,85	0,85	0,83	0,83	0,91	0,91	0,88	0,94	0,90	0,56
Base	0,71	0,76	0,74	1,00	0,74	0,86	0,86	0,76	0,74	0,72	0,80	0,76	0,77	0,74	0,47
Art1	0,69	0,75	0,79	0,74	1,00	0,82	0,87	0,84	0,79	0,72	0,80	0,77	0,79	0,74	0,44
Art2	0,76	0,83	0,85	0,86	0,82	1,00	0,96	0,88	0,83	0,80	0,87	0,85	0,86	0,83	0,54
Art3	0,76	0,83	0,85	0,86	0,87	0,96	1,00	0,89	0,85	0,80	0,88	0,86	0,87	0,83	0,54
F1	0,79	0,80	0,83	0,76	0,84	0,88	0,89	1,00	0,82	0,80	0,83	0,82	0,84	0,81	0,53
F2	0,67	0,76	0,83	0,74	0,79	0,83	0,85	0,82	1,00	0,76	0,79	0,78	0,82	0,81	0,47
Basis	0,82	0,83	0,91	0,72	0,72	0,80	0,80	0,80	0,76	1,00	0,88	0,84	0,93	0,91	0,54
Ischion	0,81	0,85	0,91	0,80	0,80	0,87	0,88	0,83	0,79	0,88	1,00	0,88	0,94	0,91	0,62
Méros	0,79	0,84	0,88	0,76	0,77	0,85	0,86	0,82	0,78	0,84	0,88	1,00	0,87	0,83	0,56
Carpos	0,83	0,86	0,94	0,77	0,79	0,86	0,87	0,84	0,82	0,93	0,94	0,87	1,00	0,91	0,62
Propodos	0,77	0,82	0,90	0,74	0,74	0,83	0,83	0,81	0,81	0,91	0,91	0,83	0,91	1,00	0,52
Dactylos	0,56	0,54	0,56	0,47	0,44	0,54	0,54	0,53	0,47	0,54	0,62	0,56	0,62	0,52	1,00

Tableau 12 : Matrice de corrélation – coefficient de Pearson r – de l'ensemble des paramètres biométriques mesurés chez *P. scaber* ($n = 417$, sexe confondu) collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux du Nord – Pas de Calais. Corrélations significatives en italique ($p < 0,001$).

Les figures 42, 43 et 44 illustrent les relations entre la masse et la taille (*P. scaber*), la masse et le céphalon (*O. asellus*), la longueur du 3^{ème} article gauche de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopode gauche (*O. asellus*), chez les mâles et les femelles.

Les relations entre la masse et la taille ou la masse et la largeur du céphalon sont de type logarithmique. Au cours du temps, la croissance s'effectue plutôt en masse qu'en taille (en considérant la taille de l'individu ou la largeur du céphalon). En d'autres termes, la croissance des individus s'atténue avec le temps alors que leur masse continue à augmenter (c.f. allométrie majorante).

Par ailleurs, les relations entre les articles des appendices sont plutôt de type linéaire (Figure 44).

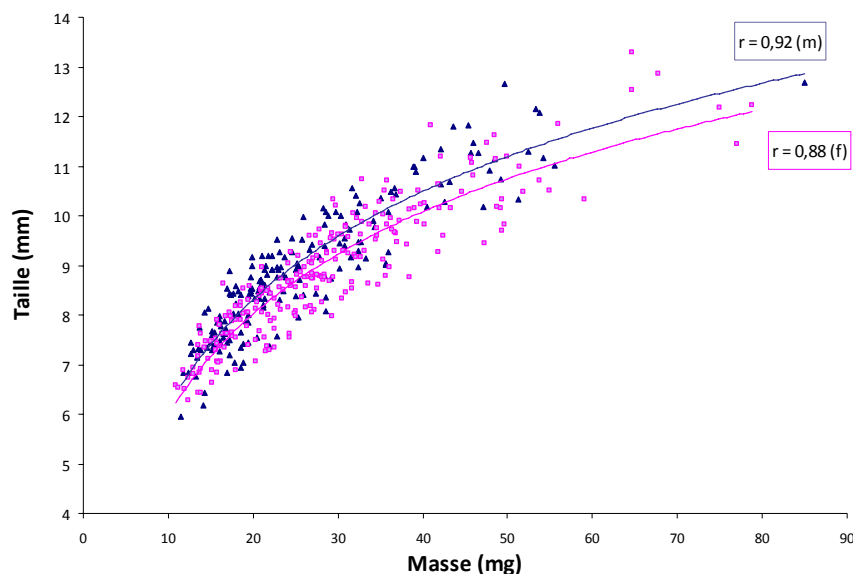


Figure 42 : Relation entre la masse et la taille de *P. scaber* ($n = 417$), mâles (m) et femelles (f)

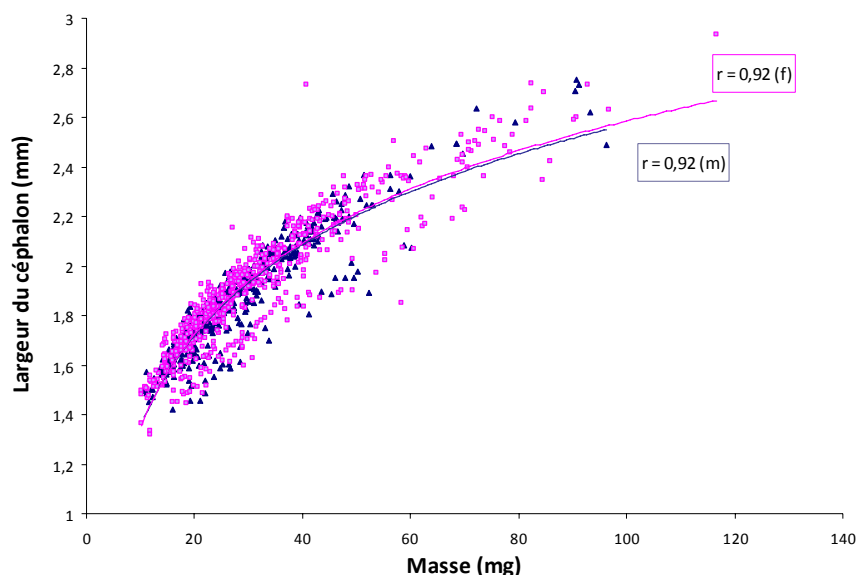


Figure 43 : Relation entre la largeur du céphalon et la masse chez *O. asellus* (n = 992), mâles (m) et femelles (f)

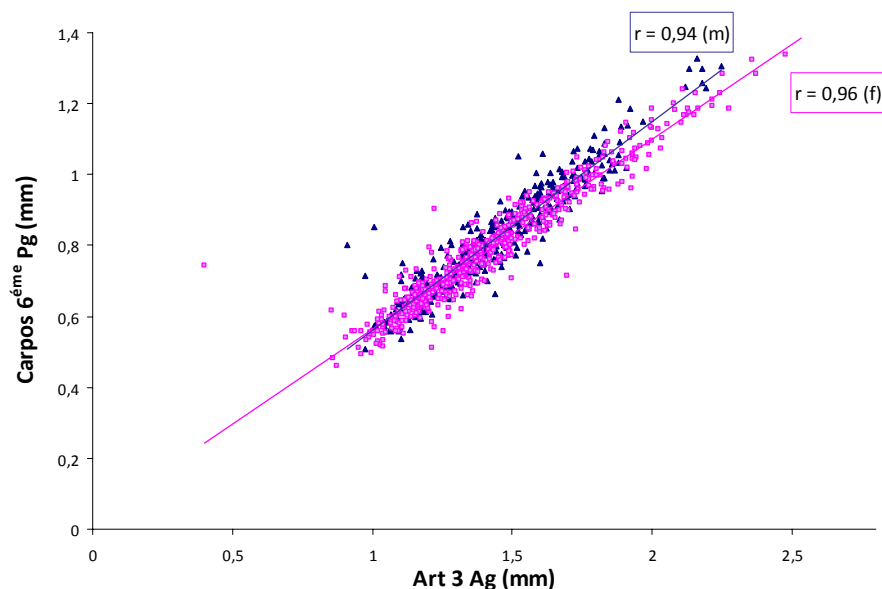


Figure 44 : Relation entre la longueur du 3^{ème} article gauche de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopode gauche chez *O. asellus* (n = 983), mâles (m) et femelles (f).

Afin de limiter les biais liés à la variabilité biométrique intra échantillons (les populations sont constituées d'individus de taille très variable, cf. figures 32 à 35), des rapports entre les différents paramètres biométriques ont été établis afin de s'affranchir de l'effet « taille » au sein des populations. Au regard des fortes corrélations observées et du type de relations entre ces différents paramètres biométriques, deux indices biométriques ont été définis.

Le premier, correspond au rapport entre la largeur du céphalon (C) et la masse (M). La masse constitue une mesure facile à acquérir et la largeur du céphalon est considérée comme étant une mesure plus fiable que la taille des individus. Ces deux paramètres étant liés par une relation

logarithmique, le rapport $\log(\text{largeur du céphalon}) / \log(\text{masse})$ a été choisi. L'utilisation du rapport largeur du céphalon / masse, sans transformation logarithmique, pourrait biaiser les résultats du fait de la relation non linéaire observée entre ces deux paramètres.

Le choix du second indice biométrique repose sur la forte relation de type linéaire existant entre la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopode et la longueur du 3^{ème} article de l'antenne. C'est le ratio correspondant à ces deux longueurs qui a été retenu comme second indice. Parmi les articles, la mesure du carpos et du 3^{ème} article de l'antenne est facilitée par leur linéarité et leur grande taille, ce qui limite de ce fait les incertitudes. Par ailleurs, la position de ces articles assure une certaine intégrité.

L'étude de la variabilité biométrique de populations d'isopodes issues d'habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM sera basée sur deux indicateurs biométriques :

- $\log C / \log M$
- ratio 6^{ème} carpos / art 3.

▪ Etude de la variabilité biométrique chez *O. asellus*

La variabilité biométrique basée sur ces deux indices a été étudiée à l'échelle des sites non contaminés (BOU, MAR, RSAW et MOR). Ces indices biométriques ont été comparés, à la fois chez les mâles et les femelles non gravides, entre ces quatre métapopulations mais aussi, par rapport à un indice régional moyen calculé en incluant les 30 populations d'*O. asellus* collectées à l'automne 2007.

Les résultats ont montré l'existence d'une variabilité biométrique régionale (à l'échelle des sites), chez les populations d'*O. asellus* mâles et femelles. L'indice $\log C / \log M$ montre des différences inter-sites similaires aussi bien chez les mâles que chez les femelles (Figures 45 et 46). Cet indice est significativement plus faible chez les individus issus du site BOU que chez les individus issus des sites MAR et MOR, mais également par rapport à l'indice régional. Par ailleurs, l'indice est significativement le plus élevé pour le MOR. Au regard de ces résultats, il existerait, quel que soit le sexe, un gradient de continentalité avec un indice croissant de la côte vers le massif ardennais.

En ce qui concerne l'indice 6^{ème} carpos / art 3, aucune différence inter-sites n'a été observée pour les mâles, alors que pour les femelles, cet indice est significativement inférieur chez les individus issus du site RSAW, bien que l'allure des graphes soit comparable pour les mâles et les femelles (Figures 47 et 48).

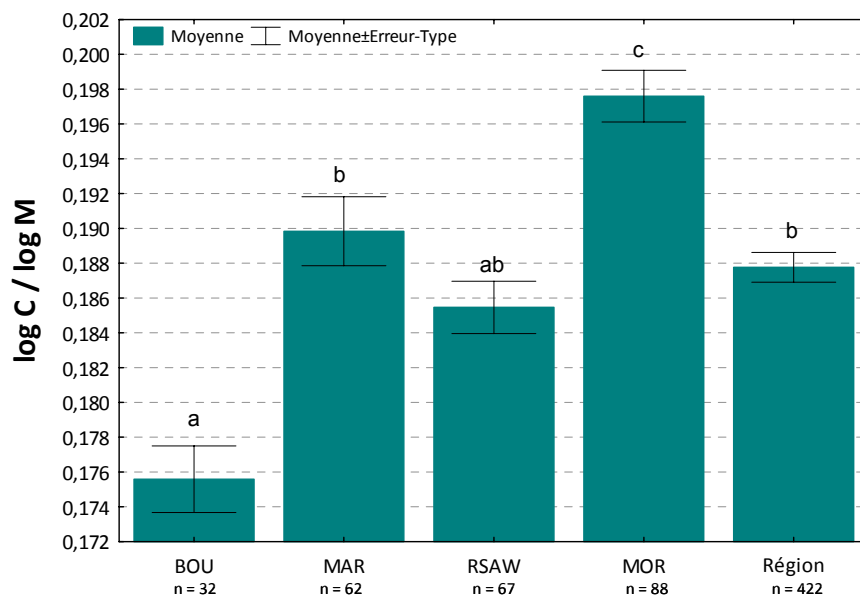


Figure 45 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (mâles) collecté à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

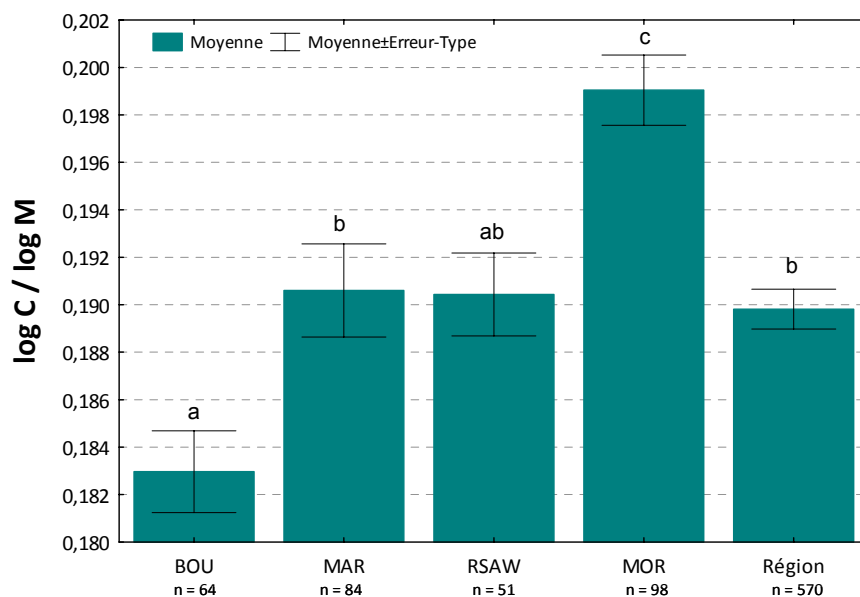


Figure 46 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (femelles non gravides) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

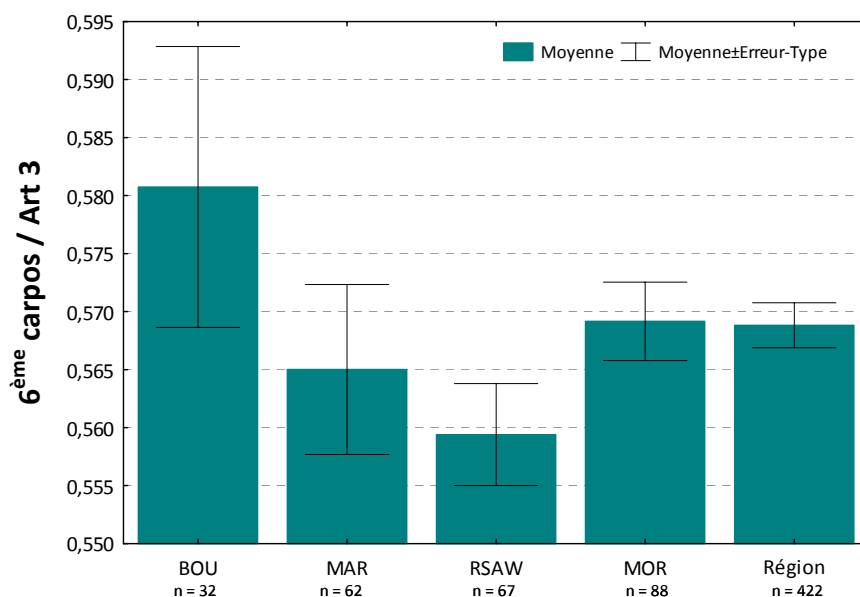


Figure 47 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

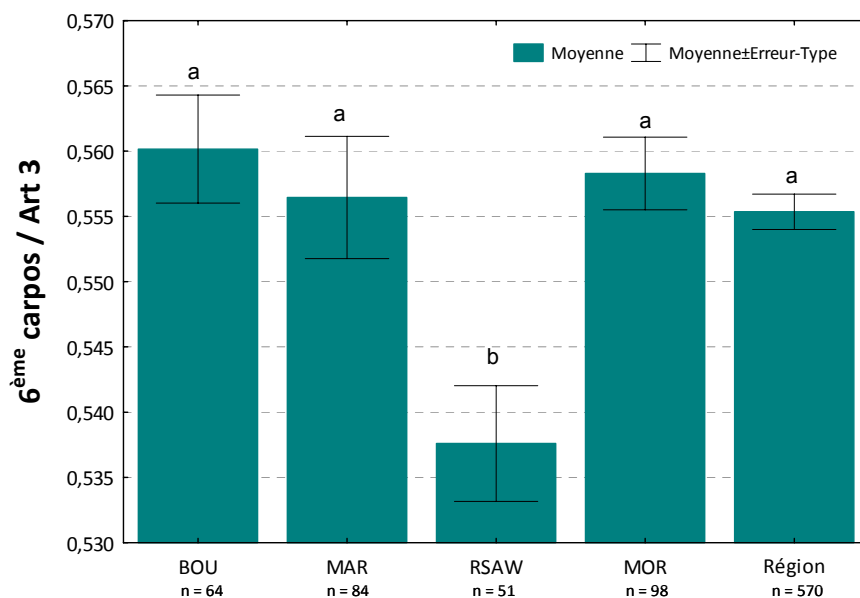


Figure 48 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne \pm erreur type) chez *O. asellus* (femelles non gravides) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU, MAR, RSAW et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

- **Etude de la variabilité biométrique chez *P. scaber***

En considérant les faibles effectifs de *P. scaber* collectés sur les 18 stations non contaminées où l'espèce était présente, les résultats n'ont pas montré de variabilité biométrique régionale significative (à l'échelle des sites BOU et MOR), chez les populations de *P. scaber* mâles et ceci, pour les deux indices biométriques calculés (Figures 49 et 50).

Pour les femelles, l'indice $\log C / \log M$ ne montre également pas de différence inter-site significatives (Figure 51). En revanche, des différences significatives ont été observées pour l'indice 6^{ème} carpos/ art 3 entre les femelles issues des sites BOU et MOR avec l'indice régional ($p < 0,05$, figure 52).

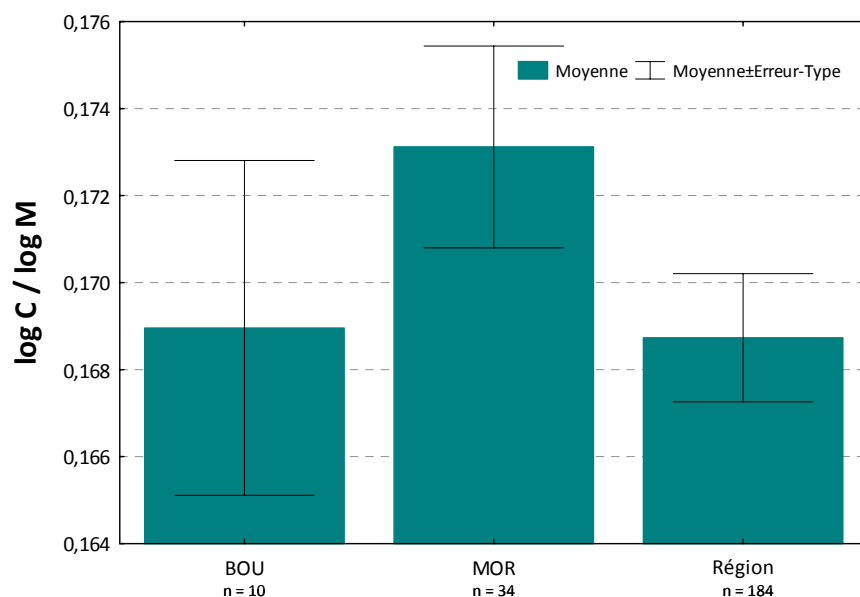


Figure 49 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

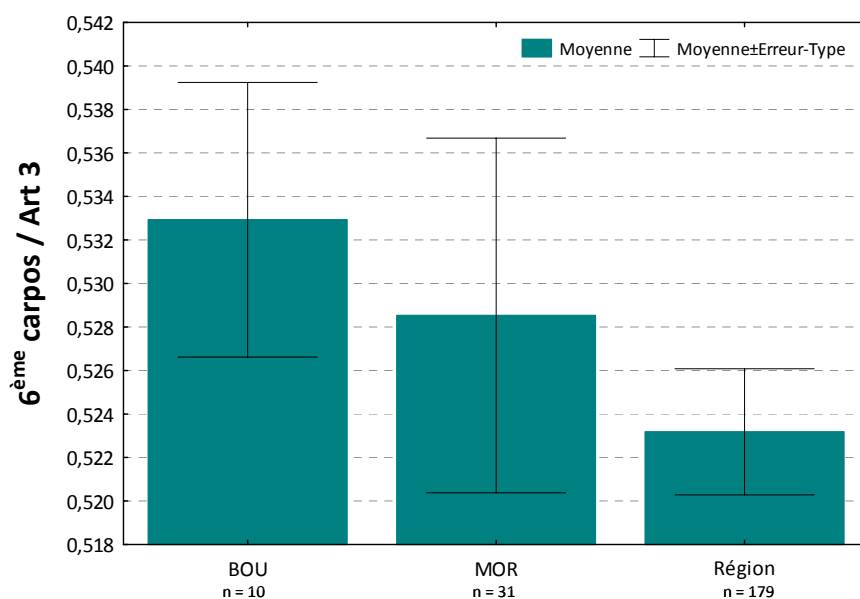


Figure 50 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{Art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des mâles collectés dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

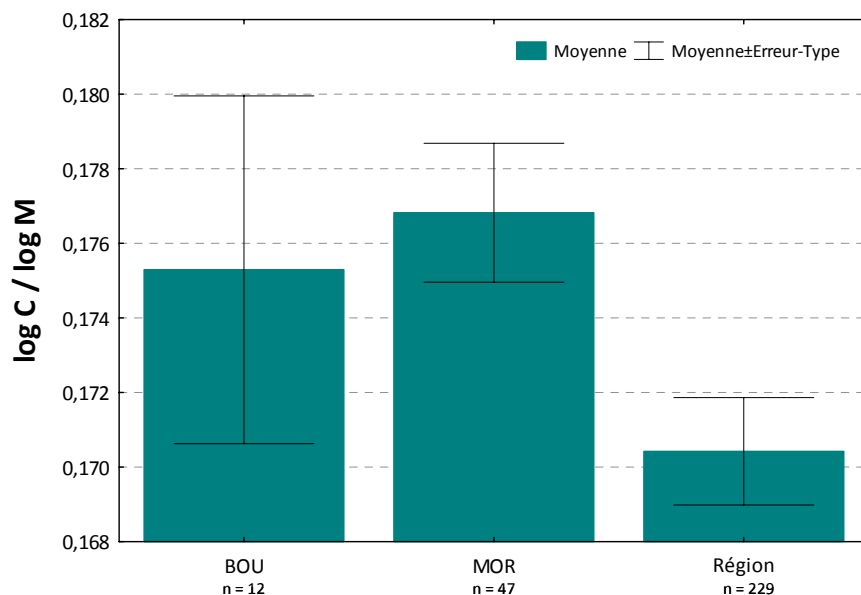


Figure 51 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (femelles) collectées à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Aucune différence significative n'a été observée ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

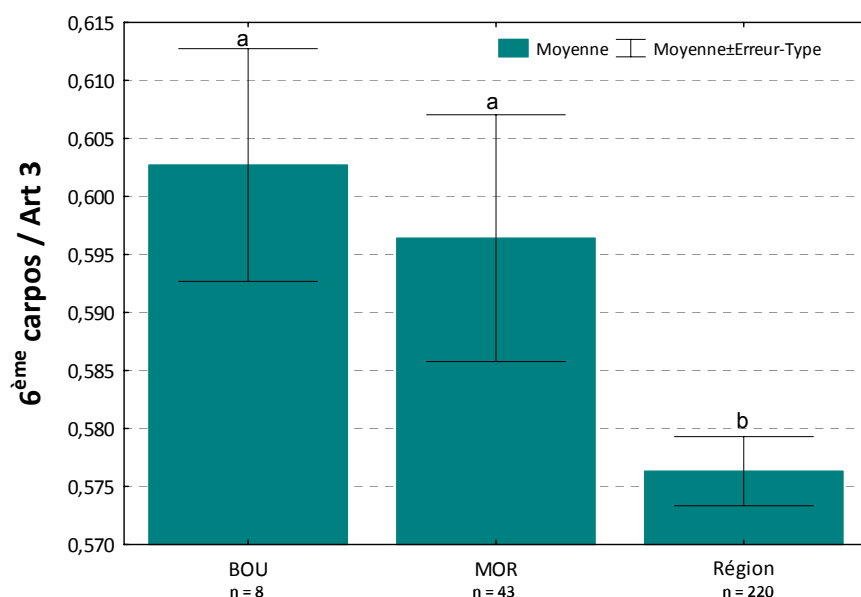


Figure 52 : Variabilité biométrique inter-sites basée sur l'indice $6^{\text{ème}} \text{ carpos} / \text{art } 3$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (femelles) collectés à l'automne 2007 dans des habitats ligneux non massivement contaminés par des ETM (sites BOU et MOR). La valeur moyenne de l'indice est également présentée, et concerne l'ensemble des femelles collectées dans la région. Les lettres indiquent les différences significatives ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis).

b) Etude de la variabilité biométrique saisonnière de populations d'isopodes issues d'habitats ligneux non ou massivement contaminés par des ETM

La variabilité biométrique saisonnière (printemps et automne 2008) à l'échelle des stations a été étudiée uniquement chez *P. scaber* mâles en raison de l'existence de différences biométriques chez les femelles liées à leur état de gravidité.

▪ Relation entre les paramètres biométriques étudiés

Comme pour les individus collectés à l'automne 2007, de fortes corrélations ont été observées entre l'ensemble des paramètres biométriques ($p < 0,01$). La figure 53 présente les relations entre la masse et la largeur du céphalon, la figure 54, les relations entre la longueur du 3^{ème} article de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopodes, et ceci au printemps et en automne 2008. L'allure des courbes de tendance sont quasi identiques entre ces deux saisons quels que soient les paramètres considérés. Toutefois, alors que les nuages de points sont superposables d'une saison à l'autre en ce qui concerne les relations entre la longueur du 3^{ème} article de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} péréiopodes, il a été observé des nuages de points décalés en ce qui concerne la relation entre la masse et la largeur du céphalon, selon la saison. Un examen détaillé du nuage de points automnaux suggère toutefois la présence d'autres cohortes au sein de la population et dont les paramètres biométriques se confondent avec ceux de la population printanière. Par ailleurs, pour une largeur de céphalon identique, les individus sont plus lourds au printemps qu'à l'automne.

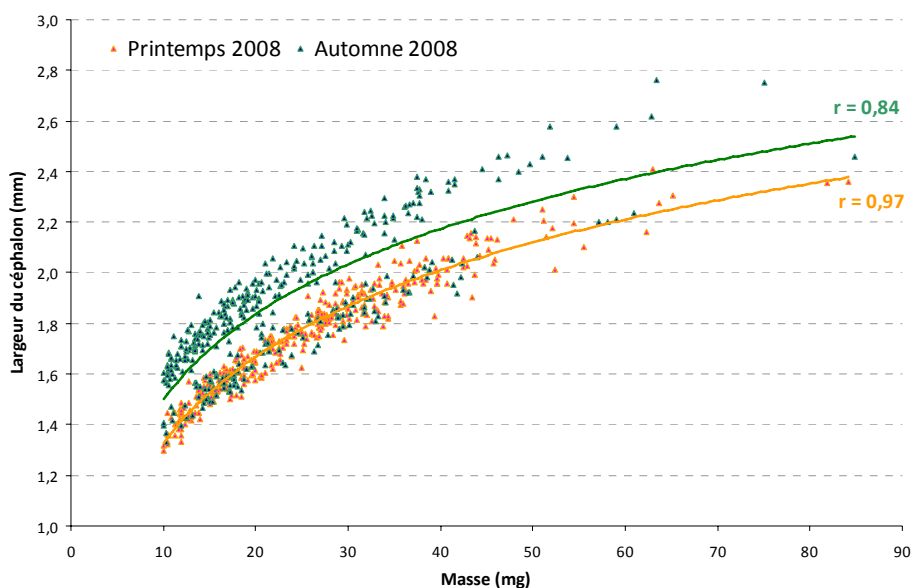


Figure 53 : Relation entre la masse et la largeur du céphalon chez *P. scaber* mâles au printemps ($n = 388$) et à l'automne 2008 ($n = 366$).

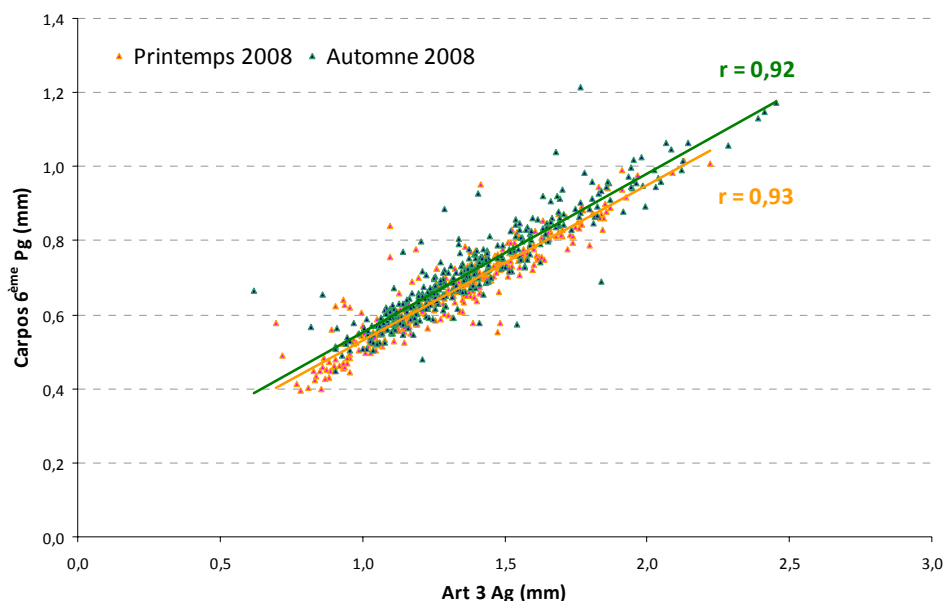


Figure 54 : Relation entre la longueur du 3^{ème} article gauche de l'antenne et la longueur du carpos du 6^{ème} périopodes gauche *P. scaber* mâles au printemps (n = 362) et à l'automne 2008 (n = 361).

▪ Etude de la variabilité biométrique saisonnière

De manière générale, il a été constaté au regard des deux indices une variabilité saisonnière mettant en avant des valeurs plus élevées à l'automne qu'au printemps (Figures 55 et 56).

L'indice $\log C / \log M$ montre toutefois qu'il n'existe pas de différence significative pour les stations BOU 2, MET 3, MOR 1 et MOR 3. Ce constat est moins vrai en considérant l'indice 6^{ème} carpos / art 3 ; 7 stations sur 18 montrent des différences significatives.

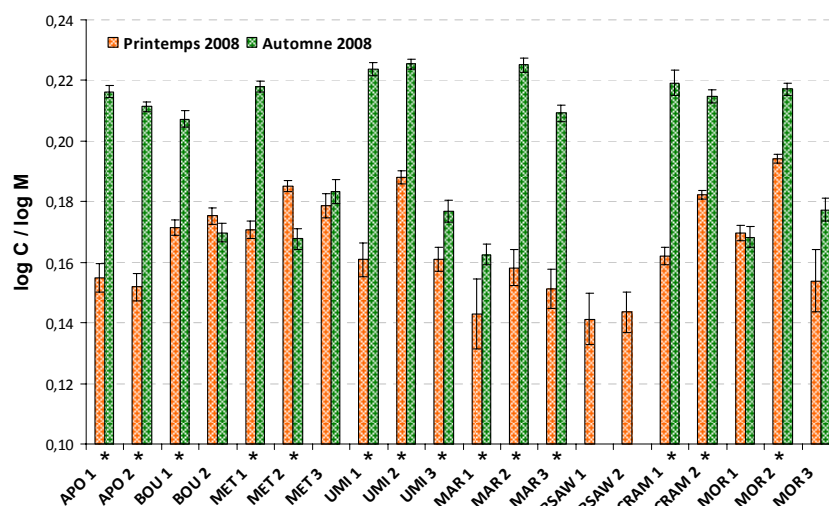


Figure 55 : Variabilité biométrique saisonnière (printemps et automne 2008) à l'échelle des 20 stations étudiées, basée sur l'indice $\log C / \log M$ (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles). * différences significatives entre les saisons ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

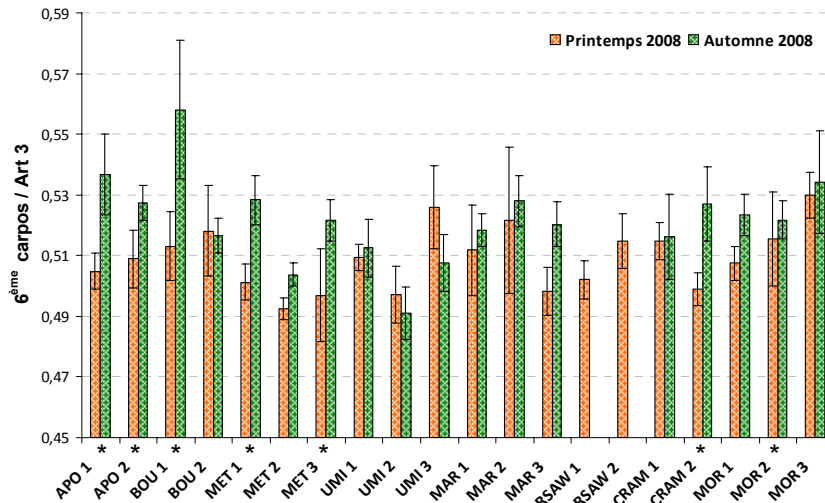


Figure 56 : Variabilité biométrique saisonnière (printemps et automne 2008) à l'échelle des 20 stations étudiées, basée sur l'indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne \pm erreur type) chez *P. scaber* (mâles). * différences significatives entre les saisons ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

▪ Pertinence des paramètres biométriques choisis

Sur les figures 57 et 58 sont présentées les relations entre la masse des individus et les deux indices biométriques retenus. L'indice 6^{ème} carpos / art 3 semble plus pertinent que l'indice log C / log M compte tenu des relations observées entre ces deux indices et la masse des individus. En effet, il est observé que l'indice 6^{ème} carpos / art 3 est moins sensible aux variations de masse des individus. Il atténuerait ainsi l'effet « taille » au sein des populations. De plus, l'existence d'une allométrie majorante au sein des populations d'isopodes est un argument supplémentaire qui plaide en faveur du second indice puisque les articles considérés dans le calcul de l'indice ne semblent pas affectés par cette allométrie.

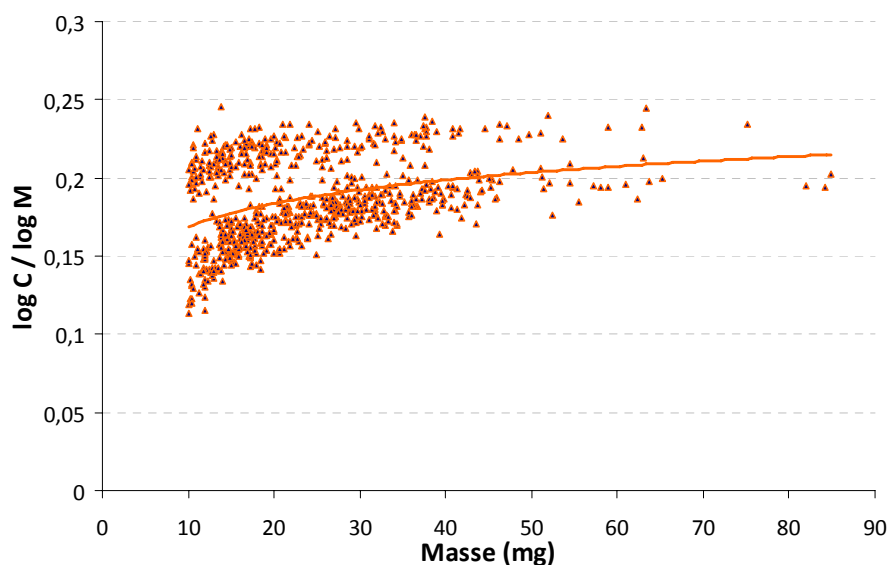


Figure 57 : Relation entre le masse et l'indice log C / log M chez *P. scaber* mâles au printemps et à l'automne 2008 (n = 754).

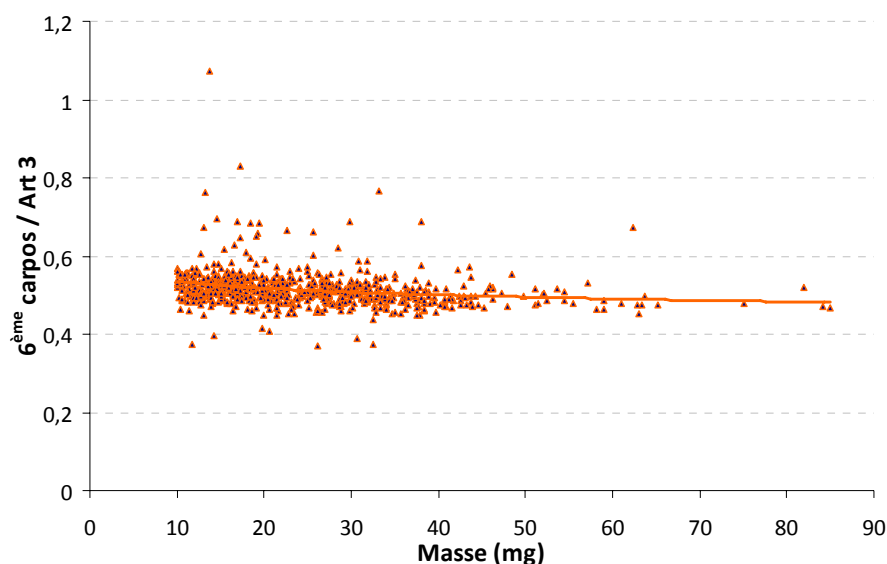


Figure 58 : Relation entre la masse et l'indice 6^{ème} carpos / art 3 chez *P. scaber* mâles au printemps (n = 362) et à l'automne 2008 (n = 727).

c) Recherche de relations entre les paramètres biométriques des populations d'isopodes et les paramètres physico-chimiques des sols

Des relations entre les caractéristiques biométriques des isopodes et les caractéristiques de leurs milieux de vie ont été recherchées chez *P. scaber*, mâles et femelles (gravidés ou non), au printemps et à l'automne 2008. Les paramètres biométriques ont concerné les deux indices décrits précédemment.

- **Relation entre les caractéristiques biométriques et celles des milieux de vie**

Aucune relation entre les indices 6^{ème} carpos / art 3 et les caractéristiques physico-chimiques des horizons organiques et organo-minéraux (pH, CaCO₃ total, teneurs en MO, ratio C/N) ou la contamination des sols (Cd, Pb, Zn et Cu) n'a été mise en évidence.

En se référant aux résultats des ACP et au tableau de synthèse des caractéristiques physico-chimiques des sols (voir pages 87 à 90), il a été décidé de comparer les indices biométriques entre des populations vivants sur des sols aux caractéristiques physico-chimiques similaires et ceci, indépendamment du degré de contamination des horizons OL, OF et A.

Ont été comparés les indices biométriques des populations issues des stations MET 1, MAR 3, RSAW 1 et MOR 3 dont les caractéristiques physico-chimiques des litières sont similaires et particulièrement en ce qui concerne le ratio C/N (> 30). Aucune différence significative n'a été observée entre les indices 6^{ème} carpos / art 3 de ces populations et ceci en considérant les mâles

(printemps, automne 2008), les femelles gravides au printemps 2008 et les femelles non gravides à l'automne 2008 (Figure 59).

Les mâles collectés au printemps 2008 sur la station RSAW 1 présentent un indice $\log C / \log M$ inférieur à ceux issus de la station MET 1 ($p < 0,05$, figure 60). Les mâles collectés à l'automne 2008 sur la station MOR 3 présentent également un indice $\log C / \log M$ inférieur à ceux issus des stations MET 1 et MAR 3 ($p < 0,05$). Les femelles collectées au printemps 2008 sur la station MET 1 montrent un indice supérieur à celles collectées sur les stations MAR 3 et RSAW 1 ($p < 0,05$). Enfin, à l'automne 2008, les femelles issues des stations MET 1 et MAR 3 présentent un indice $\log C / \log M$ supérieur à celles issues de la station MOR 3 ($p < 0,05$).

Les indices biométriques des populations issues des stations CRAM 2 et MOR 1 ont été comparés du fait que ces deux stations présentaient des horizons OL, OF et A avec des caractéristiques physico-chimiques comparables. Aucune différence significative n'a pu être observée entre l'indice 6^{ème} carpos / art 3 de ces populations et ceci en considérant les mâles (printemps et automne 2008), les femelles gravides au printemps 2008 et les femelles non gravides à l'automne 2008 (Figure 61).

En considérant l'indice $\log C / \log M$, des différences significatives ont été observées entre les individus issus de la station CRAM 2 et ceux issus de la station MOR 1 et ceci, pour les mâles collectés au printemps et à l'automne 2008 et les femelles gravides collectées au printemps 2008 (Figure 62).

Les indices biométriques des populations issues des stations BOU 2 et UMI 3 ont été comparés du fait que ces deux stations présentaient des horizons organo-minéraux (A) avec des caractéristiques physico-chimiques assez similaires, à l'exception principalement du pH des litières. Seul l'indice 6^{ème} carpos / art 3 concernant les femelles collectées à l'automne 2008 montre une différence significative entre les deux stations ($p < 0,05$) (Figure 63).

En considérant l'indice $\log C / \log M$, des différences significatives ont été observées entre les individus issus de la station BOU 2 et ceux issus de la station UMI 3 et ceci, pour les mâles collectés au printemps 2008 et les femelles collectées au printemps et à l'automne 2008 (Figure 64).

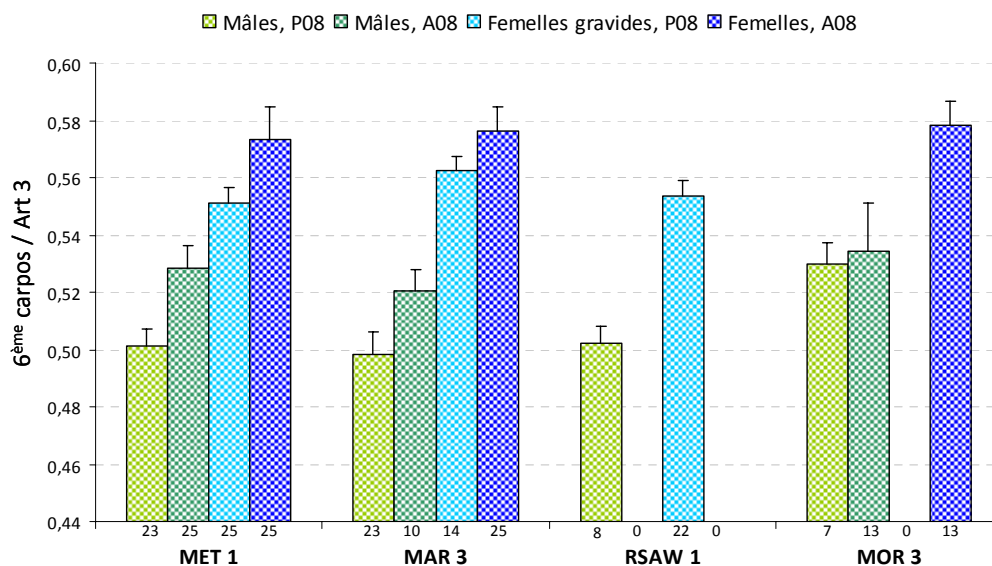


Figure 59 : Indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne ± erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur 4 stations présentant des caractéristiques physico-chimiques des litières similaires dont un ratio C/N > 30. Le test de Kruskal-Wallis n'a montré aucune différence significative entre les stations. Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

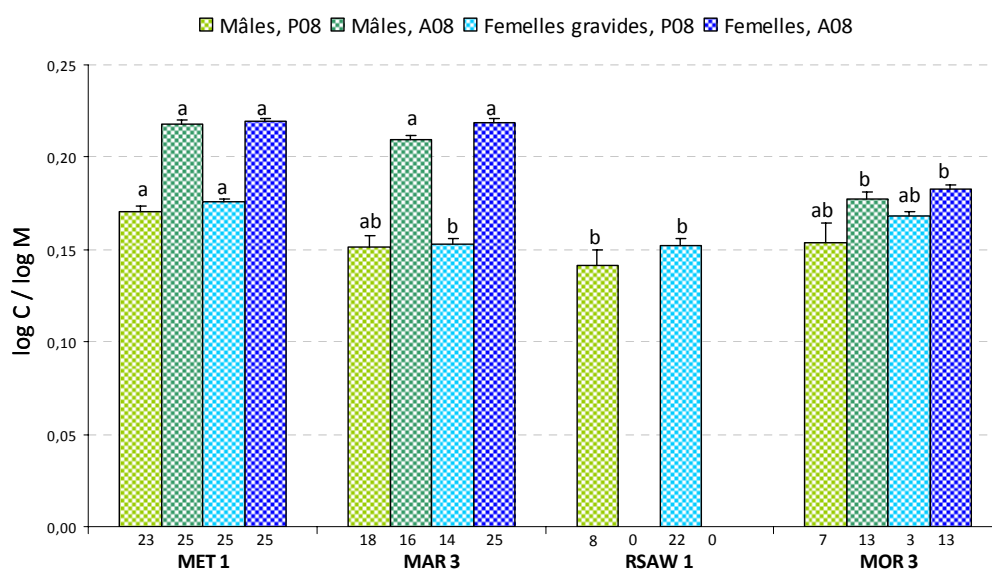


Figure 60 : Indice log C / log M (moyenne ± erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur 4 stations présentant des caractéristiques physico-chimiques des litières similaires dont un ratio C/N > 30. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

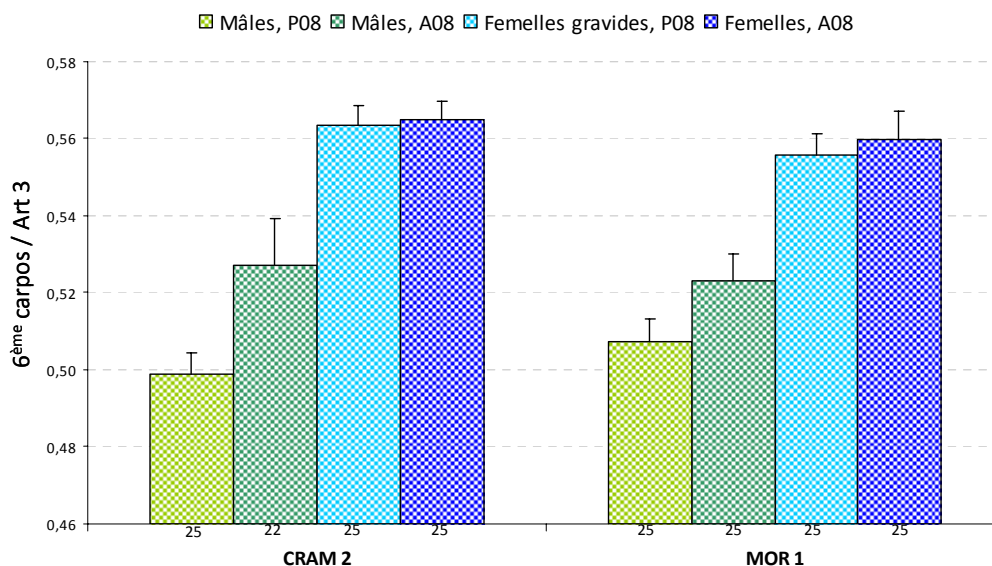


Figure 61 : Indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons OF avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Le test de Mann-Whitney-Wilcoxon n'a montré aucune différence significative entre les stations. Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

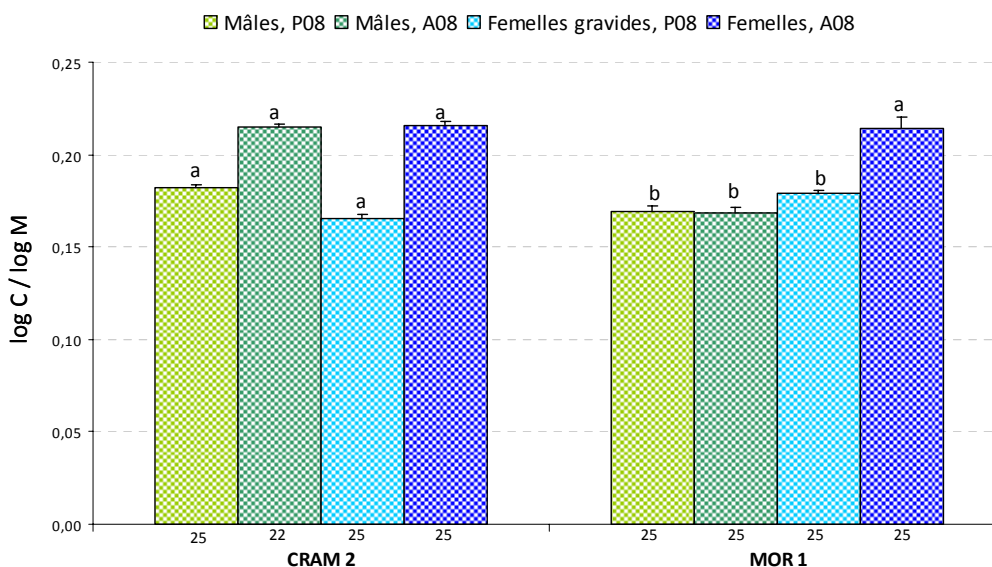


Figure 62 : Indice log C / log M (moyenne \pm erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons OF avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

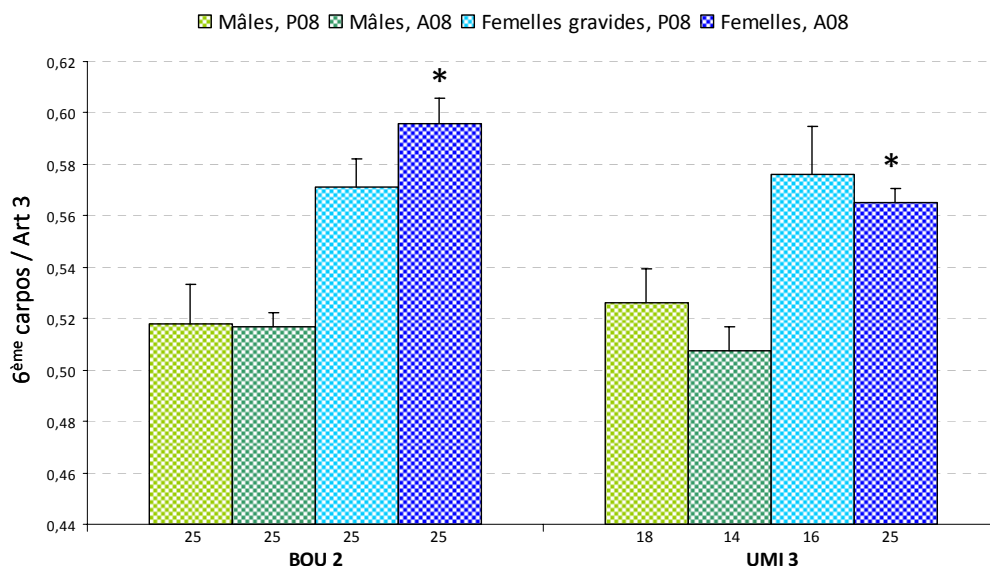


Figure 63 : Indice 6^{ème} carpos / art 3 (moyenne ± erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons organo-minéraux avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. * différence significative ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

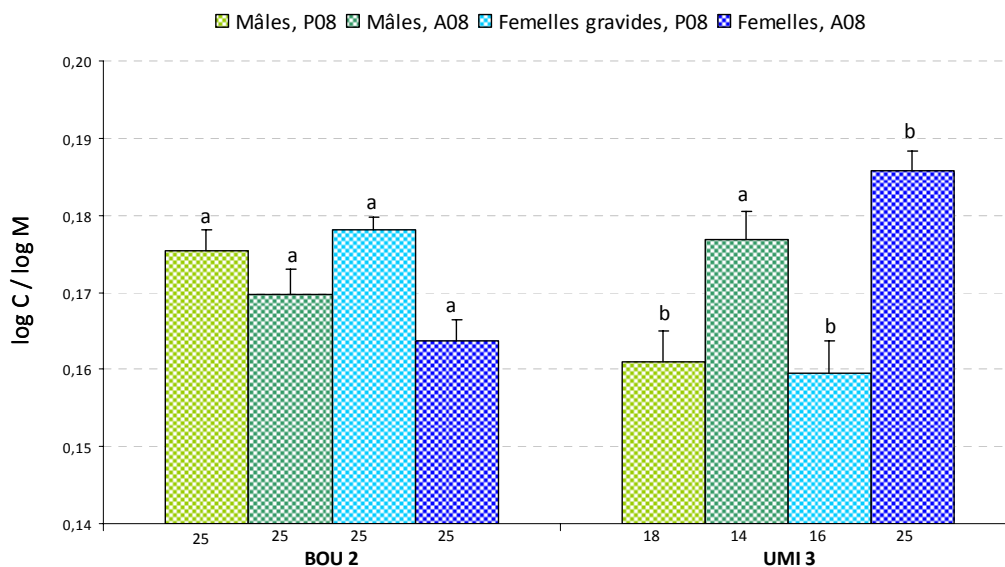


Figure 64 : Indice log C / log M (moyenne ± erreur-type) déterminé au printemps et à l'automne 2008 sur *P. scaber* mâles et femelles (gravides ou non) sur deux stations présentant des horizons organo-minéraux avec des caractéristiques physico-chimiques similaires, indépendamment du degré de contamination des sols. Les lettres indiquent les différences significatives entre les stations ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon). Les effectifs étudiés sont présentés en abscisse.

2.2.5. Bioconcentrations en ETM de *P. scaber* au printemps 2008

Les teneurs moyennes en Cd, Pb et Zn mesurées dans les individus de chacune des stations sont présentées figure 65, 66 et 67 respectivement.

Les résultats montrent de manière générale une forte imprégnation en ETM des individus issus des stations situées à proximité d'usines métallurgiques. En effet, les concentrations internes des individus collectés sur les stations MET 1, MET 2 et MET 3 varient de 152 à 233 mg Cd kg⁻¹. Celles des individus issus des stations UMI 1, UMI 2 et UMI 3 sont comprises entre 60 et 141 mg Cd kg⁻¹. Les individus issus de la station CRAM 2 présentent également des teneurs en Cd très élevées (188 mg kg⁻¹), alors que les individus issus de la station CRAM 1 montrent des teneurs beaucoup plus faibles (12 mg kg⁻¹) lesquelles ne sont que légèrement supérieures à celles des individus issus des stations non massivement contaminées. En effet, les teneurs en Cd des individus issus des stations non massivement contaminées varient de 2,3 à 10,7 mg kg⁻¹ (stations BOU 1 et MAR 3, respectivement).

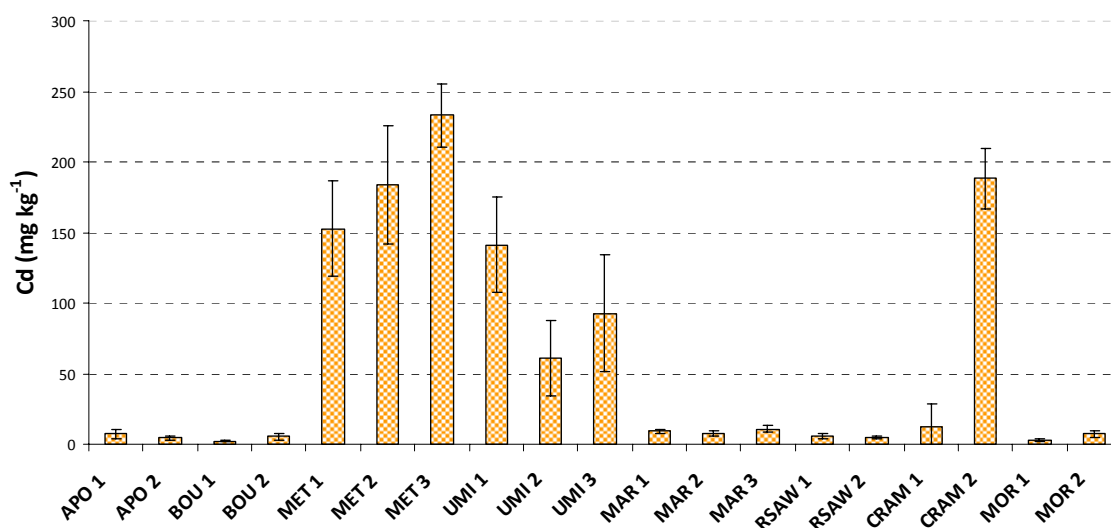


Figure 65 : Teneurs moyennes \pm ET en Cd (mg kg⁻¹ PS) mesurées chez *P. scaber* (n = 5 mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Pour Pb, les individus issus des stations situées à proximité de Metaleurop Nord présentent des teneurs très élevées, variant de 230 à 324 mg kg⁻¹. En revanche, ceux issus des stations situées à proximité d'Umicore montrent des teneurs plus faibles variant de 16 à 30 mg Pb kg⁻¹. Les teneurs en Pb des individus issus des stations CRAM 1 et CRAM 2 sont beaucoup plus faibles (7 et 10 mg Pb kg⁻¹, respectivement) et sont semblables à celles observées pour les individus issus des stations non massivement contaminées où les teneurs sont comprises entre 4 à 12 mg kg⁻¹ (stations APO 1 et MAR 1, respectivement).

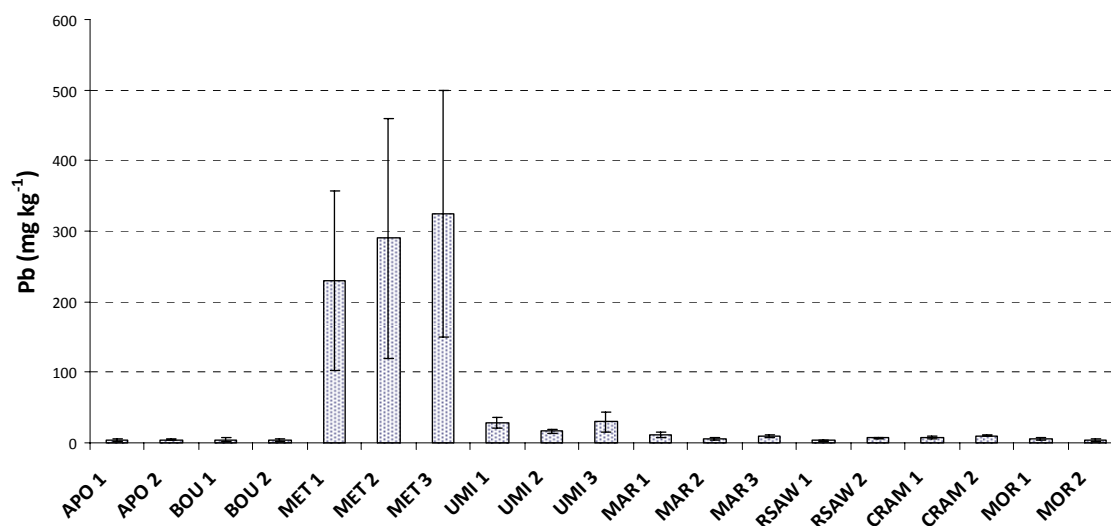


Figure 66 : Teneurs moyennes \pm ET en Pb (mg kg^{-1} PS) mesurées chez *P. scaber* ($n = 5$ mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Concernant les teneurs en Zn, les individus issus des stations situées à proximité de Metaleurop Nord montrent des concentrations variant de 918 à 1 277 mg kg^{-1} , et ceux issus des stations situées à proximité d’Umicore présentent des concentrations variant de 1 005 à 2 109 mg kg^{-1} . Les individus issus des stations CRAM 1 et CRAM 2 montrent des teneurs en Zn respectivement de 595 et 859 mg kg^{-1} . Enfin, ceux issus des stations non massivement contaminées présentent des teneurs en Zn variant de 269 à 656 mg kg^{-1} (stations BOU 2 et MAR 1 respectivement).

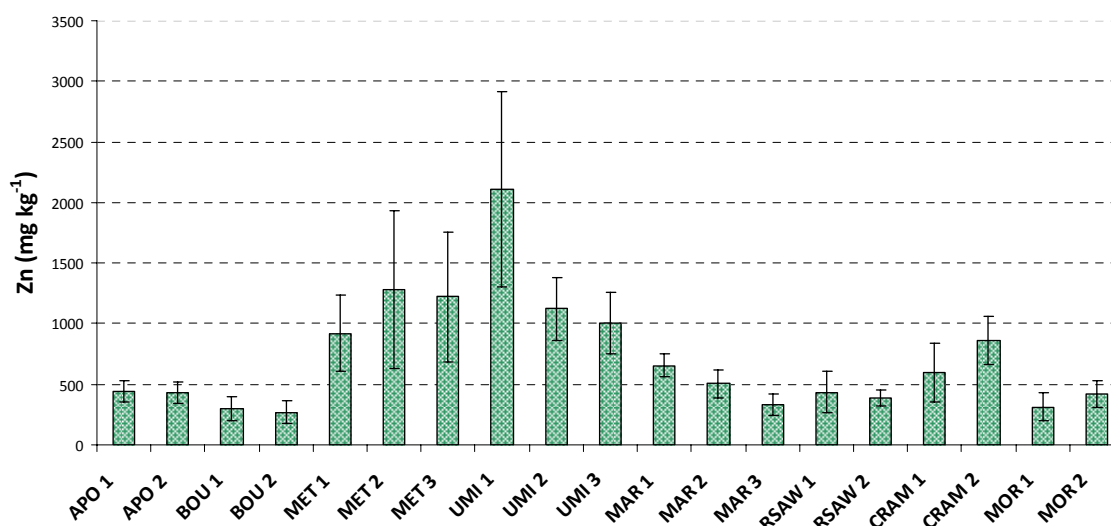


Figure 67 : Teneurs moyennes \pm ET en Zn (mg kg^{-1} PS) mesurées chez *P. scaber* ($n = 5$ mâles) issus sur 19 stations du Nord – Pas de Calais

Les teneurs en Cd des isopodes sont significativement corrélées avec les concentrations en Cd mesurées dans les horizons OL, OF et A (respectivement $r = 0,67$, $r = 0,90$ et $r = 0,68$, $p < 0,05$). De plus les teneurs en Pb des isopodes sont aussi significativement corrélées avec les concentrations mesurées dans les horizons OL et OF, avec respectivement $r = 0,73$ et $r = 0,96$ ($p < 0,05$). Une

corrélation non significative a été observée entre les teneurs en Pb des isopodes et celles des horizons A ($r = 0,46$, $p > 0,05$). Aucune relation significative n'a été observée entre les teneurs en Zn des isopodes et celles mesurées dans les horizons OL, OF et A (respectivement $r = 0,38$, $r = 0,51$ et $r = 0,11$, $p > 0,05$).

Enfin, les teneurs en Cd des isopodes sont significativement corrélées avec le ratio Cd/Zn calculé pour les horizons OL et A (respectivement, $r = 0,67$ et $r = 0,65$, $p < 0,05$). Cependant, aucune relation n'a pu être observée entre les teneurs en Cd des isopodes et le ratio Cd/Zn dans les horizons OF ($r = 0,05$, $p > 0,05$).

Il n'a pas été mis en évidence de relation entre les concentrations internes des *P. scaber* et les paramètres physico-chimiques des sols. De plus, aucune relation n'a été montrée entre les concentrations internes des *P. scaber* et le pourcentage de Cd, Pb et Zn extrait au CaCl_2 0,01 M.

3. Discussion

Les résultats ont montré que les sols des 20 stations présentaient des paramètres physico-chimiques et des types d'humus, variables entre les stations. La démarche mise en œuvre a visé à renseigner sur la qualité et le fonctionnement des sols. Il a été mis en évidence que certains sols massivement contaminés par des ETM pouvaient présenter un bon état de fonctionnement, caractérisé par une dégradation efficace de la MO. C'est en effet le cas de la station UMI 1 caractérisée par un humus de type Eumull traduisant une disparition rapide de la MO au niveau des horizons organo-minéraux avec un ratio C/N de 13 et des concentrations en ETM atteignant 19 mg Cd kg^{-1} , $310 \text{ mg Pb kg}^{-1}$, et $2531 \text{ mg Zn kg}^{-1}$, et ceci bien que le ratio C/N mesuré dans les litières soit élevé (>25).

Toutefois, à l'exception des sites du Boulonnais (APO et BOU) et de la station UMI 1, les sols sont généralement caractérisés par des humus de types Oligomull à Mor traduisant un fonctionnement biologique ralenti voire très lent, y compris sur les sites non contaminés. Ceci est à rapprocher de l'hydromorphie importante observée sur de nombreux sites. Par ailleurs, il est à noter que des horizons OH n'ont été trouvés que sur les sites les plus contaminés (CRAM 1, CRAM 2 et MET 3), de même que des humus de type Mor (site CRAM). Les rapports C/N augmentent parallèlement à l'évolution des humus du type Eumull vers des types Moder à Mor, et donc en fonction du degré de dysfonctionnement des humus, et ceci de façon d'autant plus notable sur les sites contaminés. Sur les sites non contaminés, ce phénomène est lié à une augmentation des teneurs en MO plus rapide que celle des teneurs en azote totale, et donc à un ralentissement global de la minéralisation du carbone et de l'azote. Les sites contaminés montrent un fonctionnement légèrement différent : la forte augmentation des rapports C/N semble d'avantage corrélée à une

cinétique de dégradation plus lente des MO, avec des teneurs qui décroissent très lentement, et à une minéralisation plus rapide de l'azote.

Sur la base de ces éléments, les habitats des isopodes montrent donc des fonctionnements différents en lien avec les paramètres physico-chimiques des sols (pH, hydromorphie, concentrations en ETM, degré d'anthropisation) et la nature des habitats (forêt, bois, bosquet, essences dominantes).

En ce qui concerne les isopodes vivants dans ces habitats, les teneurs en ETM mesurées chez *P. scaber* ont montré la forte imprégnation des individus issus des sites massivement contaminés. Des corrélations significatives ont ainsi été observées entre les teneurs en Cd et Pb des isopodes et celles des horizons organiques des sols et particulièrement pour les horizons OF. Toutefois, au regard des écarts-types mesurés, il existe une variabilité importante de l'imprégnation des organismes au sein d'une même population. Il convient de préciser que dans le cadre de cette étude, les isopodes n'avaient pas fait l'objet d'une mise à jeun, et que de ce fait les teneurs en ETM mesurées dans les individus ne représentaient pas uniquement la part des éléments accumulés, mais reflétaient plus largement le degré d'imprégnation des individus.

En ce qui concerne la distribution géographique des espèces étudiées, les échantillonnages réalisés à l'automne 2007 ont montré qu'*O. asellus* présentait une distribution régionale plus importante que celle de *P. scaber*. En effet, sur un total de 34 stations prospectées, *O. asellus* a été observé sur 30 d'entre elles, alors que *P. scaber* n'a été observé que sur 18 stations (principalement des bosquets et des bois). Ceci peut s'expliquer par le fait que les habitats ligneux tels que des bois ou des forêts correspondent à l'habitat préférentiel d'*O. asellus*, comme les travaux de Vilisics et al. (2007) l'ont aussi montré (parmi ces deux espèces, récoltées en forêts, 94% des organismes étaient des *O. asellus*). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que, contrairement à *P. scaber*, *O. asellus* est dépourvu de pseudo-trachées et ne peut vivre que dans des habitats très humides (Vandel, 1962).

Il a été observé que *P. scaber* était très abondant sur les sites fortement anthropisés, tels que Metaleurop Nord, Umicore et la friche de la CRAM, et par ailleurs massivement contaminés par des ETM. Ceci pourrait être lié au caractère fortement cosmopolite de *P. scaber*, qui semble coloniser préférentiellement des habitats anthropisés. Toutefois, Vilisics et al. (2007) observent une augmentation de l'abondance des deux espèces avec l'augmentation du degré d'anthropisation, même si ce constat est d'autant plus notable pour *P. scaber*.

Bien que l'abondance des isopodes soit très variable entre les stations, elle semble néanmoins directement liée au nombre et à la nature des micro-habitats tels que des souches, la présence de bois mort au sol, ou encore à la nature et à la morphologie des arbres permettant ou non des refuges potentiels pour les individus. Par exemple, contrairement aux autres stations MOR (site forestier non massivement contaminé), la forte abondance observée sur la station MOR 2 peut

s'expliquer par le fait que cette station était caractérisée par des entassements importants de bois morts suite à des travaux forestiers, conférant ainsi une multitude de micro-habitats pour les populations d'*O. asellus* et de *P. scaber*. Parallèlement, la forte abondance de *P. scaber* observée sur la station MET 2 (station massivement contaminée) peut aussi s'expliquer par un nombre important et une grande diversité de micro-habitats. En effet, sur cette station d'une part, les micro-habitats naturels (i.e. souches, bois mort...) étaient très nombreux et d'autre part, de nombreux habitats artificiels liés à la présence des déchets anthropiques variés ont été notés, l'ensemble favorisant ainsi le nombre de refuges potentiels de la station.

Par ailleurs, sur ces sites fortement contaminés, il a fréquemment été montré une diminution importante de la biodiversité (Grelle, 1998 ; Grelle et al. 2000). Outre leur résistance aux ETM, ceci pourrait aussi contribuer à expliquer la forte abondance des isopodes sur ces sites du fait d'une compétition interspécifique moindre.

A la variabilité spatiale en termes d'abondance, s'ajoute également une variabilité temporelle qui peut s'expliquer par le fait que certaines stations, et notamment en forêt, peuvent faire l'objet de remaniements et d'entretiens, tels que des travaux forestiers, favorisant ou non le nombre et la nature des micro-habitats. Les stations fortement anthropisées peuvent aussi faire l'objet ce genre de modifications, liées par exemple à l'entretien et au nettoyage des sites, résultant cette fois en une diminution du nombre d'habitats potentiels. De plus, des variations climatiques, qu'elles soient saisonnières et/ou ponctuelles, peuvent aussi expliquer la variabilité en termes d'abondance. En effet, il a été constaté que lors de journées très humides, notamment à l'automne, *P. scaber* était particulièrement présent sur les troncs des arbres, facilitant ainsi l'échantillonnage des individus. Fritsche (1934) a ainsi observé que *P. scaber* réalise des migrations saisonnières. Les individus se réfugient dans les arbres à l'automne, abrités sous les écorces ou dans les anfractuosités des arbres, où ils passent l'hiver. Ils redescendent ensuite en mars afin d'occuper les stations situées au niveau du sol.

Dans cette étude, il a été observé des sexe-ratios variables selon les stations et les saisons, et ceci pour les deux espèces considérées. Dans la grande majorité des cas, ce sexe-ratio penche en faveur des femelles, comme cela est souvent le cas chez les isopodes. En effet, les Oniscidea sont connus pour être des hôtes de bactéries *Wolbachia*, capables de transformer de jeunes mâles génétiques en néo femelles fonctionnelles (Martin et al., 1973 ; Rigaud et al., 1997). Il en résulte au niveau populationnel, un sexe-ratio modérément à fortement biaisé en faveur du sexe femelle (Vandel, 1925, 1960, 1962 ; Hatchett, 1947 ; Brereton, 1956 ; Juchault et al., 1993). Par ailleurs, il n'a pas été observé de lien entre le sexe-ratio et le degré de contamination des sols. En effet, l'hypothèse initiale était que le sexe-ratio des populations issues de sites massivement contaminés pouvait être plus fortement déséquilibré en faveur des femelles, et ceci pour deux

raisons : (1) pour palier à une plus forte mortalité liée à la contamination métallique des sols, (2) parce que les populations affectées par les ETM pourraient potentiellement être plus sensibles à une infection par les bactéries endosymbiotiques féminisantes. Cependant, ces hypothèses ont été difficilement vérifiables dans cette étude car le sexe-ratio des populations est un paramètre souvent biaisé par d'autres facteurs notamment épigénétiques ou environnementaux (i.e. température) (Rigaud et al., 1997).

Que ce soit sur la base des paramètres biométriques bruts (non présentés) ou sur la base des deux indices biométriques mis en place, les résultats ont montré l'existence d'une variabilité régionale à l'échelle des sites non massivement contaminés étudiés, et ceci chez les mâles et les femelles d'*O. asellus*. Le peu de différences inter-sites observées chez *P. scaber*, pourrait s'expliquer par de faibles effectifs et un faible nombre de sites sur lesquels l'espèce a été trouvée. Il ne faut pas perdre de vue que chaque espèce animale possède sa propre variabilité. La taille varie souvent de façon notable à l'intérieur d'une même espèce, soit dans une même population, soit en fonction de la répartition géographique (Vandel, 1962).

L'étude de la structuration par âge des populations, réalisée à partir de la masse des individus, n'a pas semblé montrer de différences inter-sites et de ce fait, d'effet de la contamination sur les populations. Les classes de masses dominantes chez les deux espèces sont relativement comparables entre les sites, que ce soit pour les mâles ou pour les femelles (gravides ou non). Il est néanmoins à noter que la structuration par âge des femelles, lorsqu'elle est évaluée au moyen de la masse, peut être fortement biaisée par leur stade de gravidité. Ceci est d'autant plus vrai lors des comparaisons saisonnières (printemps et automne).

Pour *P. scaber*, la classe dominante est de manière générale, la classe 10-20 mg, considérant à la fois l'échelle régionale et l'échelle des sites, ce qui correspond à des individus relativement jeunes. Pour les mâles, ce constat est vrai quelle que soit la saison et l'année considérées. En effet, cette classe est la plus représentée en automne 2007, au printemps 2008 et à l'automne 2008. Ce constat est aussi vérifié pour les femelles à l'automne 2008 (non gravides à cette époque de l'année), cependant les résultats semblent attester d'une variabilité inter-annuelle plus importante chez les femelles (cf. figures 32 et 35).

Cette étude révèle donc que les populations étudiées étaient principalement constituées par de jeunes individus, que ce soit au printemps ou à l'automne, attestant d'une stratégie de reproduction de type r. D'ailleurs, le nombre important d'œufs contenus dans le marsupium des femelles, parfois supérieurs à 100, plaident aussi en faveur de cette stratégie, plutôt que d'une stratégie de reproduction k. La forme pyramidale des structurations par âge a montré par ailleurs que parmi ces individus, un faible nombre arrivait à un âge avancé, et plus particulièrement chez les mâles. Au regard des pyramides d'âge et des distributions populationnels, il semble que

plusieurs recrutements aient lieu annuellement, favorisant ainsi la présence de plusieurs cohortes au sein des populations étudiées, et ceci quel que soit le degré de contamination des sites. De plus, alors que la relation entre le 6^{ème} carpos et l'article 3 de l'antenne semble inchangée d'une saison à l'autre, il a été observé des différences saisonnières dans la relation entre la masse des individus et la largeur de leur céphalon (Figure 53). En effet, à largeur de céphalon égale, les individus collectés au printemps sont généralement plus lourds que ceux collectés à l'automne. Ces observations sont directement en lien avec l'existence des différentes cohortes qui composent chacune des populations saisonnières et la période de reproduction de l'espèce. En effet, le fait que *P. scaber* se reproduise de la fin du printemps jusqu'au début de l'été (Zimmer, 2004), et que les femelles puissent avoir 3 à 4 portées durant cette période, peut expliquer la présence de juvéniles à la fois au printemps et à l'automne. Ainsi, si l'on considère deux individus adultes avec une même taille de céphalon (par exemple 2 mm, voir Jones et Hopkin, 1998), leur masse diffèrent fortement d'une saison à l'autre, ce qui confirmerait à nouveau la présence de plusieurs cohortes dans la population, comme le décrit Achouri (2006 ; 2008) dans ses travaux. Par ailleurs, l'âge maximal (cf. masse ou largeur du céphalon, annexes C et D) des individus est assez variable entre les sites, et ceci chez les deux espèces, et ne semble pas être en lien avec le degré de contamination des sols. Ces observations vont à l'encontre de celles de Jones et Hopkin (1998) qui ont montré une réduction de la taille maximale (cf. largeur du céphalon) de *P. scaber* avec l'augmentation du degré de contamination en ETM des sols, associée à une réduction du nombre d'animaux de grande taille. Au regard des différents résultats et des indices biométriques mis en place, il semblerait qu'il n'y ait pas de lien direct entre la biométrie des organismes et les paramètres physico-chimiques des sols ou leur degré de contamination.

De la même manière, les résultats n'ont pas montré de lien direct entre la contamination des sols et les paramètres liés à la reproduction tels que le nombre d'œufs par femelles et la taille des œufs et ceci, pour les deux espèces considérées et ceci compte tenu de la variabilité intra- et inter-sites. L'existence de ces différences pourrait expliquer celles relevées dans l'étude de Godet et al. (2008) en termes du nombre et de la taille des œufs, et réalisée sur un nombre très restreint de sites. En effet, dans cette étude, centrée sur le site de Metaleurop Nord, les auteurs avaient observés une diminution de la taille des œufs avec l'augmentation du degré de contamination des sols chez *O. asellus*. En considérant les résultats obtenus dans la présente étude, il semblerait que ces observations soient plus directement liées à la variabilité. L'analyse de ces résultats a montré de fortes corrélations entre le nombre d'œufs par femelles et les paramètres biométriques tels que la masse ou la largeur du céphalon des individus. De ce fait, l'existence d'une variabilité biométrique intra-site au sein des populations (i.e. masse, largeur du céphalon) pourrait ainsi

expliquer la variabilité observée en termes du nombre d'œufs et ceci, en dépit de l'utilisation de ratio (nombre d'œufs par femelle / largeur du céphalon) pour compenser l'effet « taille » observé. Néanmoins, le succès de la reproduction sur les sites contaminés est indéniable au regard de la quantité importante de femelles gravides, de juvéniles et de jeunes adultes trouvés durant l'étude, et ceci même lorsque ces sites sont très fortement contaminés (cf. station MET 2).

Par ailleurs, malgré la définition de 3 stades de gravidité pour faciliter l'analyse, la taille des œufs semble être un paramètre difficilement interprétable du fait de la continuité du développement embryonnaire au cours du temps. En effet, l'absence de stades larvaires définis chez les isopodes terrestres ne permet pas d'identifier avec précision les limites des stades d'évolution prédéfinis. Il est à penser que les comparaisons ne sont pertinentes que lorsque des femelles sont à un stade comparable de gravidité, situation difficilement observable *in situ*.

Bien que l'imprégnation des individus par des ETM sur des sites massivement contaminés soit certaine, les paramètres démographiques tels que l'abondance, la structuration par âge et le nombre d'œufs, ne montrent pas de différence entre des populations issues de sites massivement contaminés ou non. L'ensemble de ces résultats, bien qu'ils soient en contradiction avec de nombreuses études réalisées en laboratoire et montrant les effets néfastes des ETM sur les traits de vie des isopodes, atteste plutôt de la bonne santé des populations d'*O. asellus* et de *P. scaber* vivants sur les sites étudiés massivement contaminés par des ETM. Ces observations pourraient s'expliquer par un phénomène d'adaptation des populations à la contamination métallique des sols. Cela supposerait une adaptation essentiellement physiologique permettant aux isopodes d'accumuler et de tolérer efficacement les contaminants métalliques. De telles hypothèses avaient déjà été avancées chez différents organismes et notamment *P. scaber* (Klerks et Weis, 1987 ; Donker et Bogert, 1991 ; Posthuma et al., 1992) En revanche, l'hypothèse avancée par Donker et al. (1993) concernant une reproduction plus précoce des femelles issues de sites contaminés résultant en un plus faible nombre de juvéniles ne semble pas en accord avec les résultats obtenus dans ce présent travail.

Enfin, étant donné les variabilités biométriques observées au sein des populations (intra- et inter-sites, saisonnières, ou intra-populationnelles en lien notamment avec la présence de différentes cohortes), la biométrie en tant qu'outils d'écotoxicologie de terrain semble difficile à interpréter sur les modèles étudiés, et de ce fait peu pertinents dans l'évaluation de la qualité des milieux terrestres.

C) Stabilité du développement chez *Porcellio scaber* issu d'habitats ligneux massivement contaminés par des ETM

Avant - propos

*Les données acquises lors de la phase de terrain ont également permis d'étudier la stabilité du développement chez *P. scaber* issu de sites massivement contaminés par des ETM, et ceci au travers de la mesure du degré d'asymétrie fluctuante (AF).*

Cette étude est directement en lien avec la partie précédente, et concerne les 8 métapopulations étudiées précédemment.

Le degré d'AF a été étudié sur un total de neuf traits (les seconds et troisièmes articles des antennes, les premiers flagelles des antennes, ainsi que le méros, le carpos et les propodos des sixièmes et septièmes paires de péréiopodes) chez les mâles et les femelles gravides collectés au printemps 2008 sur les 8 sites considérés, et ceci au regard des caractéristiques physico-chimiques des sols dont leur degré de contamination en ETM.

*Ce travail a donné suite à la rédaction d'un article soumis dans *Ecological Indicators*.*

Developmental stability on *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) from woody habitats contaminated by metals

Jean-Philippe Godet^{ab}, Sylvain Demuynck^b, Christophe Waterlot^a, Sébastien Lemièrè^b, Catherine Souty-Grosset^c, Francis Douay^a, Alain Leprêtre^b, Christelle Pruvot^a

^a Laboratoire LGCgE Lille Nord de France, Equipe Sols et Environnement, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban 59046 Lille cedex, France.

^b Laboratoire LGCgE Lille Nord de France, groupe Ecologie Numérique et d'Ecotoxicologie, Université de Lille1, France.

^c Laboratoire de biologie animale, UMR CNRS 6556, Génétique et Biologie des Populations de Crustacés, Université de Poitiers 40, avenue du Recteur-Pineau, 86022 Poitiers cedex, France.

Corresponding author. Tel: +33 3 28 38 48 48; Fax: +33 3 28 38 48 47.

E-mail address: jp.godet@isa-lille.fr (PhD).

Abstract

This study aimed at determining the effect of metal-polluted environments on fluctuating asymmetry (FA) level of *Porcellio scaber* as a measure of developmental stability (DS). For this, woodlice and litter were collected on 8 sites of northern France located either away from metal pollution source or near metallurgical smelters. Physico-chemical parameters such as pH, C/N ratio and CaCO₃ were measured in litter since they could have potential effects on woodlouse population. Moreover, Cd, Pb, and Zn pseudototal concentrations in litter were determined to evaluate the contamination degree of each site. The metal body burdens were determined in woodlice to evaluate the impregnation degree. Fluctuating asymmetry levels on males and gravid females were performed on 9 traits (the 2nd and the 3rd articles of antennas, the 1st flagellum of the antennas, and the merus, carpus and propodus of the 6th and the 7th pereopods) according to (1) each site and (2) two habitat types (i.e. metal-contaminated and uncontaminated). Results showed close correlations between litter metal concentrations and metal body burdens in woodlice. However, contrary to the initial hypothesis that metal pollution would induce an increase of the FA level, this seemed to be lower for individuals from metal-contaminated habitat than for those from uncontaminated habitat, and especially for males. The roles of antennas and pereopods on foraging behaviour and reproduction processes on woodlice were discussed, and could explain these observations.

Key words: fluctuating asymmetry, developmental stability, woody habitats, metal pollution, isopod

1. Introduction

Soil contamination by trace elements (TE) has become a worldwide concern (Dudka et al., 1996). Since the last century, TE concentrations have considerably increased in terrestrial environment as a direct result of human activities (Gal et al., 2008) such as principally atmospheric emissions and agricultural practices. Metals remain present in pedosphere, even after the removal of the pollution sources (Imperato et al., 2003). They can induce effects on human health (McBride, 2008 ; Schroiijen et al., 2008 ; Zhuang et al., 2009) but can also induce ecosystem dysfunctions (Grelle, 1998; Pruvot et al., 2002; Wang et al., 2007). The detection and the quantification of environmental stress due to TE contamination in natural habitats constitute a challenge for environmental science.

To date, various biological methods using soil invertebrates have been applied to evaluate soil quality (Cortet et al., 1999 ; Hodkinson and Jackson, 2005) or environmental disturbance on populations. Among measurable parameters that can indicate a level of environmental stress, fluctuating asymmetry (FA) has been suggested as a promising method for environmental assessment (Clarke, 1993; Clarke and McKenzie, 1992). Fluctuating asymmetry is defined as the random non-directional deviation from perfect bilateral symmetry of morphological traits in organisms, and is widely used as a measure of the developmental stability (DS) or the developmental instability (DI). Both of these parameters can be influenced by extrinsic stress (environmental) or intrinsic stress (mainly genetic) (Palmer, 1996; Palmer and Strobeck, 1986; Parsons, 1990). Many studies have shown positive relationships between environmental stress and the FA level (Clarke, 1993; Lewis et al., 2004), and notably in invertebrates. Indeed, stress such as chemical pollutants including metals or pesticides (Chang et al., 2007; Graham et al., 1993; Groenendijk et al., 1998; Stamenkovic Radak et al., 2008), temperature (Savage and Hogarth, 1999; Trotta et al., 2005), or food deficiency either in terms of quality or quantity (Parsons, 1990) can cause developmental perturbations that can notably induce an increase of the FA level in invertebrates. Although FA appeared to be taxon-, trait- and stress-specific (David et al., 1998; Roy and Stanton, 1999; Bjorksten et al., 2000b, 2001), others studies have also shown the effects of TE contamination on the developmental stability on mammals and birds (Eeva et al., 2000; Pankakoski et al., 1992).

Among soil organisms, terrestrial isopods present a great interest for the monitoring of TE contaminated soils (Dallinger et al., 1992; Drobne and Hopkin, 1995; Hopkin et al., 1986; Paoletti and Hassall, 1999). Indeed, woodlice have a broad tolerance to metals such as Cd, Pb or Zn, and can accumulate them to a high level (Gal et al., 2008; Hopkin and Martin, 1982; Vijver et al., 2006). In addition, woodlice play an important role in decomposition processes of organic matter (OM) particularly through the fragmentation of litter (Kautz et al., 2000; Souty-Grosset et al., 2005; Zimmer et al., 2003). Woodlice are directly exposed to contaminants present in polluted

environment since they feed on litter. Furthermore, *Porcellio scaber* (Latreille, 1804) is about the most interesting species among isopods since it presents a wide geographic distribution and is abundant in natural and anthropogenic habitats (Hassall et al., 2005; Hornung et al., 2007; Magura et al., 2008; Vilisics et al., 2007). Although numerous parameters such as mortality level, growth rate, TE accumulation, feed consumption or others biomarkers have been studied in terrestrial isopods, few investigations have concerned FA as a measure of environmental stress on populations. Nevertheless, Peters et al. (2001) have reported an increase of the FA level in the number of ocelli in populations of *Armadillidium vulgare* living on TE contaminated soils. Moreover, Vilisics et al. (2005) have observed in *Trachelipus rathkii* an increase of the FA level for different traits, notably antenna segments, in relation with humidity changes. Thus, the FA level has to be considered as indicative of the effects of a general environmental stress on population rather than a marker of soil contamination.

However, for isopods as for the other soil invertebrates, many other abiotic factors than soil contamination such as pH, CaCO₃, organic carbon and nitrogen contents of litter may also inform on the global level of stress to which natural populations are exposed. Indeed, woodlice are sensitive to soil acidity (Van Straalen and Verhoef, 1997). In addition, food quality is known to have a great influence on terrestrial isopod populations, and carbon and nitrogen contents in litter can influence food selection/consumption of woodlice (Zimmer, 2002), and thus their growth. Moreover, the cuticle of crustaceans is composed of a mineral phase of CaCO₃ (Hild et al., 2008), which protects the animal from internal and external mechanical stress and environmental hazards like desiccation and predation. During growth, the cuticle is replaced by a new one by a moulting process, and thus the CaCO₃ content of litter may play a role in isopod development.

The objective of this paper was to study the effects of soil contamination by metals on the developmental stability of *P. scaber*. For this, the FA level of 9 metrical traits (length of antennal and pereopod segments) was determined for both sexes, with regard to physico-chemical parameters (Cd, Pb, and Zn concentrations, pH, total CaCO₃ content, C/N ratio) of the litters. Woodlice and litters were collected in woody habitats of northern France, either situated far away from any source of TE contamination or located around metallurgical smelters (in production or closed). In order to evaluate the metallic impregnation degree of individuals, Cd, Pb, and Zn body burdens were determined. Relationships between physico-chemical parameters of litter types, TE body burdens and level of FA measured on woodlice populations were investigated.

2. Materials and methods

2.1. Sampling

In spring 2008, *P. scaber* were manually collected in litter, dead woods, stumps, and in bole anfractuosités or under anthropogenic materials (stones, bricks...) of 20 stations located along a

continentally gradient in northern France. Collected animals were placed in plastic bags containing a small amount of litter and few wood pieces to limit stress for individuals. These stations, corresponding to woody habitats (clump, wood or forest), were grouped in 8 distinct sites noted A, B, C, D, E, F, G and H (Figure 1). The sites B, E, F, and H are forests distant from any source of contamination for being considered as reference sites. The sites A, C, D, and G are either clumps or woods, situated around former or active metallurgical smelters. The site A is located near a former Fe and Mg smelter active from 1857 to 1978). The sites C and D correspond to areas massively affected in the past by atmospheric emissions of two smelters: a former lead smelter, Metaleurop Nord (active from 1893 to 2003) and a zinc smelter, Umicore (active since 1869), located at 3.5 km from Metaleurop Nord (Douay et al., 2008; Sterckeman et al., 2002). Besides, the site G is situated in Mortagne du Nord where a former Pb and Zn smelter was in activity from 1901 to 1963 (Douay et al., 2007). All the sites, with the exception of A, B and H, are situating in the former mining field in the northern France.

In winter 2009, 3 composite samples of litter were collected on each site.

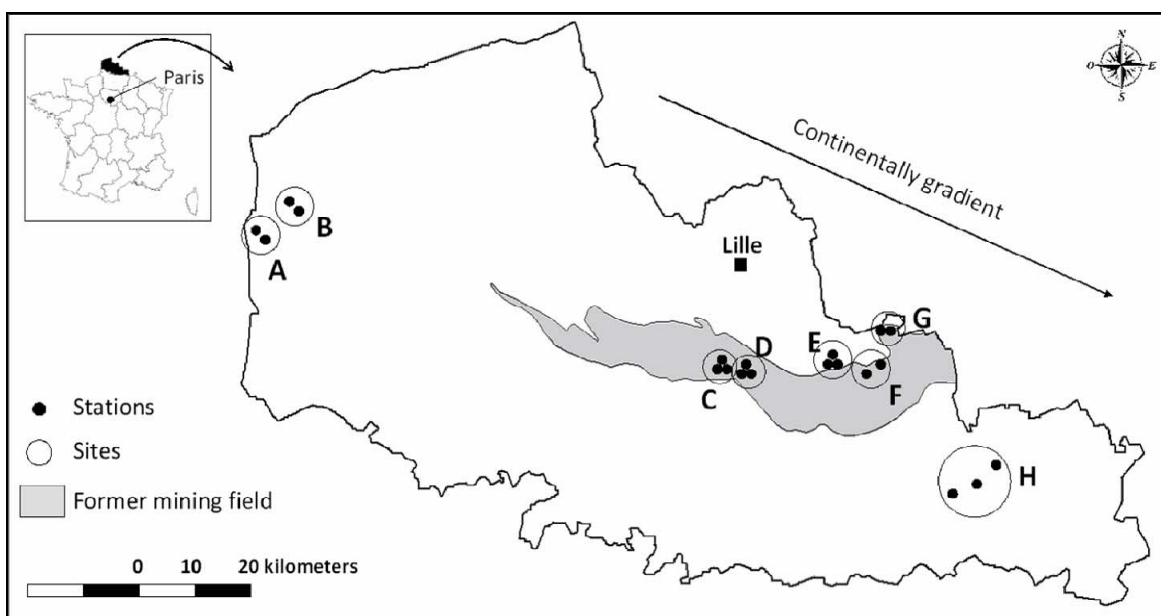


Figure 1: Location of the sampling sites

2.2. Selection, preparation and conservation of woodlice

At the laboratory, living individuals of *P. scaber* were separated from litter, wood pieces or other animal species, and were conserved in polypropylene containers with 70% (vol) ethanol. Males and gravid females were then separated, weighed (± 0.1 mg) and stored individually in polypropylene vials with 3 mL of 70% ethanol. According to the number of collected woodlice, a maximum of 100 individuals of each sex per station were randomly chosen. Among these individuals, the 25 heaviest were selected for FA analysis.

2.3. Measurement performed on woodlice and data acquisition

First, data acquisition has concerned the width of the head capsule of woodlice. It is the greatest width of the head in the horizontal plane, measured at the level of eyes in dorsal view (Sunderland et al., 1976). To limit the bias of measurement due to the shape and the positioning of woodlice, each individual was placed between two supports constituted of superposed glass blades. Then, a glass blade was laid on the body to flatten the animals before taking pictures of the head capsule. Pictures were taken using a numeric camera (Axiocam ICc3, ZEISS) assembled to a stereomicroscope (ZEISS Discovery.V8).

Secondly, the 6th and 7th pairs of pereopods were removed and placed between two glass blades, before being photographed. Then, individuals and appendices were conserved at -20°C for the determination of metal body burdens.

A total of 9 traits were studied on woodlice populations: the 2nd and 3rd articles of antennas, the 1st flagellum articles of antennas and the merus, carpus and propodus of the 6th and 7th pereopods (Figure 2). Basal and apical segments such as the 1st article and 2nd flagellum of antennas, and the basis and dactylus of pereopods were not considered because of possible natural usury or injury during dissection. At last, the ischium segment of pereopods was not retained in this study since it was considered as problematic for measurements due to its shape as suggested by Vilisics et al. (2005). All measurements were performed with the Axiovision V.4.6 software. The segments of the antennas and the pereopods were measured twice (M1 and M2) for the FA analyses in order to evaluate the reliability of measurements.

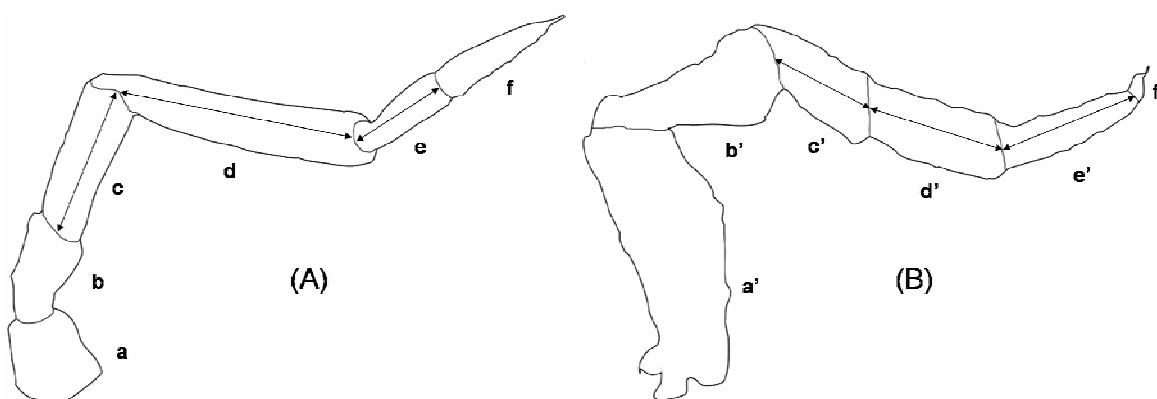


Figure 2: (A) Antenna segments (a: basis; b: article 1; c: article 2; d: article 3; e: flagellum 1; f: flagellum 2), and (B) pereopod segments (a': basis; b': ischium, c': merus, d': carpus; e': propodus; f': dactylus) of *Porcellio scaber*. Arrows indicate the measurement points of selected segments for FA analysis.

2.4. Determination of FA indexes

The FA analyses have concerned males and gravid females of each site and were performed following the protocol described by Palmer and coll. (1996; 2003). Among the 8 prospected sites, a total of 807 individuals were measured (from 20 to 66 for males and from 39 to 75 for females per site).

First, data were inspected to detect measurement error (ME) outliers. For this purpose, differences between both replicate measurements ($M2 - M1$) were calculated and Grubb's tests were performed for each of the 9 traits. Then, in order to detect aberrant asymmetries (AA), the difference between the right- and the left- side measurements ($R - L$) was performed with the average of the both replicate measurements and Grubb's tests were performed for each trait measured in woodlice from both sexes and from of each site ($n=8$). All aberrant data (ME and AA outliers) were excluded from analysis.

Secondly, to determine whether between-side variations were or not significantly greater than the ME, simple two-way Anova (sides x individuals) were performed as described by Palmer and Strobeck (1986), for each trait, site and sex. This procedure also allows to test the nondirectional asymmetry (i.e. FA if antisymmetry is absent), the directional asymmetry (DA) and the variation in overall trait size among individuals. With regard to results, the MS_{SI} (mean squares of the side x individuals variation) were significantly higher than the MS_{ME} (mean squares of the ME variation) in all cases (data not shown, $p < 0.05$). Moreover, size variations among individuals and nondirectional asymmetry were always observed ($p < 0.05$). However, among all Anova tests performed, 12/144 showed presence of DA ($p > 0.05$). These results were detailed in table 1.

Traits	Males	Females
Article 2	-	C, F
Article 3	A, F	-
1 st flagellum	-	C
6 th merus	-	-
6 th carpus	F	-
6 th propodus	-	C
7 th merus	C	G
7 th carpus	-	H
7 th propodus	-	D, E

Table 1: Populations (or sites) exhibit directional asymmetry among measured traits.

Antisymmetry artificially affected the values of all FA indices, and if a trait exhibits antisymmetry, some proportion of the between-side variation may have a genetic basis; hence the between-side variances may not purely be a product of developmental noise (Palmer and Strobeck, 1992). For this reason, tests for departures of normality were conducted to $R - L$ distribution for each station, trait and sex, using Kolmogorov-Smirnov tests. The results showed that the $R - L$ data were normally distributed in all cases ($p > 0.05$).

To test the size dependence of FA within samples, correlation tests were performed between $|R - L|$ and the width of the head capsule as an independent measure of the body size for each trait, site and sex. Among the 144 tests realized, 25 showed significant positive correlations between $|R - L|$ and the width of the head ($p < 0.05$).

Based on these results, FA indexes with a trait size correction by individual were calculated, as suggested by Palmer (1996): $FA = |R - L| / ((R + L)/2)$.

2.5. TE body burdens

Five males per station, with a weight ranging from 20 to 30 mg were selected among measured individuals. They were dried until constant weight was reached, weighed, then individually digested in a microwave system (MWS-2, Berghof, Germany) using 5 mL of 69% HNO₃ (Baker for metal trace analysis, Deventer, The Netherlands). After digestion, solutions were filtered on cellulose acetate membranes of 0.45 µm porosity, and adjusted to 25 mL with demineralised water. Cadmium, Pb, and Zn concentrations were measured using flame or graphite furnace atomic absorption spectrometry (AA-6800 Shimadzu) according to the concentration levels. Certified reference materials were used to ensure the accuracy of the analytical procedures. For this, mussel tissue (BCR-278R) was used as reference material, and was analyzed in triplicates. Metal concentrations measured in mussel tissue did not differ more than 10% from the certified concentrations.

2.6. Litter parameter analysis

Litter samples from each of the 20 stations were dried (<40°C), manually crushed and sieved to pass through a mesh of 2 mm. Total CaCO₃, pH, organic carbon and total nitrogen contents were determined according to the norms: ISO 10693, ISO 10390, ISO 10694 and ISO 13878, respectively. For TE analyses, aliquots of these litter samples have been crushed using a grindmill (Grindomix GM 200, Retsch, Germany) and sieved to pass through a mesh of 315 µm. 300 mg of each sample was then digested in a microwave system (MWS-2, Berghof, Germany) using aqua regia (4.5 mL 37 % HCl + 1.5 mL 69% HNO₃) and 0.5 mL of H₂O₂ (Baker for metal trace analysis, Deventer, The Netherlands). Each digest was filtered on a cellulose acetate membrane of 0.45 µm porosity (Minisart, Sartorius stedim) and adjusted to 25 mL with demineralised water. Solutions were stored at 4°C until analysis.

Cadmium, Pb, and Zn concentrations were measured using flame or graphite furnace atomic absorption spectrometry (AA-6800 Shimadzu) according to their concentrations. The specificities of the measurements were detailed by Waterlot et al. (2008; 2009). Certified samples (n=3) of tobacco leaves (CTA-VTL2) were used to assess the quality of measurements of TE concentrations. Results did not differ by more than 10% of certified values.

2.7 Data analysis

Means of litter physico-chemical parameters (Cd, Pb, and Zn concentrations, pH, total CaCO₃ contents, C/N ratio) were calculated for each site (A-H). The comparisons of litter parameters and TE body burdens of woodlice between sites were performed using Kruskal-Wallis Anova as non parametric tests, in order to distinguish uncontaminated habitats from TE-contaminated habitats. Regarding FA, in a first approach, one way Anova with Tukey post-hoc tests was performed to test differences in FA between woodlice populations (sites A-H), for the 9 traits studied and for both sexes. In a second approach, individual data of woodlice were grouped according to the habitat quality (uncontaminated versus TE-contaminated). A general linear model (GLM) was performed between sexes and between habitats. This consisted in a mixed model Anova with sexes and habitats as fixed effects and traits as random effects. Differences were examined using post-hoc tests of Fisher. Finally, relationships between litter parameters, TE body burdens and FA values of woodlice were examined by correlation analysis. All statistical tests were performed at $\alpha = 0.05$ with the Statistica (V.6) software.

3. Results

3.1. Abundance of woodlice and litters parameters

Among the prospected woody habitats (sites A-H), litter TE-concentrations ranged from 0.2 to 17.1 mg Cd kg⁻¹, from 7.3 to 275.5 mg Pb kg⁻¹ and from 47 to 2053 mg Zn kg⁻¹ (Table 2).

Sites	n	pH	C/N	CaCO ₃	Cd	Pb	Zn
A	95	6.2 ± 0.1 ^E	25.2 ± 3.5	3.3 ± 0.4	1.7 ± 1.3	16.3 ± 8.9	71 ± 13 ^D
B	164	5.8 ± 0.1	21.6 ± 1.5 ^{F, H}	2.5 ± 0.4 ^{C, D}	0.2 ± 0.1 ^{C, D, G}	9.9 ± 3.4 ^C	47 ± 2 ^{C, D, G}
C	439	6.4 ± 0.4 ^{E, H}	26.8 ± 4.9	5.2 ± 1.8	16.6 ± 13.2 ^{B, E, H}	275.5 ± 158.8 ^{B, E, F, H}	881 ± 501 ^{B, H}
D	228	6.5 ± 0.3 ^{E, F, H}	23.5 ± 1.2	5.1 ± 1.8	13.00 ± 8.9 ^{B, E, H}	89.1 ± 56.1 ^{E, F, H}	2010 ± 523 ^{A, B, E, H}
E	107	5.1 ± 0.2 ^{A, C, D, G}	27.4 ± 5.8	3.4 ± 1.3	0.2 ± 0.1 ^{C, D, G}	9.9 ± 3.8 ^{C, D}	73 ± 18 ^{D, G}
F	67	5.5 ± 0.2 ^{D, G}	30.5 ± 3.4 ^{B, G}	3.9 ± 0.1	0.7 ± 0.4	7.3 ± 1.4 ^{C, D}	79 ± 12
G	186	6.6 ± 0.2 ^{E, F, H}	20.7 ± 3.3 ^{F, H}	4.7 ± 3.1	17.1 ± 10.6 ^{B, E, H}	51.4 ± 95.3	2053 ± 909 ^{B, E, H}
H	197	5.3 ± 0.2 ^{C, D, G}	31.4 ± 4.5 ^{B, G}	3.0 ± 1.1	0.2 ± 0.1 ^{C, D, G}	8.7 ± 6.2 ^{C, D}	60 ± 4 ^{C, D, G}

Table 2: Number (n) total of individuals collected on the sampling sites (A-H) and litter physico-chemical parameters (mean ± SD): pH, C/N ratio, total CaCO₃ contents (g kg⁻¹) and metal concentrations (Cd, Pb and Zn expressed in mg kg⁻¹ dry weight). The letters indicate the site(s) showing significant differences ($p < 0.05$).

The Cd concentrations of the sites C, D and G were higher than those of other sites B, E and H ($p < 0.05$). Although no statistical difference was observed, the sites A and F also showed lower Cd concentrations in comparison with the sites C, D and G. The mean Pb concentrations in litters were also shown to be higher on the site C, D and G than in the other sites. Regarding Zn, the litter collected on the sites C, D and G presented high Zn concentrations than other sites and with significantly differences from those of the sites B and H ($p < 0.05$). Moreover, litters from the sites D and G showed higher Zn concentrations than litter from the site E, and the litter collected on

the site D showed also higher Zn concentrations than litter from the site A ($p<0.05$). With regards to these results, the sites C, D and G were considered as massively contaminated by metals for the following FA analysis.

Relationships between pH values and TE concentrations in litters were observed. Correlation coefficients (r) between Cd-, Pb- and Zn-concentrations and pH in the litter were respectively 0.73, 0.48 and 0.73 ($p<0.05$). Values of pH in the litters ranged from 5.1 to 6.6. It can be noticed that the pH of the litter from the most TE-contaminated sites (C, D and G) were less acid than those of the litter originated from the reference sites (B, E, F and H). In addition, a low but significant negative correlation was observed between pH values and C/N ratios ($r=-0.46$, $p<0.05$), while pH values were positively correlated with total CaCO_3 contents ($r=0.42$, $p<0.05$). C/N ratios ranged from 20.7 to 31.4, and the litters from the sites B and G presented lower C/N ratios than those from F and H. Total CaCO_3 contents in the litters ranged from 2.5 to 5.2 g kg^{-1} . The litter B presented the lower CaCO_3 content and appeared significantly different from the contents of litter C and D.

Concerning abundance of woodlice, the number of collected individuals ranged from 67 to 439 (Table 2). High abundance of *P. scaber* was notably observed on the metal-contaminated litters C and D.

3.2. Metal body burdens

The average of metal body burdens of woodlice ($10<n<15$ males per site) on the 8 sites (A-H) are presented on the figure 3. Woodlice collected on the sites C, D and G presented higher Cd body burden than woodlice from other sites, with respectively 200, 103 and 106 mg Cd kg^{-1} (dry weight). Indeed, Cd body burden of woodlice from the sites C and D was significantly higher than those of individuals from the sites A, B, F, and H ($p<0.05$). Moreover, Cd body burden of woodlice from the site C was also significantly higher than those of woodlice from the site E ($p<0.05$). Significant difference was also observed between Cd body burdens of individuals from the sites B and G.

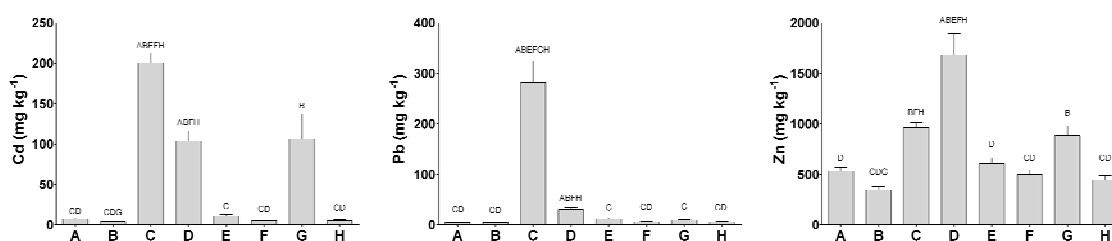


Figure 3: Mean \pm SE of Cd, Pb and Zn concentrations (mg kg^{-1} dry weight) in *Porcellio scaber* collected in height sites of northern France (A-H). The letters indicate the site(s) showing significant differences ($p<0.05$).

Regarding Pb, similarly, woodlice collected on the sites C and D showed significantly higher body burdens (282 and 30 mg Pb kg⁻¹ respectively) than those from the sites A, B, F and H ($p < 0.05$). In addition, significant differences in Pb body burden ($p < 0.05$) were also observed for individuals from the site C compared to the sites E and G.

Besides, high Zn body burden was observed in woodlice from the sites C, D and G, with respectively 964, 1682 and 833 mg Zn kg⁻¹. Zinc body burdens of woodlice from the site D was significantly higher than those of woodlice from the sites A, B, E, F, and H ($p < 0.05$). Furthermore, Zn body burdens of woodlice from the site C were also significantly higher than those of individuals from the sites B, F and H ($p < 0.05$). At last, Zn body burdens of woodlice from the site G were significantly higher than those of woodlice from the site B ($p < 0.05$).

Relationships were observed between the mean of metal body burdens determined in *P. scaber* and the mean of TE concentrations in litter of each site ($n=8$). Indeed, Cd body burdens were positively correlated with Cd and Pb concentrations in litters, with respectively $r=0.93$ and $r=0.93$ ($p < 0.05$). Moreover, close correlations were observed between Pb body burdens and Pb concentrations in litters ($r=0.97$, $p < 0.05$). Finally, positive correlations were also observed between Zn body burdens and Cd and Zn concentrations in litters, with respectively $r=0.73$ and $r=0.84$ ($p < 0.05$).

3.3. Fluctuating asymmetry

Fluctuating asymmetry values calculated on the 9 traits measured on *P. scaber* males and gravid females of each site (A-H) were represented on the figure 4.

Concerning antennas of males, FA value measured on the 2nd articles was higher for individuals from the site B than those from the sites D and G ($p < 0.05$). In addition, FA value measured on the 3rd articles was shown to be significantly higher for individuals from the site B than for those from the other sites ($p < 0.05$). Moreover, FA value observed for the 1st article of antenna flagellum of males collected on the site B was also shown to be higher than those from the sites C, E and G ($p < 0.05$).

Regarding pereopods of males, higher FA value was obtained for the merus of the 6th pereopods in individuals from the site A than in individuals from the sites C and D ($p < 0.05$). For the carpus of the 6th pereopods, high levels of FA was observed on individuals from the sites E and F. Actually, the FA value measured on males collected in the site F was significantly higher than those determined for individuals from the sites C, D and H ($p < 0.05$). In addition, FA value measured for the propodus of males from the sites C and H was significantly lower than those measured on males from the site E ($p < 0.05$). With regard to the carpus of the 7th pereopods, individuals from the site B presented higher FA levels than those from the site D and H ($p < 0.05$).

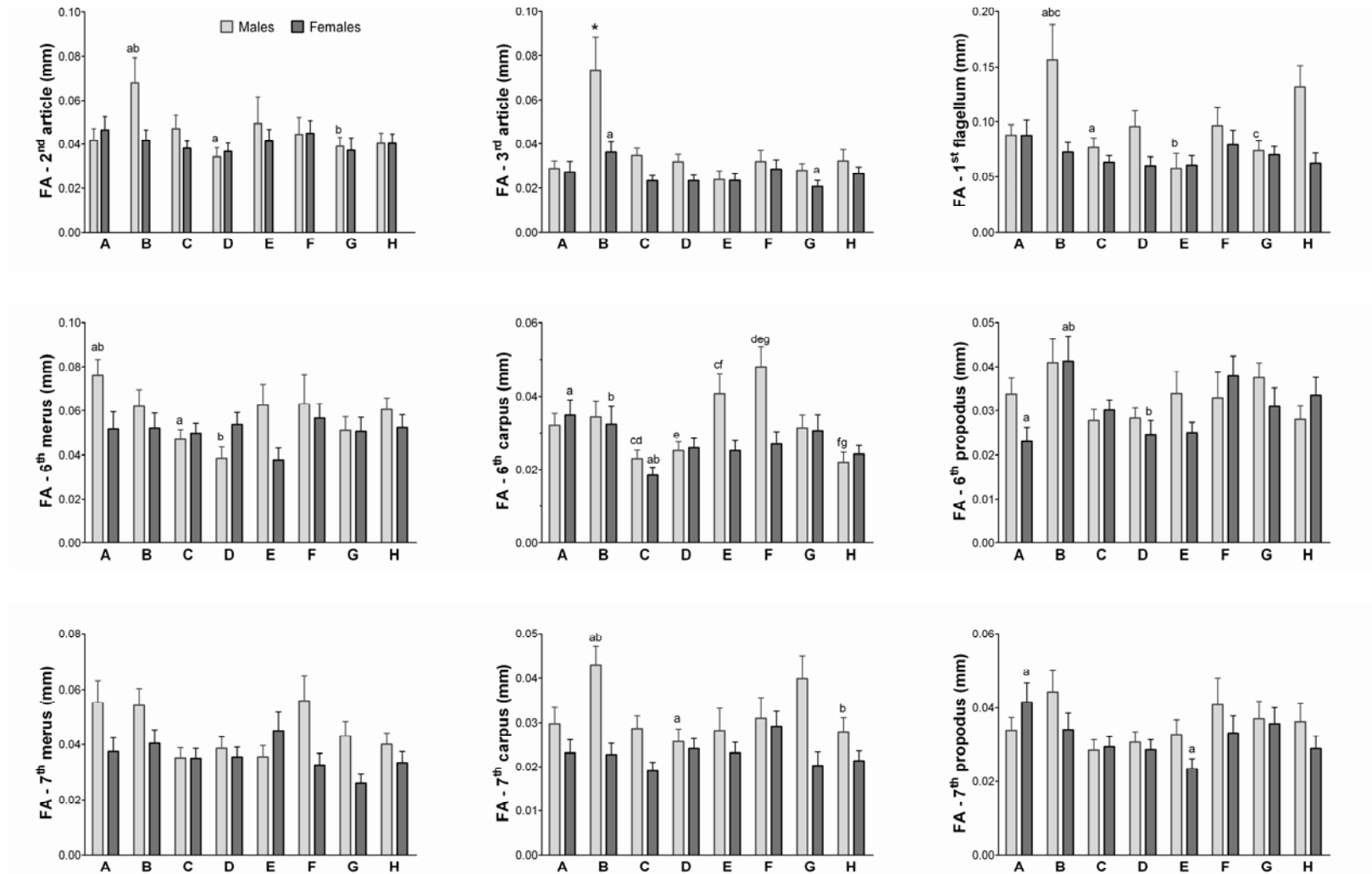


Figure 4: Fluctuating asymmetry values (Mean \pm SE; $FA = |R-L| / ((R+L)/2)$) observed for different traits (the 2nd and the 3rd articles of antennas, the 1st flagellum of the antennas, and the merus, carpus and propodus of the 6th and the 7th pereiopods) in *P. scaber* collected in height sites of northern France. The same letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between sites.

Concerning antennas of females, FA value measured for the 3rd articles on individuals from the site B was higher than those originated from the site G ($p < 0.05$). Regarding pereopods of females, individuals from the site C presented low levels of FA for the carpus of the 6th pereopods, and significant differences were observed with individuals from both sites A and B ($p < 0.05$). Moreover, FA value measured for the propodus of the 6th pereopods on females from the site B was higher than those from the both sites A and D ($p < 0.05$). In addition, females collected to the site A showed high levels of FA for the propodus of the 7th pereopods, and significant differences were observed with individuals from the site E ($p < 0.05$). Results of the GML performed on FA measured on the 9 traits of *P. scaber*, between two habitats (uncontaminated and metal-contaminated) and between sexes were presented in the table 3. Data showed that FA measured on woodlice differed between habitats, sexes and traits ($p < 0.05$).

Source of variation	MS	F-test	p-value	df	Interpretation
Intercept	11,0382	47,3783	0,0001	1	
Habitats (H, fixed)	0,0864	18,3235	0,0027*	1	FA differs between habitats
Sexes (S, fixed)	0,1162	8,0403	0,0220*	1	FA differs between sexes
Traits (T, random)	1,8643	15,1380	0,0005*	8	FA differs between traits
S x H	0,0188	4,9859	0,0560	1	FA difference between sexes not depend on habitats
H x T	0,0377	1,2488	0,3804	8	FA difference between habitats not depend on traits
S x T	0,1156	3,8278	0,0376*	8	FA difference between sexes depends on traits
H x S x T	0,0302	2,0163	0,0407*	8	One 2-way interaction depends on the state off the third factor
Error	12,4431			6644	

Table 3: Results of the general linear model analysis of FA among 9 traits (the 2nd and the 3rd articles of antennas, the 1st flagellum of the antennas, and the merus, carpus and propodus of the 6th and the 7th pairs of pereopods) observed for *P. scaber* between sexes (males and gravid females) and between two habitats (uncontaminated and metal-contaminated ones). This is a mixed ANOVA, since sex and habitats are fixed effects and trait is a random effect. Significant differences*: $p < 0.05$, and interpretations.

However, differences observed in FA between sexes were shown to be dependent on traits measured ($p < 0.05$), but not on habitat types ($p > 0.05$). Indeed, FA measured on the 3rd articles and the 1st flagellum article of the antennas, the merus of the 6th pereopods, and the merus and carpus of the 7th pereopods were higher in males than in females from the same uncontaminated habitats ($p < 0.05$, figure 5). Similarly, FA measured for the 1st flagellum article of the antennas and the carpus of the 7th pair of pereopods were higher in males than in females from the same contaminated habitats ($p < 0.05$). In other hand, FA differences were observed between habitats. Actually, FA measured on the 1st flagellum article of the antennas and the merus of the 6th and 7th pereopods of males from uncontaminated habitats were higher than those measured on males from contaminated habitats ($p < 0.05$).

Mean FA values of several morphological traits showed close correlations with several litter physico-chemical parameters notably TE concentrations but also woodlice TE body burdens.

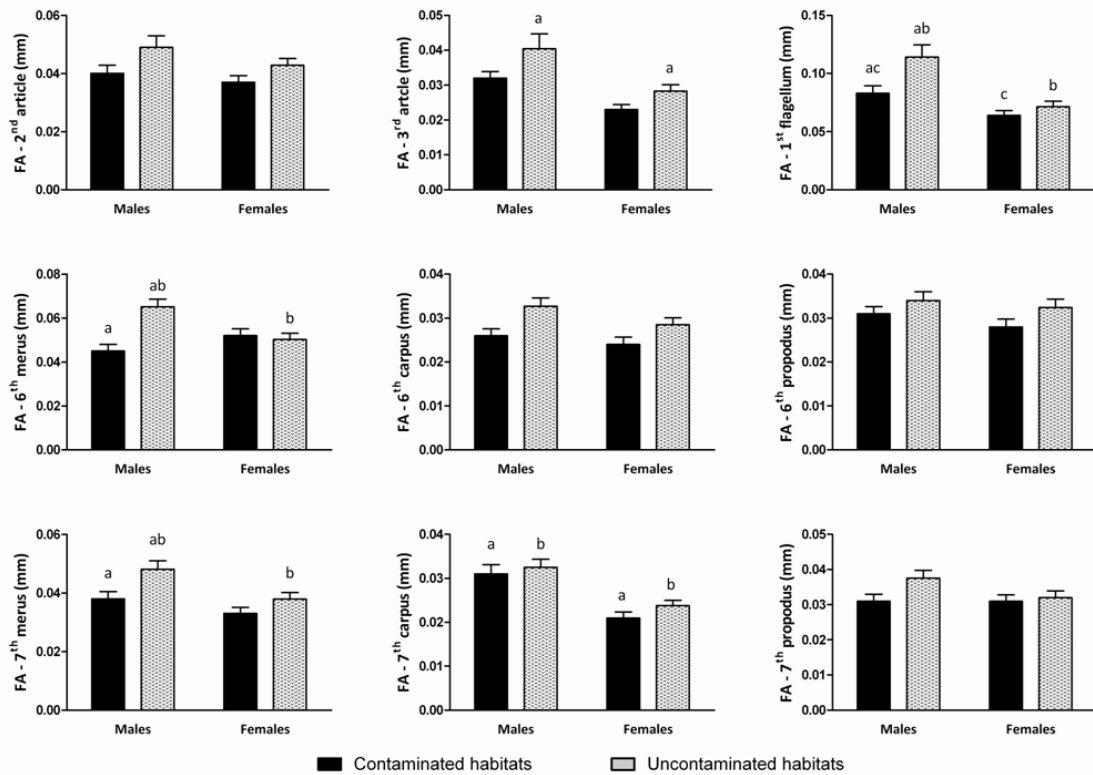


Figure 5: Fluctuating asymmetry values (Mean \pm SE; FA = $|R-L|/((R+L)/2)$) measured on different traits (the 2nd and the 3rd articles of antennas, the 1st flagellum of the antennas, and the merus, carpus and propodus of the 6th and the 7th pereopods), in *P. scaber* collected in northern France and grouped into two habitats types (untaminated and metal-contaminated ones) and according to the sex of individuals. The same letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between groups.

Indeed, FA value measured on the merus of the 6th pereopods of males was negatively correlated with Cd and Zn concentrations in the litter with $r = -0.78$ and $r = -0.80$ respectively ($p < 0.05$), and was also negatively correlated with Cd and Zn body burdens of woodlice (respectively, $r = -0.76$ and $r = -0.84$, $p < 0.05$). In addition, FA value measured on the merus of the 6th pereopods and the propodus of the 7th pereopods of males showed negative correlations with the total CaCO₃ contents of the litters (respectively, $r = -0.77$ and $r = -0.72$, $p < 0.05$). For females, FA value measured on the 2nd articles of antennas was negatively correlated with Cd and Zn concentrations in the litters with respectively $r = -0.76$ and $r = -0.79$ ($p < 0.05$). Furthermore, FA value measured on the 3rd articles of the antennas was negatively correlated with the total CaCO₃ content of the litter ($r = -0.80$, $p < 0.05$).

4. Discussion

Investigations concerned 8 woody habitats, either located far away from any sources of contamination or located near metallurgical smelters (active or closed). Results indicated significant differences between sites for litter physico-chemical parameters and especially for heavy metal concentrations. The highest Cd, Pb, and Zn concentrations were measured in the litter from the sites C, D and G and were

explained by the geographical localization of these sites. In contrast, the litter A, although collected near a former smelter, presented a moderate contamination in comparison with the litters C, D and G. This can be due to the former activity of this plant that mainly concerned Fe and Mg production and not Cd, Pb and Zn. Hence the site A, even if also reflected human activities, should be distinguished from the sites C, D and G and was considered as uncontaminated site in this study. This report can also be supported by the fact that for woodlice, and notably by *P. scaber*, Cd and Zn are able to be more bioconcentrated than Fe (Gal et al., 2008), and are known to be toxic (Hopkin and Hames, 1994) contrary to Fe.

Metal body burdens of *P. scaber* attested the TE-contamination degree of litters. Individuals from the most contaminated sites (C, D and G) showed the highest Cd, Pb and Zn body burdens, excepted for Pb contents of individuals originated from the site G. Furthermore, close correlations between litter metal concentrations and metal body burdens in woodlice were observed. Such correlations in *P. scaber* from polluted environment by metals have already been reported (Hopkin et al., 1986). However, in the case of our study, high individual variability in metal accumulation by woodlice originated from a same site has been observed. Actually, individuals from the site G, C and D showed high variability (i.e. standard error) for Cd, Pb, and Zn body burdens, respectively. High variability in metal body burdens of woodlice originated from a contaminated environment has been also reported previously by Hopkin and Martin (1984). Among hypotheses, ecological or physiological factors could influence metal accumulation in woodlice (Hames and Hopkin, 1989; Hopkin, 1990). For example, Cd accumulation in *P. scaber* could notably depend to the Cd/Zn ratio in litter (Godet et al., 2010). However, spatial heterogeneity of metal concentrations in the litter and particularly in the case of metal-contaminated sites, might also explain the high variability of the metal body burdens of individuals. Indeed, the standard deviation values observed in the case of litter metal concentrations attested the spatial heterogeneity of soils, and particularly in the case of metal-contaminated sites. In fact, peripheral soils of industrial sites are often characterized by heterogeneous pollution due to external factors (dominant wind direction, distance from pollution sources, existence of green belt), anthropogenic factors (land settlement, soil management), or intrinsic factors (pedological and physicochemical soil parameters, biological activities) (Van Oort et al., 2009). In addition, the litter is principally constituted of fallen leaves of different tree species which are able to accumulate metals and store them in roots or/and leaves differently according to the species. Consequently, it is likely that all these factors were responsible for the high variability of metal concentrations observed in the litter and woodlice collected in our sites.

Besides, it was interesting to note the high abundance of *P. scaber* collected on sites massively contaminated, and notably on woody habitats located nearby the two metallurgical smelters, Metaleurop Nord (site C) and Umicore (site D), where the litters showed high TE concentrations. Although *P. scaber* is known to be a cosmopolitan specie (Vilisics et al., 2007), these observations

showed the high resistance of *P. scaber* to cope with the TE pollution of soil, and thus the potential interest of this specie for the biomonitoring.

Even if our results attested the metallic impregnation of individuals originated from contaminated sites, TE contamination of the litters did not appeared to affect their abundance, nor the FA levels of woodlice. On opposition with the idea that TE exposure would result in an increase of the FA levels in woodlice, FA level measured on *P. scaber* from metal-contaminated sites seemed to be even lower than those of individuals from uncontaminated sites. This was particularly observed on males and concerned the 1st flagellum of the antennas and the merus of the 6th and the 7th pereiopods. In addition, it seemed that the low level of FA observed on the merus of the 6th pereiopods of males was linked with Cd and Zn concentrations in the litters.

Although surprising, the low FA level observed on antennas and pereiopods segments of individuals from metal-contaminated sites and especially on males may be interpreted by selection processes occurring on such sites. Indeed, according to the literature, a low FA level is expected to reflect individual phenotypic quality, which includes stress resistance (Palmer and Strobeck, 1986; Moller and Pomiankowski, 1993; Polak and Trivers, 1994). However, at the population level, the stress may act as a form of selection, eliminating unstable phenotypes from the population (Buchholz, 1922; Moller, 1997). This can be explained by the major roles of antennas and pereiopods in the foraging behaviour and reproduction processes of woodlice. Actually, antennas of Oniscidea as *P. scaber* were specialized in mecano-sensorial and chemoreceptive informations (Hoëse, 1989). They allow detecting their food and its quality (see Zimmer, 2002), notably in term of metal contamination (Dallinger and Wieser, 1977; Odendaal and Reinecke, 1999; Zidar et al., 2005; Zidar et al., 2004; Zidar et al., 2003) Furthermore, the sexual recognition of the female by the male is performed by contact of the antennas on the tegument (Forest et al., 1999). In addition, for males, antennas serve as weapons to fight with rivals to access to reproductive female (Lefebvre et al., 2000). Moreover, Møller and Zamora-Muñoz (1997), in the case of beetles, showed that the antenna symmetry played a major role in sexual selection and this, independently of their lengths. Besides, although the seven pairs of pereiopods of terrestrial isopods allow their locomotion, these appendixes have also sensorial organs allowing the recognition of their media. Moreover, pereiopods, and notably the 7th pairs, play a major role on reproduction processes of woodlice since they serve for male to enlase female during mating, (Forest et al., 1999). Consequently, alteration of these functions is likely to have detrimental effects at the level of individuals but also at the level of the population if sexual recognition is affected. In fact, in polluted environment, developmentally unstable phenotypes showing high FA levels may be reduced by selection (Moller, 1997). This can explained the low FA levels observed on individuals from polluted sites.

Our results indicated that FA levels were higher in males than in females whatever the quality of the litter. Indeed, in the uncontaminated sites, this concerned the 3rd articles and the 1st flagellum article of

the antennas, the merus of the 6th pereopods, and the merus and carpus of the 7th pereopods. Moreover, in the case of contaminated sites, it concerned the 1st flagellum article of the antennas and the carpus of the 7th pereopods. The FA differences observed between sexes could perhaps be explained by the general activity of woodlice. Although this would have to be tested, it is not unnatural to think that, in the field, males might be more often exposed to physical damages than gravid females. Indeed, for several species of woodlice, antennas are involved firstly in intraspecific recognition and later as weapons against rivals (Lefevre et al., 2000). Male fighting for access to reproductive females could induce the loss of appendix segments such as those of the antennas or of the pereopods. Furthermore, in reproduction periods, gravid females might reduce their foraging activity for reducing predation exposure and allowing the greatest success to the future generation, which could result in a reduced loss of appendix segments. Although terrestrial isopods are able to regenerate body parts, Vilisics et al. (2005) showed that regeneration of appendixes after a moulting cycle increases considerably FA, notably for antennas. This author suggested that predatory injury may also cause FA in certain traits, but the relationship between the physical damages and regeneration processes needs further investigations. This suggestion would also explain the difference in the FA levels observed between woodlice from uncontaminated or metal-contaminated habitats. Actually, on polluted environment, toxicity could reduce the abundance and/or the specific richness of predators which could be more sensible to metal pollution than woodlice.

Contrary to the initial hypothesis, the results showed that environment polluted by metals did not increase the FA levels on traits of woodlice, but on opposition, would induce developmental stability on woodlice living on metal-contaminated site. Nevertheless, the FA signal in response to stress may vary among traits (Polak et al., 2002). Consequently, although at the individual level, stress is expected to induce developmental instability of a trait and elevate its degree of asymmetry, traits present different genetic basis, and thus can to be more or less sensitive to a specific stress factor. Besides, although several hypotheses were developed to explain these results, it is reasonable to expect that in natural situations, the relationship between FA and stress would be even less consistent and reliable (Ramuson, 2002) because of numerous uncontrolled factors existing on field (Trotta et al., 2005). Investigations lead on controlled conditions using microcosms, and on several generations of woodlice exposed to metal contamination should be considered for approve these hypotheses.

References

- Bjorksten, T.A., David, P., Pomiankowski, A., Fowler, K. 2000. Fluctuating asymmetry of sexual and nonsexual traits in stalk-eyed flies: a poor indicator of developmental stress and genetic quality. *J. Evol. Biol.* 13, 89–97.
- Bjorksten, T.A., Pomiankowski, A., Fowler, K., 2001. Temperature shock during development fails to increase the fluctuating asymmetry of a sexual trait in stalk-eyed flies. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 268, 1501–1510.
- Chang, X., Zhai, B., X Liu, X., Wang, M., 2007. Effects of temperature stress and pesticide exposure on fluctuating asymmetry and mortality of *Copera annulata* (Selys) (Odonata: Zygoptera) larvae. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 67, 120-127.
- Clarke, G. M., 1993. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environ. Pollut.* 82, 207-211.
- Clarke, G. M., McKenzie, L. J., 1992. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. *Journal of economic entomology.* 85, 2045-2050.
- Cortet, J., Gomot-De Vaufleury, A., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.* 35, 115-134.
- Dallinger, R., Berger, B., Birkel, S., 1992. Terrestrial isopods: useful biological indicators of urban metal pollution. *Oecologia.* 89, 32-41.
- Dallinger, R., Wieser, W., 1977. The flow of copper through a terrestrial food chain. *Oecologia.* 30, 253-264.
- David, P., Hingle, A., Greig, D., Rutherford, A., Pomiankowski, A., Fowler, K. 1998. Male sexual ornament size but not asymmetry reflects condition in stalk-eyed flies. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 265, 1-6.
- Douay, F., Pruvot, C., Roussel, H., Ciesielski, H., Fourrier, H., Proix, N., Waterlot, C., 2008. Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters. *Water Air and Soil Pollution.* 188, 247-260.
- Douay, F., Roussel, H., Fourrier, H., Heyman, C., Chateau, G., 2007. Investigation of Heavy Metal Concentrations on Urban Soils, Dust and Vegetables Nearby a Former Smelter Site in Mortagne du Nord, Northern France. *J Soils Sediments.* 7, 143-146.
- Drobne, D., Hopkin, S. P., 1995. The toxicity of zinc to terrestrial isopods in a "standard" laboratory test. *Ecotoxicol Environ Saf.* 31, 1-6.
- Dudka, S., Piotrowska, Terelak, H., 1996. Transfer of cadmium, lead, and zinc from industrially contaminated soil to crop plants : a field study. *Environmental Pollution.* 94, 181-188.
- Eeva, T., Tanhuanpää, S., Rabergh, C., Airaksinen, S., Nikinmaa, M., Lehtikoinen, E., 2000. Biomarkers and fluctuating asymmetry as indicators of pollution-induced stress in two hole-nesting passerines. *Functional Ecology.* 14, 235-243.
- Forest, J.; Bacescu, M.; Bellan-Santini, D.; Boxshall, G.A.; Cals, Ph.; Casanova, J.-P.; Dalens, H.; Gutu, M.; Hessler, R.R.; Lagardère, J.P.; Monod, Th.; Nouvel, H.; Petrescu, I.; Roman, M.-L.; Sieg, J.; Trilles, J.-P.; Watling, L., 1999. *Traité de zoologie: anatomie, systématique, biologie: 7. Crustacés: 3A. Péracarides.* Mémoires de l'Institut océanographique, Monaco, 450 pp.
- Gal, J., Markiewicz Patkowska, J., Hursthouse, A., Tatner, P., 2008. Metal uptake by woodlice in urban soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 69, 139-149.
- Godet, J.P., Demuyck, S., Waterlot, C., Lemièrre, S., Souty-Grosset, C., Sheifler, R., Douay, F., Leprêtre, A., Pruvot, C., 2001X. Growth and metal accumulation in *Porcellio scaber* exposed to poplar litter from Cd-, Pb- and Zn-contaminated sites. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* (accepted).
- Graham, J. R., Roe, E. R., West, T. B., 1993. Effects of lead and benzene on the developmental stability of *Drosophila melanogaster*. *Ecotoxicology.* 2, 185-195.
- Grelle, C., Impact des métaux lourds sur les peuplements de macroinvertébrés de la faune du sol - Influence du cadmium et du plomb sur différents aspects de la physiologie de deux modèles biologiques : *Lithobius forficatus* (Myriapode Chilopode) et *Eisenia fetida* (Annélide Oligochète). Université de Lille 1., 1998.

- Groenendijk, D., Zeinstra, L. W. M., Postma, J. F., 1998. Fluctuating asymmetry and mentum gaps in populations of the midge *Chironomus riparius* (diptera: chironomidae) from a metalcontaminated river. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 1999-2005.
- Hames, C.A.C., Hopkin, S.P., 1989. The structure and function of the digestive system of terrestrial isopods. *J. Zool. Lond.* 217, 599-627.
- Hassall, M., Jones, D. T., Taiti, S., Latipi, Z., Sutton, S. L., Mohammed, M., 2005. Biodiversity and abundance of terrestrial isopods along a gradient of disturbance in Sabah, East Malaysia. *European Journal of Soil Biology*. 42, S197–S207.
- Hild, S., Marti, O., Ziegler, A., 2008. Spatial distribution of calcite and amorphous calcium carbonate in the cuticle of the terrestrial crustaceans *Porcellio scaber* and *Armadillidium vulgare*. *Journal of Structural Biology*. 136, 100-108.
- Hodkinson, I. D., Jackson, J. K., 2005. Terrestrial and Aquatic Invertebrates as Bioindicators for Environmental Monitoring, with Particular Reference to Mountain Ecosystems. *Environmental Management* 35, 649-666.
- Höese, B., 1989. Morphological and comparative studies on the second antennae of terrestrial isopods. *Monitore zoologico italiano, Nuova Serie, Monografia*. 4: 127-152.
- Hopkin, S. P., Hames, C. A. C., 1994. Zinc, among a 'cocktail' of metal pollutants, is responsible for the absence of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from the vicinity of a primary smelting works. *Ecotoxicology*. 2, 68-78.
- Hopkin, S. P., Hardisty, G. N., Martin, M. H., 1986. The Woodlouse *Porcellio scaber* as a 'Biological Indicator' of Zinc, Cadmium, Lead and Copper Pollution. *Environmental Pollution (Series B)*. 11, 271-290.
- Hopkin, S. P., Martin, M. H., 1982. The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the woodlouse *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda). *Oecologia*. 54, 227-232.
- Hopkin, S.P., Martin, M.H., 1984. Heavy metals in woodlice. *Syrup. zool. Soc. Lond.* 53, 143-66.
- Hornung, E., Tothmeresz, B., Magura, T., Vilisics, F., 2007. Changes of isopod assemblages along an urbane suburbanerural gradient in Hungary. *European Journal of Soil Biology*. 43, 158-165.
- Imperato, M., Adamo, P., Naimo, D., Arienzo, M., Stanzione, D., Violante, P., 2003. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city (Italy). *Environmental Pollution*. 124, 247-256.
- Kautz, G., Zimmer, M., Topp, W., 2000. Responses of the parthenogenetic isopod, *Trichoniscus pusillus* (Isopoda: Oniscidea), to changes in food quality. *Pedobiologia*. 44, 75-85.
- Lefebvre, F., Limousin, M., Caubet, Y., 2000. Sexual dimorphism in the antennae of terrestrial isopods: a result of male contests or scramble competition? *Can. J. Zool.* 78, 1987-1993.
- Lewis, C., Caldwell, G. S., Bentley, M. G., Olive, P. J. W., 2004. Effects of a bioactive diatom-derived aldehyde on developmental stability in *Nereis virens* (Sars) larvae: an analysis using fluctuating asymmetry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 304, 1-16.
- Magura, T., Hornung, E., Tóthmérész, B., 2008. Abundance patterns of terrestrial isopods along an urbanization gradient. *Community Ecology*. 9, 115-120.
- McBride, D., 2008. Environmental lead, soil contamination, and child health effects in less-developed nations: Comparative international research, 1980-2006. *Soil & Sediment Contamination*. 17, 346-362.
- Møller, A.P., Pomiankowski, A., 1993. Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Genetica*. 89, 267-279.
- Møller, A.P., 1997. Developmental stability and fitness: a review. *Am. Nat.* 149, 916-932.
- Odendaal, J. P., Reinecke, A. J., 1999. The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). *Biol Fertil Soils*. 29, 146-151.
- Palmer, A. R., *Fluctuating Asymmetry Analyses: A Primer*. In: T. A. Markow, D. Kluwer, Netherlands, Eds.), *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*, 1996, pp. 335-364.
- Palmer, A. R., Strobeck, C., 1986. Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 17, 391-421.
- Palmer, A. R., Strobeck, C., 1992. Fluctuating asymmetry as a measure of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests. *Acta Zoologica Fennica* 191, 57-72.

- Palmer, A. R., Strobeck, C., Fluctuating Asymmetry Analyses Revisited. Developmental Instability (DI): Causes and Consequences (2003). Department of Biological Sciences University of Alberta Edmonton, Alberta T6G 2E9 CANADA, 2003, pp. 77pp + 36pp.
- Pankakoski, E., Koivisto, I., Hyvärinen, H., 1992. Reduced developmental stability as an indicator of heavy metal pollution in the common shrew *Sorex araneus*. *Acta Zoologica Fennica*. 191, 127-144.
- Paoletti, M. G., Hassall, M., 1999. Woodlice (Isopoda: Oniscidea): their potential for assessing sustainability and use as bioindicators. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74, 157-165.
- Pape Moller, A., Zamora-Munoz, C., 1997. Antennal asymmetry and sexual selection in a cerambycid beetle. *Anim. Behav.* 154, 1509-1515.
- Parsons, P. A., 1990. Fluctuating asymmetry : an epigenetic measure of stress. *Biol. Rev.* 65, 131-145.
- Peters, E. L., Kaufmann-Daszczuk, B., Brant, H. A., Jagoe, C. H., Richter, R., Element concentrations and fluctuating asymmetry in a terrestrial isopod (*Armadillidium vulgare*) in metropolitan Chicago Parklands. Department of Biological Sciences, Chicago State University, 2001, pp. 1p.
- Privot, C., Dubourguier, H. C., Douay, F., Caractérisation in situ de l'impact des métaux sur la cinétique de la biodégradation des constituants de la matière organique dans les sols autour de deux usines métallurgiques du Nord de la France. Journées Nationales de l'étude des Sols, Vol. Actes des 7èmes journées. AFES, Association Française pour l'Etude des Sols, Orléans, 2002, pp. 61-62.
- Rasmuson, M., 2002. Fluctuating asymmetry indicator of what? *Hereditas*. 136, 177-183.
- Roy, B.A., Stanton, M.L., 1999. Asymmetry of wild mustard, *Sinapis arvensis* (Brassicaceae), in response to severe physiological stresses. *J. Evol. Biol.* 12, 440-449.
- Savage, A., Hogarth, P. J., 1999. An analysis of temperature-induced Fluctuating Asymmetry in *Asellus aquaticus* (Linn.). *Hydrobiologia*. 411, 139-143.
- Schroijen, C., Baeyens, W., Schoeters, G., DenHond, E., Koppen, G., Bruckers, L., Nelen, V., De Mieroop, E. V., Bilau, M., Covaci, A., Keune, H., Loots, I., Kleinjans, J., Dhooze, W., Van Larebeke, N., 2008. Internal exposure to pollutants measured in blood and urine of Flemish adolescents in function of area of residence. *Chemosphere*. 71, 1317-1325.
- Souty-Grosset, C., Badenhausser, I., Reynolds, J. D., Morel, A., 2005. Investigation on the potential of woodlice as indicators of grassland habitat quality. *European Journal of Soil Biology*. 41, 109-116.
- Stamenkovic Radak, M., Kalajdzic, P., Savic, T., Savic, M., Kurbalija, Z., Rasic, G., Andjelkovic, M., 2008. The effect of lead on fitness components and developmental stability in *Drosophila subobscura*. *Acta Biologica Hungarica*. 59, 47-56.
- Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H., Perdrix, E., 2002. Assessment of the contamination of cultivated soils by eighteen trace elements around smelters in the North of France. *Water Air and Soil Pollution*. 135, 173-194.
- Sunderland, K. D., Hassall, M., Sutton, S. L., 1976. The population dynamics of *Philoscia muscorum* (Crustacea: Oniscoidea) in a dune grassland ecosystem. *Journal of Animal Ecology*. 45, 487-506.
- Trotta, V., Calboli, F. C. F., Garoia, F., Grifoni, D., Cavicchi, S., 2005. Fluctuating asymmetry as a measure of ecological stress in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Eur. J. Entomol.* 102, 195-200.
- Van Oort, F., Thiry, M., Jongmans, T., Bourennane, H., Cambier, P., Lamy, I., Citeau, L., Nahmani, J., Pollutions métalliques : distributions hétérogènes du Zn, Pb, Cd, et Cu et relations avec l'usage des sols. In: C. U. S. Technologies, (Ed.), Contaminations métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-urbains, 308pp, 2009, pp. 15-44.
- Van Straalen, N. M., Verhoef, H. A., 1997. The Development of a Bioindicator System for Soil Acidity Based on Arthropod pH Preferences. *The Journal of Applied Ecology*. 34, 217-232.
- Vijver, M. G., Vink, J. P. M., Jager, T., vanStraalen, N. M., Wolterbeek, H. T., vanGestel, C. A. M., 2006. Kinetics of Zn and Cd accumulation in the isopod *Porcellio scaber* exposed to contaminated soil and/or food. *Soil Biology & Biochemistry*. 38, 1554-1563.
- Vilisics, F., Eleka, Z., Lovei, G. L., Hornung, E., 2007. Composition of terrestrial isopod assemblages along an urbanisation gradient in Denmark. *Pedobiologia*. 51, 45-53.

- Vilisics, F., Sólymos, P., Hornung, E., 2005. Measuring fluctuating asymmetry of the terrestrial isopod *Trachelipus rathkii* (Crustacea: Isopoda, Oniscidea). *European Journal of Soil Biology*. 41, 85-90.
- Wang, Y. P., Shi, J. Y., Wang, H., Lin, Q., Chen, X. C., Chen, Y. X., 2007. The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity, and community composition near a copper smelter. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 67, 75-81.
- Waterlot, C., Bidar, G., Douay, F., Daurangeon, F., 2008. Analysis of trace elements in solution, assessment of a background compensation technique on the As interference in the Cd analysis. *Spectra analyse*. 261, 48 - 52.
- Waterlot, C., Douay, F., 2009. The problem of arsenic interference in the analysis of Cd to evaluate its extractability in soils contaminated by arsenic. *Talanta*. 80, 716-722.
- Zhuang, P., McBride, M. B., Xia, H. P., Li, N. Y., Lia, Z. A., 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment*. 407, 1551-1561.
- Zidar, P., Bozic, J., Strus, J., 2005. Behavioral Response in the Terrestrial Isopod *Porcellio scaber* (Crustacea) Offered a Choice of Uncontaminated and Cadmium-Contaminated Food. *Ecotoxicology*. 493-502.
- Zidar, P., Drobne, D., Strus, J., Van Gestel, C. A. M., Donker, M., 2004. Food selection as a means of Cu intake reduction in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Applied Soil Ecology*. 25, 257-265.
- Zidar, P., kaschl, U. I., Drobne, D., Bozic, J., Trus, J., 2003. Behavioural response in paired food choice experiments with *Oniscus asellus* (crustacea, isopoda) as an indicator of different food quality. *Arh Hig Rada Toksikol*. 54, 177-181.
- Zimmer, M., 2002. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary-ecological approach. *Biol. Rev.* 77, 455-493.
- Zimmer, M., Kautz, G., Topp, W., 2003. Leaf litter-colonizing microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *European Journal of Soil Biology*. 39, 209-216.

Chapitre IV :

Expérimentations

en conditions contrôlées

A) La nourriture distribuée aux isopodes :

Origine, mode de préparation et concentrations en ETM

Avant - propos

Au regard du régime alimentaire des isopodes terrestres et de leur rôle dans la dégradation des matières organiques, il a été fait le choix d'exposer dans les expérimentations suivantes des isopodes à des litières collectées in situ. Il a également été fait le choix d'utiliser des litières contaminées « naturellement » par des ETM, c'est-à-dire collectées à proximité de sites métallurgiques, et reflétant ainsi des conditions expérimentales proches des conditions de terrain. Du fait des différences spécifiques existant entre les espèces végétales vis-à-vis de l'accumulation des ETM et de la capacité des isopodes à discriminer la nourriture contaminée, il a été décidé d'exposer les individus à des litières composées d'une seule essence végétale, présentant a priori une contamination plus homogène. L'essence retenue est le peuplier d'une part, pour sa capacité à accumuler les éléments métalliques du sol et d'autre part, pour sa dominance dans les plantations à proximité de sites métallurgiques. La pertinence de ce choix a par ailleurs été confirmée par l'expérimentation précédente qui a montré que cette essence était consommée de façon appréciable par les isopodes.

Sur la base de ces constats, dans les expérimentations en milieu contrôlé, les isopodes ont été exposés à différentes litières de peuplier collectées in situ et présentant un gradient de contamination en ETM. Sont présentés dans ce paragraphe l'origine des litières utilisées lors des expérimentations, ainsi que leur mode de préparation et leur degré de contamination en ETM.

1. Origine et préparation des litières

Des litières de peuplier (*Populus sp*) ont été collectées à l'automne 2008 sur quatre sites du Nord – Pas de Calais. Ces sites correspondent à des bois ou des bosquets situés dans des contextes industriels différents.

La litière TEM correspond à des feuilles fraîchement tombées durant l'automne (OLn) collectées dans un bosquet situé à proximité de la commune de Coutiches. Ce site est suffisamment éloigné de toute source de contamination métallique pour la considérer comme une litière témoin.

Les litières MET (a et b) ont été collectées dans un bosquet situé à environ 1 km au nord de l'ancienne fonderie de plomb Metaleurop Nord (station MET 3). La litière METb était constituée de feuilles fraîchement tombées à l'automne (OLn) alors que la litière METa était constituée de feuilles âgées de plus d'une année (OLv). La litière METa a été prélevée sous la litière METb.

La litière UMI correspond à des feuilles âgées de plus d'une année (OLv) collectées en bordure du bois des Asturies situé à proximité de l'usine de zinc Umicore.

La litière MOR est constituée de feuilles fraîchement tombées (OLn), collectées sur une pelouse métallicole située à proximité de la friche industrielle de Mortagne-du-Nord (station CRAM 2).

Au laboratoire, les composants indésirables (bois mort, plantes herbacées, faunes...) ont été éliminés des litières, de manière à ne conserver que les feuilles de peuplier. Les différentes litières ont ensuite été séchées à l'étuve à une température inférieure à 40°C durant au moins 48h, puis ont été manuellement fragmentées de manière à homogénéiser le matériel alimentaire. Ces litières ont été conservées à 25°C dans une chambre thermostatée jusqu'à leur distribution.

2. Détermination des concentrations métalliques

Dans le but d'évaluer la variabilité des concentrations métalliques des litières, six échantillons (par litières) ont été broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux (Grindomix GM 200, Retsch), puis tamisés pour passer au travers d'une maille de 315 μm . L'un des six échantillons a été destiné à la mesure de l'humidité résiduelle. Les cinq autres ont été utilisés pour la détermination des concentrations pseudo-totales en ETM. Dans ce but, un aliquot de 300 mg par échantillon (n=5) de litière a été minéralisé dans un four à micro-ondes (MWS-2, Berghof) à l'eau régale (4,5 mL d'HCl à 37% + 1,5 mL d'HNO₃ à 69%) et 0,5 mL d'H₂O₂ (Baker for metal trace element analysis, Deventer). Les solutions obtenues ont ensuite été filtrées sur des membranes d'acétate de cellulose d'une porosité de 0,45 μm (Minisart, Sartorius stedim) et le volume a été ajusté à 25 mL avec de l'eau osmosée.

Afin d'estimer la mobilité des ETM dans les litières, un aliquot de 3 g par échantillon (n=5) a été mélangé à l'aide d'un rotor avec 30 mL de CaCl₂ à 0,01 M durant 2 heures, puis centrifugé durant 20 minutes à 4

500 g. Le surnageant a ensuite été filtré sur des membranes d'acétate de cellulose d'une porosité de 0,45 μm (Minisart, Sartorius stedim) et 92 μL d' HNO_3 (69%) ont été ajoutés.

Les solutions ont été stockées à 4°C jusqu'au dosage des ETM. Les concentrations en Cd, Pb et Zn ont été déterminées par spectrométrie d'absorption atomique (AA-6800, Shimadzu), soit à la flamme, soit au four selon leurs concentrations respectives.

Le taux d'humidité résiduelle a été calculé selon la norme NF ISO 11465. Les concentrations moyennes en Cd, Pb et Zn des litières (pseudo-totales et extraites au CaCl_2) ont été calculées à partir des valeurs des concentrations mesurées dans les cinq échantillons représentatifs. Ces concentrations sont exprimées en mg kg^{-1} en poids sec.

3. Résultats

Les concentrations moyennes (pseudo-totales et extraites au CaCl_2) en Cd, Pb et Zn mesurées dans les litières de peuplier sont présentées dans le tableau 13. Les concentrations pseudo-totales en ETM varient de 4,4 à 69,5 mg Cd kg^{-1} , de 2 à 364 5 mg Pb kg^{-1} , et de 443 à 10 606 mg Zn kg^{-1} . Ces litières présentent un gradient de contamination en Cd (UMI > METa > METb > MOR > TEM), en Pb (UMI > METa > METb ~ MOR > TEM) et en Zn (UMI > METa > METb ~ MOR > TEM). Les litières METb et MOR présentent des concentrations similaires pour Pb et Zn, alors que la concentration en Cd mesurée dans la litière METb est presque 3 fois supérieure à la concentration mesurée dans la litière MOR.

Concernant les extractions au CaCl_2 , les litières METb et UMI montrent des concentrations en Cd plus élevées traduisant une plus grande mobilité du Cd dans ces litières. De plus, la litière UMI montre aussi une plus forte mobilité du Pb et du Zn en comparaison avec les autres litières. Cependant, les concentrations en Zn extraites au CaCl_2 dans la litière METb sont aussi supérieures à celles des litières TEM et METa.

	Pseudo-totales			Extraction au CaCl_2 0,01M		
	Cd	Pb	Zn	Cd	Pb	Zn
TEM	4,4 ± 0,4	2 ± 1	443 ± 16	0,09 ± 0,04	0,002 ± 0,001	13,7 ± 1,8
METb	32,9 ± 0,9	20 ± 9	1509 ± 48	0,92 ± 0,17	0,0047 ± 0,016	46,9 ± 11,7
METa	40,9 ± 2,1	258 ± 50	1861 ± 66	0,44 ± 0,04	0,114 ± 0,026	13,4 ± 0,5
UMI	69,5 ± 2,1	364 ± 55	10606 ± 607	1,04 ± 0,03	0,203 ± 0,055	113,8 ± 6,6
MOR	11,0 ± 0,5	29 ± 2	1969 ± 65	0,12 ± 0,01	< LD	20,6 ± 0,8

Tableau 13 : Concentrations moyennes (pseudo-totales et extraites au CaCl_2) en Cd, Pb et Zn mesurées dans les litières de peuplier (n = 5). LD : Limite de détection.

B) Etude de la dynamique de population

Exposition en microcosmes intérieurs de *Porcellio scaber* à des litières de peupliers collectées à proximité d'usines métallurgiques

Avant - propos

L'objectif de ce travail a été d'étudier en microcosmes intérieurs l'effet des ETM sur la dynamique de population d'isopodes, paramètre difficilement mesurable in situ. Ceci a été réalisé dans le but de prédire les effets potentiels d'une contamination métallique sur les populations de terrain. Cette démarche intervient à un haut niveau d'organisation biologique (à l'échelle des populations), intégrant les effets sur le long terme. L'étude a été menée sur plusieurs populations d'isopodes constituées à partir des individus d'élevage, et exposés durant 12 mois (environ 1/3 de la vie d'un isopode) aux différentes litières décrites précédemment (TEM, MOR, METb, METa et UMI), présentant un gradient de contamination en ETM. La croissance des populations a été étudiée selon trois pas de temps (4, 8 et 12 mois).

1 Matériels et méthodes

2.1.1 Préparation des microcosmes

Les microcosmes ont été réalisés de façon à simuler la structure des sols d'habitats ligneux, à savoir une litière reposant sur un horizon organo-minéral (Figure 68). Une boîte en plastique (24 X 17 X 10 cm) contenant 500 g de terre prélevée dans l'horizon organo-minéral et tassée à l'aide d'une planche de bois et d'une masse de 5 kg a été utilisée pour chacun des microcosmes.

L'horizon organo-minéral a été échantillonné sur la station MOR 2. L'échantillon a été séché à une température inférieure à 40°C durant 48 heures, broyé manuellement pour passer au travers d'une maille de 2 mm. Une semaine avant le début de l'expérimentation, 25 g de litière ont été placés sur la couche de terre, et l'ensemble a été humidifié avec 20 mL d'eau du robinet à l'aide d'un pulvérisateur. Le taux d'humidité dans chacun des microcosmes a été maintenu à plus de 80%. Un couvercle percé d'une dizaine de trous (\varnothing 2 mm) pour assurer la circulation de l'air a été posé sur chacune des microcosmes.



Figure 68 : Structure des microcosmes

2.1.2. Dispositif expérimental

Au début de l'expérimentation à T_0 , le dispositif comprenait 48 microcosmes (Figure 69) : trois microcosmes par litière (TEM, METb, MOR, METa et UMI) et pour chaque pas de temps ($T_0 + 4$ mois, $T_0 + 8$ mois, $T_0 + 12$ mois). De manière à évaluer les effets potentiels de la mise en place de l'expérimentation sur les populations d'isopodes, et particulièrement sur la mortalité des individus, trois microcosmes témoins ont fait l'objet d'un échantillonnage à $T_0 + 10$ jours.

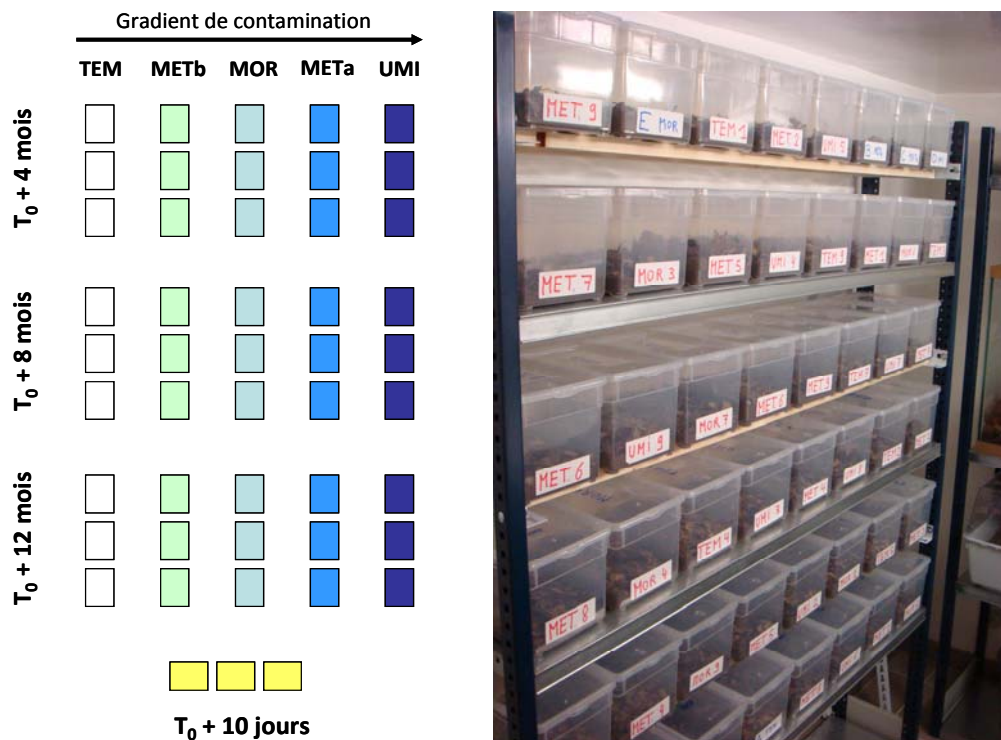


Figure 69 : Dispositif expérimental de l'expérimentation en microcosmes.

▪ Constitution des populations à T_0

Plus d'un millier d'isopodes (issus de l'élevage A) a été classé selon leur sexe et leur masse, puis 48 populations de 25 individus dont 9 mâles et 16 femelles non gravides ont été constituées. Ce sexe ratio (64% en faveur des femelles) est comparable à celui observé *in situ*. Chacune des populations a comporté le même nombre d'individus issus d'une classe de masse définie (Tableau 14), et ceci afin d'homogénéiser les populations. En effet, au regard du cycle de vie des isopodes, la masse peut s'apparenter à l'âge des individus qui est d'une part, en lien direct avec la maturité sexuelle d'un individu et d'autre part, positivement corrélée avec le nombre de progénitures contenues dans le marsupium des femelles gravides.

Durant la constitution des populations, les individus ont été conservés selon leur sexe et leur masse, dans des boîtes en plastique comprenant de la litière réhumidifiée issue de l'élevage A.

	Mâles	Femelles
< 10	4	6
[10 – 15[3	6
[15 – 20[1	1
[20 – 25[1	1
[25 – 30]		1
> 30		1
Total	9	16

Tableau 14 : Nombre d'individus par classe de masse, placés dans chacun des 48 microcosmes à T_0

▪ Conditions d'expérimentation

Au début de l'expérimentation à T_0 , 25 individus de masse connue ont été disposés dans chacun des 48 microcosmes, et placés à une température inférieure à 15°C et une photopériode de 8h jour / 16h nuit (condition hivernale). Tout au long de l'expérimentation, 2 g de litière (réhumidifiée sous cloche durant une semaine) ont été apportés tous les mois dans chacun des microcosmes.

15 mL d'eau ont été pulvérisés toutes les semaines pour maintenir un taux d'humidité supérieur à 80%. Après 4 mois d'exposition, les microcosmes ont été placés dans des conditions estivales (20°C, 16h jour / 8h nuit) afin de favoriser la reproduction des individus.

▪ Echantillonnage des individus

Sur les 15 microcosmes affectés à chaque pas de temps ($T_0 + 4$ mois, $T_0 + 8$ mois, $T_0 + 12$ mois), les individus présents ont été comptés, sexés, mis à jeun durant 24 heures, et pesés avant d'être conservés. Le sexe des individus dont la masse était inférieure à 10 mg n'a pas été déterminé.

2. Résultats et discussion

Les premiers résultats ont montré que la mise en place de l'expérimentation pouvait avoir un effet sur la survie des isopodes et ceci durant les 10 premiers jours d'exposition. En effet, les trois populations témoins, bien qu'exposées à leur milieu d'élevage, ont montré une mortalité moyenne de l'ordre de 21%. Il est probable que la manipulation des individus et/ou que le changement d'environnement aient introduit un stress chez les isopodes, et ce à plus forte raison lorsqu'il s'agit de juvéniles probablement plus sensibles, conduisant ainsi à la mortalité de quelques individus. Toutefois, à $T_0 + 4$ mois, le taux de mortalité observé dans les populations exposées à la litière témoin (TEM) était légèrement inférieur à celui observé après la mise en place de l'expérimentation (18,5%). Cette observation montre que la mortalité observée dans les microcosmes témoins est probablement liée à la mise en place de l'expérimentation et ceci indépendamment de la qualité de l'alimentation (litière TEM).

Par ailleurs, après 4 mois d'exposition, les populations exposées aux litières contaminées ont montré une mortalité supérieure à celles nourries avec la litière témoin, avec 40%, 29,3%, 68% et 42,7% de mortalité pour les populations exposées respectivement aux litières METb, MOR, METa et UMI. Les effets des ETM sur la survie en laboratoire des isopodes ont été montrés dans la littérature. Certaines études ont étudié l'exposition d'individus à des nourritures (litières ou aliments) contaminées artificiellement avec des sels métalliques (nitrates ou chlorures) (Beyer et Anderson, 1985 ; Donker et Bogert, 1991 ; Crommentuijn et al., 1994). D'autres études menées *ex situ*, dans des conditions semblables à celles de la présente expérimentation, ont également montré l'effet d'une contamination métallique sur la survie des

isopodes. Hopkin (1990) a notamment observé que l'exposition de *P. scaber* à des litières issues d'un environnement contaminé par des ETM, contenant 26 mg Cd kg⁻¹, 908 mg Pb kg⁻¹ et 1 430 mg Zn kg⁻¹ avait une influence sur la survie des individus. De la même manière, Beyer et al. (1984) ont observé une diminution de la survie chez *P. scaber* exposé à une litière issue du terrain, présentant les concentrations en ETM suivantes : 8 mg Cd kg⁻¹, 750 mg Pb kg⁻¹ et 800 mg Zn kg⁻¹. Dans la présente étude, les résultats ont montré que l'exposition d'individus à des litières issues d'un environnement pollué contenant dans un premier cas 33 mg Cd kg⁻¹, 20 mg Pb kg⁻¹ et 1 509 mg Zn kg⁻¹ (litière METb), et dans le second cas, 11 mg Cd kg⁻¹, 29 mg Pb kg⁻¹ et 1 969 mg Zn kg⁻¹ (litière MOR) avait un effet négatif sur la survie de *P. scaber*. Un important taux de mortalité (68 %) a notamment été observé à T₀ + 4 mois pour les populations exposées à la litière METa contenant 41 mg Cd kg⁻¹, 258 mg Pb kg⁻¹ et 1 861 mg Zn kg⁻¹.

L'augmentation de la mortalité observée chez les individus nourris avec les litières contaminées a eu des conséquences directes sur la dynamique de population des isopodes. En effet, il a été observé un déclin des populations au cours du temps avec l'augmentation du degré de contamination des litières distribuées (Figure 70).

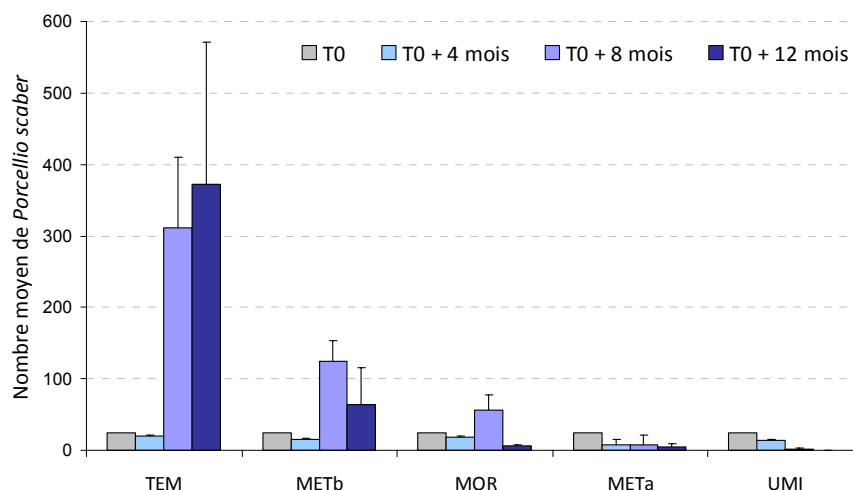


Figure 70 : Nombre moyen (\pm ET) de *P. scaber* recensés après à 4, 8 et 12 mois d'exposition en microcosme à des litières de peuplier présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les populations initiales à T₀ étaient constituées de 9 mâles et de 16 femelles issus de classes d'âge définies.

Un effet des ETM sur la reproduction a également été observé. Les recensements réalisés après 8 mois d'exposition ont révélé l'absence de reproduction chez les populations exposées aux deux litières les plus contaminées (METa et UMI), alors qu'une reproduction a été observée dans les populations exposées aux litières TEM, METb et MOR. Toutefois, le nombre de juvéniles recensé à T₀ + 8 mois semble décroître avec l'augmentation des concentrations en ETM dans les litières, et particulièrement celles du Zn. En effet, le nombre de juvéniles est nettement inférieur chez les populations exposées aux litières METb et MOR en comparaison des populations témoins (Figure 71). De plus, le nombre de juvéniles est deux fois plus faible chez la population nourrie avec la litière MOR que chez celle nourrie avec la litière METb, alors

que la litière MOR contient 3 fois moins de Cd, des concentrations en Pb quasiment similaires et des concentrations en Zn plus élevées que dans la litière METb.

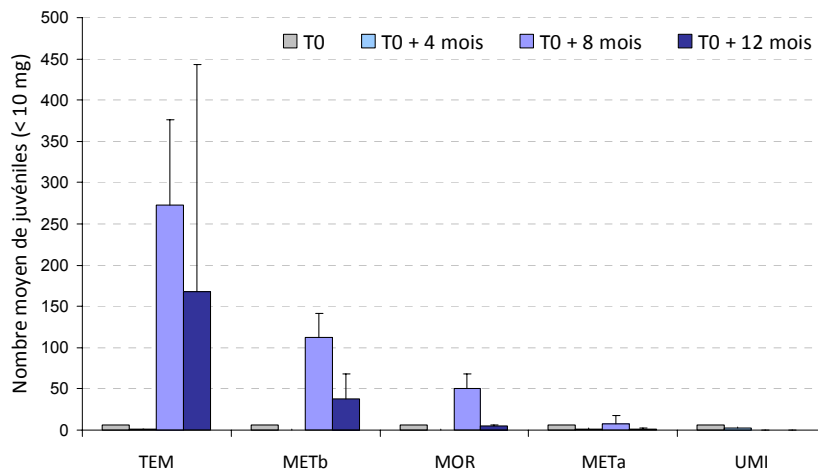


Figure 71 : Nombre moyens (\pm ET) de juvéniles recensés au cours du temps (4, 8 et 12 mois) dans les différentes populations exposées à des litières présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les populations initiales à T_0 étaient constituées de 9 mâles et de 16 femelles issus de classes d'âge définies.

Après une année d'exposition, il a été observé 100 % de mortalité pour les isopodes exposés à la litière la plus contaminée (UMI), et seule la population exposée à la litière témoin montre une croissance positive (Figure 70). Cependant, dans le cas de la litière témoin, bien que la population initiale soit homogène (sexe ratio et âge des individus) et que cette litière induise une croissance positive de la population, il existe une grande variabilité entre les trois réplicats témoins, et particulièrement à $T_0 + 12$ mois. En effet, comme le montre la figure 72, une variabilité du sexe ratio a été observée. Celui-ci peut être en faveur des femelles (réplicat 1), en faveur des mâles (réplicat 2) ou encore à peu près équivalent (réplicat 3). De plus, la taille des populations en lien avec le nombre de juvéniles diffère entre les réplicats, et ceci explique les grands écart-types observés sur les figures 70 et 71. Enfin, il a été également observé que les classes d'âge représentées au sein des populations diffèrent d'un réplicat à l'autre (Figure 72).

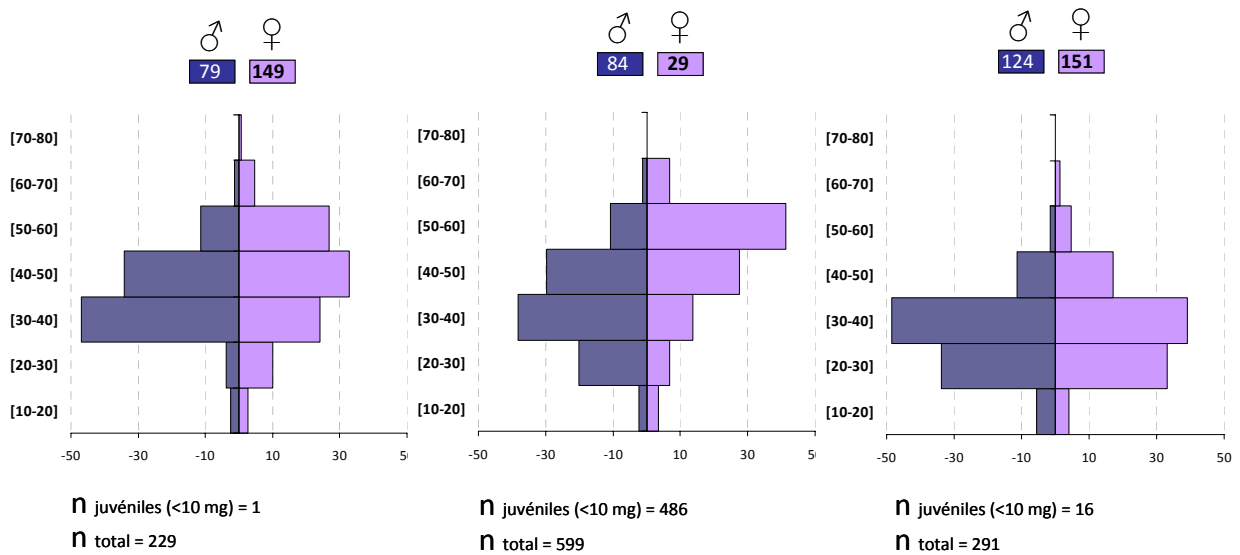


Figure 72 : Pyramides des âges réalisées sur les trois répliquats de populations exposées en microcosme durant 12 mois à la litière (TEM) non massivement contaminées par Cd, Pb et Zn, ainsi que les effectifs mâles, femelles, juvéniles (< 10 mg) et totaux.

L'ensemble de ces résultats laisse à penser que le degré de contamination des litières en ETM pourrait affecter les populations *in situ*. D'après la littérature, un phénomène d'adaptation pourrait apparaître sur des populations exposées à des doses sublétales de contaminants métalliques, modifiant ainsi certains traits de vie tels que la croissance ou les paramètres liés à la reproduction afin d'assurer la survie de l'espèce (Donker et al., 1993 ; Alikian, 2003). Dans notre expérimentation, il semble que la toxicité des litières soit trop élevée pour permettre une telle adaptation sur un temps limité, et à plus forte raison avec des effectifs initiaux faibles ($n = 25$) et avec des individus issus d'une population saine, non exposés initialement à la contamination. Or des études ont révélé la capacité des isopodes terrestres à survivre dans des contextes industriels fortement contaminés par des ETM (comme aux alentours de l'ancienne fonderie de Noyelles-Godault), tout en accumulant ces éléments. Des populations de *P. scaber* survivent notamment à proximité de sites industriels massivement contaminés par des ETM (Avonmouth, sud-ouest de l'Angleterre) où les concentrations en Zn mesurées dans les litières dépassent $5\,000\text{ mg kg}^{-1}$ (Hopkin et Hames, 1994).

C) Etude de la croissance et de l'accumulation métallique chez les isopodes

Exposition de *Porcellio scaber* à des litières de peupliers collectées à proximité d'usine métallurgique

Avant-propos

*L'étude en microcosmes a révélé que le degré de contamination en ETM des litières étudiées influence la survie, la reproduction et la dynamique de population des isopodes. Toutefois, dans l'évaluation de la qualité des sols, bien que ce type d'approche puisse apporter des réponses sur l'effet des contaminants à l'échelle des populations, niveau d'organisation biologique reconnu plus pertinent que les niveaux inférieurs, les effets ne sont observables qu'à long terme. Ainsi, d'autres paramètres, étudiés à l'échelle des individus, tels que la croissance, seraient susceptibles d'apporter des informations complémentaires sur les traits de vie des isopodes et permettraient d'obtenir des réponses à court terme quant à la qualité des litières testées. De plus, la croissance est considérée comme étant un paramètre sensible, ayant une signification écologique (Barnthouse et al., 1986 ; Odendaal et Reinecke, 1999). Dans l'expérimentation présentée ci-dessous et qui a fait l'objet d'une publication, qui a été acceptée dans « Ecotoxicology and Environmental Safety », la croissance et l'accumulation ont été étudiées chez *P. scaber* exposé durant 28 jours aux différentes litières (TEM, METb = M1, METa = M2 et UMI).*

-Publication-

Godet, J.P., Demuynck, S., Waterlot, C., Lemièrre, S., Souty-Grosset, C., Sheifler, R., Douay, F., Leprêtre, A., Pruvot, C., 2010. Growth and metal accumulation in *Porcellio scaber* exposed to poplar litter from Cd-, Pb- and Zn-contaminated sites. Accepté dans *Ecotoxicology and Environmental Safety*.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ecoenv

Growth and metal accumulation in *Porcellio scaber* exposed to poplar litter from Cd-, Pb-, and Zn-contaminated sites

Jean-Philippe Godet^{a,b,*}, Sylvain Demuynck^b, Christophe Waterlot^a, Sébastien Lemièrè^b, Catherine Souty-Grosset^c, Renaud Scheifler^d, Francis Douay^a, Alain Leprêtre^b, Christelle Pruvot^a

^a Equipe Sols et Environnement, Laboratoire Génie Civil et géo-Environnement, Lille Nord de France, EA 4515, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France

^b Equipe Ecologie Numérique et Ecotoxicologie, Laboratoire Génie Civil et géo-Environnement, Lille Nord de France, EA 4515, Université de Lille 1. Bât SN3, 59655 Villeneuve d'Ascq Cedex, France

^c Laboratoire Ecologie, Evolution, Symbiose, UMR CNRS 6556, Université de Poitiers 40, avenue du Recteur-Pineau, 86022 Poitiers Cedex, France

^d Laboratoire Chrono-Environnement, UMR CNRS/UFC 6249 Usc INRA, Université de Franche-Comté, Place Leclerc—25030 Besançon Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 April 2010

Received in revised form

6 September 2010

Accepted 19 September 2010

Keywords:

Terrestrial isopods

Heavy metal

Litter

Bioaccumulation

Growth

Ecotoxicity test

ABSTRACT

This study aimed at determining, in the laboratory, the effects of poplar litter collected in woody habitats contaminated by heavy metals on growth and metal accumulation in the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. Cd, Pb, and Zn pseudototal and CaCl₂-extractable concentrations in litter types were determined using AAS. Juveniles were fed *ad libitum*, individually, for 28 days with four litter types presenting an increasing gradient of metal contamination. Individuals were weighed every week and metal body burdens were determined at the end of the experiment. From the first week until the end of the experiment, a decrease in *P. scaber* growth related to the increase of metal concentration in litter types was recorded. Significant correlations were observed between metal body burdens and metal concentrations in litter types. However, Cd accumulation in woodlice appeared to be related to the Cd/Zn concentration ratio in litter types. All these results showed the potential of weight gain in *P. scaber* as a suitable indicator for litter quality assessment with ecological relevance.

Crown Copyright © 2010 Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Litter is a major compartment of soil in woody habitats and forms an interface layer between the atmosphere and the organomineral horizons of soil. Litter decomposition performed by invertebrates and microorganisms is a key process for nutrient cycles in terrestrial environment, especially for nitrogen (N) and phosphorus (P) (Berg, 1986; Berg and Staaf, 1987; Laskowski et al., 1995). In metal-polluted environments, litter represents the main source of contamination for many soil invertebrates. Actually, litter may contain metals derived from the accumulation of contaminants in leaves and/or from dust deposits. Since litter represents the main source of food for several soil invertebrates (earthworms, diplopods, collembolans, isopods, etc.) and since most of these invertebrates are preyed by other animals (mammals or birds), litter quality assessment could have ecological significance for predicting risks to field populations and through the terrestrial food web.

Among soil invertebrates, woodlice play an important role in decomposition processes through the fragmentation of litter by their feeding activity (Kautz et al., 2000; Zimmer et al., 2003; Souty-Grosset et al., 2005). More than 10% of annual litter is fragmented by woodlice (Hassall and Sutton, 1978; Jambu et al., 1987; Mocquard et al., 1988). They contribute to nitrogen mineralization in soil and thus influence the physical and chemical quality of litter for microbial breakdown (Gunnarsson and Tunlid, 1986; Hassall et al., 1987). Terrestrial isopods such as *Porcellio scaber* and *Oniscus asellus* are abundant in woody habitats and particularly in anthropogenic habitats (Vilicic et al., 2007) and have a wide geographic distribution. Furthermore, they are also easy to collect and to rear in the laboratory.

Many studies have shown the potential of terrestrial isopods as monitor organisms for metal soil pollution (Hopkin et al., 1986; Hopkin, 1989; Dallinger et al., 1992; Witzel, 1992; Hopkin et al., 1993). Indeed, woodlice show considerable tolerance to metal pollution and can accumulate heavy metals to high levels (Hopkin and Martin, 1982; Gál et al., 2008). In addition, metal body burdens in woodlice have been shown to be higher than other soil organisms (Heikens et al., 2001). Drobne (1997) suggested that terrestrial isopods are suitable organisms to assess the toxicity of chemicals such as Cd, Pb, or Zn in terrestrial environments. Numerous parameters such as pollutant accumulation, food consumption,

* Corresponding author at: Equipe Sols et Environnement, Laboratoire Génie Civil et géo-Environnement, Lille Nord de France, EA 4515, Groupe ISA, 48 boulevard Vauban, 59046 Lille Cedex, France. Fax: +33 3 28 38 48 47.
E-mail address: jp.godet@isa-lille.fr (J.-P. Godet).

growth, and reproduction have been studied in woodlice in relation to heavy metal contamination or food quality (Hames and Hopkin, 1991; Drobne and Hopkin, 1994; Lavy et al., 2001; Weissenburg and Zimmer, 2003; Van Straalen et al., 2005; Loureiro et al., 2006). Reproduction and growth are considered to be among the most realistic parameters from an ecological point of view (Barnthouse et al., 1986). In addition, variations in weight are commonly accepted as a sensitive endpoint in ecotoxicity testing (Odendaal and Reinecke, 1999). However, most studies investigated animals exposed to metal-spiked litter or food. This approach cannot reveal the real bioavailability of heavy metals in situ, due to the complexity of the interactions between biological systems and heavy metal speciation in soil. Moreover, the literature often reports toxicity studies based on single-element exposure (Odendaal and Reinecke, 2004a), which is rare in media affected by anthropogenic activities.

The aims of this paper were to evaluate, under laboratory-controlled conditions, the effects of field poplar litter types contaminated by heavy metals, given as food (i.e., digestive exposure) to *P. scaber* Latr., on (1) the growth estimated by weight measurements taken every week for 28 days and (2) Cd, Pb, and Zn body burdens measured in woodlice at the end of the exposure period.

2. Materials and methods

2.1. Isopod rearing

P. scaber derived from individuals manually collected 2 year prior in a state forest (Mormal Forest) in northern France were reared in the laboratory. This forest is sufficiently distant from any source of contamination to be considered as a reference site. The mean pseudototal metal concentrations in the litter collected on this site were 0.3 ± 0.1 mg Cd kg⁻¹, 10.3 ± 2.5 mg Pb kg⁻¹, and 65.0 ± 5.1 mg Zn kg⁻¹. In the laboratory rearing, individuals were maintained at 20 ± 1 °C, with a 16:8 LD photoperiod and humidity higher than 80%. Animals were fed weekly ad libitum with litter that was essentially composed of three tree species (*Fagus sylvatica*, *Quercus robur*, and *Carpinus betulus*). Food had previously been air-dried (< 40 °C) for storage. Before its distribution to woodlice, litter material was moistened with demineralized water in a bell jar for 1 week to increase microbial activity and appetency to individuals.

2.2. Contaminated food

In autumn 2008, four poplar litter types (called T, M1, M2, and U) were collected at three distinct sites in northern France (Fig. 1). Poplar litter was chosen as food for woodlice because of its wide distribution in heavy-metal-contaminated sites in northern France. Litter types reflected clearly available food sources on each site, and thus could differ in their degradation degrees.

Litter type T corresponded to freshly fallen leaves and was collected in a poplar clump away from any metal-contaminated source. M1 and M2 were sampled in a poplar clump in an area massively affected in the past by the atmospheric emissions of the Metaleurop Nord Pb smelter (Noyelles-Godault) (Sterckeman et al., 2002; Douay et al., 2008). M1 corresponded to freshly fallen leaves, while M2 was a litter aged over 1 year located under a layer of freshly fallen leaves (M1). The fourth litter type, U, was collected in a poplar wood located near a Umicore Zn smelter (3.5 km from Metaleurop Nord) and corresponded to litter aged over 1 year. In this contaminated site, metal toxicity seemed to have detrimental effects on leaf production and thus on the formation of the new horizon (layer of the freshly fallen leaves). Decayed litter was not found at the uncontaminated site (T), because in contrast to contaminated sites, litter was rapidly broken down.

After thorough elimination of undesirable components (stems, dead wood, stones, herbaceous plants, fauna, etc.), the litter types were dried (< 40 °C) and manually fragmented to homogenize the food materials.

2.3. Experimental setup

A total of 160 Petri dishes containing thin layers (2 mm) of plaster of Paris received 250 mg of litter each and were moistened with demineralized water. For each litter type (T, M1, M2 and U), 40 Petri dishes were prepared. *P. scaber* juveniles weighing less than 15 ± 0.1 mg were selected from the laboratory rearing. Juveniles were used to observe higher growth rates than in adults. Their individual weights were noted and they were individually placed in Petri dishes at *t*₀. Woodlice were maintained at 20 ± 1 °C and a 16:8 LD photoperiod.

After 7, 14, 21, and 28 days of exposure, each individual was weighed and the food material was remoistened with demineralized water. Dead individuals were counted. Mortality was also checked on the first day in order to distinguish the mortality related to setting up the experiment and the mortality related to exposure to contaminated litter types.

To determine metal body burdens in woodlice at the end of the experiment, individuals were first starved for 24 h to empty their guts, and then sonicated according to the recommendations of Peters et al. (2001) to eliminate particles that could be lying on the animals. Woodlice were washed twice for 2 min with 50 ml of demineralized water in an ultrasonic bath (1510, Branson, Danbury) and then rinsed and dried. Heavy metal measurements were taken on pools (composed of three

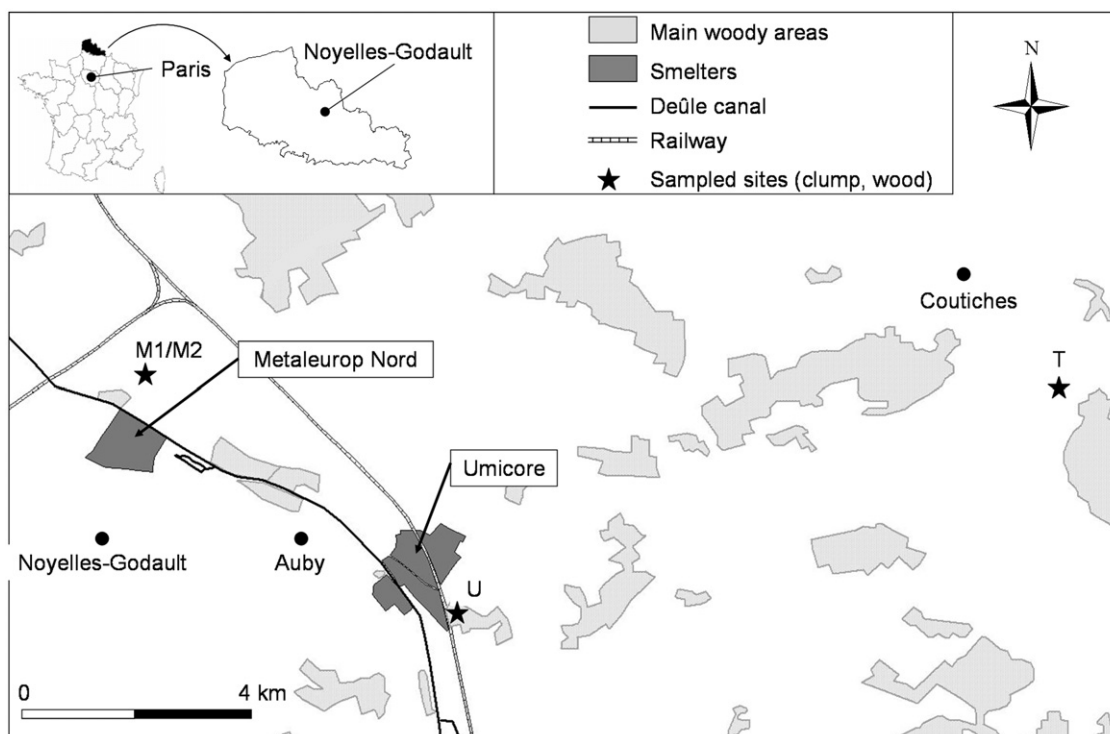


Fig. 1. Locations of the sampled sites.

individuals) with similar fresh weight, which were selected prior to the washing procedure. Four pools or more were used to determine metal body burdens in woodlice exposed to the selected litter types, depending on the number of survivors at the end of the experiment. To evaluate the background levels of metal body burdens of woodlice from the laboratory rearing, six pools of three juveniles (10–20 mg) were used.

Metal body burdens in woodlice pools were expressed in $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight (105 °C). A mean humidity level was determined with 10 pools of woodlice (30 individuals per pool), in order to limit measurement error that could be important when humidity level was calculated on pools of 3 individuals. For this, individuals from the laboratory rearing, with a body weight between 10 and 20 mg, were pooled, frozen, dried at 105 °C for 24 h, and weighed. The mean humidity level was calculated to be $718 \pm 10 \text{ g kg}^{-1}$ of fresh weight.

The animals used in this study were treated in accordance with national and institutional guidelines for the protection of human subjects and animal welfare.

2.4. Heavy metal analysis

To evaluate metal concentration variability in food, five samples per litter type were crushed (Grindomix GM 200, Retsch, Germany) and then sieved through a 315- μm mesh. To determine pseudototal metal concentrations in litter types, a 300-mg aliquot for each sample was digested in a microwave system (MWS-2, Berghof, Germany) using aqua regia (4.5 ml 37% HCl + 1.5 ml 69% HNO₃) and 0.5 ml of H₂O₂ (Baker for metal trace analysis, Deventer, The Netherlands). Indeed, materials digested in aqua regia allow determining pseudototal concentrations (ISO 11466, 1995), in contrast with materials digested in hydrofluoric and perchloric acids, which allow determining total concentrations (ISO 14869-1, 2001). Digests were then filtered on cellulose acetate Millipore membranes with 0.45- μm porosity (Minisart, Sartorius stedim) and adjusted to 25 ml with demineralized water.

To estimate heavy metal mobility in litter types, a 3-g aliquot per sample was shaken with 30 ml of 0.01 M CaCl₂ for 2 h and centrifuged for 20 min at 4500g. Supernatants were filtered on cellulose acetate Millipore membranes (0.45- μm porosity), and 92 μl of HNO₃ (69%) was added. A 0.01 M CaCl₂ extraction procedure seemed to be the most suitable method to estimate metal mobility in soil (Degryse et al., 2003; Pueyo et al., 2004) and to evaluate potential bioavailability.

Woodlice pools were digested in the microwave system using 5 ml of HNO₃ (69%). After digestion, solutions were filtered on cellulose acetate Millipore membranes (0.45- μm porosity) and adjusted to 25 ml with demineralized water.

All solutions were stored at 4 °C until analysis. Cd, Pb, and Zn concentrations were determined using flame or graphite furnace atomic absorption spectrometry (AA-6800 Shimadzu) depending on their concentrations.

Certified reference materials were used to ensure the accuracy of the analytical procedures. Three replicates by certified materials were digested as described above. For litter, certified samples of tobacco leaves (CTA-VTL2) and certified samples of soil (BCR-483) were used to assess respectively the quality of measurements of pseudototal and CaCl₂-extractable metal concentrations. For woodlice, mussel tissue (BCR-278R) reference materials were analyzed in triplicate. Metal concentrations measured in tobacco leaves, soil samples, and mussel tissue did not differ more than 10% from the certified concentrations. Reagent blanks were also used to control quality measurements. Blanks levels were below the detection limits. The specificities of the measurements were detailed by Waterlot et al. (2008, 2009).

2.5. Statistical analysis

Statistical analyzes were conducted using nonparametric tests. Heavy metal concentrations (pseudototal and CaCl₂-extractable) between litter types were compared using Kruskal–Wallis ANOVA. For each litter sample, the part represented by CaCl₂-extractable metal in comparison with respective pseudototal concentrations was determined. Percentages of metal extracted with CaCl₂ in freshly fallen leaves and the decayed litter types were compared using a Mann–Whitney *U*-test. χ^2 tests were used to compare the mortality levels of woodlice between litter types (T, M1, M2, and U), after the first day and after each week. Individual weight distribution in the four experimental populations at *T*₀ was compared using the

Kruskal–Wallis ANOVA. With the same test, and for each week, the weight changes of woodlice were compared with the litter types. Relationships between woodlice weight changes, litter pseudototal metal concentrations, litter CaCl₂-extractable metal concentrations, and metal body burdens in woodlice were examined by correlation analysis. All statistical tests were performed at $\alpha=0.05$ with the Statistica (V.6) software.

3. Results

3.1. Heavy metal concentrations in litter types

Metal concentrations in litter types are presented in Table 1. The mean pseudototal concentrations in litter types ranged from 4 to 70 mg kg⁻¹ for Cd, from 2 to 364 mg kg⁻¹ for Pb, and from 443 to 10,606 mg kg⁻¹ for Zn (dry weight). The litter types showed an increasing gradient of contamination (U > M2 > M1 > T) for Cd, Pb, and Zn. Pseudototal metal concentrations in litter types M2 and U were significantly higher than those measured in litter type T ($p < 0.05$). Litter type M1 showed lower Cd and Zn concentrations than litter type U ($p < 0.05$).

Regarding mean CaCl₂-extractable metal concentrations, values ranged from 0.1 to 1 mg kg⁻¹ for Cd, from 0.002 to 0.2 mg kg⁻¹ for Pb, and from 13 to 114 mg kg⁻¹ for Zn (dry weight). Pseudototal metal concentrations and CaCl₂-extractable metal concentrations were correlated for Cd, Pb, and Zn, with respectively, $r=0.80$, 0.86 , and 0.94 ($p < 0.05$). As shown by the CaCl₂-extractable metal concentration/pseudototal metal concentration ratio (Table 1), extractions performed on litter types using CaCl₂ removed more Cd, Pb, and Zn from freshly fallen leaves (T and M1) than from decayed litter types (M2 and U) ($p < 0.05$).

3.2. Woodlice mortality

High mortality rates were observed after the first day of exposure: 35%, 20%, 20.7%, and 35% for individuals exposed to T, M1, M2, and U litter types, respectively. However, since no significant difference between mortality rates in each litter type was observed, we hypothesized that setting up the experiment generated stress and thus caused woodlice mortality during the first few hours. Consequently, mortality rates after each week of exposure were calculated without taking into account the deaths of individuals occurring on the first day of exposure (Table 2). At the same date, the mortality level did not differ significantly between litter types with the exception of 21 days of exposure ($\chi^2=8.615$; $\text{ddl}=3$; $p < 0.05$).

For each litter type, the weight characteristics (at *T*₀ and *T*_{+28 days}) of woodlice that survived throughout the duration of the experiment are presented in Table 3. In comparison with the characteristics of all 40 juveniles at *T*₀, it was observed that woodlice surviving after the 28th day corresponded rather to the heaviest individuals than to the lightest ones. Indeed, the weight characteristics (i.e., minimal individual weight and median value) of woodlice that survived throughout the duration of the experiment were higher at *T*₀ than those of all individuals, whatever the litter type ($p < 0.05$, Mann–Whitney *U*-tests). Thus, it

Table 1
Pseudototal metal concentrations and CaCl₂-extractable metal concentrations in litter types.

Litter type	Pseudototal concentrations			CaCl ₂ -extractable concentrations		
	Cd	Pb	Zn	Cd	Pb	Zn
T	4.4 ± 0.4 ^a	2 ± 1 ^a	443 ± 16 ^a	0.09 ± 0.04 ^a (2.11 ^a)	0.002 ± 0.001 ^a (0.11 ^a)	13.7 ± 1.8 ^a (3.08 ^a)
M1	32.9 ± 0.9 ^{ab}	21 ± 9 ^{ab}	1509 ± 48 ^{ab}	0.92 ± 0.17 ^b (2.79 ^b)	0.047 ± 0.016 ^{ab} (0.23 ^a)	46.9 ± 11.7 ^{ac} (3.11 ^a)
M2	40.9 ± 2.1 ^{bc}	258 ± 50 ^b	1861 ± 66 ^b	0.44 ± 0.04 ^{ab} (1.07 ^b)	0.114 ± 0.026 ^b (0.04 ^b)	13.4 ± 0.5 ^{ab} (0.72 ^b)
U	69.5 ± 2.1 ^c	364 ± 55 ^b	10606 ± 606 ^c	1.04 ± 0.03 ^b (1.50 ^b)	0.203 ± 0.055 ^b (0.06 ^b)	113.8 ± 6.6 ^c (1.07 ^b)

Notes: Mean ± SD in mg kg⁻¹ dry weight ($n=5$). CaCl₂-extractable metal concentrations/pseudototal metal concentrations ratios given as percentages are indicated between brackets. Letters are used to show significant differences between litter types ($p < 0.05$).

appeared that the lightest individuals were more severely affected by exposure than the others.

3.3. Growth of woodlice

At the beginning of the experiment (T_0), no significant differences regarding the weight of individuals were observed between populations ($p > 0.05$; Kruskal–Wallis, ANOVA). Therefore, the four experimental populations were considered to be roughly equivalent at the beginning of the experiment.

For each experimental population, the weight of woodlice was positively correlated with exposure duration ($r=0.68, 0.72, \text{ and } 0.77$ for litter types T, M1, and M2 respectively, $p < 0.05$), with the exception of woodlice fed with litter type U ($r=0.08, p > 0.05$). These results showed the growth of woodlice during the experiment, with the exception of the most contaminated litter type (U). However, the growth of *P. scaber* appeared to be affected by metal concentrations in litter types (Fig. 3). When comparing woodlice weight gains during each week for each litter type, it can be

Table 2
Percentages of dead individuals after 7, 14, 21, and 28 days of exposure with the selected litter types.

Exposure days	% of dead individuals in litter types				χ^2 -value
	T	M1	M2	U	
7	7.7	0.0	6.9	11.5	3.515
14	15.4	3.1	17.3	23.1	5.168
21	30.8	9.4	24.1	43.2	8.615*
28	38.5	21.8	31.0	53.8	6.775

Notes: The mortality rates after each week were calculated excluding individuals that died after the first day of exposure. χ^2 -values and significant differences between litter types on the same date (χ^2 test, $ddl=3$; $p < 0.05$) are presented.

Table 3
Weight characteristics for woodlice populations at the beginning of the experiment and for individuals that survived throughout the duration of the exposure to litter types.

	Litter type	n	Median		Minimum		Maximum	
			T_0	T_{+28d}	T_0	T_{+28d}	T_0	T_{+28d}
			Woodlice populations at the beginning of the experiment	T	40	6.8	–	3.9
	M1	40	7.1	–	2.4	–	11.4	–
	M2	40	7.3	–	3.9	–	11.5	–
	U	40	7.4	–	3.4	–	9.9	–
Individuals which survived throughout the duration of the exposure	T	16	9.1	14.8	3.9	7.9	13.1	23.7
	M1	25	7.7	11.9	3.8	7.5	11.4	18.9
	M2	20	7.9	11.1	4.7	5.7	10.8	15.3
	U	12	8.4	8.9	4.0	6.5	9.8	11.5

Notes: n = number of individuals, median, minimum, and maximum individual weight (mg fresh weight). T_0 : the beginning; T_{+28d} : the end of the experiment.

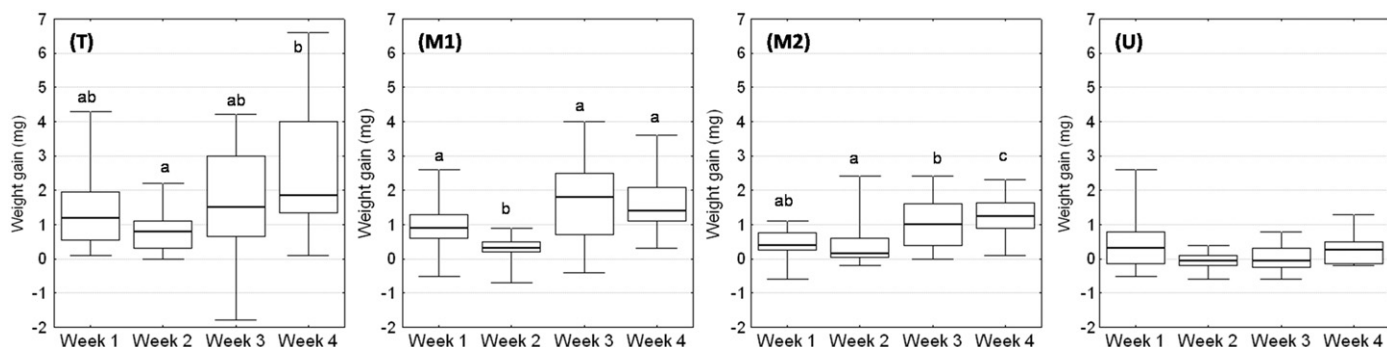


Fig. 2. Weight gain of *P. scaber* (— median; □ 25–75%; T min–max, in mg fresh weight) during each week of exposure to one of the four selected litter types. Letters indicate significant differences in weight gain of woodlice between weeks for each litter type ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis ANOVA).

observed that growth was irregular over time (Fig. 2). Thus, it seemed that weight gain was lower during the second week than during the first, although a significant difference was only observed for woodlice fed with litter type M1 ($p < 0.05$). In addition, it appeared that growth during the third or the fourth week was better than during the second week of exposure. This was true for individuals fed with litter types T, M1, or M2 ($p < 0.05$).

Fig. 3 shows the weight gains of woodlice after 7, 14, 21, and 28 days of exposure to each litter type. From the seventh day and after 14, 21, and 28 days of exposure, the weight gains of individuals fed with the most metal-contaminated litter types (M2 and U) were significantly lower than those exposed to litter type T ($p < 0.05$). It appeared that growth was influenced by the metal content of the litter types. Similarly, the weight gains of woodlice exposed to the most contaminated litter type (U) were significantly lower than those of animals fed with litter type M1, although this was observed only after 21 days of exposure ($p < 0.05$).

Significant negative correlations were observed between woodlice weight variations and pseudototal metal concentrations in litter types from the seventh day of exposure ($p < 0.05$). Correlation coefficients (r) between weight gain of individuals after 28 days of exposure and pseudototal Cd, Pb, and Zn concentrations in litter types were, respectively, $-0.70, -0.64, \text{ and } -0.61$ ($p < 0.05$). Negative correlations were also observed between CaCl_2 -extractable metal concentrations and woodlice weight gain from the 14th day of exposure ($p < 0.05$), and correlation coefficients after 28 days of exposure were $-0.45, -0.70, \text{ and } -0.51$ ($p < 0.05$), respectively, for Cd, Pb, and Zn.

3.4. Metal body burdens

Mean metal body burdens of juveniles reared in the laboratory were 4 ± 1 for Cd, 4 ± 1 for Pb, and 58 ± 19 for Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight).

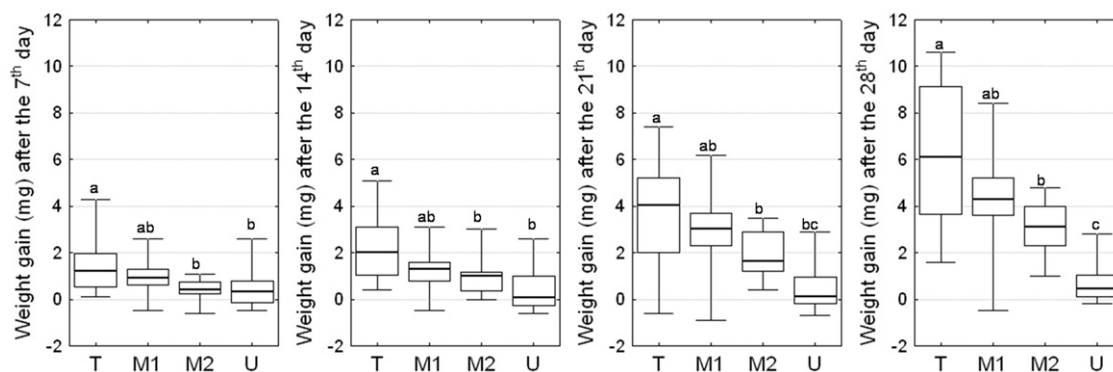


Fig. 3. Weight gain of *P. scaber* (— median; □ 25–75%; T min–max, in mg fresh weight) at 7, 14, 21 and 28 days of exposure to one of the four selected litter types. Letters indicate significant differences in weight gain of woodlice between litter types at the same exposure duration ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis ANOVA).

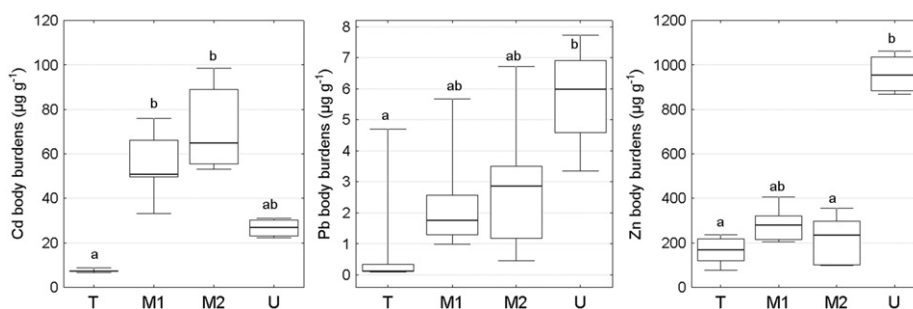


Fig. 4. Metal concentrations in pools of *P. scaber* after 28 days of exposure to selected litter types (median; □ 25–75%; T min–max). Letters indicate significant differences in woodlouse metal body burdens ($p < 0.05$, Kruskal–Wallis ANOVA).

Woodlice that survived until the 28th day of exposure to litter types were used to create pools (five, eight, seven, and four pools for litter types T, M1, M2, and U, respectively) and to determine metal body burdens. Fig. 4 shows Cd, Pb, and Zn body burdens in woodlice. Regarding Cd, woodlice exposed to litter types M1 and M2 revealed significantly higher Cd concentrations than those found in animals fed with litter type T ($p < 0.05$). Surprisingly, Cd body burdens in woodlice fed with the most contaminated litter type (U) appeared lower than those of woodlice fed with either litter type M1 or M2, although no significant difference was found. On the other hand, Pb body burdens in woodlice fed with litter type U were significantly higher than those measured in animals fed with litter type T ($p < 0.05$). Furthermore, woodlice fed with litter type U showed a very high internal Zn concentration that differed significantly from those of woodlice fed with litter types T and M2 ($p < 0.05$).

Significant positive correlations were observed between the Pb and Zn concentrations in woodlouse pools and the metal concentrations in litter types ($p < 0.05$). The correlation coefficients (r) between metal body burdens in woodlice and pseudototal metal concentrations in litter types were $r = 0.32, 0.58, \text{ and } 0.96$ for Cd, Pb, and Zn, respectively. The correlation coefficients between metal body burdens in woodlice and CaCl_2 -extractable metal concentrations in litter types were $r = 0.28, 0.64, \text{ and } 0.93$, for Cd, Pb, and Zn, respectively.

4. Discussion

In the present investigation, growth and metal accumulation were experimentally studied in *P. scaber* given Cd-, Pb-, and Zn-contaminated poplar field litter as food. The main results showed a significant decrease in *P. scaber* growth with increasing Cd, Pb, and Zn concentrations in litter types. Numerous studies have shown

either by in situ measurements (Donker et al., 1993; Jones and Hopkin, 1994; Khalil et al., 1995; Jones and Hopkin, 1998) or by controlled experiments (Joosse et al., 1983; Beyer et al., 1984; Van Cappellevee, 1985; Donker and Bogert, 1991; Odendaal and Reinecke, 1999; Witzel, 2000; Odendaal and Reinecke, 2004a) that heavy metal exposure can induce negative effects on the weight or the size of woodlice. Odendaal and Reinecke (2004a), working on *P. laevis*, observed a decrease in growth after 7 days of exposure to oak litter spiked with a cadmium sulfate solution of 80 mg kg^{-1} . In addition, these authors also showed that food spiked with a 1000 mg kg^{-1} zinc sulfate solution negatively affected the weight of woodlice after 14 days of exposure. Moreover, Loureiro et al. (2006) observed that the growth of *Porcellionides pruinosus* exposed to alder litter contaminated with lead acetate (32 mg kg^{-1}) was affected after 14 days of exposure. In the present study, the effects on growth of *P. scaber* were observed after 7 days of exposure to poplar field litter contaminated with $40.9 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, $258 \text{ mg Pb kg}^{-1}$, and $1861 \text{ mg Zn kg}^{-1}$. Furthermore, close correlations were observed between woodlouse weight gains and heavy metal concentrations in the litter types tested. These effects may be explained by the energy cost allocated to tolerating the contaminants, which has been shown to induce a decrease in growth or reproduction (Donker et al., 1993). Under stressful conditions such as a polluted environment, organisms are known to enhance defense mechanisms, physiological repair, or behavioral responses such as avoidance; all of these reactions could result in a decrease in energy budgets (Sibly and Calow, 1989; Donker, 1992; Mayer et al., 1992; Widdows and Donkin, 1992). However, since metal-contaminated food is known to induce a decreased consumption rate in woodlice (Donker and Bogert, 1991; Drobne and Hopkin, 1994, 1995; Zidar et al., 2004; Loureiro et al., 2006), the decrease of woodlouse growth observed in this study could also be explained by low food consumption, even though it was given ad libitum.

Most studies conducted under laboratory conditions have investigated woodlice exposed to artificial substrates or food spiked most often with one metallic element. Even if this exposure type is quite valuable in understanding defense mechanisms toward such pollutants, this approach cannot reflect the actual in situ bioavailability of these heavy metals because many metals are commonly found associated in polluted sites and are present in a greater number of chemical species than those used to spike food. The nature and the chemical forms of pollutants are numerous and can induce many complex interactions with biological systems (Prosi, 1989; Regoli and Orlando, 1994; Massiani et al., 2003; Yokel et al., 2006). Metal accumulation and growth of woodlice were influenced by both the nature and the concentrations of heavy metals in food because of interactions occurring between metals. Indeed, Odendaal and Reinecke (2004a) showed that Cd sulfate (80 mg kg^{-1}) and Zn sulfate (1000 mg kg^{-1}) administered separately via spiked food had a negative effect on the weight of *P. laevis*, while the combination of both metals in food (20 mg Cd kg^{-1} and $1000 \text{ mg Zn kg}^{-1}$) induced better growth in woodlice than controls. They found also that weight changes in *P. laevis* subjected to a combination of Cd sulfate and Zn sulfate in ratios of either 80/4000 or 160/8000 mg kg^{-1} did not differ significantly from those of control animals.

In the present paper, relative Cd and Zn content in litter types was shown to influence metal body burdens in woodlice. Cd accumulation in *P. scaber* exposed to either litter type M1 or M2 (32.9 and $40.8 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, respectively) were higher than in individuals exposed to litter type U, although Cd concentration in this litter was significantly higher ($69.5 \text{ mg Cd kg}^{-1}$) than those in both M1 and M2 litter types. Regarding Zn, litter U showed a much higher Zn concentration ($10,606 \text{ mg kg}^{-1}$) than in both litter types M1 and M2 (1508 and 1860 mg kg^{-1} , respectively). Woodlice exposed to litter type U showed significantly higher Zn body burdens than those fed with either litter type M1 or M2. This seems to suggest that the presence of high Zn concentrations in litter types allowed *P. scaber* to excrete Cd or to limit its uptake, whereas lower Zn concentrations in food did not allow animals to eliminate Cd or to limit its uptake from food. These results are consistent with those reported in other studies. Witzel (2000) observed for *P. scaber* that Cd could be excreted either alone or with Zn, depending on the concentration of Zn to which the animals were exposed. Similarly, Odendaal and Reinecke (2004b) reported that Cd concentration in the hepatopancreas of *P. laevis* was influenced by the presence of Zn in food. Furthermore, a recent investigation showed that exposure to food contaminated artificially with Zn and Cd induced low assimilation of both metals in *P. scaber*, whereas at a high concentration ($> 1300 \text{ mg Zn kg}^{-1}$, $> 180 \text{ mg Cd kg}^{-1}$) in the food, this exposure significantly reduced Cd assimilation but not Zn assimilation (Zidar et al., 2009). In the present experiment, the concentration ratios of Cd/Zn in food influenced the assimilation of Cd in *P. scaber*, but did not influence the woodlouse growth, contrary to the observations of Odendaal and Reinecke (2004a).

Many other factors than heavy metals might influence the growth of woodlice. Indeed, growth rates can be dependent on the age of the individual. With regard to the similar weights of juveniles used at T_0 , it is likely that the age of woodlice used cannot explain the differences of growth seen among groups. Furthermore, in woody habitats, litter may be found in different stages of degradation that depend on the season and/or on pedological parameters. The stages of litter degradation may also depend on pollution. In metal-contaminated areas, a decrease in biological diversity, especially of saprophagous and microbial communities, may result in a slow degradation of organic matter (Cotrufo et al., 1995; Grelle, 1998; Balabane et al., 1999; Pruvot et al., 2002; Vázquez-Murrieta et al., 2006). Usually, in the autumn,

freshly fallen leaves cover the overwintered litter, when this is not yet totally decomposed. The two horizons are likely to differ in terms of microbial and/or fungal colonization. Freshly fallen leaves are less colonized by microorganisms than decaying leaves. Since the feeding behavior of terrestrial isopods is known to depend on the degree of colonization by microbiota (Zimmer, 2002; Zimmer et al., 2003), the degradation status of leaves in litter might influence their growth. However, this is unlikely to explain our results, since woodlouse growth was higher in the case of both T and M1 litter types, which are composed of freshly fallen leaves, than in animals fed with the decayed litter types (M2 or U). With regard to the higher metal concentrations on the litter types M2 and U than on the litter types T and M1, metal contents in litter seemed to be the main factor affecting growth of woodlice. In addition, the high mobility of heavy metals measured in the litter type U could also explain the large decrease in growth of woodlice fed with this litter.

Regarding woodlouse mortality observed during the experiment, the high level occurring during the first hours was certainly related to general stress caused by the setting up of the experiment, since there was no significant difference between treatments (type of litter given as food). Changes during the exposure in comparison with breeding conditions (food quality, substrate, etc.) and animal handling could have induced detrimental effects on individuals and more particularly on juveniles, which are possibly more sensitive to such stresses. Moreover, it was shown that the lightest individuals at the beginning of the experiment were more affected by mortality during the experiment than others. Nevertheless, when only the individuals alive after the first day of exposure are considered, mortality rates seemed to be higher for woodlice fed with the most contaminated litter type, U. Since the mortality level in woodlice did not differ significantly between litter types, acute toxicity of these litter types has not been shown. However, it must be taken into consideration that these results were obtained after only a few days of exposure, which corresponded to a very short period considering the lifespan of woodlice. In addition, this study indicates that the consumption of such litter types by woodlice would result in chronic toxicity. Since the growth rate has been affected, it could result over time in smaller size of females at reproduction, with consequences for their capacity to produce numbers of offspring. This idea is supported by the fact that Jones and Hopkin (1998) observed a reduction of the body size of *P. scaber* in metal-contaminated areas. Consequently, weight gain could appear as a promising endpoint of exposure to metals with ecological significance. Although this has to be confirmed by several experiments, weight gain could be a real ecotoxicological tool for assessing litter quality and predicting effects on field populations. In experiments that could be undertaken to validate this potential indicator, many other litter types with a large range of metal concentrations and differing in the nature of their leaves should be tested. In addition, it could be interesting to check the effect of food consumption of metal-contaminated field litter types across generations of woodlice using experimental populations exposed in a microcosm under controlled conditions.

5. Conclusions

Through a low-cost effective ecotoxicity test, this study has shown the effect of poplar field litter contaminated with heavy metals on growth of *P. scaber*. Significant negative correlations were observed between Cd, Pb, and Zn concentrations in litter types (pseudototal and CaCl_2 -extracted) and the weight gain of woodlice. This approach was shown to provide information after a short exposure duration (7 days). However, these results were obtained with only four litter types and therefore need to be confirmed in

many other field situations. Consequently, it will be interesting to study the growth of *P. scaber* exposed to a wider range of metal-contaminated litter types with different leaf species. Although close correlations were observed between metal concentrations in litter types (pseudototal and CaCl₂-extracted) and metal body burdens in woodlice, the Cd/Zn ratio in food seemed to influence Cd assimilation in woodlice. All these results confirmed the interest in testing litter existing in the field to predict potential effects of pollutants on field populations more accurately. Finally, this approach could be used to survey experimental populations over generations to check whether detrimental effects on life history traits were related to consumption of metal-contaminated food.

Acknowledgments

The main author is very grateful to ADEME and especially Ms. C. Grand and the Catholic University of Lille for financially supporting this work.

References

- Balabane, M., Faivre, D., van Oort, F., Dahmani-Muller, H., 1999. Mutual effects of soil organic matter dynamics and heavy metals fate in a metallophyte grassland. *Environ. Pollut.* 105, 45–54.
- Barnthouse, L.W., O'Neill, R.V., Bartell, S.M., Suter, G.W., 1986. Population and ecosystem theory in ecological risk assessment. In: Poston, T.M., Purdey, R. (Eds.), *Aquatic Toxicology Environment Fate: Ninth Volume, ASTM STP 921*, Philadelphia, pp. 82–96.
- Berg, B., 1986. Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils—a mini review. *Scand. J. Forest Res.* 1, 359–369.
- Berg, B., Staaf, H., 1987. Release of nutrients from decomposing white birch leaves and Scots pine needle litter. *Pedobiologia* 30, 55–63.
- Beyer, W.N., Miller, G.W., Cromartie, E.J., 1984. Contamination of the O₂ soil horizon by zinc smelting and its effects on woodlouse survival. *J. Environ. Qual.* 13, 247–251.
- Cotrufo, M.F., Santo, Virzo De, Alfani, A., Bartoli, A., De Cristofaro, G., A., 1995. Effects of urban heavy metal pollution on organic matter decomposition in *Quercus ilex* L. woods. *Environ. Pollut.* 89, 81–87.
- Dallinger, R., Berger, B., Birkel, S., 1992. Terrestrial isopods: useful biological indicators of urban metal pollution. *Oecologia* 89, 32–41.
- Degryse, F., Broos, K., Smolders, E., Merckx, R., 2003. Soil solution concentration of Cd and Zn can be predicted with a CaCl₂ soil extract. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 149–157.
- Donker, M.H., Zonneveld, C., van Straalen, N.M., 1993. Early reproduction and increased reproductive allocation in metal-adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia* 96, 316–323.
- Donker, M.H., 1992. Energy reserves and distribution of metals in populations of the isopod *Porcellio scaber* from metal-contaminated sites. *Funct. Ecol.* 6, 445–454.
- Donker, M.H., Bogert, C.G., 1991. Adaptation to cadmium in three populations of the isopod *Porcellio scaber*. *Comp. Biochem. Physiol.* 100(C), 143–146.
- Douay, F., Pruvot, C., Roussel, H., Ciesielski, H., Fourrier, H., Proix, N., Waterlot, C., 2008. Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters. *Water Air Soil Pollut.* 188, 247–260.
- Drobne, D., 1997. Terrestrial isopods—a good choice for toxicity testing of pollutants in the terrestrial environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 1159–1164.
- Drobne, D., Hopkin, S.P., 1994. Ecotoxicological laboratory test for assessing the effects of chemicals on terrestrial isopods. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53, 390–397.
- Drobne, D., Hopkin, S.P., 1995. The toxicity of zinc to terrestrial isopods in a “standard”: laboratory test. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31, 1–6.
- Gál, J., Markiewicz Patkowska, J., Hursthouse, A., Tatner, P., 2008. Metal uptake by woodlice in urban soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 69, 139–149.
- Grelle, C., 1998. Impact des métaux lourds sur les peuplements de macroinvertébrés de la faune du sol—influence du cadmium et du plomb sur différents aspects de la physiologie de deux modèles biologiques: *Lithobius forficatus* (Myriapode Chilopode) et *Eisenia fetida* (Annelide Oligochète). Université de Lille 1.
- Gunnarsson, T., Tunlid, A., 1986. Recycling of faecal pellets in isopods: Microorganisms and nitrogen compounds as potential food for *Oniscus asellus* L. *Soil Biol. Biochem.* 18, 595–600.
- Hames, C.A.C., Hopkin, S.P., 1991. Assimilation and Loss of ¹⁰⁹Cd and ⁶⁵Zn by the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 47, 440–447.
- Hassall, M., Sutton, S.L., 1978. The role of isopods as decomposers in a dune grassland ecosystem. *Sci. Proc. R. Dublin Soc. A* 6, 235–245.
- Hassall, M., Turner, J.G., Rands, M.R.W., 1987. Effects of terrestrial isopods on the decomposition of woodland leaf litter. *Oecologia (Berlin)* 72, 597–604.
- Heikens, A., Peijnenburg, W.J.G.M., Hendriks, A.J., 2001. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environ. Pollut.* 113, 385–393.
- Hopkin, S.P., 1989. *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Elsevier Applied Sciences, London.
- Hopkin, S.P., Hardisty, G.N., Martin, M.H., 1986. The woodlouse *Porcellio scaber* as a “biological indicator” of zinc, cadmium, lead and copper pollution. *Environ. Pollut. Ser. B* 11, 271–290.
- Hopkin, S.P., Jones, D.T., Dietrich, D., 1993. The isopod *Porcellio scaber* as a monitor of the bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: towards a global “woodlouse watch” scheme. *Sci. Total Environ.*, 357–365.
- Hopkin, S.P., Martin, M.H., 1982. The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the woodlouse *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda). *Oecologia* 54, 227–232.
- ISO 11466, 1995. Soil quality—extraction of trace elements soluble in aqua regia.
- ISO 14869-1, 2001. Soil quality—dissolution for the determination of total element content. Part 1. Dissolution with hydrofluoric and perchloric acids.
- Jambu, P., Juchault, P., Mocquard, J.P., 1987. Étude expérimentale de la contribution du crustacé isopode *Oniscus asellus* à la transformation des litières forestières sous chêne sessile. *Pedobiologia* 32, 147–156.
- Jones, D.T., Hopkin, S.P., 1994. Effects of metals on the size of terrestrial isopods in an industrially polluted area. In: Widianarko, B. (Ed.), *Environmental toxicology in South East Asia*. VU University Press, Amsterdam, pp. 191–197.
- Jones, D.T., Hopkin, S.P., 1998. Reduced survival and body size in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from a metal-polluted environment. *Environ. Pollut.* 99, 215–223.
- Joose, E.N.G., Van Capelleveen, H.E., Van Dalen, L.H., Van Diggelen, J., 1983. Effects of zinc, iron and manganese on soil arthropods associated with decomposition processes. In: *Heavy Metals in the Environment*. CEP Consultants, Edinburgh, pp. 467–470.
- Kautz, G., Zimmer, M., Topp, W., 2000. Responses of the parthenogenetic isopod, *Trichoniscus pusillus* (Isopoda: Oniscidea), to changes in food quality. *Pedobiologia* 44, 75–85.
- Khalil, M.A., Donker, M.H., Van Straalen, N.M., 1995. Long-term and short-term changes in the energy budget of *Porcellio scaber* Latreille (Crustacea) exposed to cadmium polluted food. *Eur. J. Soil. Biol.* 31 (3), 163–172.
- Laskowski, R., Niklińska, M., Maryan'ski, M., 1995. The dynamics of chemical elements in forest litter. *Ecology* 76, 1393–1406.
- Lavy, D., Vanrijn, M.J., Zoomer, H.R., Verhoef, H.A., 2001. Dietary effects on growth, reproduction, body composition and stress resistance in the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *Physiol. Entomol.* 26, 18–25.
- Loureiro, S., Sampaio, A., Brandão, A., Nogueira, A.J.A., Soares, A.M.V.M., 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Sci. Total Environ.* (369), 119–128.
- Massiani, C., Sens-Zanetto, C., Domeizel, M., Prone, A., Prudent, P., 2003. Bioavailability and biological effects of lead in the soil-plant system: influence of lead chemical forms and soil type. In: *Proceedings of the Seventh International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, “Bioavailability and Bioaccumulation”*, Uppsala, Sweden, June 15–19, 2003, pp. 188–189.
- Mayer, F.L., Versteeg, D.J., McKee, M.J., Folmar, L.C., Graney, R.L., McCume, D.C., Rattner, B.A., 1992. Physiological and nonspecific biomarkers. In: Hugget, R.J. (Ed.), *Biomarkers Biochemical, Physiological, and Histological Markers of Anthropogenic Stress*. Lewis, Boca Raton, pp. 5–86.
- Mocquard, J.P., Juchault, P., Jambu, P., Fustec, E., 1988. Essai d'évaluation du rôle des crustacés oniscoides dans la transformation des matières végétales dans une forêt feuillue de l'ouest de la France. *Revue d'écologie et de biologie du sol* 24 (3), 311–327.
- Odendaal, J.P., Reinecke, A.J., 1999. The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). *Biol. Fertil. Soils* 29, 146–151.
- Odendaal, J.P., Reinecke, A.J., 2004a. Effect of metal mixtures (Cd and Zn) on body weight in terrestrial isopods. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 377–384.
- Odendaal, J.P., Reinecke, A.J., 2004b. Evidence of metal interaction in the bioaccumulation of cadmium and zinc in *Porcellio laevis* (isopoda) after exposure to individual and mixed metals. *Water Air Soil Pollut.* 156, 145–161.
- Peters, E.L., Kaufmann-Daszczuk, B., Brant, H.A., Jagoe, C.H., Richter, R., 2001. Element concentrations and fluctuating asymmetry in a terrestrial isopod (*Armadillidium vulgare*) in metropolitan Chicago Parklands. Department of Biological Sciences, Chicago State University, pp. 1p.
- Prosi, F., 1989. Factors controlling biological availability and toxic effects of lead in aquatic organisms. *Sci. Total Environ.* 79, 157–169.
- Pruvot, C., Dubourguier, H.C., Douay, F., 2002. Caractérisation in situ de l'impact des métaux sur la cinétique de la biodégradation des constituants de la matière organique dans les sols autour de deux usines métallurgiques du Nord de la France. Journées Nationales de l'étude des Sols, Vol. Actes des 7èmes journées. AFES, Association Française pour l'Etude des Sols, Orléans, pp. 61–62.
- Pueyo, M., Lopez-Sanchez, J., Rauret, G., 2004. Assessment of CaCl₂, NaNO₃ and NH₄NO₃ extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Anal. Chim. Acta* 504, 217–226.
- Regoli, F., Orlando, E., 1994. Bioavailability of biologically detoxified lead: risks arising from consumption of polluted mussels. *Environ. Health Perspect.* 3, 335–338.
- Sibly, R.M., Calow, P., 1989. A life-cycle theory of responses to stress. *Biol. J. Linnean Soc. London* 37, 101–116.
- Souty-Grosset, C., Badenhausser, I., Reynolds, J.D., Morel, A., 2005. Investigation on the potential of woodlice as indicators of grassland habitat quality. *Eur. J. Soil Biol.* 41, 109–116.

- Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H., Perdrix, E., 2002. Assessment of the contamination of cultivated soils by eighteen trace elements around smelters in the north of France. *Water Air Soil Pollut.* 135, 173–194.
- Van Cappelleveen, H.E., 1985. The ecotoxicity of zinc and cadmium for terrestrial isopods. In: Consultants, C., (Ed.), *Heavy Metals in the Environment*, Edinburgh, pp. 245–247.
- Van Straalen, N.M., Donker, M.H., Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., 2005. Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environ. Pollut.* 136, 409–417.
- Vásquez-Murrieta, M.S., Migueles-Garduño, I., Franco-Hernández, O., Govaerts, B., Dendooven, L., 2006. C and N mineralization and microbial biomass in heavy-metal contaminated soil. *Eur. J. Soil Biol.* 42, 89–98.
- Vilšič, F., Eleka, Z., Lovei, G.L., Hornung, E., 2007. Composition of terrestrial isopod assemblages along an urbanisation gradient in Denmark. *Pedobiologia* 51, 45–53.
- Waterlot, C., Bidar, G., Douay, F., Daurangeon, F., 2008. Analysis of trace elements in solution, assessment of a background compensation technique on the As interference in the Cd analysis. *Spectra Anal.* 261, 48–52.
- Waterlot, C., Douay, F., 2009. The problem of arsenic interference in the analysis of Cd to evaluate its extractability in soils contaminated by arsenic. *Talanta* 2009 80, 716–722.
- Weißenburg, M., Zimmer, M., 2003. Balancing nutritional requirements for copper in the common woodlouse, *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea). *Appl. Soil Ecol.* 23, 1–11.
- Widdows, J., Donkin, P., 1992. Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. In: Gosling, E. (Ed.), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 383–424.
- Witzel, B., 1992. Die Eignung von *Porcellio scaber* Latr. (Isopoda) Zum aktiven Monitoring von Blei- und Cadmiummissionen in anthropogen belasteten Ökosystemen. Free University Berlin.
- Witzel, B., 2000. The influence of zinc on the uptake and loss of cadmium and lead in the woodlouse, *Porcellio scaber* (Isopoda, Oniscidea). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47, 43–53.
- Yokel, R.A., Lasley, S.M., Dorman, D.C., 2006. The speciation of metals in mammals influences their toxicokinetics and toxicodynamics and therefore human health risk assessment. *J. Toxicol. Environ. Health Part B. Crit. Rev.* 9, 63–85.
- Zidar, P., Drobne, D., Strus, J., Van Gestel, C.A.M., Donker, M., 2004. Food selection as a means of Cu intake reduction in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Appl. Soil Ecol.* 25, 257–265.
- Zidar, P., Van Gestel, C.A.M., Strus, J., 2009. Single and joint effects of Zn and Cd on *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) exposed to artificially contaminated food. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 2075–2082.
- Zimmer, M., 2002. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary-ecological approach. *Biol. Rev.* 77, 455–493.
- Zimmer, M., Kautz, G., Topp, W., 2003. Leaf litter-colonizing microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *Eur. J. Soil Biol.* 39 209–216.

D) Etude de l'adaptabilité de *Porcellio scaber* à la contamination métallique des sols

Mesure de la croissance et de la bioaccumulation en ETM chez *Porcellio scaber* issu d'habitats contaminés ou non, et exposé à des litières collectées à proximité d'usines métallurgiques

Avant - propos

*L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'adaptation de *P. scaber* à la contamination métallique des litières. Il a été fait l'hypothèse qu'une population vivant sur un site pollué par des ETM serait plus adaptée à la contamination métallique qu'une population issue d'un milieu non contaminé et de ce fait, les traits d'histoire de vie tels que la mortalité et la croissance, seraient moins affectées. Dans un schéma expérimental, réalisé en conditions contrôlées similaires à celles de l'expérimentation précédente, la croissance et l'accumulation en Cd et Zn ont été étudiées chez des individus exposés durant 28 jours aux cinq litières de peupliers étudiées (TEM, METb, METa, MOR et UMI). Ces paramètres ont été suivis sur des individus issus de deux populations distinctes qui diffèrent quant à leur pré-exposition à des litières contaminées par des ETM. En effet, l'une est issue de l'élevage A tandis que l'autre est issue de l'élevage C.*

Cette étude vise également à valider la fiabilité et la répétabilité des paramètres mesurés (gain de poids et teneurs en Cd et Zn). Les résultats obtenus dans la présente expérimentation ont été confrontés à ceux précédemment acquis. Seuls Cd et Zn ont été considérés ici compte tenu des interactions observées précédemment.

1. Matériels et méthodes

1.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est constitué de 250 boîtes de Pétri (Ø 5 cm) munies d'un couvercle percé de cinq trous (Ø 1 mm). 25 répliqués par litière (TEM, METb, METa, MOR et UMI) et par population (A ou C) ont été utilisés (Figure 73). 200 mg de litières ont été placés dans chacune des boîtes de Pétri, puis réhumidifiés avec de l'eau osmosée à l'aide d'un spray. Les boîtes ont été placées dans des enceintes en plastique (60 x 40 x 10 cm) contenant une couche de 2 cm de plâtre, humidifiées avec 300 mL d'eau osmosée et recouvertes d'une plaque transparente de plexiglas pour maintenir une humidité supérieure à 90%. Les enceintes ont été placées à une température de 18°C et à une photopériode de 16h jours / 8h nuit.

125 juvéniles *P. scaber* (< 15 mg) ont été sélectionnés dans chacun des deux élevages (A et C), pesés, puis exposés individuellement à T₀ dans l'une des boites de Pétri. Après 7, 14, 21 et 28 jours d'exposition, les individus ont été pesés et les litières réhumidifiées. Les individus morts ont été dénombrés. A la fin de l'expérimentation, les individus ayant survécu jusqu'à 28 jours ont été placés individuellement durant 24 h dans une boîte de Pétri contenant un filtre de cellulose imbibé de 1 mL d'eau osmosée, afin de vider le contenu de leur tube digestif. Ils ont ensuite été congelés à -20°C en vue du dosage des ETM.

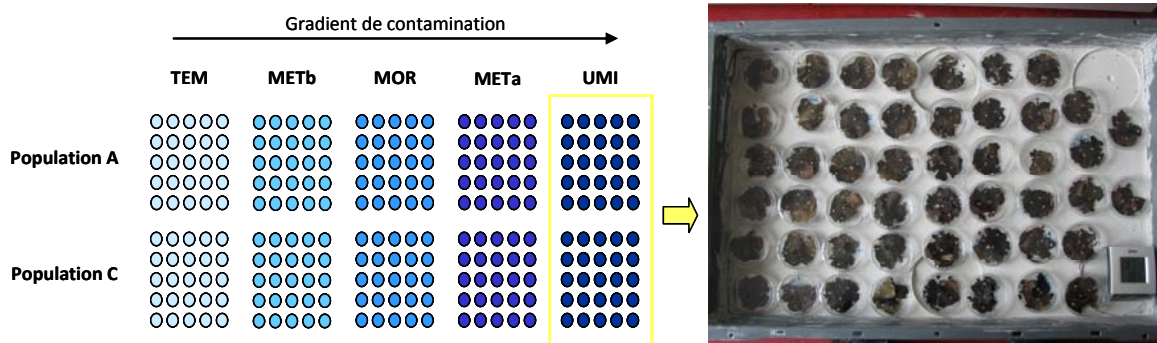


Figure 73 : Dispositif expérimental utilisé pour l'étude de l'adaptabilité de *P. scaber* à la contamination métallique.

1.2. Détermination des concentrations en Cd et Zn des isopodes

En fonction du nombre de survivants après 28 jours d'exposition, des lots de 3 individus (de masse similaire) ont été formés par population et par litières. Les individus ont été séchés à 40°C durant 24 h, pesés ($\pm 0,1$ mg), puis minéralisés dans des réacteurs en TFM contenant 5 mL de HNO₃ à 69%. Les réacteurs ont été placés dans un four à micro-ondes. Les solutions obtenues ont été filtrées sur des membranes d'acétate de cellulose (0,45 μ m de porosité), et leur volume a été ajusté à 25 mL avec de l'eau osmosée. Les concentrations en Cd et Zn de chacun des lots d'individus ont été mesurées par

spectrométrie d'absorption atomique, soit à la flamme, soit au four, en fonction de leurs concentrations respectives. Elles ont été exprimées en mg kg^{-1} en poids sec.

1.3. Analyses statistiques

Seuls les individus ayant survécu après les 28 jours d'exposition ont été pris en compte dans les analyses statistiques. Des relations entre le gain de poids des isopodes (après 7, 14, 21 et 28 jours d'exposition), leurs concentrations en Cd et Zn, et les concentrations pseudo-totales en ETM des litières ont été recherchées au moyen d'analyses de régressions linéaires. Pour chacune des populations (A et C), les paramètres mesurés (gain de poids, bioconcentrations en ETM) chez les individus exposés aux différentes litières (TEM, METb, METa, MOR et UMI) ont été comparés à l'aide de tests de Kruskal-Wallis. Les mêmes paramètres ont été comparés entre les deux populations pour chacune des litières à l'aide de tests de Mann-Whitney-Wilcoxon.

2. Résultats

2.1. Concentrations en Cd et Zn des isopodes

Plusieurs lots d'individus ont été constitués pour la détermination des teneurs en ETM dans les isopodes (tableau 15). Les valeurs médianes des concentrations en Cd et Zn des individus sont présentées sur la figure 74.

Litières	Population A	Populations C
TEM	6	6
METa	6	7
METb	7	5
MOR	5	6
UMI	4	5

Tableau 15 : Nombre de lots constitués pour la détermination des concentrations métalliques des isopodes issus des populations A et C et exposés aux 5 litières testés.

Concernant la population A, les individus exposés à la litière la moins contaminée (TEM) présentent de plus faibles concentrations en Cd et en Zn que les individus exposés aux litières plus contaminées (METb, METa, MOR et UMI). Des différences significatives ont été observées entre les concentrations en Cd des individus exposés à la litière TEM et celles des individus exposés aux litières METb et METa ($p < 0,05$). De plus, les concentrations en Zn mesurées dans les individus exposés à la litière TEM sont inférieures à celles des individus exposés à la litière UMI ($p < 0,05$).

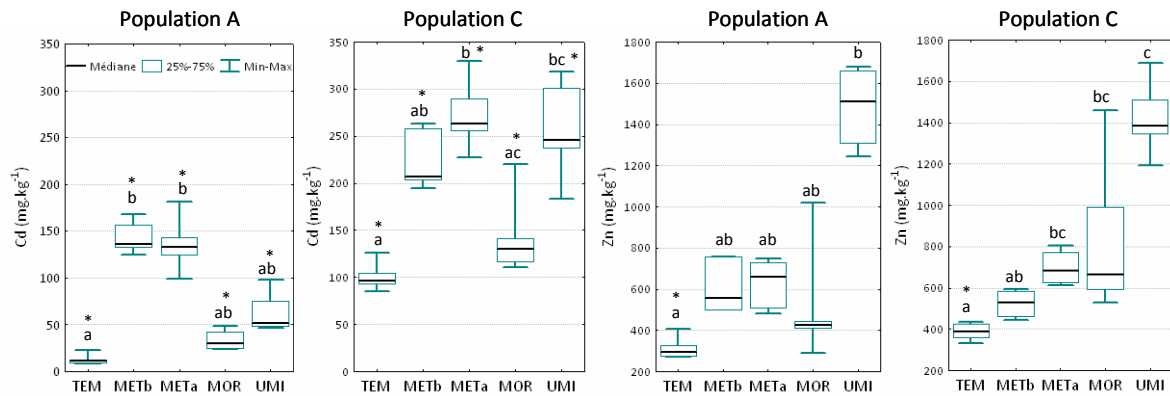


Figure 74 : Teneurs en Cd et Zn (— médiane; □ 25%-75%; T min-max) mesurées chez deux populations (A et C) de *Porcellio scaber*, exposées à un gradient de litières de peuplier contaminées par des ETM. Les lettres indiquent les différences significatives entre les bioconcentrations des individus nourris avec les différentes litières, pour chaque élément métallique et pour chaque population ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). * Différences significatives entre les deux populations exposées à une même litière ($p < 0,05$, test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Concernant la population C, les teneurs métalliques mesurées dans les isopodes sont également plus faibles chez les individus exposés à la litière TEM que celles mesurées chez les individus exposés aux autres litières. Des différences significatives sont observées entre les teneurs en Cd et en Zn des individus issus de la litière TEM, et celles des individus exposés aux litières METa et UMI ($p < 0,05$). De plus, les teneurs en Zn mesurées chez les individus nourris avec la litière TEM sont aussi significativement plus faibles que celles mesurées chez les individus issus de la litière MOR ($p < 0,05$).

Par ailleurs, les teneurs en Cd mesurées chez les individus issus de la population C sont significativement plus élevées que celles mesurées chez les individus issus de la population A, et ce quelle que soit la litière ($p < 0,05$). En revanche, seules les teneurs en Zn mesurées dans les individus issus de la population C exposés à la litière TEM sont supérieures à celles mesurées dans les individus nourris avec la même litière et issus de la population A ($p < 0,05$).

Des relations entre les teneurs en ETM des isopodes et les concentrations pseudo-totales des litières ont été observées. Les teneurs en Zn mesurées à 28 jours chez les deux populations d'isopodes (A et C) sont significativement corrélées ($p < 0,05$) avec les concentrations en ETM des litières (pour A : $r = 0,84$ et $r = 0,90$; pour C : $r = 0,69$ et $r = 0,85$ respectivement pour Cd et Zn). En revanche pour les relations entre les teneurs mesurées dans les organismes et celles des litières sont moins significatives pour le Cd en ce qui concerne la population C ($r = 0,79$ et $r = 0,43$ ($p < 0,05$), pour Cd et Zn respectivement) et non significatives pour la population A.

En outre, les teneurs en Cd des isopodes présentent des corrélations positives avec le ratio Cd/Zn des concentrations pseudo-totales mesurées dans les litières; les coefficients de corrélations sont respectivement $r = 0,87$ et $r = 0,51$ pour les populations A et C ($p < 0,05$).

2.2. Croissance des isopodes

Les effectifs des individus ayant survécu à 28 jours, et utilisés dans les analyses statistiques sont présentés tableau 16.

Population	TEM	METb	MOR	METa	UMI
A	18	22	20	19	14
B	18	17	20	23	15

Tableau 16 : Effectifs des individus ayant survécu à 28 jours d'exposition aux différentes litières

Une diminution de la croissance chez *P. scaber* a été observée avec l'augmentation du degré de contamination en ETM des litières. En effet, le gain de poids après 28 jours d'exposition des individus issus des deux populations (A et C) est négativement corrélé avec les concentrations métalliques des litières. Pour la population A, les coefficients de corrélation sont $r = -0,85$, $r = -0,74$ et $r = -0,70$ pour Cd, Pb et Zn respectivement ($p < 0,05$), et ceux de la population C sont $r = -0,74$, $r = -0,67$ et $r = -0,63$ pour Cd, Pb et Zn respectivement ($p < 0,05$).

Les valeurs médianes des gains de poids des isopodes exposés aux différentes litières sont présentées sur la figure 75. Concernant la population A, des différences ont été observées dès le 7^{ème} jour d'exposition. En effet, le gain de poids des individus exposés à la litière la plus contaminée (UMI) est significativement inférieur à celui des individus exposés aux litières TEM et METb ($p < 0,05$). Après 14 jours d'exposition, les mêmes différences sont observées, et le gain de poids des individus nourris avec la litière TEM est supérieur à celui des individus exposés aux litières METa et MOR ($p < 0,05$). Après 21 et 28 jours d'exposition, le gain de poids des individus exposés à la litière UMI est également significativement inférieur à celui des isopodes exposés à la litière TEM ($p < 0,05$).

Après 7 jours d'exposition, même si une diminution de la croissance avec la contamination en ETM des litières est observée pour les individus issus de la population C, aucune différence significative entre les gains de poids n'a été constatée. Après 14 jours d'exposition, le gain de poids des isopodes nourris avec la litière la plus contaminée (UMI) est inférieur à ceux des individus nourris avec les litières TEM, METb, METa et MOR ($p < 0,05$). Après 21 jours d'exposition, les gains de poids des individus exposés aux litières METb, METa, MOR et UMI sont significativement inférieurs à celui des isopodes exposés à la litière TEM ($p < 0,05$). De plus, le gain de poids des individus nourris avec la litière UMI est également inférieur à ceux des individus exposés aux litières METb, METa et MOR ($p < 0,05$). Enfin, après 28 jours d'exposition, les isopodes exposés à la litière TEM montrent des différences avec ceux nourris avec les litières METa, MOR et UMI ($p < 0,05$), et le gain de poids des individus nourris avec la litière UMI est inférieur au gain de poids des individus exposés à la litière METb ($p < 0,05$).

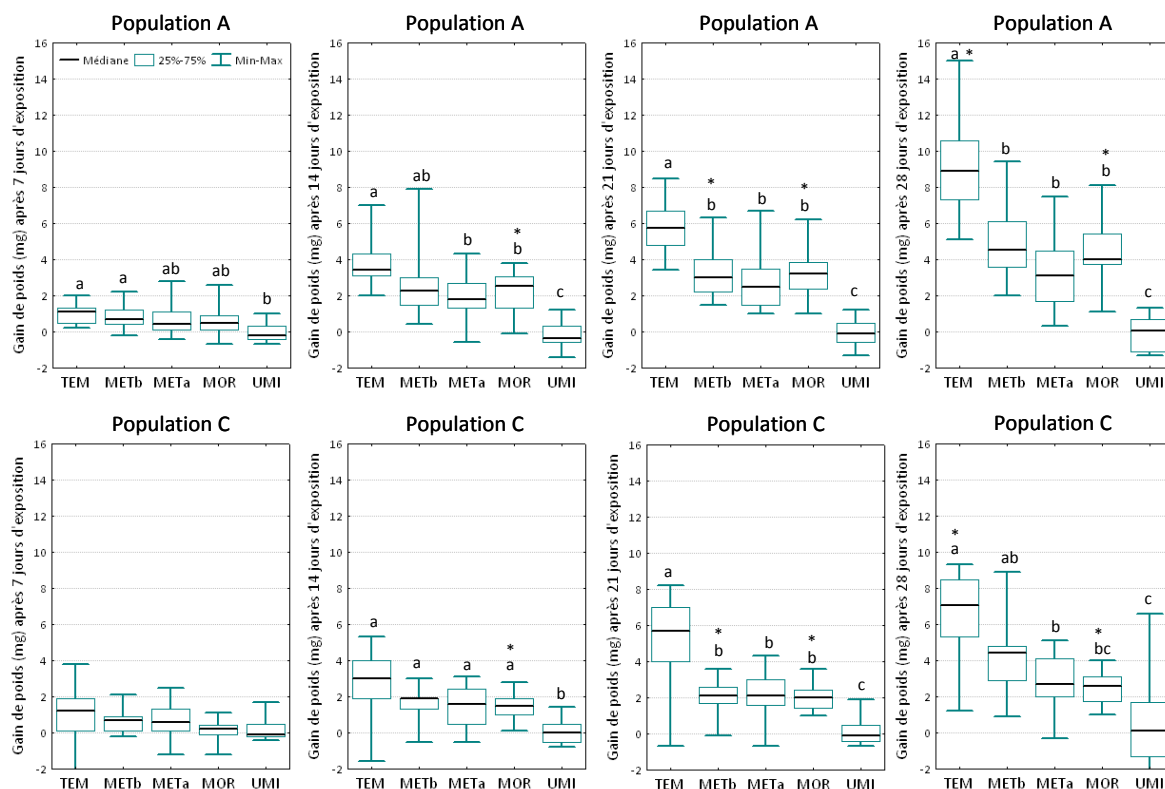


Figure 75 : Gain de poids (— médiane; □ 25%-75%; T min-max; en mg) aux différents pas de temps chez les populations A et C de *Porcellio scaber*, exposées à un gradient de litières de peuplier contaminées par des ETM. Les lettres indiquent les différences significatives entre le gain de poids des individus nourris avec les différentes litières ($p < 0,05$, test de Kruskal-Wallis). * Différences significatives entre les deux populations exposées à une même litière ($p < 0,05$, Test de Mann-Whitney-Wilcoxon).

Par ailleurs, des différences dans la croissance des individus ont été observées entre les deux populations (A et C). Le gain de poids des isopodes issus de la population A est plus favorable que celui des individus issus de la population C. En effet, le gain de poids des isopodes exposés à la litière MOR et issus de la population A est supérieur à celui des individus provenant de la population C, et ceci après 14, 21 et 28 jours d'exposition ($p < 0,05$). Ce constat est aussi vrai après 21 jours d'exposition, pour les individus issus de la population A et nourris avec la litière METb ($p < 0,05$). De même, après 28 jours d'exposition, les individus issus de la population A et nourris avec la litière TEM montrent un gain de poids supérieur à celui des individus issus de la population C ($p < 0,05$).

3. Discussion

Le premier objectif de cette expérimentation a été d'étudier, au travers de la croissance et de l'accumulation des ETM, l'adaptabilité de *P. scaber* à la contamination métallique. Ces deux paramètres ont été étudiés chez deux populations, l'une issue d'un environnement contaminé (élevage C) donc pré-

exposée à des ETM, et l'autre issue d'un milieu non contaminé (élevage A). Les résultats de la mesure des bioconcentrations des isopodes après 28 jours d'exposition ont montré des différences significatives entre les deux populations (A et C). En effet, les teneurs en Cd mesurées dans les individus issus de la population C sont significativement plus élevées que celles des individus issus de la population A, et ceci indépendamment du degré de contamination de la nourriture. De plus, les individus issus de la population C, nourris avec la litière TEM ont montré des teneurs en Zn supérieures à celles mesurées dans les individus issus de la population A. Ceci pourrait s'expliquer par des teneurs initiales en ETM plus élevées dans les individus issus de la population pré-exposée (élevage C). En effet, les individus de l'élevage C sont nourris avec des litières issues de la station MET 3 dont les concentrations en ETM sont comparables à celles de la litière METb car issues du même site. En revanche, pour les autres litières étudiées, aucune différence n'a été observée entre les teneurs en Zn des individus des populations A et C. Toutefois, les plus fortes teneurs en Cd et Zn mesurées dans les individus issus de la population C pourraient expliquer leur plus faible croissance. En effet, bien que l'effet du degré de contamination des litières sur la croissance des individus ait été observé chez les deux populations, il semble que la croissance soit plus affectée chez les individus issus d'une population pré-exposée à des contaminants métalliques, et ceci indépendamment du degré de contamination de leur nourriture.

Le second objectif de ce travail a été d'évaluer la fiabilité, la sensibilité et la répétabilité des mesures de la croissance et de l'accumulation en ETM chez les isopodes en tant qu'indicateurs de la contamination des sols. En effet, puisque la population A a été exposée aux litières TEM, METb, METa et UMI, et dans des conditions de vie similaires à celles de l'expérimentation précédente, les résultats de ces deux expérimentations peuvent être comparés.

Tout d'abord, bien que des corrélations positives ont été observées entre les concentrations en Cd et Zn des isopodes et celles des litières, il apparaît de manière générale que les teneurs en Cd et Zn mesurées après 28 jours d'exposition dans les individus issus de la population apparaissent plus élevées dans le cadre de cette expérimentation que dans celui de l'expérimentation précédente, et ce quelle que soit la litière considérée (TEM, METb, METa et UMI). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces deux expérimentations diffèrent quant à la préparation des individus avant la détermination des teneurs métalliques. En effet, dans l'expérimentation précédente, et contrairement à celle-ci, les isopodes ont été lavés (2 x 2 min à l'eau osmosée dans un bain à ultrasons), ce qui expliquerait donc des concentrations plus faibles en lien avec le lavage. Ces résultats renforcent l'intérêt du lavage avant la détermination des teneurs en ETM des isopodes.

Par ailleurs, des observations semblables à celles de l'étude précédente, ont été observées dans l'accumulation des ETM par les isopodes en relation avec le degré de contamination des litières. Il a notamment été à nouveau constaté un phénomène d'interaction entre le ratio Cd/Zn des litières et

l'accumulation du Cd dans les isopodes. En effet, les individus exposés à la litière UMI qui présentait de très fortes concentrations en Cd et Zn, ont montré une forte accumulation du Zn et de faibles teneurs en Cd. Il est à penser qu'il existe un mécanisme de régulation vis à vis de Zn en lien avec l'existence de fortes concentrations en Cd dans la nourriture (Witzel, 2000). Les résultats obtenus avec l'utilisation de la litière MOR pour nourrir les isopodes suggèrent l'existence d'un seuil dans cette régulation. En effet, bien que la litière MOR présente des teneurs en Zn comparables à celles de MET (a et b), il a été constaté une tendance à une accumulation du Zn plus forte dans les organismes en lien avec des teneurs en Cd plus modérées dans la litière MOR.

Concernant la croissance des isopodes, des résultats similaires à l'expérimentation précédente ont été observés, c'est-à-dire une diminution de la croissance de *P. scaber* avec l'augmentation du degré de contamination des litières en ETM. De plus, les gains de poids observés chez les individus issus de la population A sont comparables à ceux obtenus dans l'expérimentation précédente, et ceci quelles que soient la durée d'exposition et la litière, à l'exception des individus nourris avec la litière TEM qui montrent une croissance plus rapide. En dépit de l'existence d'une variabilité individuelle importante (Van Capelleveen, 1987), l'étude de la croissance chez les isopodes sur plusieurs semaines montre des corrélations significatives entre le gain de poids des individus et le degré de contamination des litières. Les résultats des expérimentations attestent la sensibilité et la répétabilité de la mesure de la croissance chez *P. scaber* dans le cadre de l'évaluation de la qualité des sols. Il conviendra toutefois dans les travaux à venir de considérer une gamme de contamination métallique des litières plus large pour valider ces hypothèses.

E) Etude comportementale :

Comportement d'évitement chez *Porcellio scaber* exposé à des litières contaminées par des ETM

Avant – propos

Plusieurs études récentes ont montré la capacité des isopodes à discriminer une alimentation contaminée par des ETM (Zidar et al., 2003 ; Zidar et al., 2004 ; Loureiro et al., 2005 ; Zidar et al., 2005 ; Loureiro et al., 2009 ; Zidar et al., 2009). Ces tests simples et rapides sont basés sur le fait que certains organismes tels que les isopodes terrestres disposent de récepteurs sensibles à des contaminants et peuvent ainsi éviter une nourriture contaminée. Ces tests comportementaux s'avèrent être plus sensibles que d'autres paramètres tels que la reproduction et la croissance (Loureiro et al., 2005). De plus, l'évitement semble être un paramètre pertinent ayant une signification écologique importante puisqu'il est susceptible d'influencer de manière conséquente le budget énergétique des organismes au travers de la détection, de l'évitement, de la recherche de nourriture, et plus généralement d'une baisse d'activité alimentaire (Loureiro et al., 2009). Néanmoins, la plupart des études actuelles a été réalisée avec des individus exposés à un substrat contaminé artificiellement, et ce avec un seul élément métallique, ce qui est rarement le cas de contamination in situ (généralement multi-élémentaire).

*Dans ce contexte, l'objectif de ce travail a été d'étudier au travers de tests d'évitement, la capacité de *P. scaber* à discriminer des litières de terrain contaminées par Cd, Pb et Zn à des degrés divers.*

1. Matériels et méthodes

Dans le cadre de cette expérimentation, quatre litières de peuplier ont été retenues (TEM, METb, METa et UMI). Des individus ont été exposés individuellement à deux litières simultanément selon cinq situations (TEM-METb ; TEM-METa ; TEM-UMI ; METb-METa ; METa-UMI), ainsi qu'à une 6^{ème} situation témoin (TEM-TEM). Le dispositif expérimental (Figure 77) a été constitué de 60 boîtes de Pétri (\varnothing 9 cm, 10 réplicats par situation) divisées en deux compartiments (A et B) comprenant chacun une litière. Pour cela, un séparateur rigide a été placé au centre de chacune des boîtes, puis 5 g de chacune des litières (tamisées sur maille de 2 mm) ont été déposés de façon homogène de part et d'autre (Figure 76). Après enlèvement du séparateur, les litières ont été humidifiées avec de l'eau osmosée à l'aide d'un spray et recouvertes d'un couvercle percé d'une dizaine de trous (\varnothing 1 mm).

Les boîtes de Pétri ont été placées 48 heures avant le début de l'expérimentation dans des enceintes en plastique contenant une couche de 2 cm de plâtre humidifié pour maintenir une humidité supérieure à 90%, et recouvertes d'une plaque transparente de plexiglas pour permettre les observations (Figure 77). Les enceintes ont été placées à une température de 18°C et à une photopériode de 16 h jours / 8 h nuit. Dans chaque boîte de Pétri, un individu doté de deux antennes intactes a été placé à T_0 sur la ligne médiane. 15 observations ont ensuite été réalisées à différents pas de temps (1, 2, 4, 6, 24, 25, 26, 28, 30, 48, 49, 50, 52 et 54 heures), la localisation (A ou B) des individus a été notée.

Pour chacune des modalités, le pourcentage d'individus se trouvant du côté de la litière la moins contaminée a été calculé pour les observations réalisées à 24 et 48 heures, ainsi que pour le cumul de l'ensemble des observations (observation moyenne sur toute la durée de l'expérimentation). Au regard des effectifs utilisés (10 individus par modalité) et de la probabilité nulle d'éviter la contamination égale à 50%, il a été calculé et admis qu'au risque de 5%, le test d'évitement était jugé significatif lorsqu'au moins 81% des individus avaient choisi la nourriture la moins contaminée, soit 9 individus sur 10 dans le cadre de cette expérimentation (test de Student).

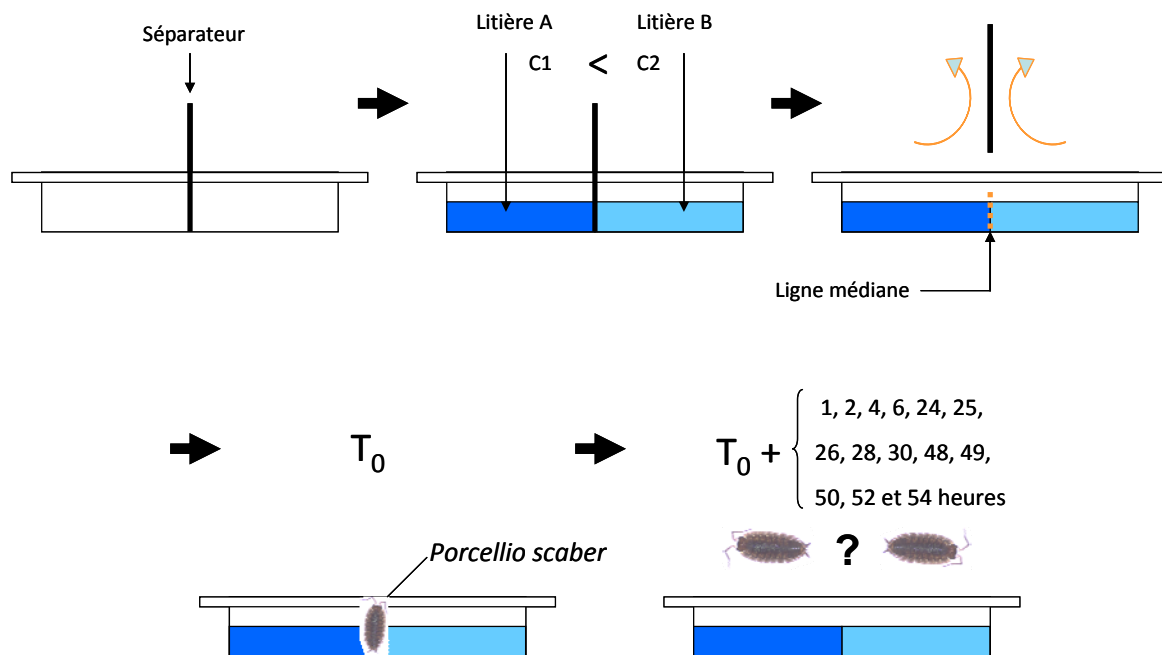


Figure 76 : Schéma indiquant le principe et la mise en place des tests d'évitement



Figure 77 : Dispositif expérimental mis en œuvre pour le test d'évitement

2. Résultats et discussion

La figure 78 présente les pourcentages d'évitement en faveur de la litière la moins contaminée, calculés pour les individus exposés à un choix de litières contaminées à des degrés divers en Cd, Pb et Zn. Au regard du cumul des observations (paramètre plus pertinent que des observations ponctuelles), il a été constaté que dans le cas d'une exposition à la litière témoin (TEM), 50% des individus se trouvaient d'un côté ou de l'autre de la boîte, résultat qui corrobore parfaitement l'hypothèse nulle.

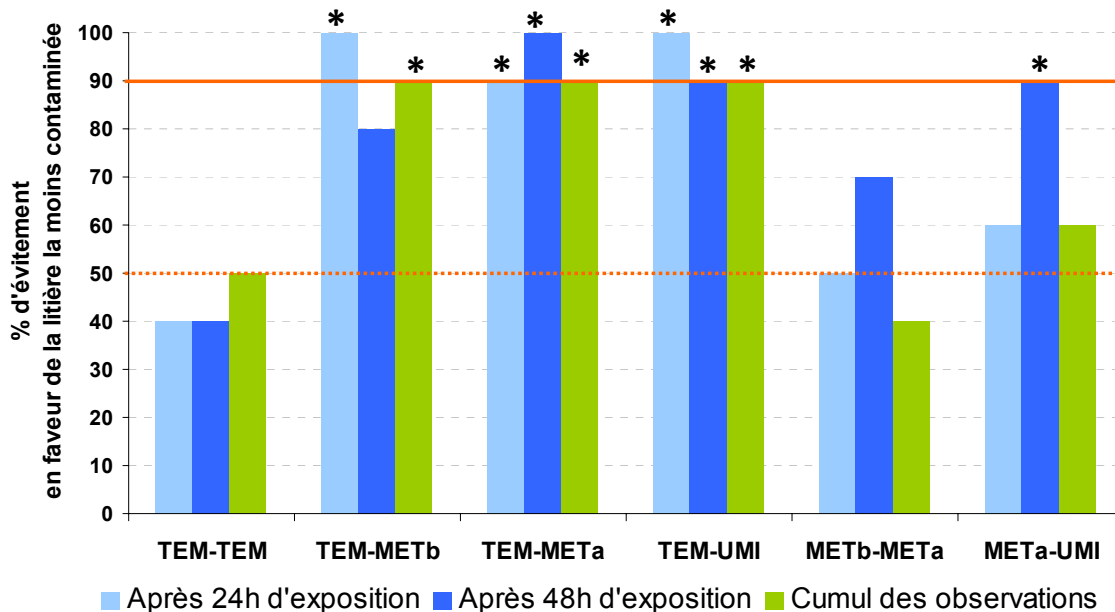


Figure 78 : Histogramme représentant les pourcentages d'individus ayant évité la litière la plus contaminée selon les six modalités (TEM – TEM ; TEM – METb ; TEM – METa ; TEM – UMI ; METb – METa ; METa – UMI), à 24 et à 48 heures, et après le cumul de l'ensemble des observations. * évitement significatif ($p < 0,05$).

Dans les cas des individus exposés simultanément à la litière témoin et à une litière contaminée (METb, METa et UMI), 90% des individus ont discriminé les litières massivement contaminées. De plus, les observations ponctuelles menées à 24 ou à 48 heures ont également montré des résultats significatifs avec un taux d'évitement atteignant parfois 100%. Ces résultats indiquent que *P. scaber* est capable d'éviter une litière de peuplier contenant au moins 33 mg Cd kg⁻¹, 20 mg Pb kg⁻¹, 1 509 mg Zn kg⁻¹. Ces résultats complètent les observations de divers auteurs qui ont aussi montré la capacité des isopodes à discriminer la contamination mono-élémentaire métallique. Ainsi, Odendaal et Reinecke (1999) ont montré que *P. laevis* est capable de discriminer des feuilles de chêne contaminées par 10 000 mg kg⁻¹ de sulfate de cadmium en faveur d'un témoin nul. Zidar et al. (2005) ont observé que *P. scaber* discrimine une alimentation (boulettes préparées à base de feuilles de noisetier, de gélatine et de nourriture pour poisson) contenant 20 mg kg⁻¹ de nitrate de cadmium en faveur d'un témoin non contaminé, et que la discrimination de la nourriture contaminée par les individus augmente avec l'écart de concentration en

Cd entre le témoin et la nourriture contaminée. De plus, Loureiro et al. (2005) ont montré la capacité de *P. scaber* à discriminer un sol artificiel (Lufa 2.2) contaminé par 1 500 mg kg⁻¹ de sulfate de cuivre.

Cependant, de nombreux paramètres pourraient influencer le comportement des isopodes et ceci à plus forte raison lorsque ces derniers sont exposés à des litières collectées *in situ*. Loureiro et al. (2005) ont comparé les résultats obtenus sur un sol naturel non massivement contaminé (1,9 mg Cd kg⁻¹, 33 mg Pb kg⁻¹ et 33 mg Zn kg⁻¹) avec ceux issus d'un sol témoin artificiel (Lufa 2.2.) non contaminé par des ETM. Il a été montré que *P. pruinosus* évite le sol naturel dans 75 ou 100 % des cas. Ce résultat n'était pas attendu par les auteurs dans la mesure où le sol naturel était argileux, plus riche en matière organique, peu contaminé par les ETM alors que le sol artificiel était plus acide (4,14 contre 5,03). La sensibilité des isopodes au pH, comme l'avaient montré Van Straalen et Verhoef (1997), pourrait expliquer le comportement d'évitement observé. Loureiro et al. (2005) avancent d'autres hypothèses pour expliquer leurs résultats : (1) une fraction biodisponible des ETM plus faible, (2) une interaction entre les éléments induisant une faible toxicité, (3) l'existence de composés non étudiés. L'ensemble de ces données souligne donc l'existence de nombreux paramètres pouvant influencer le comportement des isopodes dans le cadre de tests d'évitement.

Dans le cas d'une exposition simultanée à deux litières massivement contaminées (METb – METa ou METa – UMI), l'évitement de la litière la plus contaminée par des ETM n'a été observé que dans le cas METa – UMI, à 48 heures. Ces résultats supposeraient que la capacité des isopodes à détecter le degré de contamination de litières serait plus limitée en cas de fortes contaminations, et à plus forte raison lorsque l'écart de la contamination entre les deux nourritures évaluées serait faible (ce qui est le cas pour les litières METb et METa avec Cd et Zn). Il existerait donc un seuil de contamination de la nourriture au delà duquel les isopodes ne seraient plus capables de discriminer leur nourriture.

Par ailleurs, les sites massivement contaminés montrent fréquemment une pollution hétérogène (Van Oort et al., 2009), et les litières sont souvent constituées de diverses essences végétales accumulant différemment les ETM dans leurs feuilles. Il serait alors plus difficile pour les isopodes de distinguer le degré de contamination des litières. Les résultats obtenus suggèrent qu'en situation de terrain, les isopodes pourraient s'alimenter préférentiellement des feuilles les moins contaminées. Ce comportement d'évitement, directement en lien avec la diversité alimentaire des habitats et le budget énergétique des individus, pourrait avoir un rôle écologique majeur dans la dynamique de population vivant dans des environnements massivement contaminés par des ETM.

Ces résultats montrent l'intérêt des tests comportementaux dans l'évaluation de la qualité des sols et particulièrement des litières contaminées par des ETM. Ces tests d'évitement sont simples à mettre en place au laboratoire et reflètent des conditions réelles d'exposition en mettant en œuvre des litières issues du terrain. De plus, le test d'évitement s'avère être plus sensible que d'autres paramètres tels que

la reproduction ou la croissance (Loureiro et al., 2005) et les effets peuvent être observés à très court terme. Il serait toutefois nécessaire d'étudier le comportement d'évitement de *P. scaber* sur un plus large gradient de contamination, et ceci afin d'évaluer la sensibilité des individus à détecter les contaminants métalliques. En parallèle, il serait aussi intéressant sur des sites massivement contaminés d'étudier la capacité d'accumulation des ETM des différentes essences végétales constituant les litières, et de soumettre aux isopodes ces différentes essences dans des tests comportementaux afin de mieux comprendre le comportement alimentaire des populations vivant sur des sites massivement contaminés par des ETM et d'étudier son impact sur le budget énergétique des populations.

Chapitre V :

Synthèse et perspectives

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une problématique liée à la contamination des sols par les éléments traces métalliques (ETM) et à la nécessité de développer des outils d'indication permettant le diagnostic et le suivi de la qualité des milieux terrestres, notamment ceux pollués par des ETM. En effet, le développement d'indicateurs opérationnels de la qualité des sols constitue l'une des priorités de recherche sur les sols, et ceci à l'échelle européenne (AFES, 2009). Dans la stratégie pour la protection des sols (Commission Européenne, 2006), l'importance du sol en tant qu'habitat et réserve de biodiversité a été clairement identifiée, mais aucune mesure n'a été demandée aux Etats Membres compte tenu du manque d'outils pertinents. Dans ce contexte, l'ADEME a développé un programme de recherche, initié en 2004, visant à développer les recherches sur la composante biologique des sols afin de définir des indicateurs venant compléter des outils physico-chimiques déjà disponibles. C'est dans cet esprit que s'inscrit ce travail de thèse dont l'objectif a été de rechercher chez deux modèles biologiques, *Oniscus asellus* et *Porcellio scaber*, des paramètres indicateurs de la contamination des sols et spécifiquement celle des litières. Ces études contribueront à la mise au point d'un outil écotoxicologique de terrain à destination des gestionnaires de l'environnement, visant à renseigner sur la qualité des milieux et sur l'état de fonctionnement des écosystèmes.

Les deux espèces considérées présentent des avantages certains pour être utilisées en tant qu'outil écotoxicologique. Ainsi, comme Drobne (1997) l'avait déjà évoqué pour les isopodes, ces deux espèces présentent de nombreux avantages en tant que modèle pour l'évaluation de la toxicité de litières :

- leur rôle fonctionnel dans l'écosystème sol en fragmentant et digérant des litières,
- leur résistance et leur capacité à accumuler des ETM,
- leur abondance (en milieu naturel ou anthropisé) et leur distribution géographique,
- leur facilité d'échantillonnage, d'identification et d'élevage en laboratoire,
- de bonnes connaissances sur leur biologie et leur écologie,
- les nombreuses réponses mesurables en lien avec les ETM (cf. tableau 1).

Par ailleurs, ces organismes qui vivent et se nourrissent au sein des litières, sont des acteurs majeurs de la minéralisation des matières organiques et donc des cycles des nutriments. Leur utilisation en tant qu'organisme indicateur permet donc de renseigner sur l'état de ces horizons organiques, aux propriétés physico-chimiques spécifiques et au caractère dominant dans les habitats ligneux (forêts, bois, plantations arborées, bosquets ...), par ailleurs relativement peu étudiés en dépit des risques environnementaux et sanitaires qu'ils pourraient représenter.

Le travail réalisé a porté d'une part, sur des études menées *in situ* à l'échelle de la région Nord – Pas de Calais. Ces études ont concerné la caractérisation de populations d'isopodes (abondance, structuration

par âge, paramètres liés à la reproduction, paramètres biométriques, bioaccumulation) issues d'habitats ligneux, et ceci en lien avec les paramètres physico-chimiques des sols. D'autre part, en parallèle des études de terrain, des démarches *ex situ* menées au laboratoire en conditions contrôlées ont été réalisées. Elles ont concerné des paramètres tels que la croissance, la bioaccumulation, le comportement d'évitement ou encore la dynamique de population, et ceci chez *P. scaber* exposé à des litières de peuplier présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. L'avantage de ces études *ex situ* réside d'une part, dans le fait qu'elles utilisent du matériel issu du terrain reflétant ainsi des conditions réelles d'exposition et d'autre part, qu'elles sont réalisées dans des conditions simplifiées et contrôlées, permettant de s'affranchir de certains facteurs biotiques et abiotiques susceptibles d'influencer les réponses observées.

En considérant les investigations menées *in situ*, il n'a pas été mis en évidence de différence entre les populations étudiées, et ceci qu'elles soient issues de milieux massivement contaminés par des ETM ou non. Au regard des paramètres étudiés dans la présente étude, il a notamment été observé que les populations d'isopodes vivant aux alentours des sites industriels considérés ne présentaient pas de signes distinctifs particuliers en lien avec les effets des contaminants métalliques sur les individus ou les populations. Les isopodes terrestres pouvaient même être très abondants sur des sites massivement contaminés par des ETM où les concentrations mesurées dans les litières avoisinaient 65 mg Cd kg⁻¹, 261 mg Pb kg⁻¹ et 6800 mg Zn kg⁻¹ (Chap III, A, B). Schill et Köhler (2004) ont aussi observé que *P. scaber* était capable de vivre sur des sites massivement contaminés (Avonmouth, sud-ouest de l'Angleterre) par des ETM, et ceci sans impact significatif sur leurs réserves énergétiques. De plus, Hopkin et Hames (1994) avaient également fait le constat que *P. scaber* était présent dans cette région, et que cette espèce vivait sur des sols où les concentrations dans les litières dépassaient 5000 mg Zn kg⁻¹.

Par ailleurs, les études biométriques n'ont pas révélé d'effet de la pollution métallique sur la taille des individus ou la structuration par âge des populations, et ceci à la fois chez *O. asellus* et *P. scaber* (Chap III, B). De plus, la stabilité du développement chez *P. scaber* ne semble pas être affectée chez les populations exposées *in situ* à une contamination massive (Chap III, C). Il est toutefois à noter que les paramètres biométriques étudiés *in situ* semblent difficiles à interpréter, du fait notamment de l'importante variabilité (intra- et inter-populationnelle) observée. Par ailleurs, les analyses statistiques réalisées restent encore sommaires. Des analyses complémentaires sur les données biométriques utilisant d'autres outils statistiques, comme par exemple la méthode de Landmark, devraient permettre de valider ou non ces premières observations.

L'absence d'effets des ETM sur la biométrie des organismes, et ceci bien que les individus issus de sites massivement contaminés soient fortement imprégnés, suggérerait que les populations étudiées soient physiologiquement adaptées à la contamination. En effet, il est à penser que du fait de l'ancienneté de la

pollution au voisinage des sites métallurgiques considérés (début des années 1900), des processus d'adaptation aient pu se mettre en place au sein des populations présentes, et ceci en lien avec la sélection naturelle. Plusieurs hypothèses concernant des stratégies d'adaptation chez les isopodes terrestres ont été suggérées dans la bibliographie. Elles concernent plus spécifiquement un changement de l'allocation des réserves énergétiques, une intensification des mécanismes de détoxification, des changements dans le cycle de vie (i.e. croissance, reproduction précoce) ou encore l'évitement des contaminants métalliques (Donker et al., 1993 ; Schill et Köhler, 2004). L'hypothèse d'une adaptation populationnelle peut aussi être mise en relation avec l'abondance des isopodes sur les sites contaminés. Alors qu'une réduction de l'abondance et de la diversité des invertébrés terrestres a été observée sur des sites fortement contaminés par des ETM (Jackson et Waston, 1977 ; Strojan, 1978 ; Bisessar, 1982, Bengtsson et Rundgren, 1984), et notamment à proximité de l'ancienne fonderie Metaleurop Nord et de la friche de la CRAM (Grelle, 1998 ; Nahmani, 2002, 2003 ; Godet et al., 2008), les isopodes, très présents, apparaissent particulièrement résistants à la contamination métallique des sols de ces sites.

En ce qui concerne les expérimentations *ex situ*, une première démarche a visé l'exposition en laboratoire de *P. scaber* issu de populations saines, à des litières de peuplier collectées à proximité d'usines métallurgiques, et présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les résultats ont montré les effets néfastes des ETM sur la dynamique de population de ces isopodes exposés en microcosmes (Chap IV, B). En effet, il a notamment été observé une augmentation de la mortalité et une diminution de la croissance des populations en lien avec l'augmentation du degré de contamination des litières. Cette expérimentation a aussi révélé la forte toxicité de certaines litières telles que celles collectées à proximité de l'usine Umicore et qui ont induit 100% de mortalité des individus après 8 mois d'exposition. De plus, les tests d'écotoxicité ont clairement mis en évidence l'effet des litières contaminées sur la croissance de *P. scaber*. Ainsi, il a été montré une diminution de la croissance de *P. scaber* issu d'un environnement sain, avec l'augmentation du degré de contamination des litières (Chap IV, C). Ces résultats (acquis en laboratoire avec des populations d'élevage non contaminées), ainsi que ceux acquis dans le cadre d'autres travaux (voir Tableau 1) attesteraient d'une part, l'impact d'une exposition aux ETM sur des populations non pré-exposées et d'autre part, plaideraient là encore en faveur d'une adaptation des populations vivant sur des sites massivement contaminés.

Cependant, il a été observé en laboratoire, et de façon contradictoire, que la croissance de *P. scaber* était d'autant plus affectée lorsqu'il s'agissait d'individus pré-exposés à un environnement massivement contaminé par des ETM (Chap IV, D). Cette observation suggérerait une croissance plus lente des individus vivant sur des sites massivement contaminés. Cette hypothèse pourrait être rapprochée des observations de Jones et Hopkin (1998) qui avaient notamment montré une réduction de la taille de *P. scaber* le long d'un gradient croissant de contamination des sols par des ETM. Toutefois, selon les

paramètres considérés dans le cadre des présentes études de terrain, les résultats n'ont pas pu mettre en évidence une influence particulière des ETM sur la biométrie des individus *in situ*. En effet, les structurations par âges des populations n'ont pas montré d'effets de la contamination métallique des sols, ou de retard de croissance chez des individus exposés à une contamination massive (Chap III, B). Bien que les études de terrains aient été réalisées de façon ponctuelle (et non cinétique), ces constats pourraient là-encore être liés à des mécanismes adaptatifs qui permettraient aux populations exposées aux ETM de compenser rapidement des décalages de croissance précoces (observables après 28 jours d'exposition dans ce présent travail). De plus, l'importante variabilité biométrique (intra- et inter-populationnelle) observée *in situ* rend les extrapolations *in situ/ ex-situ* difficiles en termes de croissance des individus.

Par ailleurs, les fortes teneurs en ETM mesurées dans les individus issus des sites massivement contaminés suggèreraient aussi fortement une adaptation physiologique des populations. En effet, bien que dans le cadre des études menées *in situ*, les teneurs mesurées correspondaient plutôt à un degré d'imprégnation global des individus qu'à une mesure précise de l'accumulation des contaminants dans les organismes, il a été observé que les individus issus de sites massivement contaminés pouvaient contenir plus de 200 mg Cd kg⁻¹, 300 mg Pb kg⁻¹, et plus de 2000 mg Zn kg⁻¹.

Au regard de ces observations et de l'adaptation potentiel des isopodes aux contaminants métalliques, les résultats montrent que le degré d'imprégnation de *P. scaber* ne permet pas forcément l'évaluation des risques individuels et populationnels *in situ*. En revanche, il a été observé que les concentrations mesurées dans les individus *in situ* pouvaient être corrélées avec les concentrations mesurées dans les différents horizons du sol (organiques ou organo-minéraux), comme cela avait déjà été observé dans les travaux d'Hopkin et al. (1986, 1993) dans d'autres contextes environnementaux. Elles ne peuvent cependant pas prédire les concentrations en ETM des sols (Hopkin et al., 1986), mais uniquement renseigner sur leur degré de contamination. En effet, des travaux ont mis en évidence l'existence d'interactions entre le Cd et le Zn dans l'accumulation de ces éléments chez les isopodes (Witzel, 2000 ; Odendaal et Reinecke, 2004b ; Godet et al., 2010), pouvant ainsi minimiser l'imprégnation des organismes et donc biaiser leur caractère indicateur du degré de contamination des sols. De plus, il a été observé dans le cadre de cette étude une importante variabilité individuelle dans la mesure des bioconcentrations en ETM chez *P. scaber*, comme dans le cadre d'autres travaux (Hopkin et Martin, 1984). Néanmoins, l'imprégnation des organismes permettrait l'évaluation des transferts des contaminants métalliques vers les prédateurs des isopodes (micromammifères, oiseaux, batraciens, araignées...), et plus largement vers les réseaux trophiques en générale. En effet, au vu des fortes teneurs en ETM mesurées dans les isopodes sur des sites massivement contaminés et en considérant leurs nombreux prédateurs (Avery 1966 ; Sunderland et Sutton, 1980), la contamination métallique des

milieux pourrait sérieusement impactée les populations prédatrices des isopodes (Hopkin, 1994), comme elle impacte localement d'autres populations (ex : Grelle et al. 2000 ; Fritsch, 2009).

Parallèlement, les études *ex situ* réalisées en conditions contrôlées au laboratoire chez *P. scaber* ont aussi permis de mettre en évidence l'intérêt de certains paramètres tels que la croissance et le comportement d'évitement comme outil de diagnostic permettant d'évaluer le degré de contamination de litières. Il a été montré, dans ce présent travail, que l'utilisation de la croissance et de l'évitement chez *P. scaber* dans des tests d'écotoxicité, pouvait informer de manière assez rapide sur la qualité des litières collectées *in situ*, et notamment sur leur degré de contamination. Ainsi, il a été observé une diminution de la croissance de *P. scaber* avec l'augmentation du degré de contamination de litières (Chap IV, C, D). Bien que des auteurs suggèrent que l'utilisation de la croissance chez *P. scaber* dans des tests d'écotoxicité ne soit pas pertinente en raison de la variabilité individuelle dans la croissance des individus (Drobne, 1997 ; Van Capelleveen, 1987), ce paramètre apparaît ici comme étant sensible au degré de contamination des sols, et ceci de façon précoce. S'il est vrai que cette variabilité individuelle existe, des différences significatives ont néanmoins été mises en évidence, et ceci dès sept jours d'exposition. De plus, des corrélations significatives ont été observées entre le gain de poids des individus et le degré de contamination des litières. La répétabilité des mesures (Chap IV, C, D) a également montré la fiabilité de l'utilisation de la croissance chez *P. scaber* dans l'évaluation de la qualité des litières.

De plus, le comportement d'évitement en lien avec les contaminants métalliques chez les isopodes terrestres a récemment fait l'objet de nombreuses études (Zidar et al., 2003 ; Zidar et al., 2004 ; Loureiro et al., 2005 ; Zidar et al., 2005 ; Loureiro et al., 2009 ; Zidar et al., 2009). Ces études ont notamment révélé la capacité des isopodes à discriminer un substrat contaminé par des ETM. Alors que la plupart de ces études avait concerné une contamination artificielle (i.e. sels métalliques), le plus souvent de façon mono-élémentaire, et/ou avec l'utilisation de substrat inadapté (i.e. sol artificiel), le présent travail a été réalisé sur des litières de peuplier issues du terrain et présentant un degré de contamination multi-élémentaire reflétant les conditions réelles d'exposition des populations (Chap IV, E). Les résultats ont mis en évidence l'intérêt de l'utilisation des tests comportementaux chez *P. scaber* afin d'évaluer le degré de contamination *in situ* de litières. Bien que des études complémentaires restent nécessaires, il semblerait toutefois que les tests basés sur l'évitement soient un peu moins sensibles au degré de contamination des litières que ne le sont les tests de croissance. Néanmoins, les réponses obtenues avec les tests d'évitement peuvent être observables à plus courts termes (dès 48 h d'exposition contre 28 jours pour la croissance).

Il convient néanmoins de tempérer ces premiers constats. En effet, bien que l'évaluation de la qualité de litières au travers d'études *ex situ* présente des avantages certains, et particulièrement en termes de réalisme, les paramètres tels que la croissance et l'évitement pourraient être influencés par d'autres

facteurs que la contamination. Parmi ces derniers, ceux liés aux préférences alimentaires des isopodes et aux différences spécifiques existant entre les espèces végétales vis-à-vis de l'accumulation des ETM peuvent jouer un rôle important. En effet, il est connu que les isopodes sont sensibles à la qualité de leur alimentation, en lien particulièrement avec l'activité microbienne et la nature des feuilles (Zimmer, 2002). Il a d'ailleurs été montré dans ce travail que *P. scaber* présentait des préférences alimentaires pour certaines essences végétales telles que le charme (Chap II, C). De ce fait, il conviendrait dans l'utilisation future de ce type de test de choisir préférentiellement des litières mono-spécifiques de manière à limiter l'influence de ces facteurs sur le comportement des isopodes et/ou leur croissance.

Pour conclure, même si certaines hypothèses et résultats méritent d'être vérifiées, le travail réalisé dans le cadre de cette thèse a mis en évidence l'intérêt de l'utilisation du modèle isopode, et plus particulièrement de *P. scaber*, comme indicateur du degré de contamination métallique des litières prélevées *in situ*. Les tests à préconiser dans ce cadre seraient préférentiellement des expérimentations menées en laboratoire, et ceci en se rapprochant le plus possible des conditions réelles d'exposition. Au regard des principaux résultats, seraient à privilégier les tests d'évitement qui proposent une réponse précoce (à 48 heures) mais nécessitent des situations d'exposition nettement tranchées, alors que les tests de croissance, plus sensibles au gradient de contamination, nécessitent des expositions plus longues (28 jours). Ces résultats mériteraient néanmoins d'être validés dans d'autres contextes environnementaux (autres éléments métalliques, autres types de pollution, litières de nature différente, autres régions...). Aux validations indispensables de ces résultats, il conviendrait aussi d'intégrer dans une approche à venir, d'autres tests écotoxicologiques qui n'ont pu être réalisés dans ce présent travail par manque de temps (réserves énergétiques, stress oxydant, protéines de stress...). Par ailleurs, les hypothèses d'adaptation émises au regard des résultats acquis sur les populations issues des sites contaminés étudiés, et qui mettent en évidence notamment des résultats *in situ* contradictoires à la fois aux données de laboratoire et à des données bibliographiques issues d'autres contextes industriels, mériteraient d'être approfondies.

Outre les aspects écotoxicologiques développés dans ce manuscrit, ce travail a également permis de collecter de nombreuses données concernant les paramètres physico-chimiques et descriptifs des sols d'habitats ligneux régionaux, et ceci pour différents horizons (organiques ou organo-minéraux). Utilisées de façon très synthétique dans ce travail, les analyses complémentaires de ces données devraient aussi contribuer à mieux comprendre le fonctionnement des écosystèmes de type forestier, et notamment les mécanismes de transfert des contaminants métalliques dans les sols et vers les chaînes trophiques.

Au regard des politiques régionales et nationales de gestion et de requalification des espaces fortement contaminés, qui s'orientent de plus en plus vers le phytomanagement, ces habitats ligneux sont appelés

à se développer, notamment autour de l'ancien site de Metaleurop. Au changement d'usage des sols, s'associe à l'afforestation, l'apparition d'une composante holorganique (horizons OL à OH) dans la structure des sols. Ces litières, interfaces organiques complexes et évolutives entre l'atmosphère et les horizons minéraux des sols, sont le siège de processus essentiels de minéralisation et renseignent sur le fonctionnement global de l'écosystème. L'outil écotoxicologique de terrain proposé dans le cadre de cette thèse devrait contribuer plus spécifiquement au diagnostic de la qualité de cette composante particulière du sol, encore relativement peu étudiée en milieux contaminés. Il permettra à termes de fournir aux gestionnaires en charge de ces espaces des indicateurs fiables et pertinents.

Références bibliographiques

A

- Achouri, M.S., Charfi-Cheikhrouha, F., 2006. Reproduction and growth strategies of two sympatric species of the genus *Porcellionides* (Isopoda, Oniscidea) in Tunisia. *Crustaceana*, 79, 843-864.
- Achouri, M.S., Charfi Cheikhrouha, F., Zimmer, M., 2008. Reproductive patterns in syntopic terrestrial isopod species (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) from Morocco. *Pedobiologia*, 52, 127-137.
- Alikhan, M., 1972. Haemolymph and hepatopancreas copper in *Porcellio laevis* Latreille (Porcellionidae, Peracarida). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 42 (A), 823-832.
- Alikhan, M., 2003. Effect of copper and Nickel contaminants on growth and fecundity in *Porcellio spinicornis* (Isopoda). *Crustaceana Monographs*, 2, 285-297.
- Auzou, M., 1953. Recherches biologiques et physiologiques sur deux isopodes onisciens: *Porcellio scaber* Lat. et *Oniscus asellus* L. *Annales des Sciences naturelles, Zoologie, Serie 11*, 15, 71-78.

B

- Baize, D., 1997. Détection de contaminations modérées en éléments traces dans les sols agricoles. *Analysis Magazine*, 25, 29-35.
- Baize, D., 2000. Guide des analyses en pédologie. INRA, Editions, Paris.
- Balabane, M., Faivre, D., van Oort, F., Dahmani-Muller, H., 1999. Mutual effects of soil organic matter dynamics and heavy metals fate in a metallophyte grassland. *Environmental Pollution*, 105, 45-54.
- Beck, L., 1993. Zur Bedeutung der Bodentiere für den Stoffkreislauf in Wäldern. *Biol Unserer Zeit*, 23, 286-294
- Beeby, A., 1993. *Applying Ecology*. Chapman & Hall, London, UK.
- Bengtsson, L., Enell, M., 1986. Chemical analysis. In Berglund, B.E. (ed.), *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 423-451.
- Berg, B., 1986. Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils – a mini review. *Scand J For Res*, 1, 359-369.
- Berg, B., Ekbohm, G., Soderstrom, B., Staaf, H., 1991. Reduction of decomposition rates of scots pine needle litter due to heavy-metal pollution. *Water Air and Soil Pollution*, 59, 165-177.
- Berg, B., Staaf, H., 1987. Release of nutrients from decomposing white birch leaves and Scots pine needle litter. *Pedobiologia*, 30, 55-63.
- Besse, G., 1976. Contribution à l'étude expérimentale de la physiologie sexuelle femelle chez les crustacés isopodes terrestres. Thèse Université de Poitiers.
- Beyer, W. N., Miller, G. W., Cromartie, E. J., 1984. Contamination of the O₂ soil horizon by zinc smelting and its effects on woodlouse survival. *J. Environ. Qual.* 13, 247-251.
- Beyer, W.N., Anderson, A., 1985. Toxicity to woodlice of zinc and lead oxides added to soil litter. *Ambio* 14, 173-174.
- Beyer N.W., Hensler G., Moore J., 1987. Relation of pH and other soil variables to concentration of Pb, Cu, Zn, Cd, and Se in earthworms, *Pedobiologia*, 30, 167-72.

- Bischoff, B., 1982. Effects of cadmium on microorganisms. *Ecotox. Environ. Safe.* 6, 157-165.
- Biwier, A., 1961a. Quantitative Untersuchungen über die Bedeutung der Asseln und der Bakterien für die Fallaubzersetzung unter Berücksichtigung der Wirkung künstlicher Düngemittelzusätze. Teil I. – *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 48, 307-328.
- Biwier, A., 1961b. Quantitative Untersuchungen über die Bedeutung der Asseln und der Bakterien für die Fallaubzersetzung unter Berücksichtigung der Wirkung künstlicher Düngemittelzusätze. Teil II. – *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 48, 377-394.
- Blandin, P., 1986. Bioindicateurs et diagnostic des systèmes écologiques. *Bulletin d'écologie*, 17 (4), 215-307.
- Boucher, U., Balabane, M., Lamy, I., Cambier, P. 2005. Decomposition in soil microcosms of leaves of the metallophyte *Arabidopsis halleri*: effect of leaf-associated heavy metals on biodegradation. *Environmental Pollution*, 135, 187-194.
- Bourrelie, P.H., Berthelin, J., 1998. La contamination de sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion, Académie des sciences, rapport n° 42, TEC&DOC, Paris.
- Boyd, R.S., Davis, M.A., Balkwill, K., 2008. Does hyperaccumulated nickel affect leaf decomposition? A field test using *Senecio coronatus* (Asteraceae) in South Africa. *Chemoecology*, 18, 1-9.
- Brereton, J.L.G., 1956. A study of some factors controlling the population of some terrestrial isopods. Thèse Université d'Oxford.

C

- Cameron, G., Lapoint, T., 1978. Effects of tannins on the decomposition of Chinese tallow.
- Cisternas, R., Mignolet, R., 1982. Accumulation of lead in decomposing litter. *Oikos*, 38, 361-364.
- Clarke, G.M., McKenzie, L. J., 1992. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. *Journal of economic entomology*, 85, 2045-2050.
- Clarke, G.M., 1993. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environ. Pollut.* 82, 207-211.
- Cortet, J., Gomot-De Vaufleury, A., Poinot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.* 35, 115-134.
- Coughtrey, P., Martin, M., Young, E., 1977. The woodlouse, *Oniscus asellus*, as a monitor of environmental cadmium levels. *Chemosphere*, 12, 827-832.
- Coughtrey, P., Martin, M., Chard, J., Shales, S., 1980. Micro-organisms and metal retention in the woodlouse *Oniscus asellus*. *Soil Biology and Biochemistry*, 12, 23-27.
- Crommentuijn, T., 1994. *Sensitivity of soil arthropods to toxicants*. PhD thesis, Free University, Amsterdam.

D

- Dallinger, R., 1977. The flow of copper through a terrestrial food chain. Part III. Selection of an optimum copper diet in isopods. *Oecologia*, 30, 273-276.
- Dean, W.E. Jr., 1974. Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. *J. Sed. Petrol.* 44, 242-248.

- Donker, M. H., Bogert, C. G., 1991. Adaptation to cadmium in three populations of the isopod *Porcellio scaber*. *Comp. Biochem. Physiol.* 100(C), 143–146.
- Donker, M.H., 1992. Energy Reserves and Distribution of Metals in Populations of the Isopod *Porcellio scaber* from Metal-Contaminated Sites. *Functional Ecology*, 6, 445-454
- Donker, M.H., Zonneveld, C., van Straalen, N.M., 1993. Early reproduction and increased reproductive allocation in metal-adapted populations of the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Oecologia*, 96, 316-323.
- Douay, F., Perdrix, E., Fourrier, H., Plaisance, H., 2001. Programme de Recherches Concertées. Environnement et Activités humaines. Etude d'un secteur pollué par les métaux. Cartographie des teneurs en cadmium, plomb et zinc dans les horizons organo-minéraux des parcelles agricoles autour des sites métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. 27 p.
- Douay, F., Pruvot, C., Mazzuca, M., Howsam, M., Fourrier, H., de Saint Mahieu, A.S., Waterlot, C., 2005. Cadmium, lead and zinc concentrations in soil and vegetables from kitchen gardens in urban and highly-contaminated areas of northern France: evaluation of the risk of population exposure. Proceedings of the 9th International FZK/TNO Conference on Soil-Water Systems, Bordeaux, France, pp. 667-676.
- Douay, F., Roussel, H., Fourrier, H., Heyman, C., Chateau, G., 2007. Investigation of Heavy Metal Concentrations on Urban Soils, Dust and Vegetables Nearby a Former Smelter Site in Mortagne du Nord, Northern France. *J Soils Sediments*, 7, 143-146.
- Douay, F., Pruvot, C., Roussel, H., Ciesielski, H., Fourrier, H., Proix, N., Waterlot, C., 2008. Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters. *Water Air and Soil Pollution*, 188, 247-260.
- Douay, F., Pruvot, C., Waterlot, C., Fritsch, C., Fourrier, H., Loriette, A., Bidar, G., Grand, C., de Vaufléury, A., Scheifler, R., 2009. Contamination of woody habitat soils around a former lead smelter in the North of France. *Science of the Total Environment*, 407, 5564-5577.
- Drobne, D., 1997. Terrestrial isopods - A Good choice for toxicity testing of pollutants in the terrestrial environment. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 1159-1164.
- Drobne, D., Hopkin, S. P., 1994. Ecotoxicological laboratory test for assessing the effects of chemicals on terrestrial isopods. *Bull Environ Contam Toxicol.* 53, 390-397.
- Drobne, D., Hopkin, S., 1995. The toxicity of zinc to terrestrial isopods in a „standard“ laboratory test. – *Ecotoxicology and environmental Safety*, 31, 1-6.
- Drobne, D., Štrus, J., 1996. Moulting frequency of the isopod *Porcellio scaber*, as a measure of Zn-contaminated food. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, 126-130.
- Dudgeon, D., Ma, H.H.T., Lam, P.K.S., 1990. Differential palatability of leaf litter of four sympatric isopods in a Hong Kong forest. *Oecologia*, 84, 398-403.
- Dunger, W., 1958. Über die Zersetzung der Laubstreu durch die Boden-Makrofauna im Auenwald. *Zool. Jb. Syst.* 86, 139-180.
- Dunger, W., 1983. Tiere im Boden. Ziemsen, Wittenberg

E – F – G

- Echaubard, M., 1995. Les animaux comme indicateurs biologiques de pollution. ANPP. *Colloque International Marqueurs Biologiques de Pollution/ Biological Markers Pollution, PSV, Imprimerie, Créteil, France*, pp. 335-338.
- Edwards, C.A., Bohlen, P.J., 1996. Biology and ecology of earthworms. 3rd ed. Chapman & Hall, London, UK.
- Fabritius, H., Walther, P., Ziegler, A., 2005. Architecture of the organic matrix in the sternal CaCO₃ deposits of *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Journal of Structural Biology*, 150(2), 190-199
- Fritsch, C., 2010. Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres. Thèse de l'Université de Franche-Comté. 345 p.
- Fritsche, H., 1934. Über Wanderungen von *Porcellio scaber* (Sars). – *Zoologischer Anzeiger* 107, 62-64.
- Gál, J., Markiewicz Patkowska, J., Hursthouse, A., Tatner, P., 2008. Metal uptake by woodlice in urban soils. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 69, 139-149.
- Garrec, J.P., Van Haluwyn, C., 2002, *Biosurveillance végétale de la qualité de l'air*, Tec&Doc, 116 p.
- Gillet, S., Ponge, J.F., 2002. Humus forms and metal pollution in soil. *Eur. J. Soil Sci.* 53, 529-539.
- Godet, J.P., Demuynck, S., Waterlot, C., Follet, A., Douay, F., Leprêtre, A., Pruvot, C., 2008. Intérêt de l'utilisation de la biométrie chez les isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols pollués par des éléments traces métalliques (Cd, Pb, Zn). Société Suisse de Pédologie.
- Grelle, C., 1998. Impact des métaux lourds sur les peuplements de macroinvertébrés de la faune du sol - Influence du cadmium et du plomb sur différents aspects de la physiologie de deux modèles biologiques : *Lithobius forficatus* (Myriapode Chilopode) et *Eisenia fetida* (Annélide Oligochète). Université de Lille 1.
- Grelle, C., Fabre, M.-C., Leprêtre, A., Descamps, M., 2000. Myriapod and isopod communities in soils contaminated by heavy metals in northern France. *European Journal of Soil Science*, 51, 425-433.
- Gunnarsson, T., 1987. Selective feeding on a maple leaf by *Oniscus asellus* (Isopoda). *Pedobiologia*, 30, 161-165.
- Gunnarsson, T., 1987. Selective feeding on a maple leaf by *Oniscus asellus* (Isopoda). *Pedobiologia*, 30, 161-165.
- Gunnarsson, T., Tunlid, A., 1986. Recycling of fecal pellets in isopods: microorganisms and nitrogen compounds as potential food for *Oniscus asellus* L. *Soil Biol. Biochem.* 18, 595-600.

H

- Hames, C.A C., Hopkin, S.P., 1989. The structure and function of the digestive system of terrestrial isopods. *J. Zool. Lond.* 217, 599-627.
- Hassall, M., Rushton, S., 1984. Feeding behaviour of terrestrial isopods in relation to plant defences and microbial activity. *Symposia of the zoological Society of London*, 53, 487-505.
- Hassall, M., Sutton, S.L., 1978. The role of isopods as decomposers in a dune grassland ecosystem, *Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society*, A6, pp. 235-245.
- Hatchett, S.P., 1947. Biology of the Isopoda of Michigan. *Ecol. Monogr.* 17, 47-79.

- Heiri, O., Lotter A.F., Lemcke, G., 2001. Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. *Journal of Paleolimnology*, 25, 101-110.
- Hendrickx, F., Maelfait, J.-P., De Mayer, A., Tack, F.M.G., Verloo, M.G., 2003. Storage mediums affect metal concentration in woodlice (Isopoda). *Environmental Pollution*, 121, 87-93.
- Hoese, B., 1981. Morphologie und Funktion des Wasserleitungssystems der terrestrischen Isopoden (Crustacea, Isopoda, Oniscoidea). *Zoomorphology*, 98, 135-167.
- Höese, B., 1989. Morphological and comparative studies on the second antennae of terrestrial isopods. *Monitore zoologico italiano, Nuova Serie, Monografia*, 4, 127-152.
- Hopkin, S. P., 1989. *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates*. Elsevier Applied Sciences, London, 1-366.
- Hopkin, S., Jones, D.T., Dietrich, D., 1993. The isopod *Porcellio scaber* as a monitor of the bioavailability of metals in terrestrial ecosystems: towards a global 'woodlouse watch' scheme. *Sci. Total Environ.* 357-365.
- Hopkin, S., 1990. Species-specific differences in the net assimilation of zinc, cadmium, lead, copper and iron by the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *Journal of applied Ecology*, 27, 460-474.
- Hopkin, S., Hames, C., 1994. Zinc, among the "cocktail" of metal pollutants, is responsible for the absence of the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from the vicinity of a primary smelting works. *Ecotoxicology*, 2, 68-78.
- Hopkin, S., Hames, C., Dray, A., 1989. X-ray microanalytical mapping of the intracellular distribution of pollutant metals. *Microscopy and Analysis*, 14, 23-27.
- Hopkin, S., Martin, M., 1985. Assimilation of zinc, cadmium, lead, copper, and iron by the spider *Dysdera crocata*, a predator of woodlice. *Bulletin of environmental Contamination and Toxicology*, 34, 183-187.
- Hopkin, S., Hardisty, G.N., Martin, M.H., 1986. The Woodlouse *Porcellio scaber* as a 'Biological Indicator' of Zinc, Cadmium, Lead and Copper Pollution. *Environmental Pollution (Series B)*, 11, 271-290.
- Hopkin, S., Martin, M.H., 1982a. The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the woodlouse *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda). *Oecologia*, 54, 227-232.
- Hopkin, S., Martin, M.H., 1982b. The distribution of zinc, cadmium, lead and copper within the hepatopancreas of a woodlouse. *Tissue cell*, 14, 703-715.
- Hopkin, S., Martin, M.H., 1984. Heavy metals in woodlice. *Syrup. zool. Soc. Lond*, 53, 143-66.
- Hornung, E., Tothmeresz, B., Magura, T., Vilisics, F., 2007. Changes of isopod assemblages along an urbane suburbanerural gradient in Hungary. *European Journal of Soil Biology*, 43, 158-165.
- Hussein, M.A., ObuidAllah, A.H., Mohammad, A.H., ScottFordsmand, J.J., ElWakeil, K.F.A., 2006. Seasonal variation in heavy metal accumulation in subtropical population of the terrestrial isopod, *Porcellio laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63, 168-174.

I

- Irmak, P., Kurtz, J., Zimmer, M., 2005. Immune response in *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea): copper revisited. *European Journal of Soil Biology*, 41, 77–83
- ISO, 1993. Soil quality - Effects of pollutants on earthworms (*Eisenia fetida*) - Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate. ISO/DIS 11268-1. International Organization of Normalization, Geneva, Switzerland.
- ISO, 1994. Qualité du sol. Aspects généraux ; methods d'analyses physiques et chimiques ; methodes d'analyses biologiques. Compendium des norms ISO Environnement. International Organization for Standardization ISA/TC190, Genève, Suisse.
- ISO, 1999. Soil quality - Inhibition of reproduction of *Collembola* (*Folsomia candida*) by soil pollutants. ISO 11267. International Organization of Normalization, Geneva, Switzerland.
- ISO, 2004. Soil quality - Effects of pollutants on Enchytraeidae (*Enchytraeus* sp.) - Determination of effects on reproduction and survival. ISO 16387. International Organization of Normalization, Geneva, Switzerland.
- ISO, 2006. Soil quality - Effects of pollutants on juvenile land snails (*Helicidae*) - Determination of the effects on growth by soil contamination. ISO 15952. International Organization of Normalization, Geneva, Switzerland.
- ISO, 2008. Soil quality - Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour - Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO 17512. International Organization of Normalization, Geneva, Switzerland.

J - K

- Jabiol., B, Brêthe, A., Ponge, J.F., Toutain, F., Brun, J.-J., 1995. L'humus sous toutes ses formes. Favier, A., Huin, A.-M. (eds), ENGREF, Nancy, pp. 63p.
- Jambu, P., Juchault, P., Mocquard, J.P., 1987. Étude expérimentale de la contribution du crustacé isopode *Oniscus asellus* à la transformation des litières forestières sous chêne sessile, *Pedobiologia*, 32, 147-156.
- Jones, D. T., Hopkin, S. P., 1998. Reduced survival and body size in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* from a metal-polluted environment. *Environ. Pollut.* 99, 215-223.
- Josse, E. N. G., Van Capelleveen, H. E., Van Dalen, L. H., Van Diggelen, J., 1983. Effects of zinc, iron and manganese on soil arthropods associated with decomposition processes. *Heavy Metals in the Environment*. CEP Consultants, Edinburgh, pp. 467-470.
- Juchault, P., 1966. Contribution à l'étude de la différenciation mâle chez les crustacés isopodes. Thèse Université de Poitiers.
- Juchault, P., Rigaud, T., Mocquard, J.P., 1993. Evolution of sex determination and sex ratio variability in wild populations of *Armadillidium vulgare* (Latr.) (Crustacea, Isopoda): a case study in conflict resolution. *Acta Oecol*, 14, 547-562.
- Kammenga, J. E., Dallinger, M.H., Donker, M.H., Köhler, H.R., Simonsen, V., Triebkorn, R., Weeks, J.M., 2000. Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 164, 93-147.

- Kautz, G., Zimmer, M., Topp, W., 2000. Responses of the parthenogenetic isopod, *Trichoniscus pusillus* (Isopoda: Oniscidea), to changes in food quality. *Pedobiologia*, 44, 75-85.
- Kensley B., Shilling S., Schotte M., 1996. World list of terrestrial Crustacea Isopoda (Oniscidea). In : *Smithsonian Institution Gopher Server*, accessible via Smithsonian home page on www.nmnh.si.edu/iz/isopod/.
- Klerks, P.L., Weis, J.S., 1987. Genetic adaptation to heavy metals in aquatic organisms: a review. *Environ Pollut*, 45, 173-205.
- Knigge, T., Kohler, H.R., 2000. Lead impact on nutrition, energy reserves, respiration and stress protein (hsp 70) level in *Porcellio scaber* (Isopoda) populations differently preconditioned in their habitats. *Environmental Pollution*, 108, 209-217.
- Köhler, H.R., Hüttenrauch, K., Berkus, M., Gräf, S., Alberti, G., 1996. Cellular hepatopancreatic reactions in *Porcellio scaber* (Isopoda) as biomarkers for the evaluation of heavy metal toxicity in soils. *Appl. Soil Ecol.* 3, 1-15.
- Köhler, H.R., Storch, V., Alberti, G., 1992. The impact of lead on the assimilation efficiency of laboratory-held Diplopoda (Arthropoda) preconditioned in different environmental situations. *Oecologia*, 90, 113-119.
- Kozlovskaja, L.S., Striganova, B.R., 1977. Food digestion and assimilation in desert woodlice and their relations to the soil microflora. *Ecol. Bull.* 25, 240-245.

L

- Lanno R., Wells, J., Condre J., Bradham, K., Basta, N., 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57, 39-47.
- Lardies, M.A., Catalán, T.P., Bozinovic, F., 2004. Metabolism and life-history correlates in a lowland and highland population of a terrestrial isopod. *Can. J. Zool.* 82, 677-687.
- Laskowski, R., Berg, B., 1993. Dynamics of some mineral nutrients and heavy metals in decomposing forest litter. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 8, 446-456.
- Laskowski, R., Niklińska, M., Maryanowski, M., 1995. The dynamics of chemical elements in forest litter. *Ecology*, 76, 1393-1406.
- Løkke, H., Van Gestel, C.A.M., 1998. Soil toxicity tests in risk assessment of new and existing chemicals. In: *Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests* (eds. H. Løkke and C.A.M. van Gestel), pp. 3-19, John Wiley and Sons, Chichester.
- Lomander, A., Johansson, M.B., 2001. Changes in concentration of Cd, Zn, Mn, Cu and Pb in Spruce (*Picea abies*) needle litter during decomposition. *Water Air and Soil Pollution*, 132, 165-184.
- Lomander, A., 2002. Organic matter turnover in forest and arable land – temperature and moisture effects and dynamics of heavy metals. Doctoral dissertation. Department of Forest Soils, Uppsala, Sweden. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Silvestria* 250.
- Loureiro, S., Soares, A.M.V.M., Nogueira, A.J.A., 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. *Environmental Pollution*, 138, 121-131.
- Loureiro, S., Sampaio, A., Brandao, A., Nogueira, A. J. A., Soares, A. M. V. M., 2006. Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination. *Science of the Total Environment*, 369, 119-128

- Loureiro, S., Amorim, M.S.B., Campos, B., Rodrigues S.M.G., Soares, A.M.V.M., 2009. Assessing joint toxicity of chemicals in *Enchytraeus albidus* (Enchytraeidae) and *Porcellionides pruinosus* (Isopoda) using avoidance behaviour as an endpoint. *Environmental Pollution*, 157, 625-636
- Lukkari T., Taavitsainen M., Väisänen A., Haimi J., 2004. Effects of heavy metals on earthworms along contamination gradients in organic rich soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59, 340-348.

M - N

- Ma, H.H.K., Dudgeon, D., Lam, P.K.S., 1991. Seasonal changes in populations of three sympatric isopods in a Hong Kong forest. *J. Zool.* 224, 347-365.
- Ma, W., 1982. The influence of soil properties and worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiologia*, 24, 109-119.
- Ma, W., Edelman, T., Van Beersum, I., Jans, T., 1983. Uptake of cadmium, zinc, lead and copper by earthworms near a zinc-smelting complex- influence of soil pH and organic matter. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 30, 424-427
- Marialigeti, K., Jager, K., Szabo, I.M., Pobožny, M., Dzingov, A., 1984. The faecal actinomycete flora of *Portracheoniscus amoenus* (Woodlice; Isopoda). *Acta Microbiol. Hung.* 31, 339-344.
- Markert, B., Wappelhorst, O., Weckert, V., Herpin, U., Siewers, U., Friese, K., Breulmann, G., 1999. The use of bioindicators for monitoring the heavy metal status of the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 240(2), 425-429.
- Martin, G., Juchault, P., Legrand, J.-J., 1973. Mise en évidence d'un micro-organisme intracytoplasmique symbiote de l'Oniscoïde *Armadillidium vulgare* L., dont la présence accompagne l'intersexualité ou la féminisation totale des mâles génétiques de la lignée thélygène. *C. R. Acad. Sci. III*, 276, 2313-2316.
- Meinertz, T., 1950a. Ueber die Geschlechtsverhältnisse und die Brutzeit der danischen Landisopoden. – *Archivum Societatis zoologicae-botanicae fennicae Vanamo*, 4, 143-150.
- Meinertz, T., 1950b. The distribution of the terrestrial isopods in Denmark and some remarks on their distribution in the neighbouring countries. – *Videnskabelige Meddelelser fra dansk naturhistorisk Forening*, 112, 165-223.
- Merriam, H., 1971. Sensitivity of terrestrial isopod populations (*Armadillidium*) to food quality differences. *Canadian Journal of Zoology*, 49, 667-674.
- Mocquard, J.P., Juchault, P., Jambu, P., Fustec, E., 1988. Essai d'évaluation du rôle des crustacés oniscoïdes dans la transformation des matières végétales dans une forêt feuillue de l'ouest de la France, *Revue d'écologie et de biologie du sol*, 24 (3), 311-327.
- Nahmani, J., Capowiez, Y., Van Oort, F., Lapeid, E., Rouland, C, Lavelle, P., 2009. Impact des ETM sur les communautés de macro-invertébrés et de micro-organismes de sols du Nord - Pas de Calais. in, Contamination métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-industriels, coord : Cambier, P., Schvartz, C., Van Oort, F., Quea (ed).
- Nair, G., 1976. Food and reproduction of the soil isopod, *Porcellio laevis*. *International Journal of Ecology and environmental Sciences*, 2, 7-13.
- Neuhauser, E. F., Hartenstein, R., 1978. Phenolic content and palatability of leaves and wood to soil isopods and diplopods. *Pedobiologia*, 18, 99-109.
- Nilsson, I., 1972. Accumulation of metals in spruce needles and needle litter. *Oikos*, 23, 132-136.

Numanoi, H., 1937. Migration of calcium through blood in *Ligia exotica* during its moulting. *Japanese Journal of Zoology*, 7, 241-249.

O - P

Odendaal, J.P., Reinecke, A.J., 1998. The effect of high lead concentrations on the mortality, mass and behaviour of *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda) in laboratory tests. *S. Afr. J. Zool.* 33, 143–146.

Odendaal, J. P., Reinecke, A. J., 1999a. The sublethal effects and accumulation of cadmium in the Terrestrial Isopod *Porcellio laevis* Latr. (Crustacea, Isopoda). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 64–69.

Odendaal, J. P., Reinecke, A. J., 1999b. The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). *Biol. Fertil. Soils.* 29, 146-151.

Odendaal, J. P., Reinecke, A. J., 2004a. Effect of Metal Mixtures (Cd and Zn) on Body Weight in Terrestrial Isopods. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 377-384.

Odendaal, J. P., Reinecke, A. J., 2004b. Evidence of metal interaction in the bioaccumulation of cadmium and zinc in *Porcellio laevis* (isopoda) after exposure to individual and mixed metals. *Water Air Soil Poll.* 156, 145-161.

Peijnenburg, W.J.G.M., Posthuma, L., Eijsackers, H.J.P., Allen, H.E., 1997. A Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37, 163-172.

Peters, E.L., Kaufmann-Daszczuk, B., Brant, H.A., Jagoe, C.H., Richter, R., 2001. Element concentrations and fluctuating asymmetry in a terrestrial isopod (*Armadillidium vulgare*) in metropolitan Chicago Parklands. Department of Biological Sciences, Chicago State University, pp. 1p.

Posthuma, L., Hogervorst, R.F., Joosse, E.N.G., Van Straalen, N.M., 1992. Adaptation to soil pollution by cadmium excretion in natural populations of *Orchesella cincta* (L.) (Collembola). *Arch Environ Contam Toxicol*, 22, 146-156

Pruvot, C., Douay, F., Herve, F., Waterlot, C., 2006. Heavy metals in soil, crops and grass as a source of human exposure in the former mining areas. *Journal of Soils and Sediments*, 6, 215-220.

R - S

Reyes, V.G., Tiedje, J. M., 1976. Ecology of the gut microbiota of *Tracheoniscus rathkei* (Crustacea, Isopoda). *Pedobiologia*, 16, 67-74.

Rigaud, T., Juchault, P., Mocquard, J.P., 1997. *The evolution of sex determination in isopods crustaceans.* *Bioessays*, 19, 409-416.

Robert, M., 1996. Le sol, une interface dans l'environnement, une ressource pour le développement, Masson, Paris.

Ross, I.S., 1975. Some effects of heavy metals on fungal cells. *Transactions of the British Mycological Society*, 64, 175-193.

Rushton, S., Hassall, M., 1983a. Food and feeding rates of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). *Oecologia* (Berlin) 57, 415-419.

- Rushton, S., Hassall, M., 1983b. The effects of food quality on the life history parameters of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). *Oecologia* (Berlin), 57, 257-261.
- Sauvé S., 2002. Speciation of metals in soils, in *Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems: Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes, and Plants*, 7-38, Allen H.E. (Ed.), SETAC, Pensacola.
- Scheid, S., Gunthardt Goerg, M.S., Schulin, R., Nowack, B., 2009. Accumulation and solubility of metals during leaf litter decomposition in non-polluted and polluted soil. *European Journal of Soil Science*, 60, 613-621.
- Schlegel, H.G., 1992. Allgemeine Mikrobiologie. Thieme Verlag, Stuttgart
- Séchet, E., Noël, F., 2007. Crustacés isopodes terrestres du Nord-Ouest de la France (Crustacea, Isopoda, Oniscidea). *Invertébrés armoricains*, 2, 1-48.
- Steel, C.G.H., 1980. Mechanisms of coordination between moulting and reproduction in terrestrial isopod Crustacea. *Biol. Bull.*, 159, 206-218.
- Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H., 2000. Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environmental Pollution*, 107, 377-389.
- Sterckeman, T., Douay, F., Proix, N., Fourrier, H., Perdrix, E., 2002. Assessment of the contamination of cultivated soils by eighteen trace elements around smelters in the North of France. *Water Air and Soil Pollution*, 135, 173-194.
- Stöckli, H., 1990. Das Unterscheidungsvermögen von *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) zwischen Blässhämmern einer Baumart, unter Berücksichtigung der makroskopisch sichtbaren Verpilzung. *Pedobiologia*, 34, 191-205.
- Štrus, J., Klepal, W., Repina, J., Tušek-Žnidarič, M., Milatovič, M., Pipan, Ž, 2008. Ultrastructure of the digestive system and the fate of midgut during embryonic development in *Porcellio scaber* (Crustacea : Isopoda). *Arthropod Structure & Development*, 37, 287-298.
- Sutton, S., 1972. Woodlice, 144 pp. London.
- Swift, M.J., Heal, O.W., Anderson, J.M., 1979. Decomposition in Terrestrial Ecosystems: Studies in Ecology. Vol. 7. Blackwell, Oxford.

T - V

- Thiry, M., Huet-Taillanter, S., Schmitt, J.-M., 2002. La friche industrielle de Mortagne-du-Nord (59) -I- Prospection du site, composition des scories, hydrochimie, hydrogéologie et estimation des flux. *Bulletin de la Société Géologique de France*, 173, 369-381.
- Topp, W., 1981. Biologie der Bodenorganismen. Quelle & Meyer, Heidelberg
- Tranvik, L., Eijsackers, H., 1989. On the advantage of *Folsomia Jimetarioides* over *Isotomiella minor* (Collembola) in a metal polluted soil. *Oecologia*, 80, 195-200.
- Tyler, G., 1982. Metal accumulation by wood-decaying fungi. *Chemosphere*, 11, 1141-1446.
- Ullrich, B., Storch, V., 1991. Aspects of coprophagy in terrestrial isopods. – In: Juchault, P. & Mocquard, J. (eds.): *The Biology of Terrestrial Isopods III. Proceedings of the Third International Symposium on the Biology of Terrestrial Isopods*, pp. 145-146; Poitiers.
- Ullrich, B., Storch, V., Schairer, H., 1991. Bacteria on the food, in the intestine and on the faeces of the woodlouse *Oniscus asellus*. *Pedobiologia*, 35, 41-51.
- Urich, K., 1990. Vergleichende Biochemie der Tiere. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

- Van Capelleveen, H.E., 1987. Ecotoxicity of heavy metals for terrestrial isopods. Ph.D. Thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam
- Van Oort, F., Gaultier, J.P., Hardy, R., Bourenanne, H., 2001. Dissemination and spatial variability of metal pollutants generated by past metallurgical activity of a zinc smelter in surrounding agricultural land (Mortagne-du-nord, northern France) "Industrie minérale et environnement", Paris, Ecole des Mines, 5-6 février 2001, pp. 157-160.
- Van Oort, F., Thiry, M., Jongmans, T., Bourennane, H., Cambier, P., Lamy, I., Citeau, L., Nahmani, J., 2009. Pollutions métalliques : distributions hétérogènes du Zn, Pb, Cd, et Cu et relations avec l'usage des sols. In: Technologies, C.U.S. (Ed.), Contaminations métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-urbains, 308pp, pp. 15-44.
- Van Straalen, N.M., Verhoef, H.A., 1997. The Development of a Bioindicator System for Soil Acidity Based on Arthropod pH Preferences. *The Journal of Applied Ecology*, 34, 217-232.
- Van Wensem, J., Krijgsman, M., Postma, J.F., Van Westrienen, R.W. and Wezenbeek, J.M., 1992. A comparison of test systems for assessing effects of metals on isopod ecological functions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 24, 203-16.
- Vandel, A., 1925. Recherches sur la sexualité des isopodes. Les conditions naturelles de la reproduction chez les isopodes terrestres. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 49, 634-646.
- Vandel, A., 1960. Faune de France, Isopodes terrestres (première partie), 64, pp 1-416; Paris.
- Vandel, A., 1962. Faune de France, 66. Isopodes terrestres (deuxième partie), pp. 417-931; Paris.
- Vilisics, F., Eleka, Z., Lovei, G. L., Hornung, E., 2007. Composition of terrestrial isopod assemblages along an urbanisation gradient in Denmark. *Pedobiologia*, 51, 45-53.

W - Z

- Warburg, M.R., 1993. Evolutionary biology of land isopods. Berlin : Springer-Verlag.
- Wieser, W., 1984. Ecophysiological adaptations of terrestrial isopods: A brief review. Symposia of the Zoological Society of London 53, 247-265.
- Wieser, W., Busch, G., Buchel, L., 1976. Isopods as indicators of the copper content of soil and litter. *Oecologia* (Berlin) 23, 107-114.
- Wieser, W., Dallinger, R., Busch, G., 1977. The flow of copper through a terrestrial food chain. II. Factors influencing the copper content of isopods. *Oecologia* (Berlin) 30, 265-272.
- Windham, L., Weis, J.S., Weis, P., 2004. Metal dynamics of plant litter of *Spartina alternifolia* and *Phragmites australis* in metalcontaminated salt marshes. Part 1: Patterns of decomposition and metal uptake. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 23, 1520-1528.
- Witzel, B., 2000. The influence of zinc on the uptake and loss of cadmium and lead in the woodlouse, *Porcellio scaber* (Isopoda, Oniscidea). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47, 43-53.
- Zidar, P., Kaschl, U., Drobne, D., Bozic, J., Štrus, J., 1998. Behavioural response in paired food choice experiments with *Oniscus asellus* (Crustacea, Isopoda) as an indicator of different food quality. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 54, 177-181.
- Zidar, P., Kaschl, U. I., Drobne, D., Bozic, J., Trus, J., 2003. Behavioural response in paired food choice experiments with *Oniscus asellus* (crustacea, isopoda) as an indicator of different food quality. *Arh Hig Rada Toksikol.* 54, 177-181.

- Zidar, P., Drobne, D., Strus, J., Van Gestel, C. A. M., Donker, M., 2004. Food selection as a means of Cu intake reduction in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda). *Appl. Soil Ecol.* 25, 257-265.
- Zidar, P., Bozic, J., Strus, J., 2005. Behavioral Response in the Terrestrial Isopod *Porcellio scaber* (Crustacea) Offered a Choice of Uncontaminated and Cadmium-Contaminated Food. *Ecotoxicology*, 493-502.
- Zidar, P., Van Gestel, C.A.M., Strus, J., 2009. Single and joint effects of Zn and Cd on *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda) exposed to artificially contaminated food. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72, 2075-2082.
- Zimmer, M., 1997. Surfactants in the gut fluids of *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea), and their interactions with phenolics. *Journal of Insect Physiology*, 43, 1009-1014.
- Zimmer, M., 2002. Nutrition in terrestrial isopods (Isopoda: Oniscidea): an evolutionary-ecological approach. *Biol. Rev.* 77, 455-493.
- Zimmer, M., Kautz, G., Topp, W., 1996. Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. *European Journal of Soil Biology*, 32, 141-147.
- Zimmer, M., Kautz, G., Topp, W., 2003. Leaf litter-colonizing microbiota: supplementary food source or indicator of food quality for *Porcellio scaber* (Isopoda: Oniscidea)? *European Journal of Soil Biology*, 39, 209-216.
- Zimmer, M., Topp, W., 1997. Does leaf litter quality influence population parameters of the common woodlouse, *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)? *Biol Fertil Soils*, 24, 435-441
- Zimmer, M., Topp, W., 2000. Species-specific utilization of food sources by sympatric woodlice (Isopoda: Oniscidea). *J. Anim. Ecol.* 69, 1071-1082.

Annexes

Annexe A

« Synthèse bibliographique sur la mise en place et le suivi d'un élevage de cloporte »

Il existe actuellement dans la littérature peu de données concernant les conditions d'élevage d'isopodes terrestres. Toutefois *Porcellio scaber* et *Oniscus asellus* sont les espèces les plus documentées. Dans leurs travaux, Hornung et al. (1998), ont développé une méthode de culture pour *Porcellio scaber* et utilisable pour d'autres espèces d'*Oniscidea*. Ce document synthétise les informations disponibles sur les conditions d'élevage des isopodes terrestres et dégage les conditions retenues pour la mise en place d'un élevage de *P. scaber* au LSE.

I. SUPPORT ET SUBSTRAT

Les containers de culture mentionnés dans la littérature sont le plus souvent en matières plastiques, parfois en verre et rarement en terre cuite, de dimensions variables mais souvent de petite taille (au maximum 30 x 30 x 20 cm). Ils sont souvent utilisés pour des tests de toxicité, et non pour un élevage proprement dit. Les dimensions de l'enceinte de culture semblent des paramètres essentiels. Un container de grande taille (60 x 80 cm) permettrait d'éviter les effets néfastes engendrés par une densité de population trop élevée (compétition intra-spécifique, disponibilité en nourriture, cannibalisme...). Il favoriserait aussi l'accueil d'une population suffisamment importante pour l'étude des différents paramètres envisagés dans ce travail. Le verre reste le support le plus intéressant car il peut être réutilisé après lavage. Toutefois certains métaux comme le plomb, peuvent être adsorbés sur le verre, et ainsi modifier les concentrations du milieu. Certains matériaux plastiques, moins coûteux, présentent l'avantage d'être des supports moins fragiles que le verre, mais des quantités infimes de certains constituants peuvent néanmoins être relargués dans le milieu de culture (phtalates...), et ainsi le modifier. Les pots en terre semblent peu adaptés du fait de leur fragilité, de leur porosité et de leur perméabilité. Bien qu'aucun container ne donne entière satisfaction, les enceintes plastiques semblent mieux convenir aux besoins de nos expérimentations.

Dans le cas de ces enceintes plastiques, une couche intermédiaire isolante pourrait alors être placée entre le support et le substrat afin d'empêcher toute modification du milieu.

Plusieurs substrats de fond ont été testés dans l'étude de Hornung et al. (1998) (sable, perlite, terre, tourbe et plâtre de Paris). Il s'est avéré dans les conditions de l'expérience, que l'utilisation d'un container en plastique avec une couche de plâtre de Paris engendrait le plus faible taux de mortalité. Ce dispositif permettait facilement l'ajout d'eau pour conserver une certaine humidité dans le milieu. L'utilisation de tourbe n'est pas recommandée du fait de son pH acide.

Enceinte d'élevage et microcosmes retenus : Au regard des différentes études, il a été retenu pour la mise en place de l'élevage, un grand aquarium de verre soigneusement nettoyé. Pour se rapprocher des conditions naturelles du milieu, des morceaux d'écorce et de la litière issue du milieu d'origine des populations ont été placés sur le substrat de fond (terre non contaminée sur quelques cm d'épaisseur) pour permettre aux individus d'y trouver refuge. Pour les microcosmes expérimentaux, des enceintes plastiques de taille moyenne seront retenues, avec ou sans substrat de fond (plâtre de Paris) selon les conditions expérimentales choisies.

II. ALIMENTATION

Les isopodes terrestres sont essentiellement détritivores saprophages. Ils se nourrissent principalement de débris de végétaux, mais aussi de champignons et de bactéries, de fèces ou de carcasses d'autres invertébrés. En cas de densité de population trop élevée, un comportement de cannibalisme peut être observé (Hornung et al., 1998). Les isopodes terrestres jouent un rôle primordial dans les processus de décomposition de la matière organique par la fragmentation des litières. De plus, ils stimulent la minéralisation de cette matière organique par l'ingestion de champignons et de bactéries, qui restent actives dans leurs tubes digestifs, et qui sont eux-mêmes très importants dans le cycle des nutriments (Loureiro et al., 2006). Un des processus majeurs est la minéralisation de l'azote. Les isopodes excrètent de l'ammoniac (NH_3), et augmentent ainsi les concentrations des litières en ammonium (NH_4^+) (Hoese, 1981), ce qui fournit une réserve importante d'azote pour la croissance microbienne.

Certains traits de vie tels que la croissance, le nombre et la taille des juvéniles, sont fortement dépendants de la qualité de la nourriture, et particulièrement de la saveur, de la dureté des feuilles et des teneurs en azote (Rushton et Hassall, 1983a,b ; Sousa et al., 1998 ; Lardies et al., 2004). Des travaux ont montré que les cloportes sont capables de sélectionner leur nourriture et ainsi d'éviter l'assimilation de contaminants métalliques, à l'aide de leur odorat grâce notamment à des récepteurs situés au niveau des antennes (Zimmer et al., 1996 ; Odendaal et Reineke, 1999).

Les litières de dicotylédones et les champignons représentent une nourriture appréciée par les cloportes (Rushton et Hassall, 1987). L'assimilation dépend en général de la taille des individus et de la qualité de la nourriture. La capacité d'assimilation chez *Oniscus asellus* est assez faible et de l'ordre de 16,2% à une température de 20°C (Hartenstein, 1964).

Nair et al. (1994) ont observé chez *Porcellio scaber* une préférence pour des litières à base d'*Eucalyptus rudis*, de *Citrus aurantium* ou d'*Acacia cyanophylla*. L'assimilation était comprise entre 38 et 50%, et le taux d'assimilation (prise de poids ?) était de l'ordre de 10 à 20 mg par gramme de poids frais par jour. Dans l'étude de Hornung et al. (1998), plusieurs types de nourriture ont été testés, toutes à base de feuilles (*Acer pseudoplatanus*, *Fagus sylvaticus*, *Populus alba*, *Quercus petraea*). Les feuilles ont été collectées sur le terrain en automne sur des sites non contaminés, et séchées en laboratoire, puis broyées. Il s'est avéré qu'une alimentation uniquement à base de feuilles induisait une faible croissance chez *Porcellio scaber*. Le plus fort taux de croissance a été observé avec l'ajout de nourriture pour lapin.

Un mélange composé de 50% de feuilles (*Acer sp.*), 40% de nourriture pour lapin et de 10% de pomme de terre a donc été utilisé dans leurs expérimentations ultérieures. Tous les composants sont séchés, broyés puis mélangés. Ce mélange constituerait une alimentation optimale pour *Porcellio scaber*. Cette nourriture était déposée dans des boîtes de pétri (4 cm de Ø), enfoncées dans le substrat. Concernant l'alimentation de *Porcellionides pruinosus*, cette espèce apprécie les feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) et de chêne pédonculé (*Quercus robur*). En revanche, elle apprécierait moins les aiguilles de pin et les feuilles d'Eucalyptus (Loureiro et al., 2006). Cependant les caractéristiques physiques et chimiques des feuilles de chêne expliqueraient qu'elles constituent une nourriture de moins bonne qualité que les feuilles d'aulne (Satchell et Lowe 1967; Neuhauser et Hartenstein 1978; Zimmer et Topp 1997a,b, 2000a,b).

Conditions d'alimentation et quantité de litière nécessaire à l'élevage :

Il a été fait le choix de ne pas supplémenter l'alimentation des cloportes, afin de rester dans des conditions expérimentales les plus proches possibles de leurs conditions naturelles. La nourriture fournie aux élevages et microcosmes sera exclusivement constituée de feuilles de litière prélevées directement *in situ*, et dont les essences et le mode de préparation restent à définir. Quant aux quantités nécessaires à l'alimentation de l'élevage, sur la base des estimations de consommation individuelle issues de la bibliographie, il a été possible de réaliser une quantification approximative des besoins annuels : pour un élevage de 1500 individus de *Porcellio scaber*, les besoins alimentaires annuels en litière de feuilles seraient d'environ 3 kg de feuilles sèches (**Tableau 1**).

Masse approximative d'un <i>Porcellio scaber</i> (g)	0,25
Taux d'assimilation approximatif de l'espèce (g/g de poids frais/jour)	0,02
Masse de feuilles par jour et par individu (g)	0,005
Masse de feuilles par an par individu (g)	1,825
Masse de feuilles pour 1500 individus (g)	2737,5

Tableau 1 : Simulation de la quantité nécessaire de litière de feuilles pour approvisionner un élevage de 1500 individus durant une année.

III. TEMPERATURE, PHOTOPERIODE ET HUMIDITE

La température, la photopériode et l'humidité sont, au même titre que l'alimentation, des paramètres importants à contrôler pour la réalisation d'un élevage en laboratoire. Ils influencent la croissance des individus ainsi que leur reproduction. La température optimale pour la croissance de *Porcellio scaber* serait de l'ordre de 20-25°C. La croissance des individus est ralentie en deçà de 15°C et au delà de 25°C (Hornung et al., 1998).

De faibles températures inhibent la reproduction des cloportes. Une température inférieure à 15°C ralentie ou arrête la vitellogénèse, et engendre une résorption des ovocytes chez les femelles (Hornung

et Warburg, 1993, 1994). Ce phénomène est également observé à une température de 15°C pour *Porcellio scaber*.

Une température de 20°C raccourcit le développement ovarien, et les juvéniles apparaissent plus tôt qu'en conditions naturelles. Au-dessus de 25°C, la taille des œufs diminue. Une combinaison température-durée d'éclairement de 20°C-16h serait favorable à la croissance et à la reproduction (Juchaud et al., 1985 ; Hormung et Warburg, 1993). Parallèlement, un taux d'humidité de 50 à 70 % est nécessaire au développement des individus. Un taux trop faible ou trop fort aurait au contraire des effets négatifs sur les populations de cloportes.

L'intensité de la lumière n'aurait en revanche aucune influence pour les isopodes terrestres. Une faible intensité de l'ordre de 500 lux a été utilisée dans les expérimentations de Hornung et al. (1998).

Dans ces conditions optimales de température, de lumière et d'humidité, *Porcellio scaber* peut donner naissance à plusieurs générations par an indépendamment des saisons. Une femelle peut avoir 3 ou 4 portées sur une année. A l'éclosion, les juvéniles ont une masse de l'ordre de 0,3 à 0,4 mg. La durée de vie de *Porcellio scaber* peut être supérieure à 3 ans (Collinge, 1946).

Conditions contrôlées retenues pour l'élevage et les microcosmes :

Il a été retenu pour nos expérimentations de placer les élevages en conditions contrôlées de température ($20^{\circ} \pm 1^{\circ}$), de lumière (cycle nyctéméral 16heures / 8heures) et d'humidité ($70 \pm 2\%$).

IV. DENSITE DES POPULATIONS

La densité des isopodes et leur biomasse sont très variées, selon les espèces et les différents habitats. Elles dépendent pour une espèce donnée des conditions climatiques, du type d'habitat et de l'hétérogénéité spatiale. Davis et Sutton (1977) ont observé chez *Philoscia muscorum*, une densité variant de 7,7 à 577 individus par mètre carré, et une biomasse de 56,7 à 3823 mg m⁻², dans des prairies dunaires. Chez *Porcellio scaber*, ils ont observé une densité de 34,8 ind. m⁻² et une biomasse allant de 380 à 658 mg m⁻². Aucune donnée concernant la densité au sein d'un élevage n'a été trouvée.

Le **tableau 2** synthétise les conditions de conservation ou d'élevage, reportées dans la littérature pour les tests de toxicité pratiqués sur les isopodes terrestres.

Espèces	Support	Substrat	Nourriture	Photopériode Jour/Nuit (h)	Température (°C)	Intensité lumineuse	Références
<i>P.scaber</i>	Large bac en plastique	Litière	Mélange à base de poudre de feuilles d' <i>Acer sp</i> (50%), nourriture pour lapin (40%), pomme de terre (10%). Séché, broyé et mélangé.	16/8	20 ±1	31000 W/m ²	(Hornung et al., 1998)
<i>O.asellus</i>	10 x 6 x 4 cm	Plâtre de Paris	Boulette à base de poudre de feuilles de <i>Corylus avellana</i> (Ø 0,25 mm), gélatine, nourriture pour poisson (63 :34 :3). 1,5ml H ₂ O/g de gélatine, solidifiée 24h à 5°C, puis séchée à 70°C durant 24h. Stérilisation des boulettes à 121°C, 1,3 bar durant 15 min.	-	23	0,72 W/m ²	(Zidar et al., 2003)
<i>P.scaber</i> & <i>O.asellus</i>	Bac en plastique pour la conservation, puis boîte de pétri (Ø 9cm) pour expérimentation	Litière provenant du site de prélèvement des individus	cm ² de feuilles provenant de sites non contaminés	16/8	18	-	(Hames et Hopkin, 1991)
<i>P.scaber</i> & <i>O.asellus</i>	Boîte en polyéthylène transparente	Sol et litière provenant du site de prélèvement des individus	Substrat	-	15	-	(Art et al., 2004)
<i>O.asellus</i>	Boîte en plastique (30 x 30 x 5 cm)	Gypse + Couche de litière non contaminée (1,5 cm) + CaCO ₃	Substrat	12/12	15	-	(Kohler et Eckwert, 1997)
<i>O.asellus</i>	Boîte circulaire Perspex® (Ø 5 à 7 cm)	Plâtre de Paris, mousse en Caoutchouc pour abri	Mélange de poudre de feuilles (<i>Populus canadensis</i> : <i>Acer pseudoplatanus</i> ; 1 :1)et 1 M peptone	18/6	16 75% d'humidité	-	(Lavy et al., 2001)
<i>P.scaber</i>	Container en verre	Sable humide Feuilles d'Erable et de Peuplier	Substrat	18/6	16 75% d'humidité	-	(Lavy et al., 2001)
<i>O.asellus</i>	-	Sol humide	Feuilles mortes et carottes	18/6	20	-	(Rigaud et al., 1999)

Tableau 2 : Synthèse de travaux en laboratoire utilisant des isopodes terrestres pour des tests de toxicité : conservation et élevage des individus.

Références bibliographiques

- ARTS, M.-J.S.J., SCHILL, R.O., KNIGGE, T., ECKWERT, T., KAMMENGA, J.E. & KOHLER, H.R. (2004): Stress Proteins (hsp70, hsp60) Induced in Isopods and Nematodes by Field Exposure to Metals in a Gradient near Avonmouth, UK – *Ecotoxicology* **13**:739-755.
- CLOUDSLEY-THOMPSON, J. (1974): Climatic effect affecting the nocturnal emergence of woodlice and other arthropods. – *Entomologist's monthly Magazine* **109**: 123-124.
- DAVIS, R. & SUTTON, S. (1977): Spatial distribution and niche separation of woodlice and millipedes in a dune grassland ecosystem. – *Ecological Bulletin (Stockholm)* **25**: 45-55.
- HAMES, C.A.C. & HOPKIN, S.P. (1991): Assimilation and Loss of ¹⁰⁹Cd and ⁶⁵Zn by the Terrestrial Isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber* – *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **47**:440-447.
- HARTENSTEIN, R. (1964): Feeding, digestion, glycogen, and the environmental conditions of the digestive system in *Oniscus asellus*. – *Journal of Insect Physiology* **10**: 611-621.
- HOESE, B. (1981): Morphologie und Funktion des Wasserleitungssystems der terrestrischen Isopoden (Crustacea, Isopoda, Oniscoidea). – *Zoomorphology* **98**: 135-167.
- HORNUNG, E. & WARBURG, M. (1993): Breeding patterns in the oniscid isopod, *Porcellio ficulneus* Verh., at high temperature and under different photophases. – *Invertebrate Reproduction and Development* **23**: 151-158.
- HORNUNG, E. & WARBURG, M. (1994): Oosorption and oocyte loss in a terrestrial isopod under stressful conditions. – *Tissue & Cell* **26**: 277-284.
- HORNUNG, E. (1991): Isopod distribution in a heterogeneous grassland habitat. – In: JUCHAULT, P. & MOCQUARD, J. (eds.): *The Biology of Terrestrial Isopods III. Proceedings of the Third International Symposium on the Biology of Terrestrial Isopods*, pp. 73-79; Poitiers.
- KOHLER, H.R., & ECKWERT, H. (1997): The induction of stress proteins (hsp) in *Oniscus asellus* (Isopoda) as a molecular marker of multiple heavy metal exposure. II: Joint toxicity and transfer to field situations – *Ecotoxicology* **6**:263-274.
- LAVY, D., VANRIJN, M.J., ZOOMER, H.R. & VERHOEF, H.A. (2001): Dietary effects on growth, reproduction, body composition and stress resistance in the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber* – *Physiological Entomology* **26**:18-25.
- LOUREIRO, S., SAMPAIO, A., BRANDAO, A., NOGUEIRA, A.J.A. & SOARES, A.M.V.M. (2006): Feeding behaviour of the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* Brandt, 1833 (Crustacea, Isopoda) in response to changes in food quality and contamination – *Science of the Total Environment* **369**:119-128.
- NAIR, G., ATTIA, F. & SAEID, N. (1994): Food preference, feeding and growth rates of the woodlouse *Porcellio scaber* [identification doubtful]. – *African Journal of Ecology* **32**: 80-84.
- NEUHAUSER, E. & HARTENSTEIN, R. (1978): Phenolic content and palatability of leaves and wood to soil isopods and diplopods. – *Pedobiologia* **18**: 99-109.
- ODENDAAL, J. & REINECKE, A. (1999): The toxicity of sublethal lead concentrations for the woodlouse, *Porcellio laevis* (Crustacea, Isopoda). – *Biology and Fertility of Soils* **29**: 146-151.
- RIGAUD, T., MOREAU, J., & JUCHAULT, P. (1999): Wolbachia infection in the terrestrial isopod *Oniscus asellus*: sex ratio distortion and effect on fecundity - *Heredity* **83**:469-475.
- RUSHTON, S. & HASSALL, M. (1983a): Food and feeding rates of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). – *Oecologia (Berlin)* **57**: 415-419.

- RUSHTON, S. & HASSALL, M. (1983b): The effects of food quality on the life history parameters of the terrestrial isopod *Armadillidium vulgare* (Latreille). – *Oecologia* (Berlin) **57**: 257-261.
- RUSHTON, S. & HASSALL, M. (1987): Effects of food quality on isopod population dynamics. – *Functional Ecology* **1**: 359-367.
- Hornung, E., Farkas, S., Fischer, E 1998 Tests on the isopod *Porcellio scaber*. In: Handbook of soil invertebrate toxicity tests, (Eds. Lokke, H., van Gestel, C.A.M.) John Wiley, Chichester, pp. 207-226.
- ZIDAR, P., KASCHL, U.I., DROBNE, D., BOZIC, J. & TRUS, J. (2003): Behavioural response in paired food choice experiments with *Oniscus asellus* (crustacea, isopoda) as an indicator of different food quality – *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* **54**:177-181.
- ZIMMER, M. & TOPP, W. (1997a): Does leaf litter quality influence population parameters of the common woodlouse, *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)? – *Biology and Fertility of Soils* **24**: 435-441.
- ZIMMER, M. & TOPP, W. (1997b): Homeostatic responses in the gut of *Porcellio scaber* optimize litter degradation. – *Journal of comparative Physiology, B*, **167**: 582-585d.
- ZIMMER, M. & TOPP, W. (2000a): Der Beitrag von Landasseln (Isopoda: Oniscidea) zum mikrobiellen Laubstreuabbau. – *Verhandlungen, westdeutscher Entomologentag*, **11**: 107-117.
- ZIMMER, M. & TOPP, W. (2000b): Species-specific utilization of food sources by sympatric woodlice (Isopoda: Oniscidea). – *Journal of Animal Ecology* **69**: 1071-1082.
- ZIMMER, M., KAUTZ, G. & TOPP, W. (1996): Olfaction in terrestrial isopods (Crustacea: Oniscidea): responses of *Porcellio scaber* to the odour of litter. – *European Journal of Soil Biology* **32**: 141-147.

Annexe B

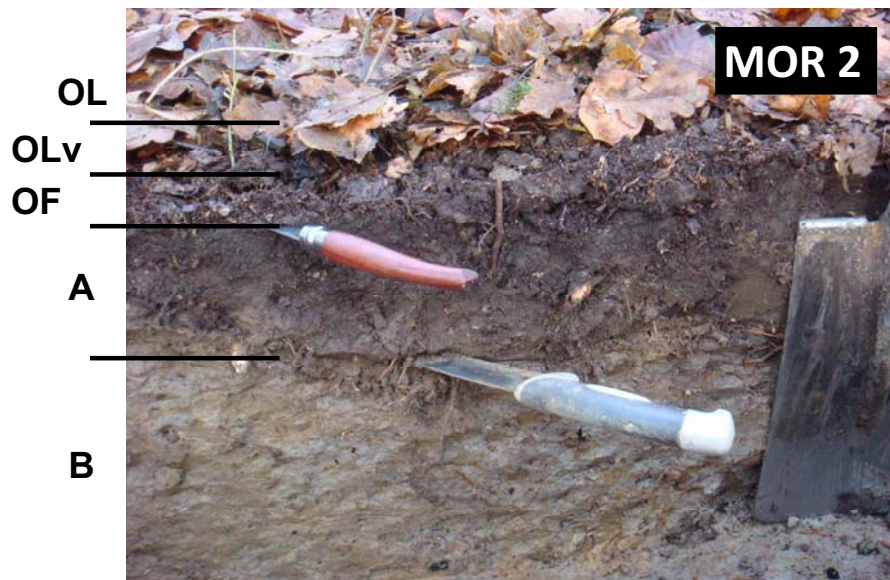
Photographies des profils pédologiques des 20 stations étudiées (Chap III, B)











Annexe C

Principales mesures biométriques (masse, taille et largeur du céphalon) réalisées chez *Oniscus asellus* (mâles et femelles gravides) collecté au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Effectif (n), moyenne, minimum, maximum, écarts-types (et).

Station	Sexe	Masse (mg)					Taille (mm)					Largeur du céphalon (mm)					Nombre d'œufs par femelle						
		n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	var	et	
APO 1	♂	75	28,7	10,1	47,0	6,5	25	11,08	10,14	12,54	0,62	25	2,28	2,04	2,52	0,13							
	♀	78	57,9	31,4	126,3	19,3	25	14,21	12,19	16,88	1,12	25	2,69	2,39	3,04	0,18	25	53	37	82	178	13	
APO 2	♂	42	31,3	19,0	58,9	8,2	25	10,72	9,72	12,65	0,81	25	2,30	2,11	2,77	0,16							
	♀	71	54,9	29,5	98,9	15,7	25	13,40	12,13	15,40	0,87	25	2,69	2,44	3,17	0,18	25	51	31	87	193	14	
BOU 1	♂	26	34,1	20,4	64,0	10,2	25	9,96	7,99	11,44	1,04	25	1,91	1,67	2,45	0,18							
	♀	100	57,0	22,7	116,4	18,0	25	13,14	11,87	14,88	0,80	25	2,34	2,12	2,58	0,12	25	52	38	72	81	9	
BOU 2	♂	28	34,5	18,9	57,8	8,3	25	9,80	8,66	11,49	0,74	25	1,95	1,81	2,36	0,12							
	♀	100	59,9	29,1	110,6	15,5	25	12,84	11,67	14,79	0,84	25	2,35	2,13	2,60	0,15	25	49	14	72	135	12	
MET 1	♂																						
	♀	6	63,9	43,5	79,6	12,3	6	12,36	10,77	13,58	0,94	6	2,37	2,08	2,57	0,17	6	33	26	48	64	8	
MET 2	♂	17	38,2	24,6	60,4	10,8	16	11,14	9,43	12,99	1,17	16	2,28	1,94	2,65	0,22							
	♀	38	65,1	36,9	88,7	12,9	25	13,23	11,06	14,36	0,80	25	2,45	2,24	2,64	0,10	24	40	28	54	41	6	
UMI 1	♂	34	29,4	15,3	55,3	8,3	24	9,62	8,33	11,13	0,78	24	1,97	1,81	2,32	0,14							
	♀	62	47,7	24,5	85,4	13,0	25	11,82	10,74	13,61	0,80	25	2,18	2,01	2,43	0,10	25	33	23	45	41	6	
UMI 2	♂	4	52,5	25,1	82,4	27,1	4	10,87	9,00	13,31	2,13	4	2,18	1,74	2,61	0,43							
	♀	20	76,0	33,1	137,7	21,3	20	12,43	9,85	15,73	1,12	20	2,28	1,93	2,70	0,18	20	41	21	69	98	10	
UMI 3	♂	9	31,2	10,1	48,4	12,3	9	9,40	6,81	11,07	1,33	9	1,88	1,48	2,14	0,24							
	♀	34	73,7	35,2	135,9	24,5	25	12,98	11,47	15,42	1,09	25	2,32	2,11	2,81	0,17	25	46	29	69	91	10	
MAR 1	♂	46	40,6	22,3	69,1	10,4	25	10,83	9,57	12,25	0,75	25	2,17	1,98	2,42	0,13							
	♀	63	78,6	44,2	126,5	20,7	25	13,83	12,18	15,74	0,99	25	2,50	2,14	2,87	0,18	24	57	34	89	263	16	
MAR 2	♂	21	35,1	15,8	57,6	11,2	19	9,60	7,21	11,33	1,18	19	1,97	1,61	2,29	0,19							
	♀	29	74,5	35,0	146,9	26,2	25	12,88	10,67	15,51	1,25	25	2,31	2,05	2,80	0,20	24	45	25	87	203	14	
MAR 3	♂	5	26,9	12,2	40,2	10,4	5	8,80	6,96	10,25	1,23	5	1,86	1,54	2,13	0,22							
	♀	26	65,5	32,7	131,3	22,8	25	12,20	10,63	15,47	1,24	25	2,18	1,92	2,69	0,20	25	36	20	68	138	12	
RSAW 1	♂	54	29,2	13,8	54,7	8,3	25	9,94	9,20	11,31	0,53	25	2,00	1,85	2,27	0,11							
	♀	69	56,4	33,0	110,6	18,0	25	12,71	10,73	14,95	0,97	25	2,30	2,12	2,51	0,11	25	41	27	55	57	8	
RSAW 2	♂	23	29,5	11,2	55,5	12,3	23	9,26	6,64	12,50	1,52	23	1,84	1,41	2,24	0,23							
	♀	37	62,1	39,5	107,5	14,5	25	12,47	11,09	14,62	0,93	25	2,24	2,05	2,94	0,17	25	41	24	64	58	8	
CRAM 1	♂	25	24,8	10,4	45,8	10,6	25	8,17	6,10	10,80	1,31	25	1,78	1,46	2,22	0,22							
	♀																						
MOR 1	♂	31	48,0	25,7	75,2	14,8	25	11,27	9,63	12,70	0,91	25	2,18	1,78	2,54	0,17							
	♀	25	82,5	47,9	186,9	33,7	25	13,30	11,12	17,27	1,66	25	2,50	2,15	3,26	0,27	25	42	27	97	268	16	
MOR 2	♂	100	33,6	15,5	73,0	12,0	25	10,83	9,72	12,34	0,69	25	2,25	2,00	2,52	0,15							
	♀	77	56,4	22,2	124,2	23,9	25	12,52	10,87	14,80	1,02	25	2,38	2,16	2,72	0,15	25	38	9	68	168	13	
MOR 3	♂	44	46,6	8,7	96,3	19,6	25	11,55	9,87	14,29	1,33	25	2,28	2,03	2,70	0,20							
	♀	74	94,8	44,9	233,8	32,0	25	14,79	11,56	18,79	1,44	25	2,61	2,40	2,99	0,17	25	59	18	94	359	19	

Annexe D

Principales mesures biométriques (masse, taille et largeur du céphalon) réalisées chez *Porcellio scaber* (mâles et femelles gravides) collecté au printemps 2008 sur les 20 stations étudiées. Effectif (n), moyenne, minimum, maximum, écarts-types (et).

Station	Sexe	Masse (mg)					Taille (mm)					Largeur du céphalon (mm)					Nombre d'œufs par femelle				
		n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	et	n	moy	min	max	et
APO 1	♂	26	20,37	8,10	51,40	12,83	25	8,38	6,26	11,97	1,74	25	1,60	1,29	2,20	0,27					
	♀	23	33,02	14,10	67,90	15,47	23	9,29	6,80	12,60	1,59	23	1,69	1,39	2,02	0,18	23	31	10	55	12,8
APO 2	♂	30	17,00	5,10	42,50	9,10	25	8,14	6,43	11,07	1,29	25	1,57	1,29	2,02	0,20					
	♀	16	43,31	12,50	97,10	21,99	16	10,18	7,37	13,38	1,57	16	1,88	1,37	2,36	0,26	16	39	13	80	16,8
BOU1	♂	37	20,71	7,50	43,50	8,25	25	8,92	7,48	11,98	1,04	25	1,73	1,52	1,96	0,13					
	♀	38	39,27	13,00	110,00	18,61	25	10,52	8,52	14,19	1,21	25	1,89	1,54	2,48	0,21	25	39	18	81	12,1
BOU2	♂	30	28,56	12,20	81,90	13,93	25	9,68	7,60	14,06	1,33	25	1,83	1,50	2,36	0,19					
	♀	59	51,86	13,30	111,40	19,52	25	12,15	10,72	14,43	0,88	25	2,13	1,93	2,47	0,12	25	52	33	82	14,0
MET 1	♂	39	19,19	9,20	46,20	10,06	23	8,66	7,21	11,21	1,18	23	1,72	1,49	2,13	0,20					
	♀	99	38,40	13,50	94,00	15,27	25	11,32	10,13	13,12	0,74	25	2,05	1,89	2,33	0,11	25	47	30	59	9,1
MET 2	♂	100	20,32	6,10	43,30	9,61	25	10,11	9,05	11,17	0,60	25	1,92	1,79	2,16	0,10					
	♀	99	41,46	11,30	112,50	19,47	25	12,13	10,93	15,05	1,05	25	2,15	1,93	2,54	0,16	25	53	35	81	14,6
MET 3	♂	18	26,17	11,80	63,00	13,55	18	8,95	6,84	12,95	1,73	18	1,78	1,46	2,41	0,25					
	♀	84	44,98	18,90	147,70	19,69	25	11,75	10,14	15,40	1,17	25	2,10	1,90	2,59	0,17	25	50	26	85	13,6
UMI 1	♂	20	17,71	6,60	32,10	6,66	20	8,05	6,03	10,26	1,06	20	1,59	1,20	1,84	0,19					
	♀	65	39,97	19,00	72,40	13,21	25	11,22	9,76	13,04	0,77	25	2,05	1,88	2,25	0,10	25	41	9	70	13,0
UMI 2	♂	45	31,45	10,20	84,20	16,49	25	10,84	9,24	14,42	1,20	25	2,02	1,75	2,36	0,16					
	♀	64	46,90	16,50	108,90	23,48	25	12,29	10,37	14,60	1,16	25	2,17	1,83	2,48	0,16	25	54	21	93	15,0
UMI 3	♂	18	20,11	9,50	63,70	13,84	18	8,14	6,70	12,28	1,61	18	1,61	1,37	2,28	0,25					
	♀	16	31,59	10,90	78,40	16,54	16	9,20	6,48	13,27	1,62	16	1,73	1,40	2,31	0,23	15	26	12	41	8,0
MAR 1	♂	4	15,03	9,20	24,10	6,38	4	7,12	6,00	8,32	0,97	4	1,48	1,32	1,75	0,19					
	♀	11	36,33	14,60	68,50	19,90	11	9,38	6,90	12,25	1,82	11	1,75	1,45	2,14	0,27	11	31	15	56	16,0
MAR 2	♂	9	21,23	9,80	52,40	14,91	9	8,45	6,13	13,12	2,34	9	1,61	1,37	2,01	0,25					
	♀	24	22,50	11,10	38,30	6,57	24	8,41	6,94	9,89	0,80	24	1,58	1,32	1,86	0,13	24	22	12	43	6,9
MAR 3	♂	18	16,05	7,40	35,70	8,96	18	7,62	5,84	10,81	1,45	18	1,52	1,23	2,04	0,23					
	♀	41	24,16	8,70	52,80	10,62	14	8,69	7,95	10,03	0,61	14	1,65	1,54	2,14	0,15	13	22	15	26	3,0
RSAW 1	♂	9	15,74	8,90	25,40	6,89	8	7,59	6,67	9,08	1,01	8	1,47	1,27	1,76	0,19					
	♀	22	33,01	10,90	67,40	17,10	22	9,38	6,85	12,87	1,76	22	1,70	1,30	2,17	0,25	22	28	9	46	9,9
RSAW 2	♂	13	14,48	7,90	36,00	7,23	12	7,54	6,10	11,39	1,41	12	1,47	1,23	1,88	0,17					
	♀	23	20,04	11,70	41,00	5,95	23	8,18	6,79	10,48	0,80	23	1,54	1,37	1,86	0,11	23	18	10	31	4,7
CRAM 1	♂	35	15,38	7,20	45,70	6,65	26	7,60	6,78	11,05	0,88	26	1,58	1,40	2,04	0,15					
	♀	18	28,62	18,30	54,90	9,21	17	9,09	7,98	10,88	0,88	17	1,71	1,49	2,04	0,14	14	27	17	48	8,5
CRAM 2	♂	100	15,77	4,50	32,80	7,05	25	8,91	8,13	10,22	0,52	25	1,81	1,70	1,95	0,07					
	♀	33	35,31	17,40	76,20	16,27	25	9,64	7,71	12,12	1,30	25	1,83	1,57	2,14	0,16	25	32	11	52	10,5
MOR 1	♂	31	20,96	10,60	54,50	9,14	25	9,28	7,70	12,94	1,10	25	1,70	1,51	2,19	0,16					
	♀	59	43,98	11,10	98,90	17,68	26	11,64	10,45	14,54	0,97	26	2,08	1,85	2,51	0,16	25	40	25	61	10,0
MOR 2	♂	66	25,50	13,60	54,40	7,94	25	9,86	8,81	12,09	0,69	25	1,97	1,80	2,30	0,11					
	♀	31	30,55	13,50	84,10	14,25	24	9,34	8,12	12,59	1,06	24	1,80	1,56	2,26	0,18	24	21	12	54	9,1
MOR 3	♂	7	16,01	9,10	29,40	8,41	7	7,55	6,32	9,59	1,36	7	1,54	1,30	1,89	0,24					
	♀	3	37,83	26,10	44,10	10,17	3	10,19	8,90	11,04	1,13	3	1,83	1,75	1,90	0,07	3	33	23	40	8,9

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une problématique liée à la contamination des sols par les éléments traces métalliques (ETM) et à la nécessité de développer des outils d'indication permettant le diagnostic et le suivi de la qualité des milieux terrestres. L'objectif de ce travail de thèse a été de rechercher chez deux modèles biologiques, *Oniscus asellus* et *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda), des paramètres indicateurs de la contamination des sols par des ETM, et spécifiquement des litières, dans le but de contribuer à la mise au point d'un outil écotoxicologique de terrain à destination des gestionnaires de l'environnement et visant à renseigner sur l'état de fonctionnement des écosystèmes et particulièrement des habitats ligneux. Ce travail a porté d'une part, sur des études menées *in situ* qui ont concerné la caractérisation de populations d'isopodes (abondance, structuration par âge, paramètres liés à la reproduction, paramètres biométriques, bioaccumulation) en lien avec les paramètres physico-chimiques des sols (pH, teneurs en CaCO₃ total et en MO, ratio C/N, concentrations en Cd, Pb, Zn et Cu). D'autre part, en parallèle des études de terrain, des études *ex situ* menées au laboratoire en conditions contrôlées ont été réalisées, dans lesquelles des paramètres tels que la croissance, la bioaccumulation, le comportement d'évitement ou encore la dynamique de population ont été étudiées chez *P. scaber* exposé à des litières de peuplier collectées sur le terrain et présentant un gradient de contamination en Cd, Pb et Zn. Les études *in situ* n'ont pas mis en évidence de différence entre des populations issues d'environnement massivement contaminés par des ETM ou non. Bien que les individus issus de sites massivement contaminés soient fortement imprégnés par des ETM, il semblerait que les populations soient physiologiquement adaptées pour tolérer ces éléments. En revanche, les expérimentations menées en conditions contrôlées ont montré l'intérêt de l'utilisation de *P. scaber* dans des tests d'écotoxicité pour l'évaluation de la qualité des litières, et ceci au travers de la mesure de la croissance ou de tests comportementaux d'évitement.

Abstract

Soil pollution by metals traces elements (MTE) is a worldwide concern in industrialized countries. For biomonitoring, it is necessary to develop indicator tools to evaluate the quality of terrestrial medias. The aim of this thesis was to research in *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber* (Crustacea, Isopoda), indicator parameters of soil contamination by MTE, and especially of litter, to contribute to the development of ecotoxicological field tool to assess soil quality and terrestrial ecosystems. First, studies performed *in situ*, have concerned characterisation of woodlouse populations from lignous habitats (abundance, age structure, reproduction, biometrical parameters, bioaccumulation) with the regard to physicochemical parameters of soil (pH, CaCO₃ and MO contents, ratio C/N, Cd, Pb, Zn and Cu concentrations). Secondly, studies *ex situ* were also performed in controlled conditions in laboratory. Parameters have concerned growth rate, bioaccumulation, behavioural avoidance or population dynamics in *P. scaber* exposed to field litter contaminated by Cd, Pb and Zn. Field studies didn't show any difference between woodlouse populations from contaminated sites or not. Actually, although MTE body burdens in woodlice from massively contaminated sites were high, it seemed that field populations were physiologically adapted to contaminants. In other hand, laboratory investigations were shown the interest of the use of *P. scaber* in ecotoxicity tests to assess litter quality. These studies have notably shown the sensitivity of growth rate and behavioural avoidance of *P. scaber* as endpoints in ecotoxicity tests.