



**ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE
UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT DE GESTION VETERINAIRE DES RESSOURCES ANIMALES**

**PERSPECTIVE DE DEVELOPPEMENT DE LA LOMBRICULTURE A
EUDRILUS EUGENIAE POUR L'ALIMENTATION DES VOLAILLES
AU GABON**



**PERSPECTIVE FOR THE DEVELOPMENT OF *EUDRILUS EUGENIAE*
FARMING IN POULTRY FEEDING, GABON**

Patrick BYAMBAS

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE
DOCTEUR EN SCIENCES VETERINAIRES**

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020



**ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE
UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE VETERINAIRE
DEPARTEMENT DE GESTION VETERINAIRE DES RESSOURCES ANIMALES**

**PERSPECTIVE DE DEVELOPPEMENT DE LA LOMBRICULTURE A
EUDRILUS EUGENIAE POUR L'ALIMENTATION DES VOLAILLES
AU GABON**



**PERSPECTIVE FOR THE DEVELOPMENT OF *EUDRILUS EUGENIAE*
FARMING IN POULTRY FEEDING, GABON**

Patrick BYAMBAS

**THESE PRESENTEE EN VUE DE L'OBTENTION DU GRADE DE
DOCTEUR EN SCIENCES VETERINAIRES**

ANNEE ACADEMIQUE 2019-2020

«Choisissez un travail que vous aimez et vous n'aurez pas à travailler un seul jour de votre vie».

Confucius

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	VII
REMERCIEMENTS	VIII
LISTE DES ABREVIATIONS	XI
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES TABLEAUX	XIII
COMPOSITION DU JURY	XV
RESUME.....	XII
ABSTRACT	XIV
PRÉAMBULE.....	2
PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
INTRODUCTION GENERALE.....	4
1. LE GABON.....	4
2. L'AVICULTURE AU GABON.....	7
ARTICLE 1 : RÔLES ET CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES DU VER DE TERRE <i>EUDRILUS EUGENIAE</i> (SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE)	9
1. INTRODUCTION.....	10
2. BIOLOGIE ET ANATOMIE D' <i>EUDRILUS EUGENIAE</i>	11
2.1. Origine et distribution	11
2.2. Morphologie d' <i>Eudrilus eugeniae</i>	11
2.3. Anatomie d' <i>Eudrilus eugeniae</i>	14
2.4. Cycle de vie.....	16
3. TECHNIQUE DE LOMBRICULTURE.....	19
3.1. Introduction des vers de terre	19
3.2. Mise en place de l'élevage	19
3.3. Alimentation du ver de terre <i>Eudrilus eugeniae</i>	20
4. ROLES DU VER DE TERRE.....	21
4.1. Importance économique	21
4.2. Importance environnementale	22

4.3. Importance agronomique et biologique.....	23
4.4. Importance zootechnique	26
5. FACTEURS AFFECTANT <i>E. EUGENIAE</i>	30
6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	31
ARTICLE 2: VERMICULTURE IN ANIMAL FARMING: A REVIEW ON THE BIOLOGICAL AND NONBIOLOGICAL RISKS RELATED TO EARTHWORMS IN ANIMAL FEED	
1. INTRODUCTION.....	38
2. EARTHWORMS RISK ASSESSMENT IN ANIMAL FEEDING.....	39
3. RISKS.....	41
3.1. Nonbiological risks.....	41
3.2. Biological risks.....	43
4. RISKS DETECTION	46
4.1. Detection of “heavy metals”	46
4.2. Detection of pesticides	46
4.3. Identification of microorganisms in earthworms.....	47
5. MEANS TO PREVENTING RISKS	48
6. CONCLUSIONS	48
PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE.....	
OBJECTIFS DE L’ETUDE	60
ARTICLE 3: EFFECT OF COW DUNG AND MANURE OF LAYING HENS ON GROWTH AND REPRODUCTION OF <i>EUDRILUS EUGENIAE</i>	
1.INTRODUCTION.....	62
2. MATERIALS AND METHODS	63
3. RESULTS.....	68
4. DISCUSSION	76
5. CONCLUSION	79
ARTICLE 4: EFFECT OF THE DIET ON FATTY ACID PROFILE IN <i>EUDRILUS EUGENIAE</i> . ..	
1. INTRODUCTION.....	84
2. MATERIAL AND METHODS	84
3. RESULTS.....	87

4. DISCUSSION	91
5. CONCLUSION	92
ARTICLE 5 : PERSPECTIVES ZOOTECHNIQUES ET ÉCONOMIQUES LIÉES À L'UTILISATION DU VER DE TERRE <i>EUDRILUS EUGENIAE</i> DANS L'AVICULTURE AU GABON.....	97
1. INTRODUCTION.....	99
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	100
3. RÉSULTATS	107
4. DISCUSSION	112
5. CONCLUSIONS	114
PARTIE 3 : DISCUSSION INTEGRÉE.....	120
PARTIE 4 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	127
RÉFÉRENCES.....	130
ANNEXES	134

DEDICACE

Ce travail est dédié à ma merveilleuse épouse **Samantha Jade BYAMBAS** qui a été à mes côtés tout au long de ces années de recherche et m'a soutenue malgré les nombreuses difficultés.

A mes enfants **Herbie Nolane, Charles Levi, Jade Chloé et Ety Buvane** qui ont usé de patience durant mes longues périodes d'absence.

REMERCIEMENTS

Je ne saurais commencer ces remerciements sans exprimer ma gratitude à celui, sans qui tout ceci n'aurait pas été possible, car sans le souffle de vie et une bonne santé, l'être Humain ne peut accomplir aucune tâche. C'est donc d'un cœur reconnaissant que je dis merci à l'Eternel Dieu créateur de toute chose pour m'avoir permis d'arriver à ce stade.

A mes promoteurs

Pr. Jean-Luc HORNICK et Pr. Frédéric FRANCIS qui ont accepté de m'accompagner et de me guider dans la réalisation de ce travail. Votre sens avisé de la recherche m'a permis très vite de choisir les bonnes voies et malgré mes souhaits, parfois non pertinents, vous avez su avec sagesse me guider vers des choix plus intéressants pour l'avancement de la science. Au Pr. Jean-Luc HORNICK je resterai toujours reconnaissant car il a très vite décelé le potentiel en moi et m'a montré la voie à suivre depuis le travail de formation doctoral en choisissant un sujet tourné vers l'avenir, merci encore. Vous avez marqué ma personnalité par la qualité de vos remarques et la patience, quand je manquais de vigilance dans le travail. Votre souci de toujours chercher à produire le meilleur en moi restera comme un chemin à suivre pour mon travail futur. Recevez ma gratitude. Au Pr. Frédéric FRANCIS, votre disponibilité à chaque fois que je vous ai sollicité a été pour moi salutaire. Malgré vos multiples occupations, vous avez toujours trouvé une minute pour m'aider à avancer, quand je me retrouvai bloqué face à un problème. Votre travail sur les lombrics et vos conseils ont été pour moi une source d'inspiration pour améliorer la qualité de cette thèse. Je vous en suis profondément reconnaissant.

Aux membres de mon comité de thèse

Je tiens à exprimer ma gratitude pour avoir accepté de participer à ce travail et pour leur implication personnelle dans cette thèse. Vos critiques et remarques ont été d'un grand apport dans la qualité de ce travail. Au Pr. Toussaint BENGONE NDONG et au Pr Didier MARLIER j'exprime ma reconnaissance.

Aux membres de mon jury de thèse

Vous m'avez fait l'honneur de prendre de votre temps, malgré vos multiples occupations, pour juger ce travail qui reste perfectible. Pour cet honneur fait à ma personne, je vous dis merci du fond du cœur.

Aux membres du département des productions animales

Je ne pourrais pas ici citer tout le monde mais recevez ma gratitude pour votre collaboration. Au Dr Nassim MOULA, je dis merci pour sa disponibilité chaque fois que je l'ai sollicité pour la correction de mon travail. Au Pr. Johanne DETILLEUX, merci pour ses contributions dans l'orientation des travaux expérimentaux. Merci au Pr. Antoine MOUSSERAUX pour ses interventions ciblées à chaque fois que j'étais bloqué pour un problème technique. Recevez tous ma reconnaissance.

Aux membres du département des sciences des denrées alimentaires

Ma gratitude va au Dr Caroline DOUNY, au Pr Marie-Louise SCIPPO pour leur contribution dans ce travail pour le dosage des acides gras et les corrections apportées dans lors de la rédaction d'une partie de cette thèse. Je n'oublie pas aussi le reste de l'équipe de ce département qui a participé de près ou de loin à ce travail.

Aux membres du département Entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux

Mes remerciements vont au Dr Aboukacem LEMTIRI pour son soutien et son accompagnement dans ce travail. Je n'oublie pas tous les autres collègues du département qui ont apportés leur contribution à l'élaboration de ce document.

A mes collègues et à mes compatriotes vivants en Belgique

Merci pour vos encouragement vos soutiens multiformes et la chaleur d'une famille dans les moments difficiles de l'hiver. Merci à Marcel OKOUYI M'FOUMOU WOTARI, Sandrine BAYENDIT, Edgard FABRE ANGUILLET, Steeve NGUAMA, Yvon PAMBOU BERRE, Fabrice BOUPOYA, Sylvain MOURAKASSA, Hortense MAKOBE, Georgette MWABONDET, Thierry BIYOGHE, Carole NZASSI, Dieudonné MABAKOU, Patricia OWANGA, Sarah ONANGA, Aurélie AYONG et tous les autres que je n'ai pas pu citer ici mais que je porte dans mon cœur recevez ma gratitude

Au gouvernement Gabonais

J'exprime ma reconnaissance pour m'avoir accordé cette bourse pour réaliser cette formation doctorale et produire ce travail de thèse. Les résultats obtenues, je l'espère, devraient participer au développement de l'élevage dans ce pays.

A l'Institut de Recherches Agronomiques et Forestières (IRAF)

Mes remerciements vont au Pr Auguste NDOUTOUME NDONG (Directeur de l'IRAF), qui le premier m'a suggéré de faire une thèse pour mon épanouissement personnel et booster ma carrière professionnelle, merci pour ce conseil précieux. Au Pr Toussaint BENGONE NDONG (Directeur Adjoint de l'IRAF), qui m'a accompagné tout au long de ce travail avec ses soutiens multiformes. Encore recevez ma gratitude. Les encouragements, les conseils et le soutien administratif m'ont permis d'arriver au bout de ce challenge. Je remercie également madame Bertille AVOMO et tous les agents de l'IRAF pour leur disponibilité.

A mes collègues de l'IRAF-CENAREST à Libreville au Gabon

J'adresse mes sincères remerciements à Dieudonné MOUBAMBA, Dieudonné EKOMIE, Gervais KOUDAOU, Ferdinand NDOUTOUME ESSONO, Nelly MOUSSOUNDA-DOGBE, Wilfried NDJOYI, Natacha EFOUA TOMO, Alice MOKOLO, Pierre MENDOU NDONG.

A la CEBEVIRAH

Tout financement pour des travaux de recherche est toujours salutaire. Alors je ne peux qu'exprimer ma profonde reconnaissance à cet organisme sous régional pour son apport financier dans la réalisation de mon travail. Ce soutien, sans lequel les frais d'analyse de laboratoire auraient été très difficiles à régler. Encore merci.

A l'Université de Liège

Je ne peux ici en quelques mots exprimer la profondeur de ma reconnaissance pour avoir accepté de m'accueillir comme étudiant, pour la qualité de vie et la qualité de la formation et de l'encadrement reçu. ULiège restera pour moi un souvenir indélébile et qui aura marqué un tournant important dans ma vie mais aussi dans ma carrière de chercheur. Recevez ma profonde gratitude à travers ces modestes mots.

LISTE DES ABREVIATIONS

AGB : Average gain of biomass
BASE : Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement
BS : Bulk soil
CD : Cow dung
DM : Dry matter
EC : Earthworms casts
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay
EPA : Environmental Protection Agency
EW : Earthworms
FAME: Fatty Acid Methyl Esters
FAOSTAT : Statistiques du fond des nations unis pour l'alimentation
FCFA : Franc de la Communauté Francophone d'Afrique (Communauté Financière Africaine)
GC-MS : Gas chromatography-mass spectrometry
GLM : General linear model
GQM : Gain Quotidien Moyen
HM: Hens manure
IC : Indice de Consommation
IRAF : Institut de Recherches Agronomiques et Forestières
MALDI – TF : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Flight
MS : Mass spectrometry
MUFAs : Mono unsaturated fatty acids
PCR: Polymerase Chain Reaction
PNUD : Programme des nations unis pour le developpement
PUFA : Poly unsaturated fatty acids
QuEChERS : Quick, Easy, Cheap Effective Rugged and Safe
SAS : Statistical software
SFAs : Saturated fatty acids
SIM : Selected ion monitoring
UMO : Unité de main d'oeuvre
USEPA : EPA : United states Environmental Protection Agency
WWS : Worm-worked soil

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Localisation du Gabon et ses pays limitrophes en Afrique.....	5
Figure 2 : Précipitations et températures moyennes de Libreville	6
Figure 1.1 : Spécimen de ver <i>E. eugeniae</i> dans du vermicompost	13
Figure 1.2: Anatomie interne d' <i>Eudrilus eugeniae</i>	15
Figure 1.3: Position de reproduction des vers de terre	17
Figure 1.4: Cocon de l'espèce <i>Eudrilus eugeniae</i>	18
Figure 2.1: Pathways of biological and non-biological risk in food chain	40
Figure 3.1: Experimental vermicomposting system for <i>E. eugeniae</i>	67
Figure 3.2: Evolution of the population size of adults A and juveniles B of <i>E. eugeniae</i> , breded in substrates enriched in different carbon sources	70
Figure 3.3: Evolution of the population of adults A and juveniles B of earthworms belonging to <i>E. eugeniae</i> species breded in two N sources	71
Figure 3.4: The growth of <i>E. eugeniae</i> in different breeding substrates	75
Figure 4.1: Fatty acid profile of <i>Eudrilus eugeniae</i>	90

LISTE DES TABLEAUX

Table 1.1: Caractères morphologiques externes d' <i>Eudrilus eugeniae</i>	12
Tableau 1.2: Composition minérale du sol après ingestion par le ver de terre (SV), des déjections du ver de terre (D) et du sol témoin (S)	25
Tableau 1.3: Composition chimique (g/100g de MS) et énergétique (Kj/100g de MS) de la farine de ver de terre et de poisson	28
Tableau 1.4: Composition en acides aminés de deux sources de protéines (g/16g N)	29
Tableau 2.1: Abundance of microbial diversity in intestinal tract of earthworms and associated habitats, as reported in literature	45
Tableau 3.1: The C/N ratio of ingredients of the substrates.....	64
Tableau 3.2: Experimental design.....	66
Tableau 3.3: Growth performance of <i>E. eugeniae</i> breded in substrates containing cow dung or laying hens' manure, associated or not with either coconut fiber or <i>Leucaena leucocephala</i> leaflets.	73
Tableau 4.1: Effect of peanut powder on some nutrient components of <i>Eudrilus eugeniae</i>	88
Tableau 5.1: Besoins nutritionnels des poulets de chair Hubbard en climat chaud	102
Tableau 5.2: Composition chimique (g/100g de MS) et énergétique (kJ/100g de MS) du ver de terre <i>E. eugeniae</i>	103
Tableau 5.3: Composition, coût et apports nutritionnels de l'aliment fourni par le vendeur local	104
Tableau 5.4: Composition, coût et apports nutritionnels de l'aliment expérimental	105
Tableau 5.5 : Charges liées au dispositif de production de ver de terre	106
Tableau 5.6 : Paramètres de croissance des poulets recevant un aliment standard ou un aliment contenant 3% de MS d' <i>E. eugeniae</i>	108
Tableau 5.7 : Evaluation économique du model de lombriculture au Gabon	110
Tableau 5.8: Economie d'aliment réalisée avec l'introduction du ver de terre.....	111
Annexe 1 : Compte de production des vers de terre avec le prix de vente appliqué au Vietnam ..	134
Annexe 2 : Compte de production des vers de terre avec l'estimation du prix au Gabon	135
Annexe 3 : Evolution de la trésorerie avec le prix de vente du Vietnam.....	136
Annexe 4 : Evolution de la trésorerie avec l'estimation du prix de vente au Gabon	137

COMPOSITION DU JURY

Pr. Arnaud SARTELET	Président du Jury
Pr. Simplicie Bosco AYSSIWEDE (École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires, Sénégal)	Membre externe
Pr. Jean-Paul DEHOUX (Université Catholique de Louvain, Belgique)	Membre externe
Pr. Johanne DETILLEUX (Université de Liège)	Membre interne
Pr. Jean-François CABARAUX (Université de Liège)	Membre interne
Pr. Antoine CLINQUART (Université de Liège)	Membre interne
Dr. Yves BECKERS (Université de Liège)	Membre interne
Pr. Didier MARLIER (Université de Liège)	Comité de thèse
Pr. Jean-Luc HORNICK (Université de Liège, Belgique)	Comité de thèse
Pr. Frédéric FRANCIS (Université de Liège, Belgique)	Comité de thèse
Pr. Toussaint BENGONE NDONG (Centre National de Recherche Scientifique, Gabon)	Comité de thèse
.....	Comité de thèse

RESUME - ABSTRACT

RESUME

Afin de fournir des pistes pour l'amélioration de l'alimentation des poulets, l'incorporation d'une ressource alimentaire non conventionnelle disponible au Gabon, à savoir les lombrics, est envisagée. La première partie de l'étude consiste en une présentation du ver de terre *Eudrilus eugeniae* Kinberg, à travers une revue des connaissances sur cette ressource alimentaire non-conventionnelle qui est un aliment naturel des volailles en général, et du poulet de chair en particulier. Cette synthèse bibliographique présente les différentes caractéristiques d'*E. eugeniae* et les rôles qu'il peut jouer dans l'amélioration de la valeur nutritive de l'aliment du poulet. Elle aborde aussi, les conditions de sa valorisation agronomique à travers la lombriculture.

Bien que le ver de terre soit une source de protéine pour les poulets, sa collecte dans des milieux non contrôlés peut présenter des risques biologiques et non-biologiques pour les animaux. Le ver de terre peut accumuler des substances toxiques présentes dans son milieu de vie. Les métaux lourds sont fréquemment retrouvés dans les vers de terre qui en sont d'importants bio-accumulateurs et bio-indicateurs de leur présence dans le sol. Des pesticides liés au développement de l'agriculture intensive et des toxines microbiennes du tube digestif du ver de terre peuvent aussi être présents. Tous ces facteurs sont potentiellement à l'origine d'intoxication ou d'intoxination des volailles par le biais de l'alimentation. Pour limiter les risques de contamination de la chaîne alimentaire, l'utilisation de la vermiculture pour la production des vers de terre est recommandée.

La lombriculture à *E. eugeniae*, a permis de préciser ses conditions d'élevage en zone équatoriale. Les performances de reproduction et de croissance du lombric ont été mesurées à partir de 2 sources d'azote (bouse de vache et fumier de poules pondeuses) et 2 sources de carbone (fibres de noix de coco et folioles de *Leucaena leucocephala*). Les meilleures performances d'évolution de la population et de croissance pondérale d'*E. eugeniae* ont été obtenues avec la bouse de vache et les fibres de noix de coco. Les résultats suggèrent que l'association bouse de vache-fibre de noix de coco est plus adaptée pour la production d'*E. eugeniae*, en zone équatoriale.

La production d'*E. eugeniae* pour l'alimentation animale a nécessité l'étude de sa valeur nutritive pour une meilleure utilisation dans les formulations. En plus des macronutriments, le profil d'acides gras du lombric a été étudié. Des acides gras à (très) longue chaîne tel que $\omega 3$ et $\omega 6$ sont présents dans ce ver de terre. Ils sont vraisemblablement le résultat d'une biosynthèse et non pas exclusivement liés à l'aliment reçu. L'étude du profil en acides gras d'*E. eugeniae* a permis de mettre en évidence une capacité à bio-synthétiser les acides gras essentiels et démontre l'intérêt d'*E. eugeniae* comme ingrédient de substitution dans l'alimentation des volailles. Enfin le lombric a été introduit dans l'alimentation du poulet et les effets sur les performances zootechniques et économiques ont été mesurés. Les résultats montrent que la croissance des poulets et leur gain moyen quotidien ne sont pas influencés significativement par l'introduction des vers de terre. La consommation d'aliment a été plus économique

avec la formulation contenant *E. eugeniae*. Aussi, comme le dispositif de lombriculture est relativement peu coûteux, *E. eugeniae* peut être un bon complément nutritif pour l'alimentation des poulets et peut générer des ressources financières relativement intéressantes pour l'éleveur.

Pour conclure, cette thèse est une contribution à la connaissance d'*E. eugeniae* et aux perspectives de sa valorisation pour l'alimentation animale. Elle a permis de montrer que cette espèce est une source de protéines et d'acides gras, qui peut être produite à moindre coût au Gabon.

ABSTRACT

In order to provide ways for improving chicken nutrition by incorporating an unconventional feed resource available in Gabon, earthworm production and use were planned. The first part of the study presents the earthworm *Eudrilus eugeniae*, through a review on this unconventional feed resource that is a natural feeds of poultry in general, and of broiler in particular. This review presents different characteristics of *E. eugeniae* and the roles it can play for improving nutritional value of chicken feed. It also discusses about conditions for developing production technics through vermiculture.

Although earthworms are a good source of protein for chickens, their collection from uncontrolled environment can lead to biological and non-biological risks to animals. Earthworms can accumulate toxic substances present in soil. Through food and depending on the type of substances involved, some of them can be found in poultry organism.

The most common potential toxic compounds are heavy metals, of which earthworms are important bio-accumulators and bio-indicators of presence in soil. Extension of pesticides concern has taken place with the development of intensive farming. Additionally, microbial toxins from bacteria, which are generally located in the posterior part of digestive tract of earthworms, could be retrieved. All of these factors can lead to toxic or poisonous contamination of poultry through feed. Detection techniques are available and substrate control is essential to limit the risks of contamination. Whatever the type of risk, use of earthworms reared from vermiculture can help to prevent contamination of poultry through feeding.

The experimental part of this thesis aimed at carrying out vermiculture of *E. eugeniae*. It helped to point out address some best conditions for rearing earthworms in equatorial zone. Earthworm reproductive and growth performances were measured under 2 nitrogen sources (cow dung and manure of laying hens) and 2 carbon sources (coconut fibers and *Leucaena leucocephala* leaflets). The highest population growth and weight gain in *E. eugeniae* were obtained with cow dung and coconut fibers. We concluded that for vermiculture of *E. eugeniae* in the equatorial zone, the association of cow dung and coconut fiber is more suitable for the production of the worm. Production of *E. eugeniae* for animal feeding required to determine nutritional values of the worm for formulation aims. In addition to conventional nutrients provided by the earthworm, its fatty acid profiles were determined because the species is not well known at that level. Long chain $\omega 3$ and $\omega 6$ were present into *E. eugeniae*, probably as the result of bio-synthesize and not only from earthworm feeding. The study of fatty acid profile of *E. eugeniae* demonstrated its ability to bio-synthesize essential fatty acids but also illustrated the interest of *E. eugeniae* as a useful source of nutrient for poultry feed.

Finally, earthworms were introduced into chicken feed. The effects of this incorporation on zootechnical and economic performances were measured. The growth of chickens and their average daily gain were not significantly influenced by the treatment. Feed consumption was more economical with feed

containing *E. eugeniae* as the vermiculture device was relatively inexpensive. Then, *E. eugeniae* can be an efficient nutritional supplement for chicken feed and can provide relatively interesting financial resources for breeder.

In conclusion, this thesis is a contribution on the knowledge of *E. eugeniae* and the prospects for its development in poultry feeding. It demonstrated to be a fairly complete feed source that can be produced at low cost in Gabon.

PREAMBULE

PRÉAMBULE

Cette thèse se présente sous forme de compilation d'articles scientifiques déjà publiés, acceptés ou soumis pour publication dans les revues scientifiques suivantes :

- BASE (Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement) IF 2018 = 1,2 ;
- Cogent Environmental science ;
- International Journal of Agriculture and Biology, IF 2018= 0,8;
- Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des pays Tropicaux;
- Revue du RAMRES, Science de la vie, de la terre et agronomie.

Ce travail sur l'utilisation du ver de terre *Eudrilus eugeniae* dans l'alimentation des poulets au Gabon comporte 5 articles. Une introduction générale, présente le contexte de l'étude. L'article 1 est une synthèse des connaissances du ver de terre *E. eugeniae* (publiée dans BASE) et présente la biologie, l'anatomie d'*E. eugeniae* et les conditions de sa lombriculture.

L'article 2 (publié dans Cogent Environmental Science) décrit les risques biologiques et non-biologiques liés à l'utilisation des vers de terre dans l'alimentation du poulet ainsi que les moyens de s'en prémunir.

Une étude expérimentale de terrain sur la lombriculture : *E. eugeniae*, au Gabon est présentée dans l'article 3. Cette étude a été publiée dans « International Journal of Agriculture and Biology ».

Les résultats de l'analyse de la composition chimique d'*E. eugeniae* et du profil en acides gras sont présentés dans l'article 4. Cet article objective la variation des teneurs en éléments nutritifs du ver de terre et particulièrement en acides gras suivant le milieu de vie et le régime alimentaire du lombric. L'article est en attente de publication dans la Revue du RAMRES, Science de la vie, de la terre et agronomie

Enfin l'article 5 décrit les résultats de l'impact d'un aliment à base de vers de terre sur certains paramètres zootechniques des poulets élevés au Gabon. L'article est en attente de publication dans la revue REVMT.

La conclusion et les perspectives de développement de la lombriculture au Gabon terminent ce manuscrit.

PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION GENERALE

1. LE GABON

Le Gabon est un pays du golfe de Guinée en Afrique centrale. Ce pays est situé en pleine forêt équatoriale avec une latitude de 4°S - 2°3N et une longitude de 8°E - 15°E. Il est limité au Nord par le Cameroun, au Nord-Ouest par la Guinée Equatoriale, à l'Est et au Sud-Est par la République du Congo. L'Océan Atlantique est sa limite à l'ouest sur 800 km de côtes maritimes (Figure 1.). La superficie du Gabon est de 267 667 km². Le pays est recouvert à 85 % de forêt équatoriale. En 2017, la population du Gabon était estimée à 1 800 000 habitants. Les deux principales villes, Libreville et Port-Gentil regroupent 59% de la population totale (PNUD, 2018).

Le climat est de type équatorial, chaud et humide avec 2 saisons sèches (la petite qui court de janvier à février et la grande de juin à septembre) et 2 saisons de pluies (la petite, d'octobre à décembre et la grande de mars à mai).

Les températures moyennes mensuelles dans l'ensemble du pays, oscillent entre 24-32°C, pour une humidité relative de 80 %. Sur la façade atlantique où se trouve la capitale Libreville la température moyenne est de 27°C (Figure 2). La pluviométrie moyenne annuelle est d'environ 2000 mm par an. Elle peut atteindre 3000 mm dans la partie nord de la côte où se trouve la capitale Libreville (Figure 2) (Climat et voyages, 2018).



Figure 1. Localisation du Gabon et ses pays limitrophes en Afrique

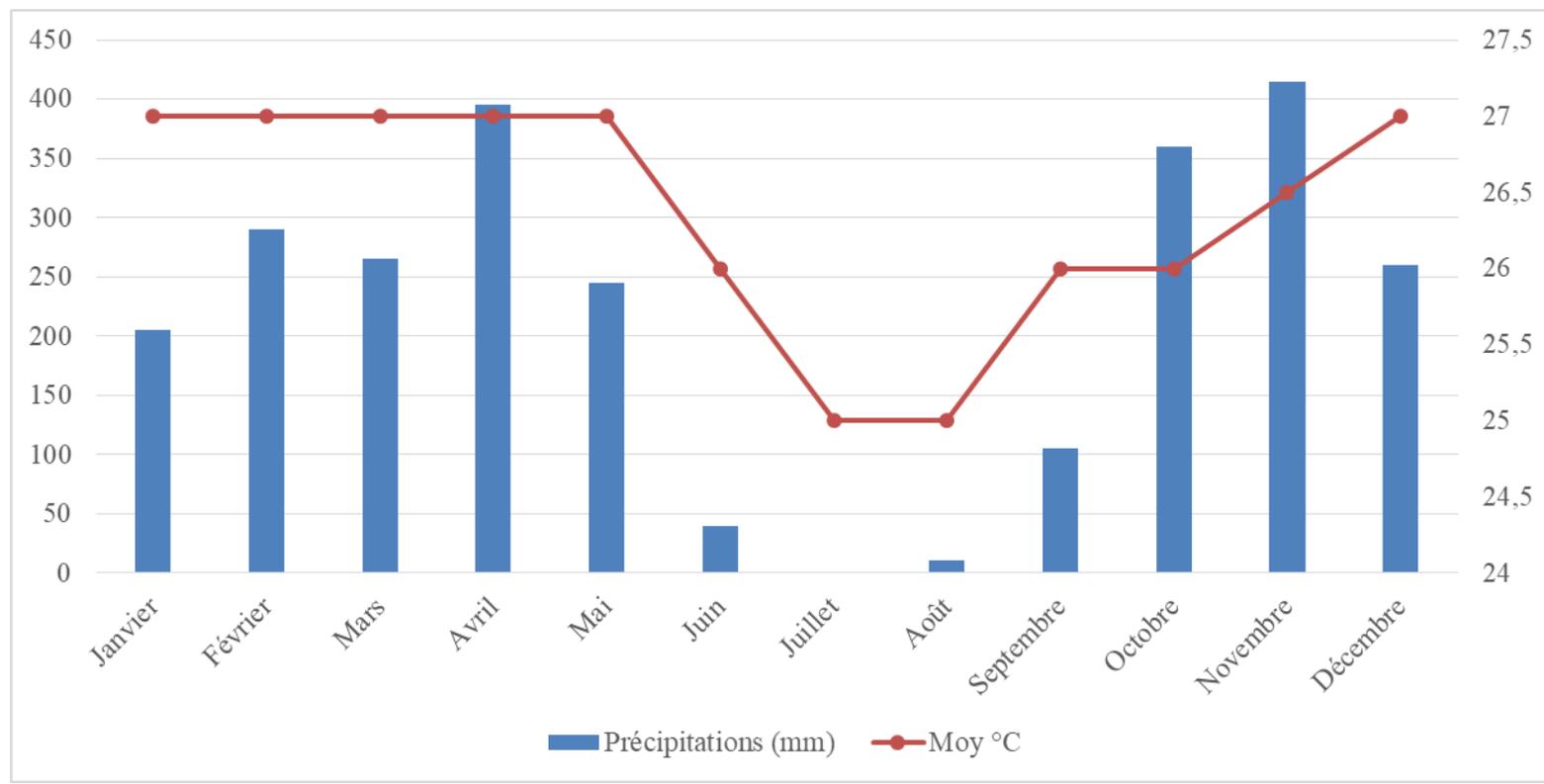


Figure 2: Précipitations et températures moyennes de Libreville, **source :** <http://www.climatsetvoyages.com/climat/gabon>

2. L'AVICULTURE AU GABON

Le Gabon est un pays à revenu intermédiaire, tranche supérieure (Banque Mondiale, 2019). Cependant, il peine à produire les aliments nécessaires pour nourrir sa population. Le pays se caractérise aussi par la diversité et la richesse du sous-sol, répartie sur une superficie relativement petite. Malgré ce potentiel, 30% de la population gabonaise est classé parmi les personnes vulnérables. Ce groupe est composé de femmes, d'enfants, des petits producteurs agricoles et des personnes âgées. Parmi les enfants de moins de 5 ans, 21% souffrent de malnutrition chronique et environ 7% en souffrent sous forme sévère (PNUD, 2011). Dans ce groupe de population, les petits producteurs agricoles sont ceux qui pâtissent le plus du faible développement de ce secteur.

Au Gabon, l'agriculture ne représente pas plus de 5% du PIB et le sous-secteur de l'élevage est quasiment insignifiant. Selon le Ministère gabonais de l'agriculture (2015), les investissements dans le secteur agricole en général, sont passés de 16% à 3% en 50 ans. Ainsi pour assurer l'alimentation de sa population, le Gabon importe 60% des produits alimentaires consommés dans ce pays. Ces importations sont estimées à un peu plus de 420 milliards de FCFA (640,28 millions d'euros) par an et les volailles représentent 56% des quantités de viandes importées (FAOSTAT, 2019). La volaille consommée au Gabon est importée à 95% et alimente un déficit de production national estimé à 49 millions de tonnes par an (FAOSTAT, 2019). Au fil des années, la consommation de poulet a fortement augmenté et le poulet surgelé est devenu la viande la plus consommée avec une moyenne de 1,71 kg/individu/mois/ménage. Cette situation ne favorise pas la production locale dont le prix de revient moyen du poulet produit localement (3550 FCFA/kg soit 5,41 €/kg) est plus élevé que le prix moyen (3500 FCFA/kg soit 5,33 €/kg) de vente au détail du poulet surgelé importé. Le développement de l'élevage en général et de l'aviculture en particulier nécessite de trouver des stratégies pour alimenter les volailles à moindre coût, car l'alimentation des volailles d'élevage représente 70% des coûts de production dans ce pays (James et Divina, 2012).

Ainsi le recours à des sources de nutriments non conventionnels et à moindre coût peut être une des voies pour le développement de ce secteur, face à l'existence d'une compétition alimentaire homme-animal qui ne fait que croître (Prayogi, 2011). Les ressources alimentaires non conventionnelles (insectes, vers de terre, déjections animales, etc.) sont ainsi des solutions potentielles aux besoins protéiques et énergétiques des animaux d'élevage. Parmi les sources de nutriments non conventionnelles, le ver de terre est avantageux pour l'alimentation des volailles. Il est aussi plus adapté des points de vue culturels. Il est plus accessible et acceptable par les populations dans le cadre d'une vulgarisation de la lombriculture.

Plusieurs études ont montré l'intérêt de l'élevage des vers de terre pour l'aviculture (Hellebaut, 2001). Il constitue une source de protéine aussi valable que celle du poisson (Sogbesan et al., 2008). L'intérêt zootechnique et économique du ver de terre pour les producteurs de poulets a été rapporté dans plusieurs pays (Francis et al., 2003 ; Morón-Fuenmayor et al., 2008 ; Sogbesan et Madu, 2008 ; Moreki et

Tiroesele, 2012 ; Sivasankari et al., 2013) mais pas encore au Gabon. Les vers de terre peuvent ainsi être incorporés jusqu'à 25% dans l'aliment des poulets sans que cela n'impacte négativement la croissance de la volaille (Abd Rahman Jabir et al., 2012).

Les vers de terre représentent jusqu'à 70% de la biomasse du sol (Zibres et al., 2011). Cinq milles espèces ont déjà été décrites à travers le monde (Brown et al., 2013). En Afrique, *Eudrilus eugeniae* est le plus connu des vers de terre et il joue un rôle économique et zootechnique relativement important en aviculture (Francis et al., 2003 ; Francis et al. 2005). Plusieurs études descriptives ont été réalisées sur ce lombric (Butt et Grigoropoulou, 2010 ; Sivasankari et al., 2013 ; Coulibaly et Zoro Bi, 2010 ; Vijaya et al., 2012). *Eudrilus eugeniae* a été rencontré au Ghana, au Nigéria, et Cameroun (Oboh et al., 2007 ; James et Divina, 2012). Bien qu'il ait été répertorié au Gabon (James et Divina, 2012) son exploitation pour l'aviculture n'y a jamais été réalisée.

En dépit de ses propriétés nutritionnelles intéressantes (Sogbesan et Ugwumba, 2008), l'utilisation du lombric pour l'alimentation animale présente des contraintes d'ordre toxicologiques (Suthar & Singh, 2008). Il existe toutefois des procédés permettant de réduire la teneur en composés toxiques chez le vers de terre.

**ARTICLE 1 : RÔLES ET CARACTÉRISTIQUES MORPHOLOGIQUES DU VER DE TERRE
EUDRILUS EUGENIAE (SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE)**

Adapté de l'article 1 : Synthèse publiée dans *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*,
2017 **21**(1),

Patrick Byambas, Aboukacem Lemtiri, Jean Luc Hornick, Toussaint Bengone Ndong, Frédéric Francis

Résumé

Introduction. *Eudrilus eugeniae* est un ver épigé d'origine africaine. Il est principalement rencontré dans les pays tropicaux et subtropicaux, et est utilisé dans les processus de lombriculture et de lombricompostage.

Littérature. Le développement de l'utilisation et de l'exploitation du ver nécessite un approfondissement des connaissances s'y rapportant pour optimiser la production des vers et du lombricompost. Cette synthèse bibliographique a été initiée pour faciliter la valorisation agronomique de cette espèce au Gabon et améliorer les connaissances actuelles sur *E. eugeniae*. Elle pourrait faciliter l'élaboration d'une clé d'identification spécifique à *E. eugeniae*, à l'instar de celles qui existent pour d'autres espèces.

Conclusions. La synthèse des connaissances disponibles sur le ver de terre *E. eugeniae* devrait faciliter son exploitation et sa valorisation dans les pays comme le Gabon où l'étude de ce ver de terre est récente.

Abstract

Introduction. *Eudrilus eugeniae* is an aboveground African worm mainly found in tropical and subtropical countries and is used in the process of vermiculture and vermicomposting.

Literature. The development of the production of this earthworm species requires a deepening knowledge of the species. This review aimed to facilitate the agricultural recovery of the worm in Gabon and improve the current knowledge on *E. eugeniae*. Finally, the development of a specific identification key for *E. eugeniae* is recommended.

Conclusions. Further investigation regarding the geographical distribution of this worm in the equatorial zone, where it was recently described, must also be considered. This review of the available knowledge on the earthworm *E. eugeniae* should facilitate its use and its valorization in countries such as Gabon, where knowledge of this worm is recent.

1. INTRODUCTION

Eudrilus eugeniae (Kinberg, 1867) est une espèce de ver de terre qui appartient à la famille des Eudrilidae (Ansari et Saywack, 2011). C'est un invertébré qui appartient à l'embranchement des Annelides, à la classe des Oligochètes et à l'ordre des Haplotaxidae qui regroupe des organismes principalement terrestres et vivant dans le sol (Ansari et Saywack, 2011). Plusieurs études ont classé les vers de terre en 3 catégories et en 5 familles à travers le monde. Les 3 groupes écologiques qui regroupent les vers de terre sont :

- (1) : Les vers épigés qui vivent en surface dans les amas de matières organiques et creusent peu ou pas de galeries dans le sol. *E. eugeniae* fait partie de ce groupe (Pérès et al., 2011) ;
- (2) : Les vers anéciques occupent la couche supérieure du sol autour de 25 cm, ils creusent des galeries verticales dont la longueur peut atteindre plusieurs mètres (Morin, 1999) ;
- (3) : Les vers endogés vivent dans les couches plus profondes et creusent des galeries horizontales (Pérès et al., 2011).

Les vers de terre représentent jusqu'à 70% de la biomasse du sol (Zibres et al., 2011). Cinq milles espèces ont déjà été décrites à travers le monde, mais de nombreuses restent à découvrir et principalement dans les zones tropicales (Brown et al., 2013). Les vers de terre jouent un rôle majeur dans la dynamique des nutriments du sol, en modifiant leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques (Kooch et Jalilvand, 2008). Ils sont présents dans la majorité des écosystèmes terrestres, principalement en régions tempérées et tropicales. *E. eugeniae* joue un rôle économique relativement important en aviculture (Francis et al., 2003) et dans la pêche sportive (Morin, 1999). Il est souvent utilisé dans le processus de vermicompostage dans les pays tropicaux et subtropicaux. Il présente un intérêt pour la valorisation des déchets organiques dans ces zones (Vijaya et al., 2012) et se caractérise par un corps cylindrique allongé constitué d'anneaux successifs (Pérès et al., 2011).

Eudrilus eugeniae a été répertorié en Afrique. C'est un ver qui sort généralement la nuit d'où le nom de ver nocturne africain (Brown et al., 2013). L'intérêt scientifique pour ce ver a connu une croissance exponentielle cette dernière décennie. Ainsi, plusieurs études lui ont été consacrées pour décrire l'anatomie interne (Butt et Grigoropoulou, 2010), le cycle de reproduction (Parthasarathi, 2007 ; Sivasankari et al., 2013), les paramètres de croissance et de reproduction dans différents substrats (Coulibaly et Zoro Bi, 2010), et la description des organes de reproduction (Vijaya et al., 2012). Ces études récentes facilitent les processus d'identification d'*E. eugeniae* bien qu'il n'existe toujours pas de clé d'identification spécifique à ce ver de terre. *E. eugeniae* a été rencontré au Ghana, au Nigéria, au Cameroun et au Gabon

(Oboh et al., 2007 ; James et Divina, 2012). La lombriculture d'*E. eugeniae* a été réalisée dans ces pays excepté au Gabon (James et Divina, 2012).

Malgré les connaissances actuelles son rôle économique et agronomique reste mal connu dans les pays où il a été répertorié. L'intérêt de cette synthèse bibliographique sur *E. eugeniae* est de mieux relever ses caractéristiques physiques, son rôle dans les écosystèmes terrestres, les productions animales et la protection de l'environnement. Elle vise à faciliter aussi son identification et sa valorisation dans les pays comme le Gabon, où il est encore peu connu.

2. BIOLOGIE ET ANATOMIE D'*EUDRILUS EUGENIAE*

2.1. Origine et distribution

Eudrilus eugeniae a été répertorié dans plusieurs pays africains (Oboh et al., 2007 ; James et Divina, 2012). A la différence d'autres espèces de ver de terre que l'on peut trouver dans différentes parties du globe, le ver nocturne africain est principalement présent dans les sols tropicaux (Ansari et Saywack, 2011). Il est absent dans les déserts, les zones continuellement enneigées ou glaciales et les montagnes (Ansari et Saywack, 2011).

2.2. Morphologie d'*Eudrilus eugeniae*

La morphologie externe d'*E. eugeniae* adulte (Tableau 1.1) est caractérisée par un corps allongé et recouvert d'anneaux successifs appelés segments (Figure 1.1). Il peut atteindre un poids maximal de 4 g, à l'âge adulte (Reinecke et al., 1992 ; Ansari et Saywack, 2010).

Le péristomium est le premier segment qui entoure la cavité buccale ; sur celui-ci se trouve une bosse ou un lobe appelé prostomium dont la forme est un des éléments qui permettent de déterminer l'espèce de ver de terre (Craw, 2012). Les deux premiers segments ne possèdent pas de soies. Ces derniers sont des poils très fins dont le nombre sur les segments varie selon le segment du corps. *E. eugeniae* en possède 8, disposés en 4 paires en position ventro-latérale. Les soies permettent au ver de terre de se déplacer et d'accrocher le partenaire lors de la copulation (Craw, 2012). Le clitellum est un renflement qui indique la maturité sexuelle et apparait sur la partie antérieure du ver de terre. Il permet la production des cocons. Sur le dernier segment du corps du ver de terre appelé pygidium ou anus, il n'y a pas de soies (Sivasankari et al., 2013).

Table 1.1: Caractères morphologiques externes d'*Eudrilus eugeniae* (d'après Ansari et Saywack, 2011 ; Vijaya et al., 2012).

Caractères morphologiques	<i>Eudrilus eugeniae</i>
Couleur du corps	Rouge foncé vers l'avant et bleu violet vers l'arrière
Forme du corps	Cylindrique
Longueur du corps	130 à 150 mm
Nombre de segments du corps	145 à 207
Forme des soies du corps	Sigmoïde
Forme du prostomium	Epilobique ouvert
Soies du corps	Séparés
Longueur des soies	0,42 mm
Forme du clitellum	Annulaire
Longueur du clitellum	5,3 à 5,5 mm
Nombre de segments du clitellum	6 à 8 segments
Début du clitellum à partir de la tête	13 ^{ème} ou 14 ^{ème} segment
Position du pore génitale mâle	Segment 17
Position du pore génitale femelle	Segment 14
Nombre de pore génital mâle	1 paire
Nombre de pore génital femelle	1 seule



Figure 1.1. Spécimen de ver *Eudrilus eugeniae* dans du vermicompost (Patrick Byambas).

2.3. Anatomie d'*Eudrilus eugeniae*

La disposition des organes internes du ver de terre révèle que la quasi-totalité des organes vitaux sont regroupés dans la partie antérieure de l'organisme, qui part de la tête au dernier segment du clitellum (Figure 1.2). La zone post-clitellaire débute après le clitellum et se termine à l'anus. Elle n'héberge qu'une partie de l'intestin (Yesudhasan et al., 2013).

Une coupe transversale du ver de terre permet de distinguer l'épiderme externe; un réseau de muscles circulaires et de muscles longitudinaux, séparés par un fin réseau de tissus nerveux ; une membrane péritoine qui permet de délimiter la cavité coelomique. L'épiderme externe est couvert d'une cuticule non cellulaire, fine et transparente qui couvre l'ensemble du corps. La cuticule réfléchit la lumière mais elle permet aussi de faire ressortir les couleurs des couches sous cutanées, en laissant traverser la lumière (Siegrist, 2011). Les vers de terre ne possédant pas de poumons, la respiration se fait à travers leur épiderme humide ; l'oxygène est absorbé par l'hémoglobine sanguine, et le dioxyde de carbone est libéré (Yonemura et al., 2019)

Les vaisseaux dorsaux et ventraux se situent au-dessus et en dessous de l'intestin. Le cordon nerveux, qui relie les vaisseaux ventraux aux muscles longitudinaux, et la métanéphridie qui est un organe excréteur métamérisé s'ouvrent dans la cavité coelomique. Ils sont situés dans la partie ventrale (Yesudhasan et al., 2013).

Le tractus digestif (Figure 1.2) commence par la cavité buccale, qui absorbe les aliments par succion. Il comprend successivement le pharynx, l'œsophage, le jabot, le gésier, puis l'intestin qui se termine au pygidium. Plusieurs pseudo-cœurs entourent la zone de l'œsophage (Craw, 2012).

Le système de reproduction est composé de 2 paires de testicules sous forme de lobe au niveau des cloisons des segments 10 et 11, et celui des segments 11 et 12. Deux paires de larges vésicules séminales sont situées sur les segments 11 et 12, ainsi que la glande de la prostate (euprostate) qui a la forme d'un doigt. Chez le ver *E. eugeniae*, les ovaires sont situés dans le 13^{ème} segment, dans la cavité coelomique sous le canal alimentaire (Vijaya et al., 2012).

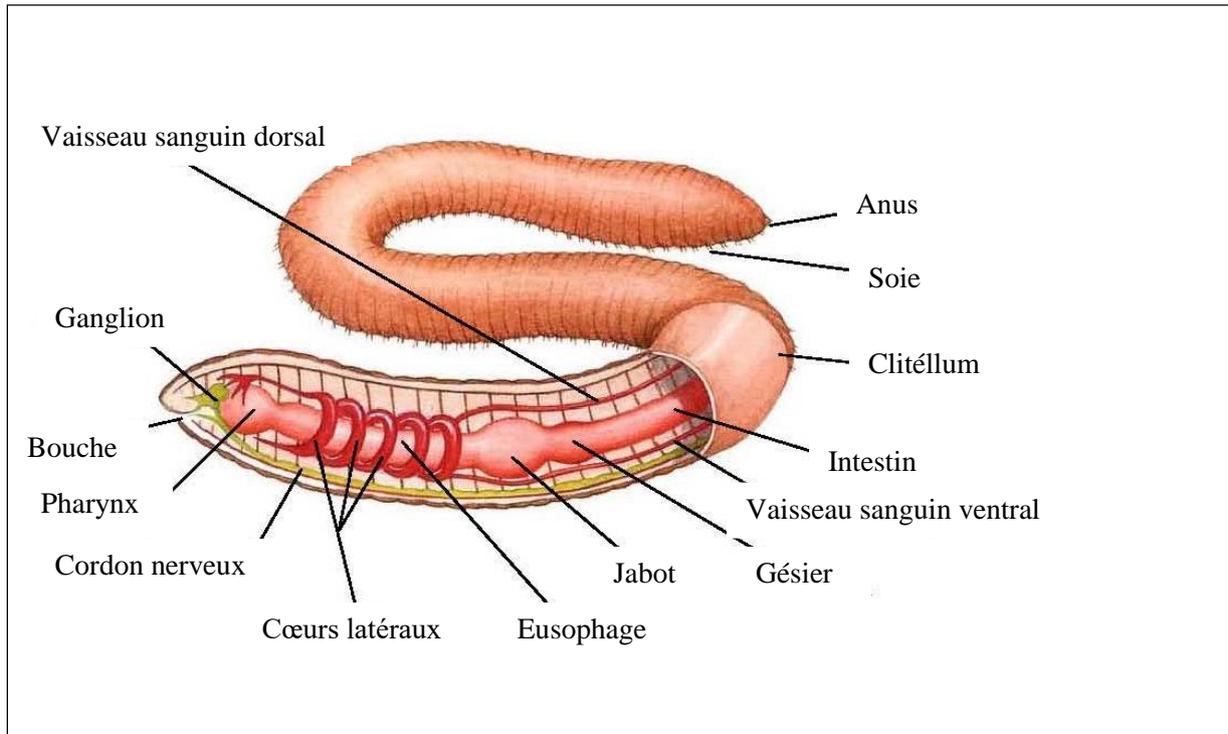


Figure 1.2: Anatomie interne d'*Eudrilus eugeniae* (www.infovisual.info).

2.4. Cycle de vie

Le ver de terre *E. eugeniae* a un cycle de vie variant entre 50 et 70 jours (Reinecke et al., 1992). Chez *E. eugeniae* le développement du clitellum commence entre 35 et 45 jours et la maturité sexuelle est atteinte entre 40 et 49 jours (Sivasankari et al., 2013). À la maturité sexuelle, les vers de terre s'accouplent et la formation du cocon intervient après 24h (Sivasankari et al., 2013). *E. eugeniae* est un organisme hermaphrodite qui a besoin d'un partenaire pour se reproduire. Ils juxtaposent leurs organes de reproduction (Figure 1.3) en se positionnant tête-bêche (Morin, 2004). Le ver de terre peut aussi s'auto-coupler lorsqu'il est isolé ou pratiquer la parthénogénèse (Fernandez et al., 2011). Le clitellum permet aux partenaires de rester collés l'un à l'autre. Ils échangent leurs semences males et sécrètent de petits cocons via le clitellum (Morin, 2004).

Une semaine après l'accouplement, la production des cocons commence. Chez *E. eugeniae* la production peut atteindre 1,3 cocon/jour (Sivasankari et al., 2013). Le cocon produit a une couleur grise claire. Il durcit rapidement, puis devient gris orangé (Figure 1.4) et gris foncé juste avant l'éclosion. La longueur d'un cocon varie de 4,3 à 7,8 mm, le diamètre varie entre 2,1 et 4 mm et le poids moyen est d'environ 17 mg (Sivasankari et al., 2013). La période d'incubation des cocons varie de 12 à 16 jours avec un taux d'éclosion de 75 à 80% (Morin, 2004). Chaque cocon donne naissance à des juvéniles dont le nombre varie entre 1 et 4 par cocon (Dominguez et Edwards, 2010).

Après un jour, le juvénile prend la forme du ver de terre adulte. Le passage à l'âge adulte a une durée variable allant de 1 à 6 mois. Chez *E. eugeniae*, le temps entre la production du cocon et la maturité sexuelle dure 47 ± 3 jours à 25°C (Sivasankari et al., 2013). Le ver de terre peut vivre plus de 10 ans dans le cas de *Lombricus terrestris*, mais cette espérance de vie est souvent réduite en milieu naturel en raison de facteurs environnementaux et des prédateurs (Sims et Gerard, 1985).

En régions tropicales, dans des conditions favorables (températures 27°C, humidité 75%), un substrat adapté (matière organique animale et végétale, en décomposition) (Tahir et Hamid, 2012), une population de ver de terre du type *Eudrilus sp* croît rapidement et le juvénile peut atteindre le stade de maturité sexuelle en 35 ± 3 jours après l'éclosion (Sivasankari et al., 2013).

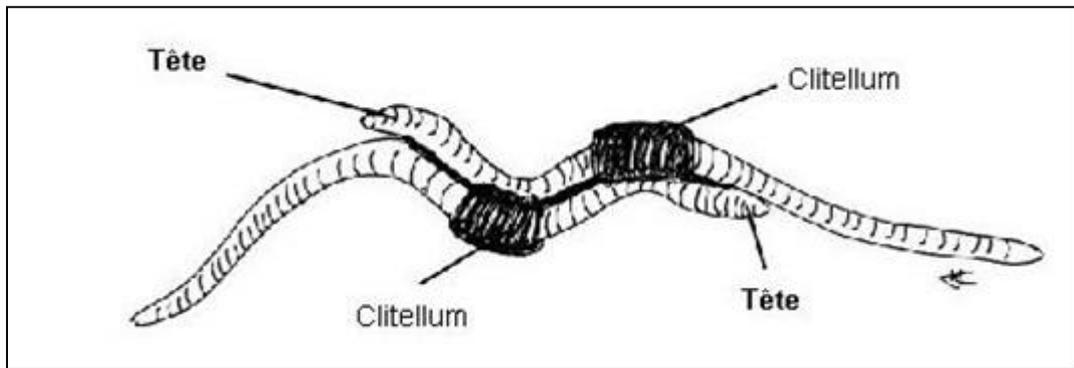


Figure 1.3: Position de reproduction des vers de terre (Morin, 2004).



Figure 1.4: Cocon de l'espèce *Eudrilus eugeniae* (Patrick Byambas).

3. TECHNIQUE DE LOMBRICULTURE

La lombriculture ou vermiculture est le processus de production des vers de terre. Mais le lombricompostage ou vermicompostage est le processus de production du compost par dégradation de la matière organique suite à l'activité des vers de terre.

Suivant l'espèce utilisée, la densité, la température, l'épaisseur du substrat peuvent varier fortement et affecter la croissance et la reproduction des vers de terre (Chaoui, 2010). Les principales espèces utilisées en lombricompostage suivant le climat et la région, sont : *Eisenia fetida*, *E. andrei*, *Perionyx excavatus* et *E. eugeniae* (Francis et al., 2003)

3.1. Introduction des vers de terre

Les vers de terre peuvent être issus d'un élevage d'*E.eugeniae* ou alors être prélevés par creusage et tri manuel dans les parties superficielles (15 cm de profondeur) de l'horizon d'un sol abritant l'espèce recherchée. Les vers de terre devront tous être prélevés sur la même parcelle de terre, afin de réduire la variation du biotype (Vijaya et al., 2012). Seuls les vers de terre matures sont sélectionnés pour la lombriculture. D'autres méthodes de prélèvement existent, telle que la placette de 1m² utilisant de la moutarde diluée (150 g / 10 L d'eau) en arrosage sur le sol ou l'arrosage d'une solution de formol sur la surface de prélèvement des vers de terre (Cluzeau, 2013).

3.2. Mise en place de l'élevage

La technique de lombriculture en zone tropicale se fait selon la méthode décrite par Francis et al. (2003) et Tahir et Hamid (2012). Le bac plastique utilisé sera perforé dans le fond et sur le couvercle. Un bac supplémentaire devra permettre de recueillir le surplus d'eau en dessous du bac d'élevage. Les parois des bacs devront être peintes en noir pour maintenir les vers de terre dans l'obscurité (Tahir et Hamid, 2012). Dans le bac, les différentes matières organiques devront être mélangées dans des proportions permettant d'avoir un rapport C/N de 30 (Bruyeer et Simus, 2012). Dans une exploitation où l'espace est plus grand, la lombriculture peut se faire au sol avec des tas de 1m de haut et 3m² de surface (Francis et al., 2003). La lombriculture peut se pratiquer dans des bacs plastiques (Tahir et Hamid, 2012), des constructions en terre cuite ou en bois (Francis et al., 2003), sur un film plastique sous serre (Morin, 1999) en fonction du milieu, de la surface disponible et des matériaux accessibles au producteur.

Pour faciliter son développement, sa reproduction et sa croissance, *E. eugeniae* a besoin d'une température variant entre 25° et 28°C ainsi qu'un pH de 6,4 à 7,0 (Tahir et Hamid, 2012). L'humidité doit être maintenue entre 70 et 85% par arrosage chaque fois que c'est nécessaire

(Dominguez et Edwards, 2010). Quand on ne peut pas utiliser de l'eau distillée (Coulibaly et al., 2011), l'eau de pluie est préférable à l'eau du robinet qui peut potentiellement contenir du chlore (Lowe et Butt, 2005). L'introduction des vers de terre n'intervient qu'après une période de précompostage de 14 jours (Nayak et Sahu, 2013) pour permettre l'évacuation d'éventuels gaz qui peuvent être toxiques pour le ver de terre (Coulibaly et al., 2016). La densité recommandée est de 1,6 kg/m² de substrat (Francis et al., 2003), ou 7 vers de terre adultes par litre (Deka et al., 2011). Le substrat d'élevage peut être constitué de différentes matières organiques disponibles dans la zone d'élevage (Morin, 2004). Le papier peut être utilisé pour constituer le substrat de la lombricompostière (Jesikha, 2015). Toutefois, l'usage du papier glacé ainsi que les papiers imprimés avec des encres de couleurs sont à éviter car elles peuvent être toxiques pour le ver de terre (Morin, 2004).

3.3. Alimentation du ver de terre *Eudrilus eugeniae*

E. eugeniae, comme la majorité des vers de terre, se nourrit de la matière organique présente en surface du sol (Sivasankari et al., 2013). Ils peuvent se nourrir de déjections d'autres organismes du sol. Cependant, un aliment adéquat est composé de graines moulues ou de sous-produits de céréales tels que le germe de blé, le son de blé, le maïs et les flocons d'avoine (Dominguez et Edwards, 2010). En élevage, l'aliment peut être apporté aux vers de terre 1 à 2 fois par semaine. La quantité apportée doit être égale à la biomasse des vers présents (Chaoui, 2010). Schuch et al. (2010) rapportent que les microorganismes (bactéries) constituent une partie du régime alimentaire des lombrics. La nourriture est aspirée par la bouche et le pharynx musculaire, puis stockée dans le jabot, ensuite broyée dans le gésier, en particules très fines. L'absorption des éléments nutritifs s'effectue au niveau de l'intestin et l'autre partie non absorbée continue vers l'anus (Craw, 2012). La matière organique se minéralise dans l'intestin en forme absorbable par les plantes. Dans ce processus, les bactéries aérobies sont souvent éliminées car elles ne survivent pas dans l'intestin qui est peu oxygéné (Chaoui, 2010 ; Schuch et al., 2010).

3.4. Récolte des vers de terre

E. eugeniae peut se développer très rapidement, en zone tropicale. Au moment de la récolte, le mélange de lombricompost est épandu sur un film plastique exposé au soleil, puis les vers sont triés à la main (Francis et al., 2003). Suivant les surfaces utilisées le niveau de production peut varier (Morin, 1999). Au sud Vietnam, 24 à 60 kg de vers de terre ont été produits chaque mois sur 6 à 15 m², pour un coût de 27,5 €/m³ par unité de lombricompostage (Francis et al., 2003).

Rajendran (2008) rapporte que pour produire 70 tonnes de vers de terre par an, 1500m² de surface et 6 ouvriers sont nécessaires en Inde.

4. ROLES DU VER DE TERRE

Le ver de terre a vu son importance grandir grâce aux différents rôles qu'il joue dans l'économie, l'environnement, l'agronomie et la zootechnie notamment. En effet les multiples usages qui sont fait du ver de terre font de lui un atout important pour la gestion des déchets organiques, la fertilisation des terres agricoles, et l'alimentation animale (Coulibal et al., 2014 ; Temgoua et al., 2014).

Le lombricompostage permet aux vers de terre, tels qu'*Eisenia fetida*, *Eudrilus eugeniae* et *Perionyx excavatus*, de décomposer des déchets organiques en éléments nutritifs assimilables par les plantes grâce la libération des éléments simples comme l'azote (N), le phosphore (P), le potassium (K) et le calcium (Ca). Ce procédé permet aussi à la plante de disposer de substance biologique active tel que les régulateurs de croissance des plantes (Coulibaly et al., 2014) . Le vermicompostage est aussi une alternative à la fertilisation chimique des terres dans les pays tropicaux (Karmakar et al., 2012). Cette technique a permis à des exploitants agricoles d'avoir des revenus supplémentaires avec la commercialisation des vers de terre (Misra et al., 2005).

Les déchets organiques sont aussi des sources alimentaires pour les vers de terre qui à leur tour représentent une source non négligeable de protéine pour l'alimentation animale (Munroe, 2006). *E. eugeniae* figure parmi les espèces de vers de terre les plus utilisées pour le vermicompostage.

4.1. Importance économique

Le ver de terre joue un rôle économique dans différents pays où il est exploité pour des besoins divers. Aux Philippines et en Inde, pour réduire leurs charges d'exploitations, les producteurs agricoles utilisent le vermicompost pour baisser les coûts de la fertilisation. Dans ces pays, le fumier d'élevage, utilisé comme substrat pour le vermicompostage, est devenu un produit assez onéreux pour les agriculteurs (FAO, 2004). Le surplus de vers de terre produits, est vendu à d'autres agriculteurs comme source d'aliment pour l'aviculture, la pisciculture ou pour ensemercer d'autres lombricompostages (Misra et al., 2005) ce qui est une source supplémentaire d'entrée de devises pour l'exploitation. Adorada (2007) a montré que des

paysans philippins ont pu générer des revenus allant parfois jusqu'à 900 € par mois avec la commercialisation des vers de terre et du vermicompost.

Les vers de terre sont aussi utilisés par les pêcheurs, les éleveurs débutants, les laboratoires expérimentaux (Dominguez et Edwards, 2010). Au Canada, l'utilisation des vers de terre, pour la pêche sportive, a permis de générer des revenus annuels de près de 10 à 12 millions de dollars US pour l'industrie de la lombriculture (Dominguez et Edwards, 2010). *E. eugeniae* est l'un des vers de terre dont l'importance économique est reconnue (Loongyai et al., 2011). Sa valeur économique a pris de l'importance avec son utilisation comme appât pour la pêche sportive (Moraes et al., 2012).

4.2. Importance environnementale

La forte industrialisation et la croissance démographique ont un impact réel sur l'environnement, notamment par la production importante des déchets organiques, qui posent des défis majeurs de gestion dans les pays tropicaux, en général, et en particulier, ceux en voie de développement (Temgoua et al., 2014). C'est pour répondre à ces défis que plusieurs voies sont explorées, dont celle du traitement organique des déchets à travers le vermicompostage (Yadav et Garg, 2011). Plusieurs espèces, dont *E. eugeniae*, utilisées dans le processus de vermicompostage sont issues des pays tropicaux où la gestion des déchets organiques reste un problème majeur (Temgoua et al., 2014). L'utilisation des espèces locales pour la transformation des matières organiques est un atout pour l'environnement (Dominguez et Gomez-Brandon, 2012). *Eudrilus eugeniae* est également un atout majeur grâce à son utilisation dans la gestion des déchets urbains (Loongyai et al., 2011) et dans la détoxification des sols (Jones et Lowe, 2012). Ce ver de terre, permet de réduire de près de 30% les déchets organiques. Le vermicompostage ne génère pas d'odeur en principe (Chaoui, 2010). Aux Philippines, Adorada (2007) rapporte que le vermicompostage a permis de réduire les pollutions de l'air par la baisse du recours au feu pour la destruction des déchets organiques dans les fermes agricoles, ce qui constitue un atout pour la préservation de l'environnement. Le potentiel de biodégradation des déchets organiques par *E. eugeniae* a été rapporté par Okwor et al. (2012) au Nigéria, où la production de déchets organiques est estimée à 0,45 kg/personne/jour. Au nord Vietnam, les effets positifs du vermicompostage sur l'environnement ont été rapportés par Doan et al., (2105), notamment par son impact sur la réduction de l'érosion, la baisse des eaux de ruissellement et la diminution de transfert de NH_4^{4+} et NO_3^- dans l'eau.

4.3. Importance agronomique et biologique

Les vers de terre participent fortement à la fertilité des sols et à la croissance des plantes à travers les turricules qu'ils produisent (Hatti et al., 2012). Le passage de la matière organique à travers le tractus digestif du ver de terre permet le transfert d'une partie de la flore microbienne et des éléments minéraux vers le lombricompost (Lemtiri et al., 2014 ; Coulibaly et al., 2016). Le tableau 1.2 présente la composition minérale du sol travaillé par le ver de terre et de ses déjections.

Eudrilus eugeniae est très utilisé pour le vermicompostage de différentes matières organiques en zone tropicale (Dominguez et Edwards, 2010 ; Loongyai et al., 2011; Vijaya et al., 2012 ; Yesudhasan et al., 2013), notamment en Afrique de l'Ouest (Coulibaly et al., 2011). C'est dans ce sens que Hatti et al. (2012) ont montré que l'abondance des macro-éléments (N, P, K, S, Ca, Carbone organique) et des micro-éléments (Fe, Mn, Cu, et Zn) dans les turricules d'*E. eugeniae*, améliore la croissance et le rendement du haricot (*Vigna mungo*, *Vigna radiata*). Les métaux lourds présents dans le vermicompost, qui est utilisé pour fertiliser les terres de culture, ne devraient pas poser de problème pour la plante et par la suite, l'organisme humain (Han et al., 2008). En effet, le ver de terre a la capacité d'accumuler, dans son organisme, les métaux lourds présents dans le sol, il les rend alors moins disponibles pour les plantes (Coulibaly et al., 2016). Le ver de terre participe en réalité à un processus de stabilisation qui permet que la matière organique transformée par le vermicompostage soit utilisée de manière efficiente par la plante. La réduction de la quantité des métaux lourds présents dans le vermicompost fait que ces métaux ne soient plus disponible pour les plantes qu'en quantité infime. Cette petite quantité qui sera absorbée par les plantes sera sans conséquence pour l'homme (Han Ko et al., 2008). Coulibaly et al. (2014) ont aussi montré qu'*E. eugeniae* a permis de réduire la concentration des métaux lourds dans la matière organique du sol par vermicompostage, en utilisant un mélange composé de 15 vers de terre par kg de déjections animales. C'est là l'un des avantages d'utiliser des vers de terre comme *E. eugeniae* dans le lombricompostage pour réduire la quantité des métaux lourds (Li et al., 2010). Il permet à la plante de disposer des nutriments (N, P, K, Ca) nécessaires à sa croissance sous une forme directement assimilable (Karthikairaj et Isaiasu, 2013). En plus de ces éléments nutritifs pour les cultures, Jesikha (2013) a mis en évidence la présence d'agents régulateurs de croissance des plantes dans le vermicompost utilisé pour amender les sols. *E. eugeniae* est également un atout majeur pour l'agriculture grâce à son action dans l'amélioration de la fertilité des terres cultivées (Jones et Lowe, 2012). La lombriculture au sud Vietnam est devenue une activité prospère chez les paysans qui valorisent ainsi les vers de terre pour la fertilisation des terres agricoles (Francis et al., 2003). Cette

pratique, pourrait être étendue dans d'autres pays tropicaux où les problèmes de fertilité des sols et la gestion des déchets organiques se posent.

Des études récentes ont montré l'intérêt du ver de terre dans la dégradation des prions, protéines responsables d'encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST). Les prions sont résistants aux procédures de décontaminations conventionnelles visant les pathogènes (Paspaltsis et al., 2009). Un des procédés de dégradation de ces agents, décrit par Jay et al. (2012), consiste à mettre en contact le matériel contaminé avec une composition comprenant un extrait de ver de terre ou une fraction active de celui-ci, ce qui entraînerait la dégradation des prions.

Tableau 1.2. Composition minérale du ver de terre (WWS), déjection du ver de terre (EC) et sol témoin (BS) (d'après Tang et al., 2012 cité par Lemtiri et al., 2014).

Eléments (mg.kg ⁻¹ sec)	SV	D	S
N	2,3	3,8	3,4
P	1,1	1,4	1,2
K	2,4	2,5	2,5
Ca	3,7	5,0	3,9
Mg	1,1	1,4	1,2

4.4. Importance zootechnique

La production des vers de terre pour l'alimentation animale suscite un intérêt particulier car le ver de terre est une source de protéine pour l'alimentation animale et humaine (Morin, 2004 ; Tiroesele et Moreki, 2012). Certaines études ont montré l'intérêt de la lombriculture pour l'aviculture (Francis et al., 2003 ; Tiroesele et Moreki, 2012). Dans l'alimentation du poisson, la farine de ver de terre a été utilisée en Malaisie (Abd Rahman Jabir et al., 2012), au Nigéria (Omoyinmi et al., 2012) au Royaume Uni (Rawling et al., 2012) et pour l'alimentation du porc, au Brésil (Vieira et al., 2004). En Thaïlande, *E. eugeniae* présente un intérêt nutritif, de par son apport en protéine pour différents élevages de volailles et de poissons (Sivasankari et al., 2013). Ainsi la farine de ver de terre a pu être substituée à la protéine de poisson jusqu'à 25% dans la ration alimentaire de jeune tilapia (*Oreochromis niloticus*), sans que cela n'ait entraîné une baisse de la croissance ni modifié la qualité de la chair du poisson (Abd Rahman Jabir et al., 2012). Cela fut confirmé par Omoyinmi et al., (2012) au Nigéria sur la croissance des poissons de la même espèce (*O. niloticus*) nourris avec *E. eugeniae*. Des résultats similaires sur le gain de poids ont été obtenus avec le poisson chat hybride (σ *Heterobranchus longifilis* X ♀ *Clarias gariepinus*) appelé *Heteroclarias* nourri aussi avec de la farine d'*E. eugeniae* (Monebi et Ugwumba, 2013).

Différentes espèces de vers de terre, dont *E. eugeniae* ont été utilisées pour évaluer leur apport en protéine pour l'aviculture. Leur composition en protéine brute rapportée à la matière sèche (*E. foetida* : 66,1%, *E. eugeniae* : 58,4%, and *P. excavatus* : 61,6%) est proche des valeurs de l'ordre de 61,0% apportés par la farine de poisson (Reinecke et al., 1993). En général, le taux de protéine des vers de terre varie entre 64,5% et 72,9%, suivant l'âge et l'espèce de ver de terre. *Eudrilus eugeniae* reste une source de protéine intéressante pour l'alimentation animale avec un taux de 58,4% (Loogyai et al., 2011). La valeur nutritive d'*E. eugeniae* et son utilisation comme source de protéine dans l'alimentation des volailles ont été décrits dans plusieurs pays ; notamment au Cameroun (Agbedé et al., 1994), au Vietnam (Francis et al., 2003), au Nigeria (Sogbesan et al., 2007), au Venezuela (Morón-Fuenmayor et al., 2008), en Indonésie (Prayogi, 2011) et au Botswana (Chiripasi et al., 2013). Sogbesan et al. (2007) ont montré, que bien que la farine de poisson ait une meilleure quantité en protéine brute (71,6%) par rapport à la farine de ver de terre (63,0%), l'utilisation de la protéine issue du ver de terre ne poserait aucun problème nutritionnel. Cela confirme bien le fait que l'utilisation de la poudre de ver de terre comme source de protéine, en lieu et place de la farine de poisson, pour l'alimentation des volailles ne devrait pas avoir d'effets indésirables sur le gain de poids chez le poulet (Agbedé et al., 1994 ; Prayogi, 2011).

En plus des protéines, les vers de terre sont une source d'acides gras totaux (6,6 à 10,5 mg/g), de calcium (1020 à 7070 µg/g), de fer (1050 à 2990 µg/g) et bien d'autres éléments nutritifs (Tableau 1.3) pour les animaux d'élevage (Tiroesele et Moreki, 2012).

Tiroesele et Moreki (2012) affirment que la similitude des acides aminés essentiels apportés par les vers de terre comme *E. eugeniae*, et ceux du poisson (Tableau 1.4) permet d'envisager l'utilisation de la farine de vers de terre dans l'alimentation animale.

Table 1.3. Composition chimique (g/100 g de matière sèche) et énergétique (kJ/100g de matière sèche) de la farine de ver de terre et de poisson (d'après Sogbesan & Ugwamba, 2008 cité par Tiroesele et Moreki, 2012).

Nutriments	Protéine Animale	
	Farine de ver de terre	Farine de poisson
Protéine brute (PB)	63,3	71,5
Lipide	5,9	8,0
Fibre	1,9	1,2
Cendre	8,9	7,3
Extrait non azoté	11,8	3,2
Humidité	8,6	8,9
Energie brute (EB)	1943	2075
Rapport EB / PB (kJ/g MS)	30,7	29,0
Energie métabolisable	1476	1556
Energie digestible	1749	1813
Sodium	0,4	0,9
Calcium	0,5	3,5
Potassium	0,6	0,9
Phosphore	0,9	2,4
Magnésium	//	0,1

Table 1.4. Composition en acides aminés (g/16 g N) d'*Eudrilus eugeniae* et de farine de poisson (d'après Reinecke et al., 1991 cités par Tiroesele et Moreki, 2012)

Acides Aminés	<i>Eudrilus eugeniae</i>	Farine de poisson
Threonine	4,3	3,8
Serine	4,5	14,3
Valine	5,9	5,0
Méthionine	1,7	2,7
Isoleucine	4,6	4,1
Leucine	9,6	7,8
Tyrosine	2,9	3,7
Phénylalanine	3,2	3,1
Histidine	3,1	2,2
Lysine	7,8	7,1
Arginine	9,2	4,6

5. FACTEURS AFFECTANT *E. EUGENIAE*

Eudrilus eugeniae peut être influencé par les facteurs environnementaux tels que la température, le pH, l'humidité et le type de sol (Morin, 2004). *Eudrilus sp* peut vivre dans un milieu dont la température varie entre 15 et 30°C, mais pour croître et se reproduire normalement, le substrat doit avoir une température oscillant entre 25 et 28°C (Tahir et Hamid, 2012). Une température inférieure à 15°C dans le milieu du ver de terre, va entraîner une diminution de l'activité métabolique et de la croissance. Si la température est inférieure à 10°C, *E. eugeniae* va réduire sa consommation alimentaire et cesser de se reproduire (Shagoti et al., 2001). Lorsque la température du milieu dépasse 30°C, une baisse de la reproduction est observée et l'apparition du clitellum peut être retardée. Au-delà de 35°C, le ver de terre meurt (Hallmann et al., 2014).

D'une façon générale, le ver de terre doit être maintenu dans un milieu dont le taux d'humidité varie entre 70 et 90%, mais il croît et se reproduit mieux entre 70 et 80% (Shagoti et al., 2001). L'animal respire et détecte son environnement à travers la peau tant que le taux d'humidité est adéquat. Lorsque le sol est sec, le ver de terre est désorienté et il peut s'asphyxier très vite (Siegrist, 2011).

Le pH du sol dans lequel se trouve le ver de terre doit se situer entre 6,4 et 7,0. En deçà, il peut entraîner une réduction de la vitesse de croissance (Coulibaly et Zoro Bi, 2010). Dans des conditions d'élevage expérimental, le pH du substrat a tendance à baisser. Pour le faire remonter, l'usage du carbonate de calcium est recommandé. Dans le cas où le pH est trop élevé, il faut le faire baisser par l'ajout d'un aliment acide (Shagoti et al., 2001). Toutefois, le ver de terre possède la capacité de modifier son environnement pour maintenir le pH entre 6,5 et 7 (WormsRus, 2014 ; Coulibaly et al., 2016).

Eudrilus eugeniae possède des cellules photosensibles sur la peau. Au contact de la lumière, les cellules photosensibles induisent un stimulus douloureux et paralysant, parfois fatal pour le ver de terre. Pour se protéger il sécrète un mucus protecteur sur sa peau. C'est pourquoi le ver de terre préfère rester dans l'obscurité (Morin, 1999 ; Chaoui, 2010).

Les vers de terre ne tolèrent pas une forte concentration d'ammoniac. C'est pourquoi *Eudrilus sp* ne survit pas dans des fientes ou des bouses fraîches (Morin, 2004). Le sel est fatal pour le ver de terre. La salinité a un effet destructeur sur sa peau. Lorsqu'elle dépasse 5mg/g, les vers de terre tendent à s'échapper du milieu (Chaoui, 2010).

E. eugeniae, est absent des sols non adaptés à son développement comme les déserts et les régions glaciales. L'absence de matière organique dont se nourrit le ver de terre, influence la répartition géographique de ce lombric (Ansari et Saywack, 2010). En se nourrissant de

différents types de matières organiques, le ver de terre absorbe parfois des substances toxiques ou des microorganismes pathogènes présents dans le sol. *Eudrilus eugeniae* peut ainsi devenir une source de contamination pour d'autres animaux consommateurs de ver de terre (Wang et al., 2009). Le ver de terre est reconnu pour être un accumulateur des métaux lourds (Bystrzejewska-Piotrowska et al., 2012 ; Guérin et al., 2011), et un hôte intermédiaire de certains parasites des volailles, dont il ingère les œufs (Munroe, 2006). La consommation d'une matière organique contenant des substances médicamenteuses, tels que des vermifuges rémanents présents dans les fumiers peut affecter le ver de terre. C'est pourquoi l'utilisation de ces fumiers doit être contrôlée (Shagoti et al., 2001).

Les insecticides néonicotinoïdes utilisés en agriculture, comme l'Imidaclopride peuvent se retrouver dans les sols. Ils sont nocifs pour les vers de terre (Sherwan, 2013). En milieu agricole, l'usage intensif des pesticides présente ainsi des risques de toxicité pour les Oligochètes en général, et *E. eudrilus* en particulier, et entraîne la disparition des vers de terre dans certaines zones agricoles du fait de cette utilisation intensive (Jones et Lowe, 2012).

6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette synthèse bibliographique visait à regrouper les connaissances sur le ver de terre *E. eugeniae*. Elle révèle l'importance du développement d'une clé d'identification spécifique à l'espèce à l'instar de celles élaborées pour d'autres groupes de vers de terre ce qui faciliterait le processus d'identification de cette espèce. Les informations recueillies ne permettent que d'avoir une connaissance relativement superficielle de la biologie de cet animal.

Les études consacrées à *E. eugeniae* ces dernières années, montrent l'intérêt grandissant de ce ver de terre pour l'agriculture et l'élevage. Les données collectées révèlent aussi un manque d'informations sur *E. eugeniae*, en région équatoriale, et notamment au Gabon. L'exploitation de cette source non conventionnelle de protéine implique le développement de la lombriculture, principalement au Gabon où ce ver de terre peut jouer un rôle majeur dans la gestion des déchets organiques, l'alimentation animale et la fertilisation des terres agricoles.

L'élevage d'*E. eugeniae* n'ayant jamais été réalisé au Gabon, l'approfondissement des études sur cette espèce, dans cette région, devrait permettre de fournir des informations nouvelles sur sa description, sa biologie, son écologie, son comportement et son importance économique. Ces données pourraient contribuer à améliorer les connaissances existantes sur *Eudrilus eugeniae*.

Bibliographie

- Abd Rahman Jabir M. D., Razak S. A. & Vikineswary S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J. Biotechnol.*, **11**(24), 6592-6598.
- Adorada J.L., 2007. Assessment of Vermicomposting as a Waste Management Technology and a Livelihood Alternative in the Philippines. *J. Environ. Sci. Manag.*, **10**, 28-39.
- Agdebe G., Nguokam, & Mpoame M., 1994. Essai d'utilisation de la farine de vers de terre *Eudrilus eugeniae* dans l'alimentation des poulets de chair en finition. *Tropicultura*, **12**, 3-5.
- Ansari A.A. & Saywack P., 2010. Taxonomical studies on some earthworm species in Guyana. *World J. Zool.* **5**, 162-166.
- Ansari A.A. & Saywack P., 2011. Identification and classification of earthworm species in Guyana. *Int. J. Zool. Res.*, **7**, 93-99.
- Brown G.G., Callaham Jr. M.C., Niva C.C., Feijoo A., Sautter K.D., et al., 2013. Terrestrial oligochaete research in Latin America: The importance of the Latin American Meetings on Oligochaete Ecology and Taxonomy. *Appl. Soil Ecol.*, **69**, 2-12.
- Bruyeer R. & Simus P., 2012. Le calcul du rapport carbone azote. http://users.swing.be/compost/Main_Rapport%20C_N.htm. (23/10/2013).
- Butt K.R. & Grigoropoulou N., 2010. Basic Research Tools for Earthworm Ecology. *Appl. Environ. Soil Sci.*, **2010**, 1-12.
- Bystrzejewska-Piotrowska G., Asztemborska M., Giska I. & Mikoszewski A., 2012. Influence of Earthworms on Extractability of Metals from Soils Contaminated with Al₂O₃, TiO₂, Zn, and ZnO Nanoparticles and Microparticles of Al₂O₃. *Pol. J. Environ. Stud.*, **21**, 313-319.
- Chaoui H., 2010. Vermicompostage (ou lombricompostage) : Le traitement des déchets organiques par les vers de terre. In : Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales (éd), *Fiche technique n°10*. Ontario, Quebec, Canada, 28 p.
- Chiripasi S. C., Moreki J. C., Nsoso S. J. & Letso M., 2013. Effect of Feeding Mopane Worm Meal on Mineral Intake, Retention and Utilization in Guinea Fowl under Intensive System. *Int. J. Poultry Sci.*, **12** (1), 19-28.
- Cluzeau D., 2013. Déterminer les vers de terre. https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/e107_files/downloads/OPVT_Determiner_les_Vers_de_Terre.pdf. (20/10/2016).
- Coulibaly S.S., Kouassi K.I., Tondoh E.J. & Zoro Bi I. A., 2011. Impact of the Population Size of the Earthworm *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) on the Stabilization of Animal Wastes during Vermicomposting. *Philipp. Agric. Scientist.*, **94**, 359-367.
- Coulibaly S. S., Kouassi K. I., Tondoh E. J. & Bi I.A. Zoro Bi I. A., 2014. Influence of the population size of the earthworm *Eudrilus eugeniae* on the heavy metal content reduction during vermicomposting of animal wastes. *App. Sci. Report.*, **7** (2), 96-103.
- Coulibaly S.S., Tondoh J.E., Kouassi K.I., Barsan N., Nedeff V., Bi I.A. Zoro Bi I.A., 2016. Vermicomposts improve yields and seeds quality of *Lagenaria siceraria* in Côte d'Ivoire. *Int. J. Agri. Agri. R.*, **8**, 26-37.

- Coulibaly S.S. & ZoroZiro Bi I.A., 2010. Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *Eur. J. Soil Biol.*, **46**, 225-229.
- Craw W.T., 2012. Earthworm, suborder Crassicitellata, cohort Terrimegradili (Jamieson, 1988), <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN94600.pdf> (25/03/2014).
- Deka H., Deka S., Baruah C. K., Das J., Hoque S., & Sarma N. S., 2011. Vermicomposting of distillation waste of citronella plant (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) employing *Eudrilus eugeniae*. *Bioresour. Technol.*, **102**, 6944–6950.
- Doan T.T., Henry-des-Tureaux T., Rumpel C., Janeau J.L., Jouquet P., 2015. Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three year mesocosm experiment. *Sci.Total Environ.* **514**, 147–154.
- Dominguez J. & Edwards C.A., 2010. Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. In: Edwards C. A., Arancon N. Q., Sherman R. L. (eds), *Vermitechnology: earthworms, organic wastes and environmental management*. Boca Raton, Fl, USA: CRC Press, 27-38.
- Domínguez J. & Gómez–Brandón M., 2010. Ciclos de vida de las lombrices de tierra aptas para el vermicompostaje (Life cycles of vermicomposting earthworms). *Acta Zool. Mex*, **26**, 1-8.
- Dominguez J., & Edwards C. A., 2010. Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. In: Edwards C. A., Arancon N. Q., Sherman R. L. (Eds), *Vermitechnology: earthworms, organic wastes and environmental management*. CRC Press: Boca Raton, 27-38.
- FAO, 2004. Ressources alimentaires. FAO, Production en aviculture familiale. FAO (Ed.) : Rome, 16-28.
- Fernández R., Bergmann P., Almodóvar A., Díaz Cosín D.J., Heethoff M., 2011. Ultrastructural and molecular insights into three populations of *Aporrectodea trapezoides* (Dugés, 1828) (Oligochaeta, Lumbricidae) with different reproductive modes. *Pedobiologia*, **54**, 281– 290.
- Francis F. Haubruge E., Thang P. T., Kinh L. V., Lebailly P., et al., 2003. Technique de Lombriculture au sud Vietnam. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **7**, 171–175.
- Gomez-Brandon M., Lores M. & Dominguez J., 2012. Species-specific effects of epigeic earthworms on microbial community structure during first stages of decomposition of organic matter. *Plos one*, **7**, 1-8.
- Guérin J.L., Balloy D. & Villate D., 2011. Maladies des volailles. In: France Agricole (éd). Paris, France, 571 p.
- Hallmann C.A., Foppen R.P.B., van Turnhout C.A.M., de Kroon H. & Jongejans E., 2014. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations. *Nature*, **511**, 341-343.
- Han Ko J., Ki Kim Y., Hyeon Kim T., Chi Kim N. & Umeda M., 2008. Evaluation of maturity parameters and heavy metal contents in composts made from animal manure. *Waste Manage* **28**, 813-820.
- Hatti S. S., Londonkar R. L., Patil S. B., Biradar P. M. & Patil S. A., 2012. Effet of *Eudrilus eugeniae* vermiwash on the growth of plants. *J. Experiment. Zool.*, **15**, 63-67.

- James S.W. & Divina G.B., 2012. Earthworms (Clitellata: Acanthodrilidae, Almididae, Eudrilidae, Glossoscolecidae, Ocnerodrilidae) of the coastal region of Gamba, Ogooué-Maritime Province, southwestern Gabon. *Zootaxa*, **3458**, 133-148.
- Jesikha M. 2013. Growth of medicinal and economical plants in vermicompost for sustainable development. *Res. J. Animal. Veterinary and Fishery Sci.*, **1**(3), 1-6.
- Jesikha. M., 2015. Effect of paper waste on the life cycle of earthworm *Eudrilus eugeniae* (Kinberg). *SIRJ-BES*, **1**, 7-12.
- Adorada J.L., 2007. Assessment of Vermicomposting as a Waste Management Technology and a Livelihood Alternative in the Philippines. *J. Environ. Sci. Manag*, **10**, 28-39.
- Jones D.T. & Lowe C.N., 2012. Key to common british earthworms of amenity grassland, <http://www.opalexplornature.org/sites/default/files/7/file/OPAL-grassland-earthworm-key.pdf>, (12/11/2014).
- Karmakar S., Brahmachari K., Gangopadhyay A. & Choudhury S. R., 2012. Recycling of different available organic wastes through vermicomposting. *E-J. Chem.*, **9**, 801-806.
- Karthikairaj K, Isaiarasu L., 2013. Effect of vermish on the growth of mulberry cuttings. *World J. Agric. Sci.*, **9** (1), 69-72.
- Kooch Y. & Jalilvand H., 2008. Earthworms as ecosystem engineers and the most important detritivores in forest soils. *Pakistan J. Biol. Sci.*, **11**, 819-825.
- Lemtiri A., Colinet G., Alabi T., Cluzeau D., Zirbes L., Haubruge E. & Francis F., 2014. Impacts of earthworms on soil components and dynamics. A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **18**, 121-133.
- Li L., Xu Z., Wu J. & Tian G., 2010. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresour. Technol.*, **101**, 3430-3436.
- Loongyai W., Bangrak P. & Chantsavang S., 2011. External morphological comparison, taxonomic revision and molecular differentiation of the four economically important species of earthworm in Thailand. *Int. J. Agric. Biol.*, **13**, 553-558.
- Lowe C.N., Butt K. R., 2005. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. *Eur. J. Soil Biol.*, **43**, 281-288.
- Misra R.V., Roy R.N. & Hiraoka H., 2005. Méthodes de compostage au niveau de l'exploitation agricole. FAO : Documents de travail sur les terres et les eaux. Rome, 35p.
- Monebi C.O. & Ugwumba A. A. A., 2013. Utilization of the earthworm, *Eudrilus eugeniae* in the diet of *Heteroclinus fingerlings*. *Int. J. Fish. Aquaculture*, **5**(2), 19-25.
- Moraes M.J.d., Filho D.O., Martins J.H. & Santos L.C., 2012. Electric signals for separation of earthworms (*Eudrilus eugeniae*). *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, **16**, 1137-1142.
- Morin E., 2004. Lombricompostage, une façon écologique de traiter les résidus organiques. In : Eco-quartier Peter-McGill (éd), *Guide pratique*. Montréal, Québec, Canada, 24p.
- Morin R., 1999. Exploitation et élevage des vers de terre pour le marché des appâts vivants, In: Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, éd. *Document d'information*

- DADD-20. Québec, CANADA: Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, 13p.
- Morón-Fuenmayor O.E., Diaz D., Pietrosevoli S., Barrera R., Gallardo N., Peña J., Leal M., 2008. Effect of earthworm (*Eisenia* spp) meal inclusion on dressing and physical-chemical characteristics of quail meat (*Coturnix coturnix japonica*). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, **25**, 674-685.
- Munroe G., 2006. Guide du lombricompostage et de la lombriculture à la ferme. In : Centre d'agriculture biologique du Canada (éd). Quebec, Canada, 40 p.
- Nayak S.K. & Sahu S.K., 2013. Vermicomposting of poultry litter using *Eudrilus eugeniae*. *The Ecoscan*, **3**, 267-271.
- Oboh B.O., Akintobi D.O. & Ejidereonwu C., 2007. Morphometric Studies in *Eudrilus Eugeniae* Populations from Different Locations in Lagos, Nigeria. *Nat. Sci.*, **5**, 16-21.
- Okwor A.C., Ebenebe C.I., & Anizoba M.A., 2012. Biodegradation of Domestic Organic Waste Using Earthworm (*Eudrilus eugeniae*): A Veritable tool for Agricultural and Environmental Sustainability. *Inter J Agri Biosci*, **1**, 39-41.
- Omoyinmi G. A. K., & Olaoye O. J., 2012. Growth Performance of Nile Tilapia-Oreochromis niloticus Fed Diets Containing Different Sources of Animal Protein. *Libyan Agric. Res. Cen. J. Intl.*, **3**, 18-23.
- Parthasarathi, K., 2007. Life cycle of *Lampito moretii* (kinberg) in comparison with *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) cultured on different substrates. *J. Environ. Biol.*, **28**, 803-812.
- Pérès G., Vandenbulcke F., Guernion M., Hedde M., Beguiristain T., & al., 2011. Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national Bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, **54**, 77-87.
- Prayogi H. S., 2011. The Effect of Earthworm Meal Supplementation in the Diet on Quail's Growth Performance in Attempt to Replace the Usage of Fish Meal. *Int. J. Poultry Sci.*, **10** (10), 804-806.
- Rajendran P., Jayakumar E., Sripathi Kandula, & Gunasekaran P., 2008. Vermiculture and Vermicomposting Biotechnology for Organic Farming and Rural Economic Development, <http://www.eco-web.com/edi/080211.html>, (6/11/2016).
- Rawling M. D., Merrifield D. L., Snellgrove D. L., Kuhlvein H., Adams A., et al., 2012. Haemato-immunological and growth response of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed a tropical earthworm meal in experimental diets. *Fish & Shellfish Immunol.*, **32**, 1002-1007.
- Reinecke A.J. & Viljoen S.A., 1993. Cocoon deposition by the African nightcrawler, *Eudrilus eugeniae*, (*Oligochaeta*). *Pedobiologia*, **37**, 351-356.
- Reinecke A.J., Viljoen S.A., & Gayman R.J., 1992. The suitability of *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx exca vatus* and *Ersenia fetida* (*Oligochaeta*) for vermicomposting in southern Africa in terms of their temperature requirements. *Soil Biol. Biochem.*, **24**, 1295-1307.
- Schuch R., Pelzek A.J., Kan S. & Fischetti V.A., 2010. Prevalence of *Bacillus anthracis*-Like Organisms and Bacteriophages in the Intestinal Tract of the Earthworm *Eisenia fetida*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **76**, 2286-2294.

- Shagoti U.M., Amoji S.D., Biradar V.A. & Biradar P.M., 2001. Effect of temperature on growth and reproduction of the epigeic earthworm, *Eudrilus Eugeniae* (Kinberg). *J. Environ. Biol.*, **22**, 213-217.
- Sherwan T.A., 2013. the impact of four pesticides on the earthworm *lumbricus terrestris* (Annelida; Oligochaeta). *Int. J. Cur. Res. Rev.*, **5**, 1-5.
- Siegrist M., 2011. Le Lombric sort de l'ombre, <http://www.terrenature.ch/jardin/16062011-1214-le-lombric-sort-de-lombre>, (15/03/2014).
- Sivasankari B., Indumathi S. & Anandharaj M., 2013. A Study on life cycle of Earth worm *Eudrilus eugeniae*. *Int. J. Res. Pharm. Life Sci.*, **1**, 64-67.
- Sogbesan A. O., Ugwamba A. A. A. & Madu C. T., 2007. Productivity potentials and nutritional values of semi-arid zone earthworm (*Hyperiodrilus euryaulos*; Clausen, 1967) cultured in organic wastes as Fish meal supplement. *Pak. J. Biol. Sci.*, **10**, 2992-2997.
- Tahir T.A. & Hamid F.S., 2012. Vermicomposting of two types of coconut wastes employing *Eudrilus eugeniae* : a comparative study. *Int. J. Recycling Org. Waste Agric.*, **1**, 1-6.
- Temgoua E., Ngnikam E., Dameni H. & Kouedeu Kameni G. S., 2014. Valorisation des ordures ménagères par compostage dans la ville de Dschang, Cameroun. *Tropicultura*, **32**(1), 28-36.
- Tiroesele B. & Moreki J. C., 2012. Termites and Earthworms as Potential Alternative Sources of Protein for Poultry. *Int. J. Agro. Vet. Med. Sci.*, **6**(5), 368-376.
- Vieira M. L., Ferreira A. S. & Donzelle J. L., 2004. Digestibilidade Da Farinha De Minhoca Para Suínos. *B. Indústria.anim., N. Odessa*, **61**(1), 83-89.
- Vijaya T. M., Middha S. K., Usha T, Aruna H. K., Bharathi R. et al., 2012. Morphological and Histological Studies on the Vermicomposting Indian Earthworm *Eudrilus eugeniae*. *World J. Zool.*, **7**,165-170.
- Wang Q., Zhou D., Cang L., LI L. & Zhu H., 2009. Indication of soil heavy metal pollution with earthworms and soil microbial biomass carbon in the vicinity of an abandoned copper mine in Eastern Nanjing, China. *Eur. J. Soil Biol.*, 229-234.
- WormsRus, 2014. About Earthworms. <http://www.wormsrus.co.nz/aboutearthworms.html>. (2/11/2016).
- Yadav A. & Garg V. K., 2011. Recycling of organic wastes by employing *Eisenia foetida*. *Bioresour. Technol.*, **102**, 2874-2880.
- Yesudhasan B.V., Jegathambigai J., Thangasamy P. A., Lakshmanan D.D., Christyraj J. R. S. S., et al., 2013. Unique phenotypes in the sperm of the earthworm *Eudrilus eugeniae* for assessing radiation hazards. *Environ. Monit. Assess*, **185**, 4745-4752.
- Zirbes L., Mescher M., Vrancken V., Wathelet J.P., Verheggen F.J., et al., 2011. Earthworms Use Odor Cues to Locate and Feed on Microorganisms in Soil. *PLoS ONE*, **6**, 219-227.

ARTICLE 2: VERMICULTURE IN ANIMAL FARMING: A REVIEW ON THE BIOLOGICAL AND NONBIOLOGICAL RISKS RELATED TO EARTHWORMS IN ANIMAL FEED

Adapté de l'article 2 : Synthèse publiée dans *Cogent Environmental Science* (2019), 5:

1591328

Patrick Byambas, Jean Luc Hornick, Didier Marlier and Frederic Francis.

Abstract

Earthworms are part of natural diet of some farm animals such as poultry. They are a protein source. Unfortunately, earthworms can accumulate some toxic substances occurring in the soil and animals can be contaminated through feed containing these earthworms.

The biological and nonbiological risks related to earthworms depend on the type of substrates through which they live. Earthworms are usually contaminated in polluted soil by various types of toxic and poisonous substance. The most common toxic compounds are heavy metals, pesticides and microbial toxins, which can lead to toxic or poisonous contamination of earthworms and then animals, such as poultry, fish and swine, through feeding.

This risk cannot be identified in earthworm body without its destruction. But according to toxic substance targeted, there are many ways of risks detection, in soil, earthworms and animals.

To protect farm animals, different technics are available. To limit heavy metal contamination, soil should be analyzed before collecting earthworms. Many treatments are available. By heating at 80°C for 2–4 h, microorganisms can be destroyed.

Nevertheless, this technique needs to be adapted with certain types of bacteria whose enterotoxin withstands temperatures of 100°C for 30 min, or more. To limit all these risks, the use of earthworms reared from vermiculture can help to prevent contamination of poultry through feeding.

Keywords: earthworms; intoxication; intoxication; omnivores; vermiculture; review

1. INTRODUCTION

Earthworms are burrowing animals that are grouped into 13 families. Although more than 5,000 species have been described, many are still unknown, mainly in the tropics (Brown et al., 2013). These invertebrates are found in soil in many parts of the world, both in temperate and tropical regions, where they represent a large fraction of living biomass, providing agroecosystem sustainability (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2014). It is often used in vermicomposting process, especially in tropical and subtropical regions (Kumar Middha et al., 2012). Earthworms also are a part of livestock feed (Sonaiya & Swan, 2004) and can be used fresh or in milled form as additive source of nutrient (Chiripasi, Moreki, Nsoso, & Letso, 2013; Francis et al., 2003; Sogbesan, Ugwumba, & Madu, 2007). Because of their nutritional value (Sogbesan & Ugwumba, 2008), they have been used as additive feeding, for poultry in Vietnam (Francis et al., 2003), for fish in Malaysia (Abd Rahman Jabir, Razak, & Vikineswary, 2012), in Nigeria (Sogbesan & Madu, 2008), in the United Kingdom (Rawling et al., 2012) and for swine in Brazil (Vieira, Ferreira, and Donelle 2004). They are known to be the main source of feed for the wild carnivorous mole (Gibb, 2018).

Earthworms could be collected in soil or obtained from earthworm farming. According to Sogbesan et al. (2007), after harvesting, earthworms are dried and milled, then added to omnivore animals' diet. For example, it can be incorporated up to 25% in poultry feed to substitute fish meal without adverse effects on growth (Abd Rahman Jabir et al., 2012). They are also known as a good source of protein, the biological value of which is similar to fish profile (Agbédé, Nguekam, & Mpoame, 1994; Morin, 2004; Sogbesan et al., 2007). Despite its interesting nutritional properties (Sogbesan & Ugwumba, 2008), earthworms are able to accumulate some toxic compounds stemming from soil (Suthar & Singh, 2008) and to which it is constantly exposed. Across skin and gastrointestinal tract, the main routes of entry of contaminants inside earthworms (Araneda, Undurraga, Lopez, Saez, & Barra, 2016), the ground pollutants described as biological and nonbiological groups, then could be transmitted or accumulated in higher trophic levels, through food chain (Gall, Boyd, & Rajakaruna, 2015). In the nonbiological group are found heavy metals and pesticides with particular emphasis on bioaccumulation of heavy metals (Dureja, Patra, Johnson, & Tomar, 1999; Heikens, Peijnenburg, & Hendriks, 2001; Rodriguez-Castellanos & Sanchez-Hernandez, 2007; Garg, Suthar, & Yadav, 2012; Pelosi et al. 2013; Soobhany, Mohee, & Garg, 2015; Araneda et al., 2016; K. Wang et al., 2018). In the biological group are bacteria and fungus on which relatively few researches have been carried out (Brito-Vega & Espinosa-Victoria, 2009; Schuch, Pelzek, Kan, & Fischetti, 2010; Stenfors Arnesen, Fagerlund, & Granum, 2008). All these chemical

substances and biological organisms can be responsible for intoxications or intoxications (Araneda et al., 2016; Gall et al., 2015; Organji, Abulreesh, Elbanna, Osman, & Khider, 2015). According to Larousse agricole (2002), food intoxication refers to disorders that occur after intake of food containing bacteriotoxine or mycotoxine. Generally, microorganisms involved in cases of intoxication are bacteria or fungus. Food intoxication refers to disorders caused by absorption of food containing “heavy metals” or pesticides (Larousse, 2017).

Although it is an interesting source of nutriment for future feeding concern for farming animals (Sonaiya & Swan, 2004), earthworms collected from uncontrolled soil may be a contamination risk for animals, especially as fresh feed (Spurgeon, Hopkin, & Jones, 1994) and may become a public health concern (Gall et al., 2015; Soobhany et al., 2015). Accurate methods are available to detect eubiotic or xenobiotic “heavy metals” (Delgado Arroyo, Miralles De Imperial Hornedo, Alonso Peralta, Rodriguez Almestre, & Martin Sanchez, 2014), pesticides (Masiá, Suarez-Varela, Llopis-Gonzalez, & Picó, 2016) and microorganisms (Organji et al., 2015; Wojewoda et al., 2013) in earthworms, but prevention remains a priority route to limit risks in food chain.

Knowing that there is a lack of information about the risk to use earthworm in animal feeding, the purpose of this work is to synthesize the current knowledge about foodborne diseases associated to this invertebrate. The transfer of biological and non-biological elements from soils to earthworms and then to animals, ending with the risk of contamination in humans, will be examined in this review.

2. EARTHWORMS RISK ASSESSMENT IN ANIMAL FEEDING

The use of earthworms in animal feed is one of the pathways in search of alternative sources of protein for farming animal feeding (Sonaiya & Swan, 2004). Although earthworms are already incorporated as feed supplements for poultry, fish and swine, under certain conditions, they remain a nutritional source at risk for animals. Among the most important contamination sources that enter animal through earthworms, there are “heavy metals”, pesticides, bacteria and fungi. Those hazards can end up in humans through food chain as summarized in Figure 2.1. Persistent Organic Pollutants (POPs) are not discussed here but are mentioned in the paragraphs below, except PolyChloroBiphenyl (PCB) and Polybromodiphényléthers (polyDBE). Some nematodes whom earthworms are intermediate hosts are particular case in contamination of animals such as poultry. Some of these parasites can threaten human health but we will focus on those that affect poultry.

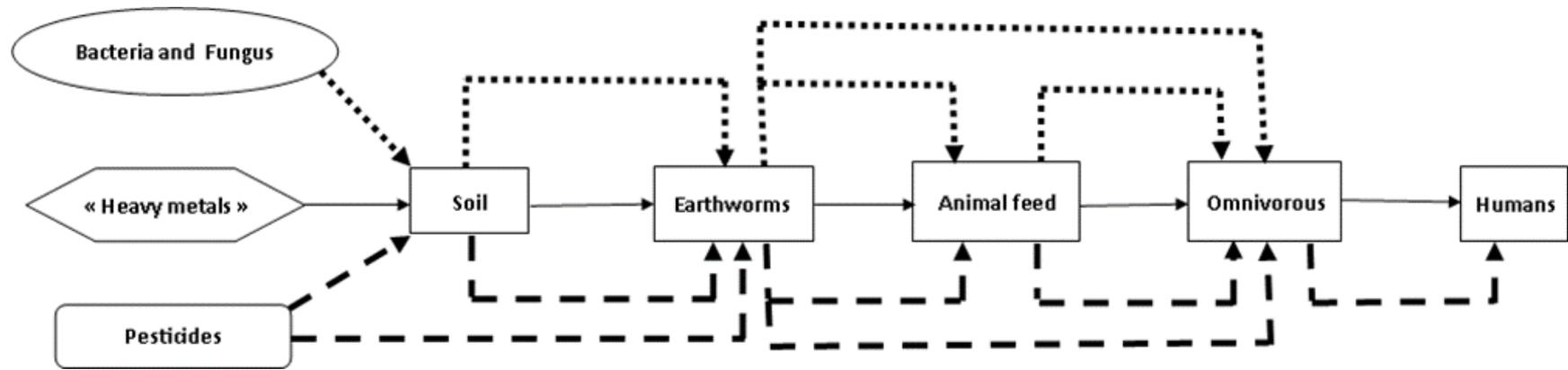


Figure 2.1. Pathways of biological and non-biological risk in food chain, adapted from Gall, Boyd, and Rajakaruna (2015)

3. RISKS

3.1. Nonbiological risks

“Heavy metals” refer to naturally occurring metals having atomic number (Z) greater than 20 and an elemental density greater than 5 g/cm³ (Ali & Khan, 2018). Many studies have shown that earthworms are important bio-accumulators and bioindicators toward “heavy metals” in soil (Antunes, Castro, Nunes, Pereira, & Gonçalves, 2008; Mohee & Soobhany, 2014; Wang, Zhou, Cang, Li, & Zhu, 2009). Moreover, earthworm is able to concentrate metals that are more likely to transfer to other animals. The main metals identified in earthworm body are aluminum, beryllium, cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel, lead, mercury, strontium, uranium and zinc (Antunes et al., 2008; Scott-Fordsmand, Krogh, Schaefer, & Johansen, 2008; Shkinev, Vitaly, & Dinu, 2012; Suthar & Singh, 2008; Wang et al., 2009). Depending on their biological function, two types of metals are considered: the essential metals (copper, nickel, zinc and iron) being beneficial only at very low concentration, and the toxic metals (lead, mercury and cadmium) being toxic even at very low concentration (Duffus, 2002; European Commission, 2003; Okoye, Ibeto, & Ihedioha, 2011). The most dangerous pollutants among “heavy metals” are mercury, lead, aluminum, cadmium and arsenic (World Health Organization, 2007). Annapoorani (2014) found that aluminum can have severe toxic effects on earthworms. It appears to impair the different stages of the earthworm reproductive cycle. At that time, earthworms can represent an important risk for animals. Metals are mainly located in the tissue of earthworms exposed to contaminant (Soobhany et al., 2015). According to the type of substrate on which earthworms grow, the concentration of metals in body differs. Delgado Arroyo et al. (2014) observed an increase in cadmium, zinc and mercury in earthworms exposed to sawdust poultry manure compared with those who were exposed to natural soil.

The fact that earthworms can act as a vector of toxic substances like most dangerous “heavy metal” listed above shows that the use of earthworms containing that kind of toxic is at risk for farming animals such as poultry (Spurgeon et al., 1994; Suthar & Singh, 2008). Accumulation of toxic metals in poultry, for example, can represent a public health risk for humans (Delgado Arroyo et al., 2014). Included in diet at excessively high concentrations, several toxic mineral elements may have adverse effects on animals and humans (Okoye et al., 2011). Earthworms are able to accumulate variable amount of “heavy metals” according to the type of substrate. After vermicomposting process, Soobhany et al. (2015) obtained concentration range from 6,900 to 6,901 mg/kg for cadmium, 2,051 to 2,068 mg/kg for copper and 621 mg/kg for zinc, in tissue of earthworms.

From poultry manure, Delgado Arroyo et al. (2014) obtained different mean concentration at 1.2 mg/kg for cadmium, 15 mg/kg for copper and 140 mg/kg for zinc. More recently, Wang et al. (2018) reported range from 99.9 to 646 mg/kg for zinc and 8.60 to 157 mg/kg for copper and concluded that tissue metal concentration increases with increasing concentrations in soil what means that “heavy metals” in soil is positively correlated to earthworm tissue. Similar results have been obtained by Schlich, Klawonn, Terytze and Hund-Rinke (2013) about the correlation between Ag concentration in earthworm tissue and soil. According to the European Commission (2003), the maximum acceptable concentration of “heavy metals” in animal feed is 1, 100 and 500 mg/kg for cadmium, copper and zinc, respectively (Okoye et al., 2011). Cadmium, which is one of the most toxic metals, can easily contaminate omnivorous feed through earthworms. By contrast, zinc has biological benefit effects and can be used as an efficient tool for enhancing physiological status of some animals (Amen & Al-Daraji, 2011; European Commission, 2003). Another benefit of dietary zinc demonstrated by Yang et al. (2017) is that at 40 mg/kg, it improves carcass and muscle yields, increases fat content in thigh muscle and decreases accumulation of heavy toxic metals like lead and chromium in breast and thigh muscles.

The intensification of agricultural practices and, especially, the use of pesticides affect earthworms and contribute to loss of biodiversity (Hole et al., 2005). Pesticides threat animal species worldwide, and especially lombrics and animals that feed on them, such as poultry, fish and pigs (Givaudan, 2015). When pesticides occur in environment, earthworms usually accumulate preferentially the less toxic pesticides (Chang, Wang, Wang, Li, & Xu, 2016). Earthworms accumulate pesticides by ingestion or epidermal contact in crop (Pelosi, Joimel, & Makowski, 2013). All pesticides do not have the same impact on soil, earthworms and animals (Pelosi et al., 2014) and Chang et al. (2016) reported that organophosphorus pesticides are more toxic than pyrethroid pesticides.

Although the ways of contamination are different, earthworms may play a role in this process. Cox (1991) reported cases of disruption of thyroidal hormone activity and genetic damages in quails that eat earthworms exposed to pesticides such as malathion. In Canada, cases of death occurred as a result of contamination of wild birds by insecticides such as carbofuran, diazinon and fensulfothion and earthworms were identified as vectors of toxics in the body of birds. The use of neonicotinoid insecticides such as imidacloprid affects insects and earthworms which are a part of poultry feed. This involves the decline of the population of 15 species of birds of 3.5% per year between 2003 and 2010 in the Netherlands, where the amount of pesticides used in agricultural practices has been multiplied by 10 in 10 years. Because of its harmfulness for

the environment, imidacloprid has been forbidden in Europe since December 2013 (Hallmann, Foppen, Van Turnhout, De Kroon, & Jongejans, 2014).

Pesticides accumulated along the food chain, especially endocrine disruptors, pose a long-term risk to animals such as poultry (Givaudan, 2015). It is known that diet influences the composition of tissues and poultry eggs. Therefore, toxic substances in feed could enter in body of poultry or in eggs (Schuch et al., 2010) and therefore end up in humans.

3.2. Biological risks

Soil is an appropriate environment for the development of eukaryotes (algae, fungi, protozoa) and prokaryotes (bacteria, archaea) (Brito-Vega & Espinosa-Victoria, 2009). A part of the diet of the earthworms consists in microbial including fungi and bacteria that appear during the process of composting (Gómez-Brandón, Lores, & Domínguez, 2012). Unfortunately, some microorganisms mainly produce mycotoxins that induce food intoxication when animals feed contains contaminated earthworms. Bacteria are mainly located in the posterior section of intestine tract of earthworms because this portion should have adequate conditions for their development (Brito-Vega & Espinosa- Victoria, 2009). The microbial diversity in intestinal tract of earthworms is presented in Table 2.1.

Staphylococcus aureus and *Bacillus cereus* belong to a group of bacteria which are responsible for various food intoxication (Augustin & Carlier, 2004). Other bacteria from soil are also involved in food intoxication such as *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis* and *Brevibacillus laterosporus* (Organji et al., 2015). Bacteria produce toxins in the food, which are relatively large problems even after disappearance of the bacteria from which they arise. The dangerousness of some bacteria such as *Bacillus spp.* lies in the fact that they sporulate, conferring their ability to withstand environmental conditions (cooking, cleaning, drying, curing) and that increases their contamination capacity. *B. cereus* is present in the digestive tract of earthworms and it is responsible for several cases of animal feed contamination (Schuch et al., 2010). *B. cereus* is widespread in nature and frequently isolated from soil, but it is also well adapted for growth in the intestinal tract of some invertebrates. From these habitats it can easily spread to poultry feed, where it may have an emetic effect (Stenfors Arnesen et al., 2008). Parkes and Shilton (2015) reported that bacteria of the genus *Clostridium* are also responsible for feed intoxication. *Clostridium botulinum* is responsible for botulism, which is caused by a neurotoxin which affects poultry and many other animal species. And Souillard et al. (2014) stated that botulinum toxin has been identified in many invertebrates, including earthworms, operating in contaminated soils. This means that

earthworms could be an important way of transmission of this toxin to other animal species such as poultry or fish for whom alimentary chain includes lombrics.

A part from metals and chemicals, the earthworm can be vector of parasites that can lead to specific animal concerns, especially poultry. Earthworm is an intermediate host of some nematodes that do not produce toxins *sensu stricto* but whose amounts in animal, especially birds bred on rangelands, cause disease (Villate, 2001). Thus, the use of feed containing contaminated earthworms should be the starting point for parasite infestation in poultry. Various pathologies have been reported by Guerin, Balloy and Villate (2011). Syngamosis, which is caused by *Syngamus trachea* and *Syngamus merulae*, is ingested at their larval form, by earthworms. Histomoniasis is caused by the flagellated protozoan *Histomonas meleagridis* contaminating especially turkey earthworms consume encysted eggs by the way of *Heterakis nematode* intake. Capillariasis is caused by different types of nematodes pathogenic for chickens, turkeys and guinea fowl. They include *Capillaria annulata* and *Capillaria contorta* and contamination of poultry can be done indirectly via earthworms. Parasitic infestation by feeds highlights the risk of using earthworms in feed manufacture. This contamination occurs easily when fresh earthworms are picked up from uncontrolled soil and given to poultry as feed. Beside these hazards, *Bacillus anthracis* cause Anthrax disease, which is categorized as zoonotic diseases (Hoffmann et al., 2017, Githire et al., 2019). Animals are infected through contact with other infected animals, consumption of contaminated feed and by inhalation of spores. These last are highly resistant to heat, ultraviolet and ionizing radiation, pressure, chemical agents, adverse environment conditions and resist for about 10 years in environment (Mock et Fouet, 2001; Zhu et al., 2019), in certain conditions, spores can rise to surface under the action of earthworms. Earthworm is one of the indirect way of transmission from contaminated soil (Abadia et al., 2005). *Bacillus anthracis* is sensible to some antibiotics treatment such as Streptomycin used in synergy with penicillin. But others antibiotics are advisable to avoid the emergence of resistant strains (Abadia et al., 2005). Vaccination is possible but it may not completely protect animals (Githire et al., 2019). Therefore, it should be avoid to provide feed from uncontrolled sources.

Table 2.1. Abundance of microbial diversity in intestinal tract of earthworms and associated habitats, as reported in literature (Brito-Vega and Espinosa-Victoria, 2009)

Earthworms species	Bacteria	Actinomycetes	Habitats	References
<i>Eisenia fetida</i>	91		Industrial	(Kim et al. 2004)
<i>Lumbricus rubellus</i>	95		Crop soil	(Furlong et al. 2002)
<i>Lumbricus rubellus</i>		76	Forest soil	(Kritufek, Ravask and Pizl, 1993)
<i>Octalasion montanum</i>		175	Forest soil	(Kritufek, Ravask and Pizl, 1993)
<i>Eisenia luceus</i>		145	Forest soil	(Gerrettson-Cornell and Gwalter, 1985)

4. RISKS DETECTION

Cases of intoxication and intoxication through animal diet are more common in wild birds than among poultry or fish. The proven poisoning is more common in areas where the use of toxic products for agriculture is abundant (Hallmann et al., 2014). Contamination of animals depends on the type of pathogen vector, agent or substance, incubation period, infestation rate, quantity and feed preparation process. Then the ways of risks detection, in soil, earthworms and animals are various according to toxic substance targeted (Hallmann et al., 2014).

4.1. Detection of “heavy metals”

Determine of “heavy metal” in soil may be performed by the use of the Environmental Protection Agency (EPA) techniques (Delgado Arroyo et al., 2014; USEPA, 1994). Various studies reported detection methods of “heavy metals” accumulated in the body of earthworms (Shkinev et al., 2012; Wang et al., 2009). The technique using the atomic spectrophotometer absorption is commonly used to determine the concentration of “heavy metals”. It consists of digesting earthworms according to the EPA Method 3051 (EPA, 1996) before analysis. Then the analysis of “heavy metals” is carried out by atomic spectrophotometer absorption (Domínguez- Crespo et al., 2012; EPA, 1996; Jeyanthi, Arockia John Paul, Karunai Selvi, Biruntha, & Karmegam, 2016). It is also possible to keep earthworms in a hot air oven to get them dried. For analysis, the dried residues are dissolved in 0.7 M HNO₃ and this dissolved solution is used to estimate the metal concentration in atomic absorption spectrophotometer (Welz & Sperling, 2007).

4.2. Detection of pesticides

According to the clearly demonstrated toxicity of pesticides, it is essential to get accurate and reliable methods of detecting their presence in ingredients used for animal feed manufacturing. The diversity of pesticides has led to the development of different detection methods. Sensitive and reliable techniques such as chromatographic methods like gas chromatography, high performance liquid chromatography along with mass spectrometry (MS) were developed. However, procedures are complex and take long time for sample treatments, they required highly trained technicians and they cannot perform on-field detection (Bhadekar, Pote, Tale, & Nirichan, 2011).

Later, Yi et al. (2013) developed a novel label-free SiQDs-based sensor for the detection of pesticides. This method should be suitable for on-field pesticides detection. It's simple, rapid,

highly sensitive and capable of anti-interference in pesticide detection. In the search of precision in pesticides detection, Masiá et al. (2016) reported that among the different methods, the QuEChERS approach (Quick, Easy, Cheap Effective Rugged and Safe) is a reference for determining residues in food. In order to have more precision, older methods have been improved. The new techniques use more sensitive devices like chromatographic techniques with various detection methods, electro analytical techniques, chemical and biosensors, spectroscopic techniques and flow injection analysis. Spectrophotometric detection methods were found suitable for detection of organo-pesticides such as malathion, phorate and dimethoate from food samples (Bhadekar et al., 2011).

4.3. Identification of microorganisms in earthworms

Laboratory methods are necessary to identify fungi and bacteria occurring in soil (Brito-Vega & Espinosa-Victoria, 2009) or in intestine tract of earthworms (Gómez-Brandón et al., 2012). The detection of *B. cereus* strains may occur in a laboratory at 37°C. The routine detection and identification of *B. cereus* involves the use of selective solid media such as mannitol-egg-yolk-polymyxin agar and polymyxin pyruvate-egg yolk-mannitol-bromothymol blue-agar that usually facilitates the detection of *B. cereus* lecithinase production and lack of mannitol fermentation (Organji et al., 2015). Polymerase Chain Reaction (PCR) is routinely used to identify colonies of *B. cereus* (Kotiranta, Lounatmaa, & Haapasalo, 2000; Organji et al., 2015). The isolation of more than 10⁵ microorganisms/g of suspected feed is, according to Murray, Baron, Jorgensen, Pfaller and Tenover (2003), the limit leading to the recommendation to avoid that feed for animals. The poisoning by *S. aureus* can be diagnosed by culture in the suspected food containing earthworms (Murray et al., 2003). The multiplex PCR using test like GeneXpert MRSA/SA helps to identify single pathogen such as *S. aureus* (Buchan et al., 2015). Others authors suggested to combine multiplex PCR and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Flight (MALDI-TF) MS directly on the bacteria collected in the culture to improve the efficiency of test (Wojewoda et al., 2013).

Mainly used for the detection of foodborne pathogens, the use of biosensors was tested to identify *S. aureus* (Tokel et al., 2015). A biosensor is an analytical tool composed of two inseparable parts, the bio-receiver or probe of biological or bioinspired nature on the one hand, and the transducer on the other hand (Lazcka, Del Campo, & Muñoz, 2007).

The diagnosis of *C. botulinum* varies according to the mode of contamination. For food intoxication, diagnosis was based on the detection of the toxin in serum of animals or in the suspected feed (Acha & Szyfres, 2003). The bioassay in mice is the most reliable detection

method in the presence of botulinum toxin but ELISA method can also be used to detect toxins (Souillard et al., 2014).

5. MEANS TO PREVENTING RISKS

Prevention methods differ depending on the nature and origin of the risky molecules such as toxins associated with microorganism, “heavy metals” or other chemicals. Whatever the risk origin, it is already necessary to avoid feeding animals with fresh earthworms collected from soils that may be contaminated, such as landfills, intensive agricultural land and industrial area. Vermicomposting is actually the best way to limit contamination of earthworms by metals even if Soobhany et al. (2015) had shown that some vermicompost can contain “heavy metals” according to the origin of soil used. Some complementary cautions have also been applied for “heavy metals” and pesticides contents according to the origin of the soil used. Earthworm production based on adapted rearing techniques should be developed to reduce the risk of contamination for further animal production.

For microorganisms in general, heat treatment used in earthworm transformation processes into meal should be sufficient to destroy microorganisms in the food produced. Some bacteria such as *C. botulinum*, *B. cereus* and *B. anthracis* are able to resist to conventional heat treatments. Higher temperature and heating duration should be then adapted to manage earthworms as safety material to include in animal feed. Staphylococcal enterotoxin withstands temperatures of 100°C for 30 min; the emetic toxin of *B. cereus* resists 90 min at 126°C. The botulinum toxin is destroyed at 85°C for 5 min and after sporulation, it should keep on for at least 3 min at 121°C.

6. CONCLUSIONS

The search for sources of cheap and available protein in nature has encouraged the development of nonconventional farms for some omnivore’s diet, and this has led to the rise in earthworm production for animal feeding these last few years.

But the use of earthworms in some animals feeding, such as poultry, fish and pigs, has its limitations because of contamination risks. Earthworms can act as an intermediate host of many pathogen agents for those animals. High risk exists when earthworm is collected from uncontrolled soil which could contain toxics or toxins and distributed as fresh feed.

Technique of vermiculture and the process of transforming into earthworm powder, aimed to be incorporated in animal feed, are supposed to decrease the risk of contamination. The use of earthworm collected from controlled vermiculture is suitable for poultry feed, for example, and would not present a major risk of poisoning and intoxication to animals and humans.

Acknowledgements

Our sincere thanks go to the head of the avian clinic of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Liège, Pr. Didier Marlier for proposing this research topic and the drafting plan. We also think of the assistant director of Animal Feed of the Ministry of Livestock and Fisheries of Cameroon, Mrs. Ngo Ongla Annie Claire, for her support in documentary research.

References

- Abadia G., I. Capek, L. Josseran, R. Goffelle, S. Lerasle, and A. Mailles. 2005. *Recommandations pour la surveillance et la lutte contre le charbon animal et humain : Guide méthodologique*. Institut de Veille Sanitaire. 35p. <http://www.invs.sante.fr>
- Abd Rahman Jabir, M. D., S. A. Razak, and S. Vikineswary. 2012. "Nutritive Potential and Utilization of Super Worm (*Zophobas Morio*) Meal in the Diet of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Juvenile." *African Journal of Biotechnology* 11 (24): 6592–93. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1084>.
- Acha, P. N., and B. Szyfres. 2003. "Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals: Volume II: Chlamydioses, Rickettsioses, and Viroses." *PAHO. Scientific and Technical Publication v.2* (580): 408. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(89\)90014-7](https://doi.org/10.1016/0167-5877(89)90014-7).
- Agbédé, G., Nguekam, and M. Mpoame. 1994. "Essai d'utilisation de La Farine de Vers de Terre *Eudrilus Eugeniae* Dans l'alimentation Des Poulets de Chair En Finition." *Tropicultura* 12 (1): 3–5. <http://www.ingentaconnect.com/content/doaj/07713312/1994/00000012/00000001/art00002>.
- Ali, Hazrat, and Ezzat Khan. 2018. "What Are Heavy Metals? Long-Standing Controversy over the Scientific Use of the Term 'Heavy Metals'—proposal of a Comprehensive Definition." *Toxicological and Environmental Chemistry* 100 (1): 6–19. <https://doi.org/10.1080/02772248.2017.1413652>.
- Amen, M.H.M., and H.J. Al-Daraji. 2011. "Effet of Dietary Zinc Supplementation on Some Seminal Plasma Characteristics of Broilers Breeders' Males." *International Journal of Poultry Science* 10 (10): 814–18.
- Annapoorani, C. A. 2014. "Toxicity Assessment of Aluminium on Vermicomposting Ability of *Eudrilus Eugeniae* (Kinberg) on Leaf Litter." *Pharmacology and Toxicology Research* 1 (1): 1–6.
- Antunes, S. C., B. B. Castro, B. Nunes, R. Pereira, and F. Gonçalves. 2008. "In Situ Bioassay with *Eisenia Andrei* to Assess Soil Toxicity in an Abandoned Uranium Mine." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (3): 620–31. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.007>.

- Araneda, A. D., P. Undurraga, D. Lopez, K. Saez, and R. Barra. 2016. "Use of Earthworms as a Pesticide Exposure Indicator in Soils under Conventional and Organic Management." *Chilean Journal of Agricultural Research* 76 (3): 356–62. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000300014>.
- Augustin, J. C., and V. Carlier. 2004. "Objectifs de Sécurité Des Aliments et Gestion Du Risque d'Intoxication Staphylococcique Liée à La Consommation de Pâtisseries à La Crème." In , 53–58.
- Bhadekar, R., S. Pote, V. Tale, and B. Nirichan. 2011. "Developments in Analytical Methods for Detection of Pesticides in Environmental Samples." *American Journal of Analytical Chemistry* 02 (08): 1–15. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.228118>.
- Brito-Vega, H., and D. Espinosa-Victoria. 2009. "Bacterial Diversity in the Digestive Tract of Earthworms (Oligochaeta)." *Journal of Biological Sciences* 9 (3): 192–99. <https://doi.org/10.3923/jbs.2009.192.199>.
- Brown, G. G., M. A. Callahan, C. C. Niva, A. Feijoo, K. D. Sautter, S. W. James, C. Fragoso, A. Pasini, and R. M. Schmelz. 2013. "Terrestrial Oligochaete Research in Latin America: The Importance of the Latin American Meetings on Oligochaete Ecology and Taxonomy." *Applied Soil Ecology* 69: 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.006>.
- Buchan, B. W., S. Allen, C. A. D. Burnham, E. M. Tekippe, T. Davis, M. Levi, D. Mayne, et al. 2015. "Comparison of the Next-Generation Xpert MRSA/SA BC Assay and the GeneOhm StaphSR Assay to Routine Culture for Identification of Staphylococcus Aureus and Methicillin-Resistant S. Aureus in Positive-Blood-Culture Broths." *Journal of Clinical Microbiology* 53 (3): 804–9. <https://doi.org/10.1128/JCM.03108-14>.
- Chang, J., Y. Wang, H. Wang, J. Li, and P. Xu. 2016. "Bioaccumulation and Enantioselectivity of Type I and Type II Pyrethroid Pesticides in Earthworm." *Chemosphere* 144: 1351–57. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.011>.
- Chiripasi, S. C., J. C. Moreki, S. J. Nsoso, and M. Letso. 2013. "Effect of Feeding Mopane Worm Meal on Mineral Intake, Retention and Utilization in Guinea Fowl under Intensive System." *International Journal of Poultry Science* 12 (1): 19–28. <https://doi.org/10.3923/ijps.2013.19.28>.
- Cox, Caroline. 1991. "Pesticides and Birds : From DDT to Today's Poisons." *Journal of Pesticide Reform* 11 (4): 2–6.

- Delgado Arroyo, M. d. M., R. Miralles De Imperial Hornedo, F. Alonso Peralta, C. Rodriguez Almistre, and J. V. Martin Sanchez. 2014. "Heavy Metals Concentration in Soil, Plant, Earthworm and Leachate from Poultry Manure Applied to Agriculture Land." *Rev. Int. Contam. Ambie.* 30 (1): 43–50. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v30n1/v30n1a1.pdf>.
- Domínguez-Crespo, M. A., Z. E. Sánchez-Hernández, A. M. Torres-Huerta, M. L. X. Negrete-Rodríguez, E. Conde-Barajas, and A. Flores-Vela. 2012. "Effect of the Heavy Metals Cu, Ni, Cd and Zn on the Growth and Reproduction of Epigeic Earthworms (*E. Fetida*) during the Vermistabilization of Municipal Sewage Sludge." *Water, Air, and Soil Pollution* 223 (2): 915–31. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0913-7>.
- Duffus, John H. 2002. "'Heavy Metals' a Meaningless Term? (IUPAC Technical Report)." *Pure and Applied Chemistry* 74 (5): 793–807. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>.
- Dureja, P., D. Patra, S. Johnson, and S. S. Tomar. 1999. "Effect of Agrochemicals on Earthworms." *Toxicological and Environmental Chemistry* 71 (3–4): 397–404. <https://doi.org/10.1080/02772249909358810>.
- EPA. 1996. "Method 3051 : Microwave Assisted Acid Digestion of Siliceous and Organically Based Matrices." 1996. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3052.pdf>.
- European Commission. 2003. "Opinion of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the Use of Copper in Feedingstuffs." In *Health and Consumer Protection Directorate General*, 47.
- Francis, F., E. Haubruge, P. T. Thang, L. V. Kinh, P. Lebailly, and C. Gaspar. 2003. "Technique de Lombriculture Au Sud Vietnam." *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* 7 (3–4): 171–75.
- Furlong, M. A., D. R. Singleton, D. C. Coleman, and W. B. Whitman. 2002. "Molecular and Culture-Based Analyses of Prokaryotic Communities from an Agricultural Soil and the Burrows and Casts of the Earthworm *Lumbricus Rubellus*." *Applied and Environmental Microbiology* 68 (3): 1265–79. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11872477>.
- Gall, J. E., R. S. Boyd, and N. Rajakaruna. 2015. "Transfer of Heavy Metals through Terrestrial Food Webs: A Review." *Environmental Monitoring and Assessment* 187 (4). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3>.

- Garg, V. K., S. Suthar, and A. Yadav. 2012. "Management of Food Industry Waste Employing Vermicomposting Technology." *Bioresource Technology* 126: 437–43. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.116>.
- Gerretson-Cornell, L., and J. Gwalter. 1985. "Numerical Key for the Identification of Species of Streptomyces and Streptoverticillium Included in the International Streptomyces Project." *Technical Paper - New South Wales Forestry Commission*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302678005>.
- Githire G.T., G. Kimathi, and M. Wainaina. 2019. Analysis of Transmission Dynamics of Anthrax in Animals: A Modeling Approach. *Journal of Science Research Reports* 23 (1): 1-9. DOI: 10.9734/JSRR/2019/v23i130111
- Givaudan, Nicolas. 2015. "Adaptation Strategies of Soil Biodiversity (Earthworms) to Pesticides : Mechanisms in Play and Ecosystemic Cost Assessment". PhD diss., Université Rennes 1.
- Gómez-Brandón, M., M. Lores, and J. Domínguez. 2012. "Species-Specific Effects of Epigeic Earthworms on Microbial Community Structure during First Stages of Decomposition of Organic Matter." *PLoS ONE* 7 (2): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031895>.
- Guerin J.L., Balloy, and D., Villate D. 2011. *Maladies Des Volailles*. 3rd ed. Paris : France Agricole.
- Hallmann, C. A., R. P.B. Foppen, C. A.M. Van Turnhout, H. De Kroon, and E. Jongejans. 2014. "Declines in Insectivorous Birds Are Associated with High Neonicotinoid Concentrations." *Nature* 511 (7509): 341–43. <https://doi.org/10.1038/nature13531>.
- Heikens, A., W. J G M Peijnenburg, and A. J. Hendriks. 2001. "Bioaccumulation of Heavy Metals in Terrestrial Invertebrates." *Environmental Pollution* 113 (3): 385–93. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00179-2](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00179-2).
- Hoffmann, C., F. Zimmermann, R. Biek, H. Kuehl, K. Nowak, and R. Mundry. 2017. Persistent anthrax as a major driver of wildlife mortality in a tropical rainforest. *Nature* 548 (7665): 82-86. <http://dx.doi.org/10.1038/nature23309>.
- Hole, D. G., A. J. Perkins, J. D. Wilson, I. H. Alexander, P. V. Grice, and A. D. Evans. 2005. "Does Organic Farming Benefit Biodiversity?" *Biological Conservation* 122 (1): 113–30. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.07.018>.

- Jeyanthi, V., J. Arockia John Paul, B. Karunai Selvi, M. Biruntha, and N. Karmegam. 2016. "Coelomic Fluid Protein Profiling and Heavy Metal Accumulation of Three Earthworms after Exposure to Pesticide and Metal Stress." *Int. J. Adv. Multidiscip. Res* 3 (2): 84–91.
- Kim, H. j., K. H. Shin, C. J. Cha, and H. G. Hur. 2004. "Analysis of Aerobic and Culturable Bacterial Community Structures in Earthworm (*Eisenia Fetida*) Intestine." *Agricultural Chemistry & Biotechnology* 47 (3): 137–42.
- Kotiranta, A., K. Lounatmaa, and M. Haapasalo. 2000. "Epidemiology and Pathogenesis of *Bacillus Cereus* Infections." *Microbes and Infection* 2 (2): 189–98. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)00269-0).
- Kristufek, V., K. Ravasz, and V. Pizl. 1993. *Pedobiologia. Pedobiologia (Germany)*. Urban & Fischer. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DE9420156>.
- Kumar Middha, S., T. M. Vijaya, T. Usha, H. K. Aruna, R. Bharathi, D. Saini, and G. Govindaraj. 2012. "Morphological and Histological Studies on the Vermicomposting Indian Earthworm *Eudrilus Eugeniae*." *World Journal of Zoology* 7 (2): 165–70. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjz.2012.7.2.62154>.
- Larousse. 2017. "Définitions : Intoxication." Larousse. 2017. <http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/intoxication/43940>.
- Larousse agricole. 2002. "Archive Larousse : Intoxication Alimentaire." Larousse. 2002. <http://www.larousse.fr/archives/agricole/page/322>.
- Lazcka, O., F. J. Del Campo, and F. X. Muñoz. 2007. "Pathogen Detection: A Perspective of Traditional Methods and Biosensors." *Biosensors and Bioelectronics* 22 (7): 1205–17. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.06.036>.
- Masiá, A., M. M. Suarez-Varela, A. Llopis-Gonzalez, and Y. Picó. 2016. "Determination of Pesticides and Veterinary Drug Residues in Food by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: A Review." *Analytica Chimica Acta* 936: 40–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.023>.
- Mohee, R., and N. Soobhany. 2014. "Comparison of Heavy Metals Content in Compost against Vermicompost of Organic Solid Waste: Past and Present." *Resources, Conservation and Recycling* 92: 206–13. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.07.004>.

- Morin, E. 2004. *Le Lombricompostage : Guide Pratique*. Montreal: Eco-quartier. https://www.eco-quartiers.org/documents/vermicompostage_fr.pdf.
- Murray, P., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*. 8e ed. Utrecht: American Society of Microbiology. <http://www.mycobank.org/BioMICS.aspx?TableKey=14682616000000061&Rec=20388&Fields=All>.
- Okoye, C. O. B., C. N. Ibeto, and J. N. Ihedioha. 2011. "Assessment of Heavy Metals in Chicken Feeds Sold in South Eastern, Nigeria." *Pelagia Research Library* 2 (3): 63–68. <http://www.imedpub.com/articles/assessment-of-heavy-metals-in-chicken-feeds-sold-in-south-eastern-nigeria.pdf>.
- Organji, S. R., H. H. Abulreesh, K. Elbanna, G. E. H. Osman, and M. Khider. 2015. "Occurrence and Characterization of Toxigenic *Bacillus Cereus* in Food and Infant Feces." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5 (7): 515–20. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.004>.
- Parkes, H., and C. Shilton. 2015. "Botulism in Chickens , Ducks and Other Poultry." *Agnote* 45 (792): 1–2.
- Pelosi, C., S. Barot, Y. Capowiez, M. Hedde, and F. Vandenbulcke. 2014. "Pesticides and Earthworms. A Review." *Agronomy for Sustainable Development* 34 (1): 199–228. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0151-z>.
- Pelosi, C., S. Joimel, and D. Makowski. 2013. "Searching for a More Sensitive Earthworm Species to Be Used in Pesticide Homologation Tests – A Meta-Analysis." *Chemosphere* 90 (3): 895–900. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.034>.
- Pelosi, C., L. Toutous, F. Chiron, F. Dubs, M. Hedde, A. Muratet, J.-F. Ponge, S. Salmon, and D. Makowski. 2013. "Reduction of Pesticide Use Can Increase Earthworm Populations in Wheat Crops in a European Temperate Region." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 181 (December): 223–30. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.003>.
- Rawling, M. D., D. L. Merrifield, D. L. Snellgrove, H. Kühlwein, A. Adams, and S. J. Davies. 2012. "Haemato-Immunological and Growth Response of Mirror Carp (*Cyprinus Carpio*) Fed a Tropical

- Earthworm Meal in Experimental Diets.” *Fish and Shellfish Immunology* 32 (6): 1002–7. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.02.020>.
- Rodriguez-Castellanos, L., and J. C. Sanchez-Hernandez. 2007. “Earthworm Biomarkers of Pesticide Contamination: Current Status and Perspectives.” *Journal of Pesticide Science* 32 (4): 360–71. <https://doi.org/10.1584/jpestics.R07-14>.
- Schlich, K., T. Klawonn, K. Terytze, and K. Hund-Rinke. 2013. “Effects of Silver Nanoparticles and Silver Nitrate in the Earthworm Reproduction Test.” *Environmental Toxicology and Chemistry* 32 (1): 181–88. <https://doi.org/10.1002/etc.2030>.
- Schuch, R., A. J. Pelzek, S. Kan, and V. A. Fischetti. 2010. “Prevalence of Bacillus Anthracis-Like Organisms and Bacteriophages in the Intestinal Tract of the Earthworm Eisenia Fetida.” *Applied and Environmental Microbiology* 76 (7): 2286–94. <https://doi.org/10.1128/AEM.02518-09>.
- Scott-Fordsmand, J. J., P. H. Krogh, M. Schaefer, and A. Johansen. 2008. “The Toxicity Testing of Double-Walled Nanotubes-Contaminated Food to Eisenia Veneta Earthworms.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (3): 616–19. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.04.011>.
- Shkinev, V. M., L. Vitaly, and M. Dinu. 2012. “Methodological Aspects of Studying Chemical Element Distribution between Soil Micro- and Nanoparticles*.” *Tyumen State University Herald* 12: 99–107. <https://doi.org/10.13140/2.1.2681.4088>.
- Sogbesan, A. O., and A. A.A. Ugwumba. 2008. “Nutritional Values of Some Non-Conventional Animal Protein Feedstuffs Used as Fishmeal Supplement in Aquaculture Practices in Nigeria.” *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 164 (1): 159–64.
- Sogbesan, O. A., and C. T. Madu. 2008. “Evaluation of Earthworm Meal as Protein Feedstuff in Diets for Heterobranchus Longifilis Valenciennes, 1840 Fingerlings Under Laboratory Condition.” *Research Journal of Environmental Sciences* 2 (1): 23–31.
- Sogbesan, O. A., A. A. A. Ugwumba, and C. T. Madu. 2007. “Productivity Potentials and Nutritional Values of Semi-Arid Zone Earthworm (Hyperiodrilus Euryaulos; Clausen, 1967) Cultured in Organic Wastes as Fish Meal Supplement.” *Pakistan Journal of Biological Sciences*.
- Sonaiya, E. B., and S. E. J. Swan. 2004. *Production En Aviculture Familiale - Un Manuel Technique*.

- <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=45dNQMI35AcC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Production+en+aviculture+familiale&ots=Tq5PN9PMlo&sig=K2-U0zp7fGOyIeVUGYOYkpQLFf0>.
- Soobhany, N., R. Mohee, and V. K. Garg. 2015. "Comparative Assessment of Heavy Metals Content during the Composting and Vermicomposting of Municipal Solid Waste Employing *Eudrilus Eugeniae*." *Waste Management* 39 (May): 130–45. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.02.003>.
- Souillard, R., C. Woudstra, C. Le Maréchal, M. Dia, M. H. Bayon-Auboyer, M. Chemaly, P. Fach, and S. Le Bouquin. 2014. "Investigation of *Clostridium Botulinum* in Commercial Poultry Farms in France between 2011 and 2013." *Avian Pathology* 43 (5): 458–64. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.957644>.
- Spurgeon, D. J., S. P. Hopkin, and D. T. Jones. 1994. "Effects of Cadmium, Copper, Lead and Zinc on Growth, Reproduction and Survival of the Earthworm *Eisenia Fetida* (Savigny): Assessing the Environmental Impact of Point-Source Metal Contamination in Terrestrial Ecosystems." *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)* 84 (2): 123–30. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(94\)90094-9](https://doi.org/10.1016/0269-7491(94)90094-9).
- Stenfors Arnesen, L. P., A. Fagerlund, and P. E. Granum. 2008. "From Soil to Gut: *Bacillus Cereus* and Its Food Poisoning Toxins." *FEMS Microbiology Reviews* 32 (4): 579–606. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00112.x>.
- Suthar, S., and S. Singh. 2008. "Vermicomposting of Domestic Waste by Using Two Epigeic Earthworms (*Perionyx Excavatus* and *Perionyx Sansibaricus*)." *Int. J. Environ. Sci. Tech* 5 (1): 99–106. <https://doi.org/10.1007/BF03326002>.
- Tokel, O., U. H. Yildiz, F. Inci, N. G. Durmus, O. O. Ekiz, B. Turker, C. Cetin, et al. 2015. "Portable Microfluidic Integrated Plasmonic Platform for Pathogen Detection." *Scientific Reports* 5: 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep09152>.
- USEPA. 1994. "Method 3051 : Microwave Assisted Acid Digestion of Sdements, Sludges, Soils, and Oils." 1994. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/3051a.pdf>.
- Villate D. 2001. *Maladies Des Volailles*. 2nd ed. paris : France Agricole.
- Wang, K., Y. Qiao, H. Zhang, S. Yue, H. Li, X. Ji, and L. Liu. 2018. "Bioaccumulation of Heavy Metals in Earthworms from Field Contaminated Soil in a Subtropical Area of China." *Ecotoxicology and*

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.058>.

Wang, Q., D. Zhou, L. Cang, L. Li, and H. Zhu. 2009. "Indication of Soil Heavy Metal Pollution with Earthworms and Soil Microbial Biomass Carbon in the Vicinity of an Abandoned Copper Mine in Eastern Nanjing, China." *European Journal of Soil Biology* 45 (3): 229–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2008.12.002>.

Welz, B., and M. Sperling. 2007. "The Techniques of Atomic Absorption Spectrometry." In *Atomic Absorption Spectrometry*, 335–475. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH. <https://doi.org/10.1002/9783527611690.ch8>.

Wojewoda, C. M., L. Sercia, M. Navas, M. Tuohy, D. Wilson, G. S. Hall, G. W. Procop, and S. S. Richter. 2013. "Evaluation of the Verigene Gram-Positive Blood Culture Nucleic Acid Test for Rapid Detection of Bacteria and Resistance Determinants." *Journal of Clinical Microbiology* 51 (7): 2072–76. <https://doi.org/10.1128/JCM.00831-13>.

World Health Organization. 2007. *Health Risks of Heavy Metals from Long-Range Transboundary Air Pollution*. 2nd ed. Copenhagen: World Health Organization Regional Office Europe.

Yang, W., Y. Chen, Y. Cheng, X. Li, C. Wen, and Y. Zhou. 2017. "Effects of Dietary Zinc Bearing Palygorskite Supplementation on the Carcass Traits, Chemical Composition of Muscle, and Muscular Lead and Chromium Contents of Broilers." *The Journal of Poultry Science* 54 (1): 34–40. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0160056>.

Yi, Y., G. Zhu, C. Liu, Y. Huang, Y. Zhang, H. Li, J. Zhao, and S. Yao. 2013. "A Label-Free Silicon Quantum Dots-Based Photoluminescence Sensor for Ultrasensitive Detection of Pesticides." *Analytical Chemistry* 85 (23): 11464–70. <https://doi.org/10.1021/ac403257p>.

Zhu S., D. Zimmerman, and S. L. Deem. 2019. A Review of Zoonotic Pathogens of Dromedary Camels. *EcoHealth* 16, 356–377. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01413-7>

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Le principal objectif de ce travail est de contribuer à l'amélioration des connaissances d'*E. eugeniae*, en déterminant dans quelles conditions celui-ci peut être exploité pour l'alimentation des volailles au Gabon en utilisant les matières organiques disponibles localement.

De manière spécifique, ce travail a pour but (i) d'étudier les caractéristiques morphologiques et biologiques d'*E. eugeniae*, (ii) de déterminer les contraintes liées à son utilisation dans l'alimentation des volailles, ainsi que les moyens de détection de ces risques et de limiter leurs effets sur l'animal.

Ensuite, (iii) les conditions nécessaires pour la conduite d'un élevage d'*E. eugeniae*, dans le climat équatorial du Gabon ont été étudiés ainsi que les résultats sur les performances de croissance et de reproduction de ce lombric.

L'étape suivante (iv) a envisagé comment le milieu de vie et le régime alimentaire peuvent influencer la composition nutritive et le profil en acides gras d'*E. eugeniae*.

Enfin, un essai d'élevage avicole a permis de (v) vérifier dans quelle mesure une alimentation à base d'*E. eugeniae* peut influencer les paramètres de croissance du poulet de chair élevé au Gabon.

Des recommandations sur des possibilités de valorisation de cette ressource alimentaire non conventionnelle pour la production de poulets, concluent cette thèse.

ARTICLE 3: EFFECT OF COW DUNG AND MANURE OF LAYING HENS ON GROWTH AND REPRODUCTION OF *EUDRILUS EUGENIAE*

Adapté de l'article 3: Publié en 2017 dans *International Journal of Agriculture and Biology*,

19: 921–927

Patrick Byambas, Aboukacem Lemtiri, Frederic Francis, Toussaint Begone Ndong and Jean Luc Hornick

Abstract

The objective of the current study was to compare the effect of cow dung and manure of laying hens, associated to one of the two carbon substrates (coconut fibers and *Leucaena leucocephala* leaflets), on weight and population of this worm. Each substrate was sown with twenty (20) adult worms, 0.7 to 1 g weight. The weight of worms was collected at the beginning and at the end of breeding. The number was collected weekly until 60 days of breeding. The average number of worms was multiplied by 2.38 (60 ± 6.78 in cow dung, 40 ± 6.81 in manure of laying hens and 43 ± 8.23 in control). The average weight of worms was 27.19 ± 1.21 , 24.41 ± 1.20 , and 22.41 ± 1.44 g, respectively. These results suggest that cow dung is better than manure of laying hens for vermiculture of *E. eugeniae*.

Keywords: *Eudrilus eugeniae*; Manure; Laying hens; Cow dung; Gabon

1. INTRODUCTION

Eudrilus eugeniae is a diggerworm of Tropical areas (Ansari and Saywack, 2011) and native from Africa. It was indexed in Ivory Coast (Coulibaly and Zoro Bi, 2010), Ghana, Nigeria, Cameroon (Oboh et al., 2007), and in Gabon (James and Divina, 2012). The worm is also called as African Night Worm (Edwards and Bolhen, 1996). This invertebrate is commonly used in the process of vermicompost in tropical and subtropical countries (Vijaya et al., 2012). The demographic growth in tropical countries has an environmental impact, with an important production of organic waste (Temgoua et al., 2014). In order to find solutions to waste management, several ways are explored, e.g., vermicomposting (Yadav and Garg, 2011). This process allows earthworms, such as *E. eugeniae*, to accelerate mineralization of organic waste in simple elements like Nitrogen, Phosphorus and Potassium (Morin, 1999; Karmakar et al., 2012). The vermicompost is thus an alternative to classical methods of land fertilization in the tropical countries (Karmakar et al., 2012). These earthworms also represent a source of protein for animal feed (Munroe, 2006).

Use of the earthworms in animal feedstuff implies to produce worms in area where they should be used. To better know *E. eugeniae* and to develop its lombriculture, several studies were carried out and aimed at describing the internal anatomy (DaDong et al., 2007; Butt and Grigoropoulou, 2010), the cycle of reproduction (Parthasaeathi, 2007; Sivasankari et al., 2013), growth and reproduction in various substrates (Coulibaly and Zoro Bi, 2010; Tahir and Hamid, 2012; Nayak and Sahu, 2013), and reproductive organs (Vijaya et al., 2012; Moraes et al., 2012). Lombriculture of *E. eugeniae* was carried out in several countries of the tropical area (Francis et al., 2003; Coulibaly and Zoro Bi, 2010; Tahir and Hamid, 2012). The potential of *E. eugeniae* in vermicomposting of different vegetable and animal wastes has been reported (Coulibaly and Zoro Bi, 2010; Tahir and Hamid, 2012), but till now, no study was conducted with manure of laying hens bred on the ground or *Leucaena leucocephala* leaflets. So, it was hypothesized that cow dung or manure of laying hens associated or not with coconut fiber or *L. leucocephala* leaflets would affect differently the growth and the reproduction of *E. eugeniae* in equatorial zone.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Study Site

The study was conducted at the Forestry and Agricultural Research Institute (IRAF), at Libreville in Gabon. It's situated between latitudes 4°S -2°3N and longitudes 8°E and 15°E (Meka M'allogho, 2013). The average rainfall is 2000 mm/year, with average temperature of 27°C and relative humidity of 80% (Emane Mba and Edou, 2003). The experimental breeding was located in a half-open room with a room temperature close to outside.

2.2. Biological Materials

Earthworms (EW) were picked by digging and manual removal on the same plot of natural land, from 10 to 20 cm of depth, in order to reduce the variation of the biotype (Vijaya et al., 2012). The species was identified using the keys of identification of adult worms and descriptions of *E.eugeniae* made by Sims and Gerard (1985), Dhiman and Battish (2005), Dominguez and Edwards (2010), Ansari and Saywack (2011). Earthworms were packaged and transported in plastic trays with a little soil sampling of their natural environment. Earthworms were kept in these plastic trays until the start of experimental breeding. The hens manure (HM) was a dry mixt of 55 % hens drops, 25 % wood chips and 20 % water. It was collected in a poultry farm in Libreville. A nitrogen content of 2.8 % dry matter (DM) was determined by the Kjeldahl method (ISO 937). The cow dung (CD) was harvested on Libreville stockyard, then dried and ground. Nitrogen content was 3.6 % DM. *L. leucocephala* leaflets were harvested from shrubs and sun-dried over 2 days. Then they were crushed by hand to obtain green waste. Coconut fibers were collected on the beach at Libreville. Coarse fibers were cut and then passed to oven for 48 h. Dried fibers were passed to the mill and reduced into particules of about 0.5 cm. Okoume sawdust was collected in a wood factory. All these organic materials were chosen on the basis of availability, free nature, accessibility and easy use compared to other organic materials existing in the area. Manure compost of 4 months old was used as pre-compost to stimulate the composting process in the bins. All blends were made to obtain a C/N ratio of 30. For a suitable composting process C/N ratio has to range between 25 and 35 with mean at 30. The C/N ratio of each ingredients were obtained in literature and are listed in Table 3.1. The C/N ratio of the blend were calculated using the following formula (Bruyeer and Simus, 2012):

$$C/N_b = (N_1 * R_1 + N_2 * R_2 + \dots + N_n * R_n) / (N_1 + N_2 + \dots + N_n)$$

Where:

C/N_b : C/N ration of the blend

N_1 : Quantity of ingredient 1; N_2 : Quantity of ingredient 2; N_n : Quantity of ingredient n

R_1 : C/N ration of ingredient 1; R_2 : C/N ration of ingredient 2; R_n : C/N ration of ingredient n

Table 3.1: The C/N ratio of the ingredients of the substrates

Sample	C/N
Mold	10
Pre compost	12
Sawdust	200
Cow dung	20.95
Laying hens manure	10.89
Coconut fiber	24.71
<i>Leucaena leucocephala</i> leaflet	9.08

2.3. Experimental Design

The breeding technique was described by Francis et al. (2003), Coulibaly and Zoro Bi (2010) and Tahir and Hamid (2012). Eighteen (18) plastic containers of 9.8 liter (L: 33 cm, W: 23 cm, H: 13 cm) were divided in six lots of substrate as shown in Table 3.2. The basic substrate was composed of mold, sawdust and 0.5% of Pre-compost. Half of them were randomly mixed with cow dung and the other half with hens manure. Among these sub-groups, one third was mixed with coconut fiber, another third with *L. leucocephala* leaflets and the other third not. The substrates compositions are indicated in Table 3.2.

The bins were distributed randomly in the breeding room. For ventilation, funds and lids trays were perforated (holes of 3 mm) with a drill. The walls of the bins were painted in black to prevent the passage of light (Figure 3.1). Each substrate was pre-composted for 14 days (Nayak and Sahu, 2013). This process eliminates toxic gases and avoid mortality of earthworms in early breeding (Coulibaly and Zoro Bi, 2010). Then twenty (20) adult worms (0.85 ± 0.15 g) were added to each bin. The reference density was 1.6 kg of worms/m² or 6000 worms/m³ of substrate (Francis et al., 2003).

The total weight of worm population was noted at the beginning and at the end of breeding. The number of worms was registered every 15 days, by manual sorting. Worm population was weighed with a ± 0.01 g precision balance. The manual mixing of the substrate was carried out in parallel, in order to evacuate volatile gases, toxic to earthworms (Coulibaly et al., 2011).

Table 3.2 : Expérimental design.

Source of Nitrogen	Bins	Substrates	Abbreviation
Cow dung	control =	M+S+P+CD	CDC
	Treatment=	M+S+P+CD+CF	CDCF
	Treatment=	M+S+P+CD+LL	CDLL
Laying hens manure	control =	M+S+P+HM	HMC
	Treatment=	M+S+P+HM+CF	HMCF
	Treatment=	M+S+P+HM+LL	HMLL

Legend : M : Mold, S : Sawdust, P : precompost, CD : cow dung, CDC : CD control, CF : coconut fiber, LL : *Leucaena* leaflets, HM : hens manure, HMC : HM control.

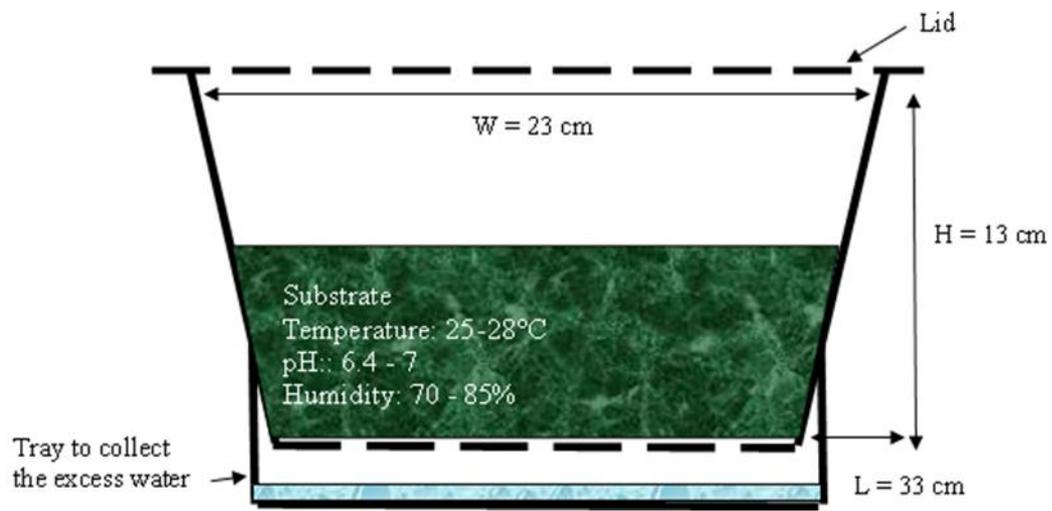


Figure 3.1: Experimental vermicomposting system for *Eudrilus eugeniae* (adaped from Tahir et Hamid, 2012)

2.4. Statistical Tests

Data were analyzed with the SAS statistical software following a mixed model, including the effects of nitrogen and carbon sources and their interactions over time in type 1 autoregressive covariance structure. The overall weight changes were analyzed according to a general linear model including the effect of the source of carbon, that of nitrogen and their interaction. Least square means were compared according to Student's t tests. Differences were considered as significant at the alpha level $P < 0.05$.

3. RESULTS

3.1. Population of Adults and Youngs *E. eugeniae* According to Carbon Sources

Changes in number of adult worms were observed in different substrates (Figure. 3.2A). These data revealed that in the control group the reduction of number of adult worms was 50%. In the other two groups, the decline of population was reduced by about 40% at the end of the experiment, the difference between the two experimental groups being not significant ($P = 0.75$). However, a significant difference was observed between the number of adult worms in the control substrate and those of the two carbon sources from the 3rd until the 9th week of culture ($P < 0.05$).

Juvenile earthworms in the different substrates appeared from the 5th week of breeding (Figure 3.2B) and their numbers increased linearly and significantly, but more in the FC group, 40 units/week vs about 25 in the two other groups ($P < 0.05$) that were not differentiated.

3.2. Population of Adults and Young *E. eugeniae* According to Nitrogen Sources

The evolution of the population of adult earthworms as influenced by the nitrogen source is depicted in Figure 3.3A. The adult population declined in both nitrogen sources. However, the highest decrease was observed with earthworms bred in the HM (50%) while in the CD a decrease of 35% was observed. The differences were significant ($P < 0.05$) from the 3rd to the 9th week of breeding.

The worms appeared from the 5th week (Figure 3.3B) and their number increased linearly in both groups but more strongly with cow dung (35 units/week). Therefore in the 9th week, 143

juveniles were observed in substrate of CD but only 91 specimens were observed in HM. This difference between the CD and HM curve was significant ($P < 0.05$).

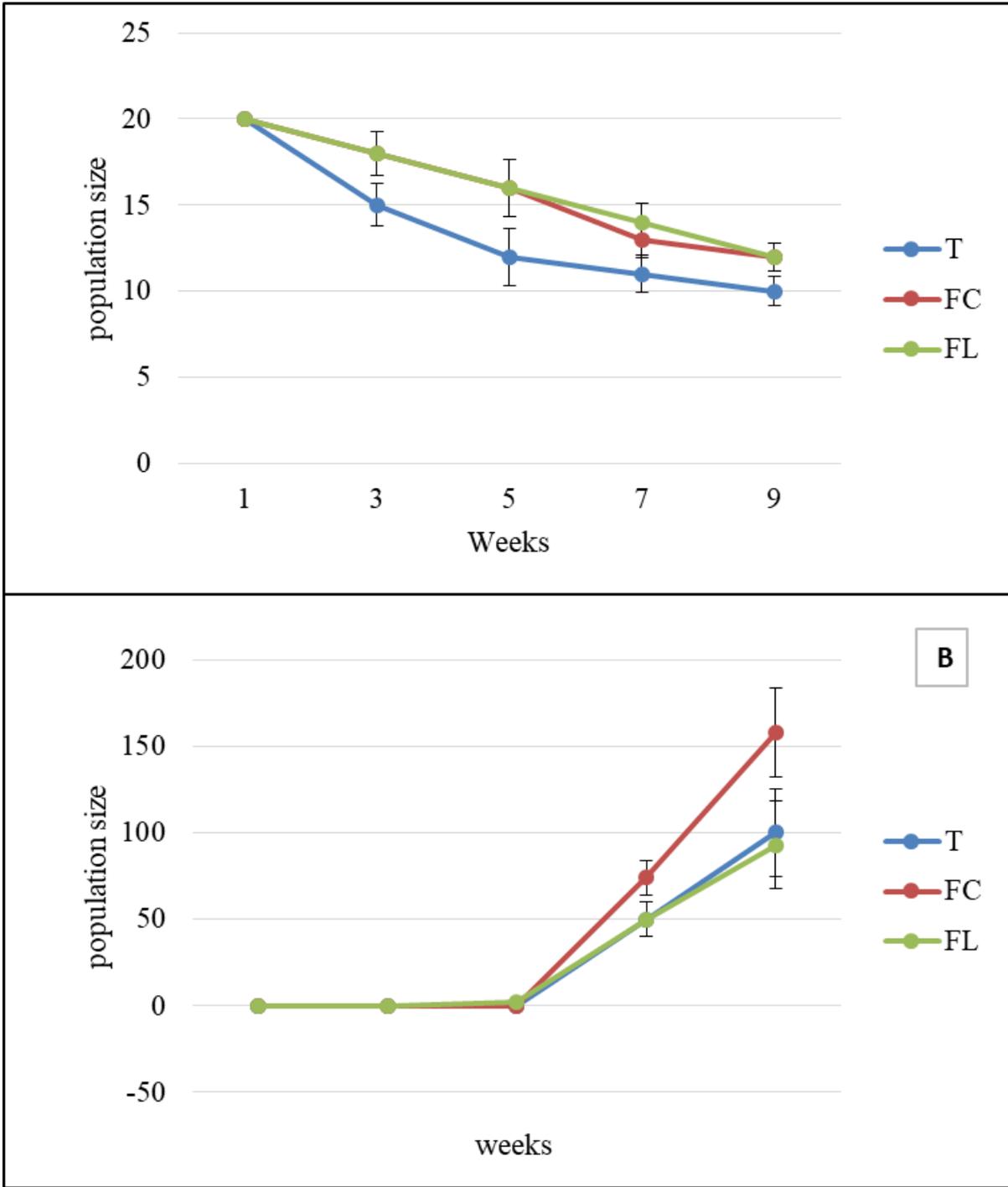


Figure 3.2: Evolution of the population size of adults (A) and juveniles (B) of *Eudrilus eugeniae*, breded in substrates enriched with different carbon sources (control, coconut fiber and *Leucaena. leucocephala* leaflets).

Legend : Ct : control ; CF : coconut fibers ; LL :*L. leucocephala* leaflet

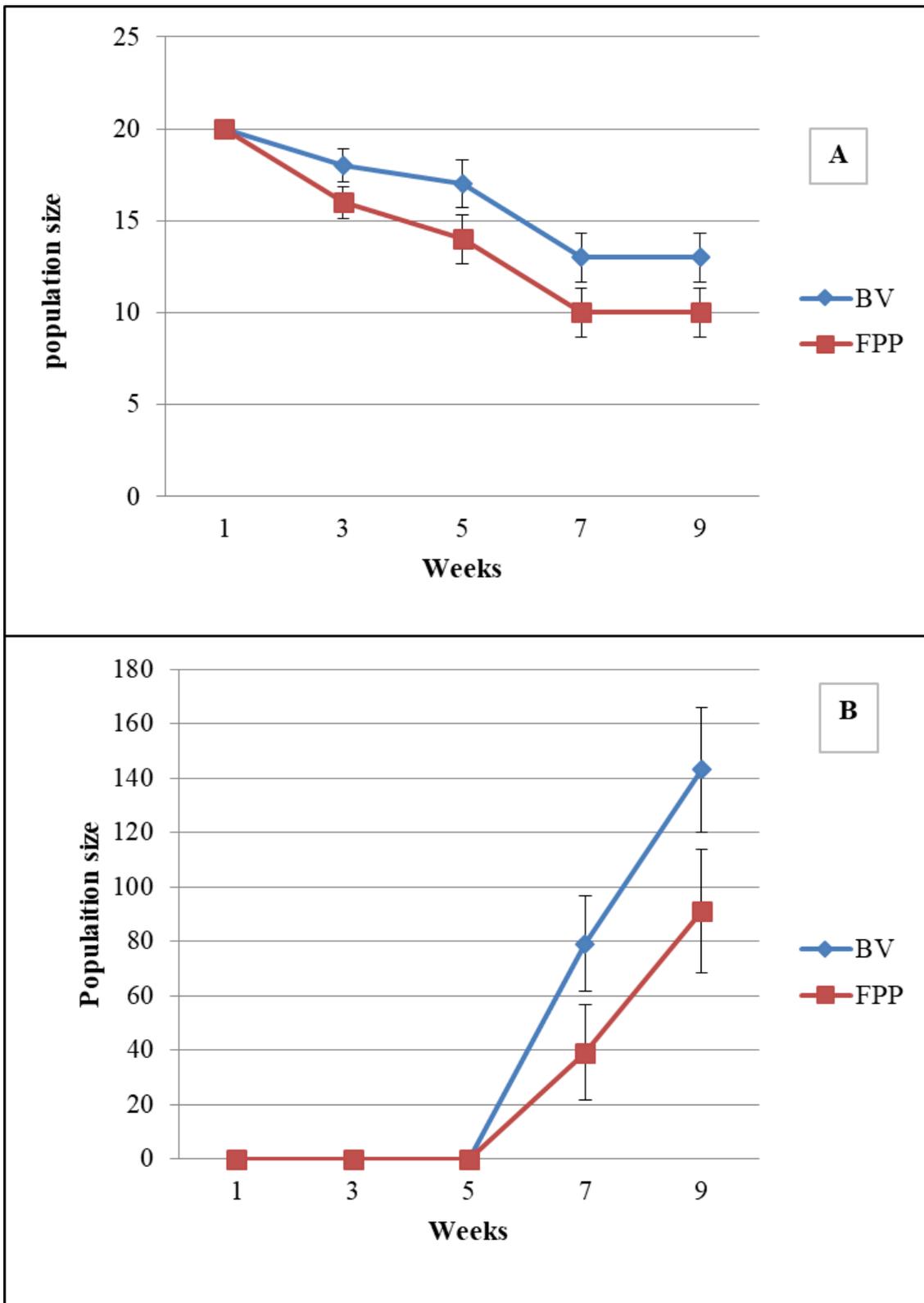


Figure 3.3: Evolution of the population of adults (A) and juveniles (B) of earthworms belonging to *Eudrilus eugeniae* species bred in two N sources (cow dung and manure of laying hens).

Legend : CD : Cow dung ; HM :Hens manure

3.3. Weight of *E. eugeniae* in Different Substrates

Table 3.3 shows population worm weight changes observed in the different groups. The initial weight did not vary between batches. It increased on average by 2.4. No difference was observed between nitrogen sources, although numerically greater increase was observed in the system with cow dung where the weight was multiplied by 2.5. Within the three sources of carbon, differences tended to appear. The starting weights were multiplied by the highest value (2.7), in the group with coconut fiber.

The average gain of biomass (AGB) observed in the overall experimental environment was about 26.2 g. In the CD system, it was numerically higher of 4 g, compared to that observed in the HM system.

Among the various sources of carbon, coconut fiber had the highest biomass gain, at about 10 g more than in the other two groups ($P < 0.05$). The biomass gain observed in substrate containing *L. leucocephala* leaflets, was superior to the control but not significantly.

The interaction between the two main factors tended to be significant. Biomass gains in the 3 groups of CD system did not differ significantly ($P > 0.05$). Among the three groups of the HM system, the one with coconut fibers had the best AGB, followed by the one with *L. leucocephala* and the control (39.7 ± 5.17 g, 20.2 ± 6.33 g and $13, 4 \pm 5.17$ g, respectively).

The average weekly gain (AWG) of 3.28 ± 0.21 g, observed with worms raised on CD system was significantly higher than that observed in the HM system ($P < 0.05$). When considering the carbon sources, the difference in AWG were significant also. The worms raised on coconut fibers had significantly higher value than the control group ($P < 0.05$) but neither difference was observed between Ct and LL nor between CF and LL ($P > 0.05$).

Table 3.3: Growth performance of *Eudrilus eugeniae* bred in substrates containing cow dung or laying hens manure, associated or not with either coconut fiber or *Leucaena leucocephala* leaflets.

	N			C		N	P>F	
	CD	HM	Ct	CF	LL		C	N*C
Initial weight (g)	18.9 ± 1.89 ^a	19.78 ± 1.88 ^a	19 ± 2.32 ^a	19.33 ± 2.32 ^a	19.67 ± 2.32 ^a	NS	NS	NS
Δ weight (g)	28.1 ± 2.99 ^a	24.4 ± 3.23 ^a	21.0 ± 3.66 ^a	33.5 ± 3.66 ^b	24.2 ± 4.09 ^a	NS	+	+
Weight gain per week (g)	3.28 ± 0.21 ^a	2.85 ± 0.21 ^b	2.45 ± 0.62 ^a	3.91 ± 0.61 ^b	2.82 ± 0.61 ^{ab}	NS	+	+

Within a N and C source, means with same letters are not significantly different at p>0.05.

CD : cow dung ; HM : hens manure; Ct: control ; CF : coconut fiber ; LL : *L. leucocephala* leaflet ; NS : non-significant ; + : P<0.1.

3.4. Weight Growth of *E. eugeniae* in Different Substrates

The evolution of weight Biomass of *E. eugeniae* on the breeding period is reported in Figure 3.4. Carbon source did not affect the average weight of worms up to the third week ($P>0.05$) in the two experimental groups. From the 5th week, a significant difference was observed between weight of worms raised in the control group and that raised on *L. leucocephala* leaflets ($P=0.012$) as in that raised on coconut fibers. At week 7, the worms raised in the substrate receiving coconut fibers showed the highest weight, followed by that of *L. leucocephala* substrate and control substrate. The difference observed in weight between the control group and the substrate containing coconut fibers was significant ($P>0.05$). The weight of the worm measured at the 9th week breeding, in the substrate with coconut fiber was significantly higher than the other two groups, ($P>0.05$) and ($P>0.001$) in the groups with *L. leucocephala* and control respectively. No significant differences were observed between the control and the substrate with *L. leucocephala* ($P>0.05$).

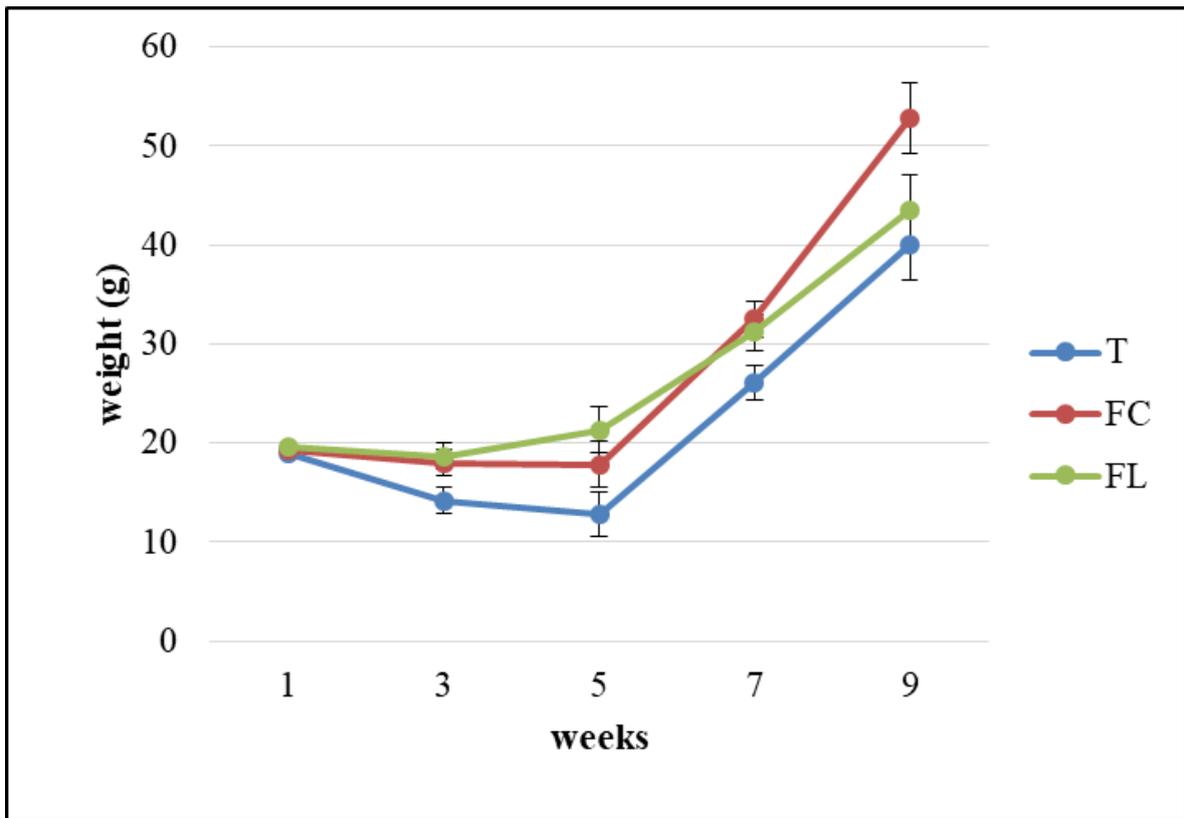


Figure 3.4: Growth of *Eudrilus eugeniae* in different breeding substrates (control, Coconut fiber and *Leucaena. leucocephala* leaflet)

Legend : Ct : control ; FC : coconut fibers ; FL : *L. leucocephala* leaflet.

4. DISCUSSION

The increase of the population and weight of earthworms are essential indicators during vermiculture. The initial population of 20 EW was multiplied on average by 2.4 after 60 days of breeding but some adult worm's mortality were observed. The curves of mortality of adult worms presented the same slope in the various substrates. This global reduction of number of worms could be due to the presence of poison gases such as the CO₂ or H₂S stemming from the microbial activity during the decomposition of the organic matter (Coulibaly and Zoro Bi, 2010; Tahir and Hamid, 2012). The mortality of adult earthworms in control group was higher at 10% when compared with that observed in groups raised with additional carbon source. The introduction of coconut fibers or *L. leucocephala* leaflets was able to improve physical and chemical quality of the substrate so as to favor the viability of worms raised in these substrates. The quality of the substrate indeed influences positively worms (Suthar, 2009a). The young earthworms were observed from the 5th week and their number increased very quickly from the week 7 in all substrates, although it remained significantly higher in the group with coconut fibers (P<0.05), with regard to the control group. The observation of juvenile earthworms from the 5th week is similar to that made by Coulibaly and Zoro Bi (2010) with *E. eugeniae*. They noticed that the production of cocoons started 5 weeks after the beginning of the breeding. This time would allow the earthworms to adapt themselves to their new breeding environment, to couple, to produce cocoons and to give birth to small worms becoming easily countable in few days. The relatively fast multiplication of earthworms would be also result from the temperature of the breeding environment of *E. eugeniae* (Dominguez et al., 2001; Francis et al., 2003). This experience was realized in the equatorial zone under an average temperature of 27°C. Coconut fibers had a significant effect (P<0.05) on earthworms by increasing by 40 units their population, against 20 units for those raised in the control substrates and that with *L. leucocephala* who did not differ significantly. This positive effect of coconut fiber on *E. eugeniae* had been reported by Tahir and Hamid (2012). Coconut fibers would favor adequate humidity and the aeration of the breeding environment which are, among others, essential conditions to development of earthworms (Sierra et al., 2013). The weak growth of worms raised in the substrate with *L. leucocephala* could have been impacted by possible toxic effect of mimosine or toxic compounds such as saponins (Graham et al., 2014).

The results showed a global mortality of 42% of adults worms raised on cow dung and manure of laying hens and their respective curve of survival decrease in same way during the period of

breeding. However, earthworms raised in manure of laying hens recorded a mortality rate significantly higher than in the presence of cow dung ($P < 0.05$). This loss could be associated to the quality of the manure of laying hens because of treatments they use to receive at farm, mainly vermifuges whose residues could be found out in poultry droppings. This report differs from that made by Coulibaly et al. (2011). Their source of nitrogen was droppings while in the current study it is manure of poultry reared on the ground, which is composed of droppings added to the shaving which forms the litter. These results reveal nevertheless that in the conditions prevailing in the region, the cow dung allowed better viability of adult earthworms. The population of juvenile earthworms observed from the 5th week increased very quickly and more significantly in the system with cow dung ($P < 0.05$). It suggests that the cow dung would favor also better reproduction of earthworms comparing with the manure of laying hens. Coulibaly and Zoro Bi (2010), nevertheless classified cow dung at the third place behind poultry droppings and sheep dung for the production of cocoons. For rate of hatching it was ranked at second place behind poultry droppings. This difference would stem on one hand, on use of manure instead of poultry droppings, and on other hand, on presence of residues of medicine in the manure of laying hens.

The average population weight observed in the various substrates was multiplied by 2.4 and did not differ significantly between the two sources of nitrogen. However, the higher numerical value, obtained with worms raised on cow dung is an additional element suggesting that this one would favor better body growth of earthworms compared to manure of laying hens. Between the various sources of carbon, coconut fibers gave the highest weights. These results differ from those reported by Coulibaly et al. (2011) for the biomass but are similar to those reported by Tahir and Hamib (2012) who observed best weight growth with worms raised on coconut fibers. The average gain of biomass for CD system was superior of 4 points, compared with that of HM system and suggests that cow dung would be a better substrate for growth of *E. eugeniae* in equatorial region. Coulibaly et al. (2011) ranks it at the second place after poultry droppings for biomass gain with *E. eugeniae*. The average weekly gain reported in Table 3 is globally close to AWG reported by Tahir and Hamib (2012) with *E. eugeniae*. However, cow dung distinguishes itself significantly from manure of laying hens ($P < 0.05$). And coconut fibers provided a significantly better value compared to that of control ($P < 0.05$) by contrast to *L. leucocephala*. This implies that the cow dung would be better for the growth of earthworms. Within the association of CD and CF, coconut fibers would allow earthworms to express better their growth potential. The tendency of coconut fibers to improve weekly weight gain was reported by Tahir and Hamib (2012).

The weight growth curves of earthworms, although incomplete, follow a regular evolution. As reported by Coulibaly and Zoro Bi (2010), no difference was observed between groups for average weight before the 5th week of breeding ($P>0.05$). In their study, they show that curve of growth of *E. eugeniae* accelerates after 5th week of breeding in all the substrates. By 7th week, differences of weight observed between control group and that with coconut fibers reveal a tendency ($P=0.06$). At the 9th week the weight measured in the group with FC showed significantly higher than that of the group with *L. leucocephala* ($P<0.05$) and the control ($P=0.001$). It reveals that there would be a combined effect of time and substrate on the weight of *E. eugeniae*. The process of decomposition being faster in hot climate (Francis et al., 2003), then the mineralization of the organic matter would have favored the production of nutrients available for *E. eugeniae* but also microorganisms which are food sources for earthworms (Gomez-Bradon et al., 2012). The difference observed between the average weights of earthworms raised in coconut fiber compared to that of *L. leucocephala* at the 9th week, suggest that CF help *E. eugeniae* to have better weight gain. The same observation have been made by Tahir and Hamid (2012) with *E. eugeniae*. The presence of coconut fibers combined with the effect of the time would have improved quality of substrate which influences development of earthworms (Suthar, 2009a). While coconut fibers, richer lignine, should degrademore slowly and influence negatively the earthworms. This situation could be attributed to the fact that coconut fibers were very finely crushed (Tahir and Hamid, 2012) and allowed a better aeration of breeding environment contrary to *L. leucocephala* leaflets which facilitates compaction of the substrate and bad aeration.

Overall, these results suggest that cow dung is a good source of nitrogen for vermiculture, including promoting weight gain and reproduction. In this study, the best position of CD before HM would be due to manure used. After analysis, it content low nitrogen (3 %), because of loss of element resulting from its outside storage and to abundance of wood chip. In these conditions, the content of nitrogen would become then lower than the reference value of 3.4% for dry manure of laying hens, whereas droppings, for the same type of hens, presents a rate of 6.01 % nitrogen (Chevalier et al., 2005; Seydoux et al., 2006). These factors would explain, partially, why the obtained results differ from those reported by Coulibaly and Zoro Bi (2010) with poultry droppings. Indeed the richness of poultry droppings in nitrogen when compared with the cow dung would influence the growth, the production and the reproduction of *E. eugeniae* (Deka et al., 2011). But in the condition of this experiemet the richest source of nitrogen was cow dung with 3.6 %. Munroe (2006) reported also that nitrogen would be nutritionally benefic to earthworms. There were probably also possible residues in veterinary

product in laying drop that could adversely affect the growth and reproduction of *E. eugeniae*. Coconut fibers, as for it, would be a good source of carbon for this type of farming in the equatorial zone by promoting aeration and maintaining humidity of substrate.

The period of breeding for this experiment was 60 days, because of material constraints. Other experiments with *E. eugeniae* were conducted on 50 days and led to similar results for the weight gain (Tahir and Hamib, 2012). To reach a more complete curve of growth, a period of 3 or 4 months would be necessary (Parthasarathi, 2007; Coulibaly and Zoro Bi, 2010; Deka et al., 2011). It would allow to determine the weight curve inflection point in order to provide the optimum time to stop breeding and get the best biomass of earthworms for poultry feed.

5. CONCLUSION

The culture of *E. eugeniae* is possible in Gabon, with two sources of nitrogen. The present study intended to show that the lombriculture of *E. eugeniae* could be carried out in equatorial conditions with manure of laying hens or cow dung associated or not with coconut fibers or *L. leucocephala* leaflets. The results obtained in the various treatments with the population, the weight and the average weight gain of earthworms are similar to those of previous studies with the same species. Moreover, the resulting values reveal that the use of cow dung is more appropriate than manure of laying hens and that association cow dung-coconut fibers is well adapted to this type of breeding in equatorial zone. They also confirm that *Eudrilus sp.* can reproduce very quickly in equatorial zone under ambient average temperature of 27°C which is similar to data brought back in other experiments.

This experience should be repeated over a longer period to align itself with the durations of breeding realized with *Eudrilus sp.*, and substitute the manure by droppings of laying hens as source of nitrogen.

Acknowledgements

We grateful Dr Yves BAGAFU from Soil Laboratory of IRAF for chemical analysis.

References

- Ansari, A.A. and P. Saywack, 2011. Identification and classification of earthworm species in Guyana. *Int. J. Zool. Res.*, 7: 93–99
- Bruyeer, R. and P. Simus, 2012. Le Calcul Du Rapport Carbone Azote. Available at: http://users.swing.be/compost/Main_Rapport%20C_N.htm (Accessed: 23 October 2013)
- Butt, K.R. and N. Grigoropoulou, 2010. Basic Research Tools for Earthworm Ecology. *Appl. Environ. Soil Sci.*, 2010: 1–12
- Chevalier, D., C. Aubert, M. Leveque and C. Gadais, 2005. Caractérisation Des Fumiers Issus De Poulets Label Et Estimation Des Rejets En Azote, Phosphore, Potassium, Cuivre Et Zinc. *Recherche Avicole*. Institut Technique de l'Aviculture: Anger
- Coulibaly, S.S. and I.A. Ziro Bi, 2010. Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *Eur. J. Soil Biol.*, 46: 225–229
- Coulibaly, S.S., K.I. Kouassi, E.J. Tondoh and I.A. Zoro, 2011. Impact of the Population Size of the Earthworm *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) on the Stabilization of Animal Wastes during Vermicomposting. *Philipp. Agric. Scientist*, 94: 359–367
- DaDong, S., N. Charubhan and S. Chantsawang, 2007. Anatomy and life cycle of *Eudrilus eugeniae*, In: Science Kasetsart University, ed. Proceedings of the 45- Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart, pp: 516–524. 30 January – 2 February, 2007. Bangkok; Thailand: Kasetsart University
- Deka, H., S. Deka, C.K. Baruah, J. Das, S. Hoque and N.S. Sarma, 2011. Vermicomposting of distillation waste of citronella plant (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) employing *Eudrilus eugeniae*. *Bioresour. Technol.*, 102: 6944–6950
- Dhiman, N. and S.K. Battish, 2005. Earthworm from northern India states with *Ocnodrilus occidentalis* Eisen, 1878 as a new report from Punjab. *Zoos' Print J.*, 21: 2135–2137
- Dominguez, J. and C.A. Edwards, 2010. Biology and ecology of earthworm species used for vermicomposting. In: Towards the: Vermitechnology: Earthworms, Organic Wastes and Environmental Management, pp: 27–38. C.A. Edwards, N.Q. Arancon and R.L. Sherman (eds.). CRC Press, Boca Raton, FL, USA
- Dominguez, J., C.A. Edwards and J. Ashby, 2001. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) (Oligochaeta) in cattle waste solids. *Pedobiologia*, 45: 341–353

- Edwards, C.A. and P.J. Bolhen, 1996. *Biology and Ecology of Earthworms*, 3rd edition. Chapman and Hall, London, UK
- Emane, Mba S. and A. Edou-Minko, 2003. Etude des propriétés physiques des sols de savane du plateau manganésifère Okouma (Gabon) en zone équatoriale. *Rev. CAMES*, 2: 25–48
- Francis, F., E. Haubruge, P.T. Thang, L.V. Kinh, P. Lebailly and C. Gaspar, 2003. Technique de Lombriculture au sud Vietnam. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 7: 171–175
- Gomez-Brandon, M., M. Lores and J. Dominguez, 2012. Species-specific effects of epigeic earthworms on microbial community structure during first stages of decomposition of organic matter. *Plos one*, 7: 1–8
- Graham, S.R., S.A. Dalzell, G.L. Kerven and H.M. Shelton, 2014. Detection of toxicity in ruminants consuming leucaena (*Leucaena leucocephala*) using a urine colorimetric test. *Tropical Grasslands – Forrajes Tropicales*, 2: 63–65
- James, S.W. and G.B. Divina, 2012. Earthworms (Clitellata: Acanthodrilidae, Almididae, Eudrilidae, Glossoscolecidae, Ocnerodrilidae) of the coastal region of Gamba, Ogooué-Maritime Province, southwestern Gabon. *Zootaxa*, 3458: 133–148
- Karmakar, S., K. Brahmachari, A. Gangopadhyay and S.R. Choudhury, 2012. Recycling of different available organic wastes through vermicomposting. *Eur. J. Chem.*, 9: 801–806
- Meka M'allogho, F., 2013. Analyse Comparative Entre Superficies Officielles et Sig Des Permis Forestiers: Cas Des Petits Permis Forestiers Gabonais. Available at: http://www.memoireonline.com/12/08/1758/m_analyse-comparative-entre-superficies-officielles-et-sig-des-permis-forestiers-cas-des-petits-permi2.html (Accessed: 12 June 2014)
- Moraes, M.J.D., D.O. Filho, J.H. Martins and L.C. Santos, 2012. Electric signals for separation of earthworms (*Eudrilus eugeniae*). *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*, 16: 1137–1142
- Morin, R., 1999. Exploitation et élevage des vers de terre pour le marché des appâts vivants, In: *Towards the: Document D'information DADD-20m* pp: 1-13. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, (éds.). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, Canada
- Munroe, G., 2006. *Guide Du Lombricompostage Et De Le Lombriculture à la Ferme*, 2nd edition. Centre d'agriculture biologique du Canada, Quebec, Canada
- Nayak, S.K. and S.K. Sahu, 2013. Vermicomposting of poultry litter using *Eudrilus eugeniae*. *The Ecoscan*, 3: 267–271
- Oboh, B.O., D.O. Akintobi and C. Ejidereonwu, 2007. Morphometric Studies in *Eudrilus Eugeniae* Populations from Different Locations in Lagos, Nigeria. *Nat. Sci.*, 5: 16–21

- Parthasarathi, K., 2007. Life cycle of *Lampito moretii* (Kinberg) in comparison with *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) cultured on different substrates. *J. Environ. Biol.*, 28: 803–812
- Seydoux, S., D. Cote, M. Grenier and M.O. Gasser, 2006. Caractérisation Des Volumes et Des Concentrations en Eléments Fertilisants Des Effluents D'élevage de Poulettes et de Poules Pondeuses. Available at: <http://www.irda.qc.ca/resultats/publications/114.html>
- Sierra, J., L. Desfontaines, J. Faverial, G. Loranger-Merciris and M. Boval, 2013. Composting and vermicomposting of cattle manure and green wastes under tropical conditions: carbon and nutrient balances and end-product quality. *Soil Res.*, 51: 142–151
- Sims, R.W. and R. Gerard, 1985. A review of the economic importance of earthworms. *Science*, 29: 152–160
- Sivasankari, B., S. Indumathi and M. Anandharaj, 2013. A Study on life cycle of Earth worm *Eudrilus eugeniae*. *Int. J. Res. Pharm. Life Sci.*, 1: 64–67
- Suthar, S., 2009a. Vermistabilization of municipal sewage sludge amended with sugarcane trash using epigeic *Eisenia fetida* (Oligochaeta). *J. Hazard. Mater.*, 163: 199–206
- Tahir, T.A. and F.S. Hamid, 2012. Vermicomposting of two types of coconut wastes employing *Eudrilus eugeniae*: a comparative study. *Int. J. Recycling Org. Waste Agric.*, 1: 1–6
- Temgoua, E., E. Ngnikam, H. Dameni and G.S. Kouedeu Kameni, 2014. Valorisation des ordures ménagères par compostage dans la ville de Dschang, Cameroun. *Tropicultura*, 32: 28–36
- Vijaya, T. M., S.K. Middha, T. Usha, H.K. Aruna, R. Bharathi, D. Saini and G. Govindaraj, 2012. Morphological and Histological Studies on the Vermicomposting Indian Earthworm *Eudrilus eugeniae*. *World J. Zool.*, 7: 165–170
- Yadav, A. and V.K. Garg, 2011. Recycling of organic wastes by employing *Eisenia foetida*. *Bioresour. Technol.*, 102: 2874–2880

Patrick Byambas; Caroline Douny; Nassim Moula; Marie-Louise Scippo; Jean Luc

Hornick

Summary

Eudrilus eugeniae is used as a source of protein for animal feeding. But there is a lack of information on its nutrient composition and fatty acid profile, making it uncertain to include into dietary formulation. The aim of the current study was to determine the nutrient composition and fatty acid profile of *E. eugeniae* offered peanut powder as source of fat. Three months reared adult worms were analyzed for nutrient composition (protein, ash, and minerals) according to the micro Kjeldahl and Atomic Absorption Spectrophotometer method. The fatty acid profile was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Worm protein in dry matter increased significantly in worms fed peanut powder ($P < 0.05$), as did the minerals measured, **without Mg and Na**.

Fat proportion was not influenced by the treatment. In fat, the main FA families' proportions were similar **between the control and experimental groups**. In the SFAs family, C12:0, C14:0, C16:0 and C18:0 occurred in higher proportions in the **control and experimental groups**, while among MUFAs, C18:1 ω 9 prevailed. Significant differences ($P < 0.05$) were globally observed in PUFA family between the two groups of earthworms. The diet induced an increase of the proportion of ω 6 in the experimental group when compared to the control. In this group, C20:4 ω 6 occurred in the highest proportion. The same effect of diet was observed in the group of ω 3, and C20:5 ω 3 occurred with the highest proportion. Notemently, C18:3 ω 3; C18:4 ω 3; C22:5 ω 3 and C22:6 ω 3 were below the detection limit. The current study showed that peanut powder had significant effects on nutrient composition of *E. eugeniae*. Overall fatty acids profile of the species is similar to that of most animal fats. Earthworm composition could be manipulated in order to improve nutritional value of *E. eugeniae* as feed source.

1. INTRODUCTION

Earthworms (EW) are a source of nutrients for animal feeding and fat alone accounts for 5.9 % of dry matter (DM) [1]. Fatty acids (FAs) determine, in part, nutritional value of feeds for livestock [2]. Their transfer into food from animal origin thus contributes to improvement of human nutrition [3]. Several studies have shown that fat composition of animal diet influences lipid composition of products such as meat [2,4–6]. Effects of dietary FA on eggs and chicken meat has been described by [7]. In 2008, [2] reported that polyunsaturated fatty acids (PUFAs) from feed were transferred into muscles with effects on chicken meat quality.

Earthworm is a natural feed for poultry, the interest of which in their diet is growing [8]. The dynamic of transformation and translocation of fatty acids have been studied in *Lumbricus terrestris* L. [9,10], while [11] compared profiles under different rearing temperatures.

In some aquatic invertebrates, impact of dietary FAs on FAs profile of tissue has been reported by [12]. However, no study has examined feed contribution on FAs profile of terrestrial worms, in particular *E. eugeniae*.

This work aims to study the influence of a fatty food on the fatty acid composition of *E. eugeniae*, whose breeding would provide feed supplementation to farmed poultry.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Chemical reagents and material

Free fatty acids standards were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). Hexane and toluene were of Picograde quality and provided by Promochem (Wesel, Germany). Methanol, chloroform and water were of Chromanorm quality and provided by VWR International (West Chester, Pennsylvania, USA). Sulfuric acid, 95-97 %, was from Acros Organics (Belgium, Wisconsin, USA). Potassium chloride, sodium chloride and potassium carbonate were from Merck (Darmstadt, Germany).

Individual stock solutions of each fatty acid standard in hexane were used to prepare a pool of 23 FA standards, for the calibration. Nonadecanoic acid (C19:0) was used as internal standard.

2.2. Samples

The study was conducted at the Forestry and Agricultural Research Institute (IRAF), at Libreville in Gabon. It's located between latitudes 4°S -2°3N and longitudes 8°E and 15°E [13]. The average rainfall is 2000 mm/year, with average temperature of 27°C and relative humidity

of 80% [14]. The experimental breeding was located in a half-open room with a room temperature close to outside temperature.

The breeding technique was described by [15], [16] and [17]. The reference density was 1.6 kg of worms/m² or 6000 worms/m³ of substrate [15]. In this report, 10 plastic containers of about 3 liters (23 x 19 x 8 cm) were used. All blends were made to obtain a C/N ratio of 30 [18]. The 10 plastic containers were randomly divided in two group: control and treatment.

Each substrate was pre-composted for 14 days [19]. This process eliminates toxic gases and avoid mortality of earthworms in early breeding [16]. Then ten (10) adult worms were added to each bin. The treatment group received peanut powder as feed and the control group received no feed. Feed was given 1 to 2 times a week. The quantity of feed was equal to the biomass of earthworm in each container.

The diet was chosen for its fat composition. So the worms were fed with peanut seeds (fat: 48 g. kg⁻¹ dry matter (DM) [20]. Mature peanut seeds were obtained to local farmers. The peanut seeds were sun dried and powdered to obtain particles of <1mm, before being introduced into the breeding tanks of the experimental group, at a rate of two services per week.

At the end of the 3-months rearing period, all clitellated worms were taken out from each tank and then gently rinsed and kept for one month at -18 °C before their analysis to determine the nutrient composition and fatty acid profile.

2.3. Nutrient composition

The nutrient composition of *E. eugeniae* was analyzed on dry matter to determine crude protein, ash, calcium, phosphorous, potassium, sodium and magnesium. Crude protein was determined by the micro Kjeldahl method. Minerals were determined by an Atomic Absorption Spectrophotometer method.

2.4. Fat extraction

The fat content was determined by the Folch method [21]. Two g of sample were weighed into a 50 ml centrifuge tube (Greiner BioOne, Frickenhausen, Germany) and the extraction was realized while shaking the tube upside-down overnight with 40 ml chloroform/methanol (2:1, v/v). The sample was then filtered through a paper filter in a new 50 ml centrifuge tube and 8 ml KCl 0.88% w/v were added. The tube was vortexed on a REAX Top vortex from Heidolph (Germany) and centrifuged at 3700 g for 10 min and a Minifuge T centrifuge from Heraeus (Germany). The upper aqueous phase was discarded and 10 ml of the lower phase were

poured in a test tube previously dried and weighted. The solvent was evaporated in an oven at 60 °C and the tube was weighted to determine the fat content.

2.5. Fatty acid profile

The fatty acid profile was determined by the analysis of the fatty acid methyl esters (FAME) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) according to [22]. The method consists of the saponification/methylation of the fat extracted from samples, in the presence of the internal standard nonadecanoic acid (C19:0), followed by a double hexane extraction. FAME in the extract were separated on a Focus GC gas chromatograph (Thermo Fisher Scientific) using a CP-Sil88 column for FAME (Varian, 100 m x 0.25 mm, 0.2 mm) and analyzed with an iron trap PolarisQ mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific). The GC conditions were: inlet – 250 °C, split less injection, helium as carrier gas at 1.5 ml.min⁻¹; temperature program – 55 °C for 1 min, followed by an increase of 5 °C.min⁻¹ to 180 °C, then 10 °C.min⁻¹ to 200 °C, 200 °C for 15 min, then a rise of 10 °C.min⁻¹ to 225 °C, and 225 °C for 14 min; total run time of 59.50 min; injection volume of 1 µl. The peaks were identified by comparing their mass spectrum and retention times with those of the corresponding standards. The MS conditions were: transfer line: 250 °C; ion source: 220 °C; collision energy: 35 eV, positive ionization mode. FAME were detected using selected ion monitoring (SIM) mode in five segment windows. In each chromatographic run, different ions were monitored for each fatty acid analyzed, which allowed to perform detection and quantitative analysis: m/z 74+143 for saturated fatty acids (SFA), and 79+91 for monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA). The sum of SFA, MUFA, and PUFA were individually expressed as the percentage of total fatty acids.

For quantification, an 8 point-calibration curve containing standard solutions and the internal standard was performed for each of the 23 fatty acids methyl esters determined. The response (ratio between fatty acids methyl esters and the internal standard peak areas) was plotted against standard concentrations. A linear regression was used and no "fit weighting" was applied.

2.6. Statistical analysis

The effect of the diet on nutrient composition and fatty acid profile of *E. eugeniae* were analyzed statistically using Student's t tests. Differences were considered as significant at the alpha level P<0.05. Values presented in the tables are means ± the standard error (S.E.; n=5).

3. RESULTS

3.1. Nutrient composition of *E. eugeniae*

The effects of diet on nutrient composition of *E. eugeniae* are presented in Table 4.1. Overall, peanut powder had an impact on nutrient composition. The amounts of most of the nutrient increased significantly ($P < 0.05$) with peanut powder. No significant difference was observed on sodium (Na) content of earthworm between the control and experimental group ($P > 0.05$).

Table 4.1. Effect of peanut powder on some nutrient components of *Eudrilus eugeniae*

Nutrients [g.kg⁻¹ DM]	CG	PPG
Crude protein	657.2 ^a ±0.9	706.2 ^b ±1.4
Fat content	43.1 ^a ±0.1	38.2 ^a ±0.3
Ash	105 ^a ±0.7	165 ^b ±1.0
Calcium	7.9 ^a ±0.1	6.8 ^b ±0.1
Phosphorus	9.9 ^a ±0.1	11.1 ^b ±0.1
Potassium	8.9 ^a ±0.3	11.5 ^b ±0.2
Sodium	1.4 ^a ±0.1	1.6 ^a ±0.1
Magnesium	1.5 ^a ±0.1	2.2 ^b ±0.2

Means ± S.E (Standard error).; *n* = 5. CG: Control Group, PPG: Peanut Powder Group, DM: Dry Matter
Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05)

3.2. Fatty acid composition of *E. eugeniae* fed with peanut powder

The fatty acid profile of *E. eugeniae* fed peanut powder is summarized in figure 4.1. The TFA amounted to about 4% of dry matter. Slightly more than half of the fatty acid were from SFA family, followed by PUFA (about 30% of TFA) and finally MUFA.

The results showed that the total FA (TFA) decreased numerically in the experimental group, when compared to the control group (3.8 vs 4.3%).

The proportion of saturated fatty acids (SFAs) did not differ significantly between the both groups, the amount of SFA being only higher in the control group (58.3 g fame/100g total fame) compared to the experimental group (51.9 g fame.kg⁻¹ total fame). Among the SFAs which occurred in higher proportion in both groups (control and experimental) were C14:0, C16:0 and C18:0. The amount of C18:0 increased significantly (P=0.008) in the experimental group (17.3 g fame.kg⁻¹ total fame) compared to the control group (11.0 g fame.kg⁻¹ total fame).

A decrease in the proportions of MUFAs were observed in the group that received peanut powder (13.9 vs 13.0 g fame.kg⁻¹ total fame, in the control and the experimental groups respectively). Among MUFAs, C18:1 ω 9 had a higher proportion in both groups. Significant difference in the proportion of this fame were observed (P<0.05) between the two groups.

Overall PUFA increased significantly (P<0.05) in experimental group compared to the control group (27.8 vs 35.1 g fame.100g⁻¹ total fame). The amount of ω 6 reached the highest proportion, followed by ω 3 in the PUFA family. In the group of ω 6, no significant differences were observed between the control and the experimental group. The diet induced a significant decrease of C18:2 ω 6 proportion in the experimental group for C20:4 ω 6 the decrease was not significant. A significant ω 3 proportion difference was observed between the 2 groups. Both C20:3 ω 3 and C20:5 ω 3 increased significantly in the experimental group (P<0.05). Noteworthy, C18:3 ω 3, C18:4 ω 3, C22:5 ω 3 and C22:6 ω 3 were under the detectable limit (0.1% of total fatty acids); C20:5 ω 3 presented the highest proportion in this group (P<0.05).

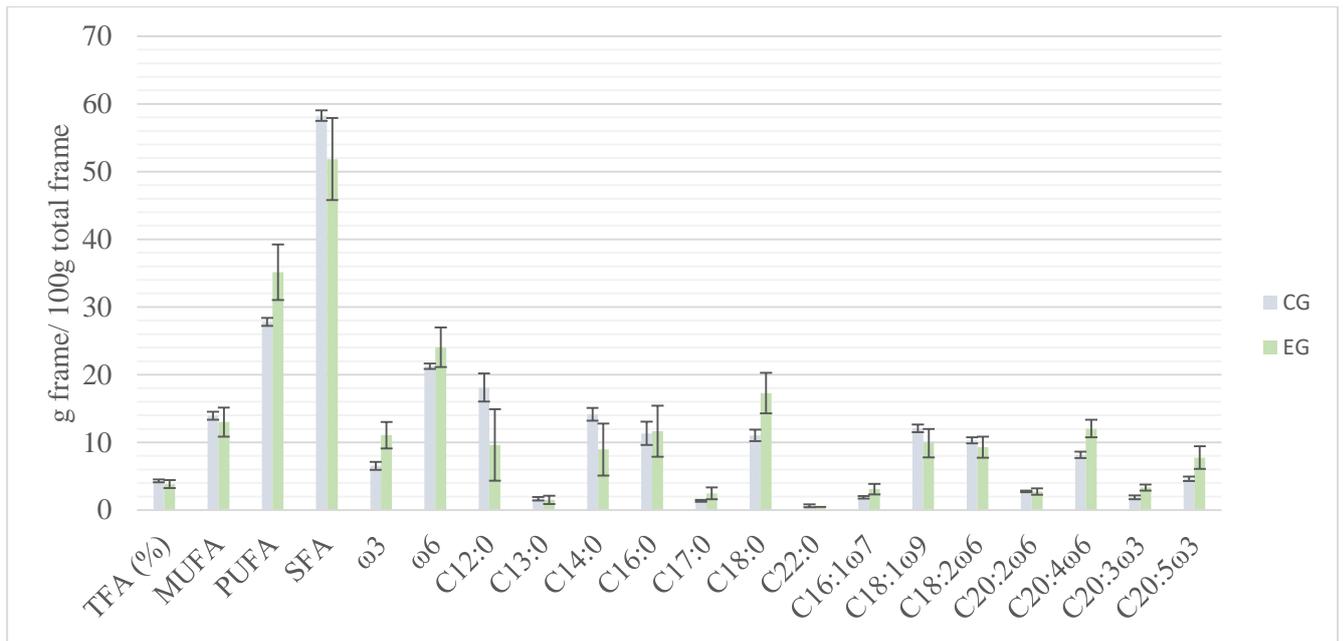


Figure 4.1. Fatty acid profile of *Eudrilus eugeniae*

Mean \pm S.E. (Standard error); $n = 5$, the bars indicate the S.E., C.G.: control group, E.G.: experimental group.

4. DISCUSSION

The nutrient composition of *E. eugeniae* and especially as a source of protein for animal feed has been reported by many studies [15,23,24]. This experiment shows that the nutrient composition of *E. eugeniae* was influenced by the diet. Overall, these results are similar to that reported by [25] and [26] who stated that feeding can significantly influence the nutrient composition of an animal. In the current study, the external source of feed was peanut powder, which is rich in fat for animal feeding [27].

The protein content of *E. eugeniae* was influenced positively by the dietary peanut powder. The presence of peanut in gut tract could explained the increase of protein content because peanut is a source of protein [28]. In the current study, the gut tract of earthworms were not emptied of feed before analysis. Our study thus suggest the ability of earthworms to convert peanut protein into earthworm tissue [29].

Minerals were also significantly influenced by the diet, excepted for sodium where no significant difference was observed ($P>0.05$). Earthworms are able to concentrate most of the macro minerals in their tissue and the variations observed are probably due to the diet. *Eudrilus eugeniae* eat different waste of soil but also ground soil [30] that contained minerals.

The TFA amounted to about 4% of dry matter, which is less than the amount of TFA reported by Sogbesan *et al* [31] with the earthworm *Hyperiodrilus euryaulos*. This difference could be due to the species of earthworm because *H. euryaulos* is larger than *E. eugeniae* [31]. This study reveal that TFA in earthworm is greater than TFA in muscle of some species of cattle [32]. *E. eugeniae* as a source of nutrients for poultry feeding contains fat that can contribute to composition of egg yolk which comprise about 31-33% of lipids [33]. In earthworm, the SFA were found in greater amount followed by PUFA. The presence of important amounts of SFA in *E. eugeniae* is interesting for poultry feeding as a source of energy [34].

Considering only SFA family, fatty acids with more than 10 carbon atoms (C12:0, C14:0, and C18:0) are largely present in *E. eugeniae* [11]. The same observation has been reported by [35] with *Eisenia fetida*. We also observed that in SFA family, C16:0 and C18:0 are abundants and their concentration increased in the experimental group, probably due to their transfer from peanut to *E. eugeniae* tissue. If considering the SFA family, palmitic acid (9.5 g.100g⁻¹ oil) and stearic acid (2.2 g.100g⁻¹ oil) are relatively abundant in peanut [36].

In PUFA family, C20:4 ω6, C20:5 ω3, C18:2 ω6 were the most abundant in *E. eugeniae*. Fatty acids of ω3 and ω6 group are called essential fatty acids because vertebrates cannot synthesize them [37] and many experiments in animal feeding aim to increase their proportion in animal

tissues for healthier human foods. The $\omega 3$ and $\omega 6$ have a unique roles in growth, immune health, and development of central nervous for vertebrates [33]. The presence of these fatty acids in earthworm is interesting for poultry feeding to enrich chicken products with fatty acids such as n-3 group [38]. In this last, the main fatty acid is (C18:3 $\omega 3$, Alpha-linolenic acid, ALA), (C20:5 $\omega 3$, Eicosapentaenoic acid, EPA), (C22:6 $\omega 3$, Docosahexaenoic acid, DHA). When compared to fish, the amount of ALA (<0.01 vs 0.3g.kg^{-1} fame) and DHA (<0.01 vs 1.3g.kg^{-1} fame) in earthworm is lower [25]. But fish contain lower level of EPA ($0.7\text{-}1.7\text{g.kg}^{-1}$ fame vs $4.6\text{-}7.7\text{g.kg}^{-1}$ fame) respectively. Globally, the unsaturated $\omega 3$ fatty acids increased significantly in earthworms with peanut powder diet ($P<0.05$). Even though, C18:3 $\omega 3$, C18:4 $\omega 3$, C22:5 $\omega 3$ and C22:6 $\omega 3$ were below the detection limit, an increase of about 50% has been observed with C20:3 $\omega 3$ and C20:5 $\omega 3$. The amounts of $\omega 3$ are low in in peanut [39] and the increase thus should be the result of synthesis of fatty acid by earthworm. Anyway, the presence C20:5 $\omega 3$, in relatively abundant quantity, in *E. eugeniae* is similar to that reported by [10]. And previously, [11] reported that *L. terrestris* can biosynthesize C20:5 $\omega 3$. This indicates that earthworms, as a rule, could be very interesting source of very long chain $\omega 3$ fatty acids for animal feeding.

The peanut powder affected numerically the amount of $\omega 6$ in *E. eugeniae*. This increase could be attributed to peanut which contains high amounts ($32\text{ g.}100\text{g}^{-1}$ fame) of $\omega 6$ [27]. Beside the fact that earthworms of this experiment were rich in $\omega 6$ could be due to the fact that many invertebrates, like earthworms, synthesize polyunsaturated fatty acid [40]. This result is similar to that reported by [10], (2007). According them, among the major fatty acids reported in *L. terrestris* are C20:4 $\omega 6$. The same fatty acid C20:4 $\omega 6$ has been influenced by the diet in addition to the fact that earthworm like sandworms are able to synthesize them [41].

5. CONCLUSION

The current study shows that peanut powder had globally significant effects on nutrient composition and fatty acids profile of *E. eugeniae*. As far as we know, this study is the first one to report effects of peanut powder on FA profiles on earthworm *E. eugeniae* and its FA profiles. It shows specific characteristics that could be influenced by its feeding environment but also as a consequence of acid biosynthesis by the earthworms. The fatty acid content of *E. eugeniae* reveal that it could substitute fish meal in animal feeding as a source of protein and essential fatty acid.

More experiment should be carried out to enrich data on effect of dietary on nutrient value and fatty acid profile of earthworm.

References

- [1] Moreki, J. - Tiroesele, B. :Termites and Earthworms as Potential Alternatives Sources of Protein for Poultry. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences*, 6, 2012; pp. 368-376. DOI:10.5455/ijavms.174.
- [2] Chilliard, Y. – Bauchart, D. – Lessire, M. – Schmidely, P. – Mourot, J. : Qualité des produits : modulation par l'alimentation des animaux de la composition en acides gras du lait et de la viande. *Productions Animales*, 21, 2008, pp. 95–106. ISSN : 0990-0632.
- [3] Mourot, J. : Modifications des pratiques d'élevage : conséquences pour la viande de porcs et autres monogastriques. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 45, 2010, pp. 320 – 326. DOI:10.1016/J.CND.2010.06.004.
- [4] Colin-Schoellen, O. – Jurjanz, S. – Gardeur, J. N. – Laurent, F. : Effet de la nature de l'aliment concentré sur les performances zootechniques de vaches laitières recevant une ration complète. *Annales de Zootechnie*, 44, 1995pp. 359–372. DOI:10.1016/0003-424X(96)89760-6.
- [5] Motard-Belanger, A. : Étude de l'impact des acides gras trans de source naturelle sur les lipides plasmatiques. [Master of science thesis] Laval : University of LAVAL, 2008.
- [6] Dang Van, Q. C. – Focant, M. – Froidmont, E. – Larondelle, Y. : Influence de la structure de la ration et de la supplémentation lipidique sur la qualité nutritionnelle de la matière grasse du lait. *Carrefour Productions Animales*, 2013, pp. 98–104.
- [7] Demarne, Y. – Merat, P. – Pihet, A. – Demarne, Y. – Merat, P. Pihet, A : Composition des lipides de l'œuf chez des poules Leghorn normales et naines. *Génétique sélection évolution*, INRA Editions, 16, 1984, pp. 211-220. fihal00893604.
- [8] Byambas, P. – Lemtiri, A. – Hornick, J. L. – Ndong, T. B. – Francis, F. : Rôles et caractéristiques morphologiques du ver de terre *Eudrilus eugeniae* (synthèse bibliographique). *Biotechnology Agronomy Society and Environment*, 21, 2017, pp. 1– 11. ISSN: 1370-6233.
- [9] Sampedro, L. – Jeannotte, R. – Whalen, J. K. : Trophic transfer of fatty acids from gut microbiota to the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2006; pp. 2188–2198. DOI:10.1016/j.soilbio.2006.02.001.
- [10] Sampedro, L. – Whalen, J. K. : Changes in the fatty acid profiles through the digestive tract of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. *Applied Soil Ecology*, 35, 2007; pp. 226– 236. DOI:10.1016/j.apsoil.2006.04.007.
- [11] Petersen, S. O. – Holmstrup, M. : Temperature effects on lipid composition of the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Eisenia nordenskiöldi*. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 2000, pp. 1787–1791. DOI:10.1016/S0038-0717(00)00059-6.
- [12] Sushchik, N. N. – Kalacheva, G. S. – Zhila, N. O. – Gladyshev, M. I. – Volova, T. G. : A temperature dependence of the intra- and extracellular fatty-acid composition of green Algae and Cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50, 2003, pp. 374–80. DOI:10.1023/A:1023830405898.
- [13] Byambas, P. – Lemtiri, A. – Francis, F. – Ndong, T. B. – Hornick, J. L. : Effect of cow dung and manure of laying hens on growth and reproduction of *Eudrilus eugeniae*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 19, 2017, pp. 921–927. DOI:10.17957/IJAB/15.0277.
- [14] Emane Mba, S. - Edou-Minko, A. : Etude des propriétés physiques des sols de savane du plateau manganésifère Okouma (Gabon) en zone équatoriale. *Revue du CAMES*, 02, 2003, pp.25–43.
- [15] Francis, F. – Haubruge, E. – Thang, P. T. – Kinh, L. V. – Lebailly, P. – Gaspar, C. : Technique de Lombriculture au Sud Vietnam. *Biotechnology Agronomy Society and*

- Environment, 07, 2003, pp.171–175. ISSN: 1370-6233.
- [16] Coulibaly, S. S. - Zoro Bi, I. A.: Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *European Journal of Soil Biology*, 46, 2010; pp. 225–229. DOI:10.1016/j.ejsobi.2010.03.004.
- [17] Tahir, T. A.- Hamid, F. S.: Vermicomposting of two types of coconut wastes employing *Eudrilus eugeniae*: a comparative study. *International Journal Of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 1, 2012 ; pp. 1-7. DOI :10.1186/2251-7715-1-7.
- [18] Bruyeer, R.- Simus, P. : Le calcul du rapport carbone azote. *Guides composteurs*, <http://www.guidescomposteurs.com/article.php?RefArticle=38>.
- [19] Nayak, A. K.- Varma, V. S. S.- Kalamdh, A. : Effects of Various C/N Ratios During Vermicomposting of Sewage Sludge Using *Eisenia fetida*. *Journal of Environmental Science and Technology*, 6, 2013, pp.63–78. DOI:10.3923/jest.2013.63.78.
- [20] Kamatali, A.- Teller, E.- Vanbelle, M.- Collignon, G.- Foulon, M. : “In Situ Degradability of Organic Matter, Crude Protein and Cell Wall of Various Tree Forages. *Animal Production*, 55, 1992, pp. 29–34. DOI:<http://dx.doi.org/10.1017/S0003356100037235>.
- [21] Folch, J.- Lees, M.- Sloane Stanley, G.: A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of Biology and Chemistry*, 226, 1957, pp.497–509. ISSN : 1083-351X.
- [22] Douny, C.- Khoury, R. E.- Delmelle, J.- Brose, F.- Degand, G.- Moula, N. Farnir, F. - Clinquart, A. - Maghuin-Rogister, G. - Scippo, M. L.: Effect of storage and cooking on the fatty acid profile of omega-3 enriched eggs and pork meat marketed in Belgium. *Food Science and Nutrition*, 3, 2015, pp.140–52. DOI:10.1002/fsn3.197.
- [23] Sogbesan, O. A.- Madu, C. T. : Evaluation of Earthworm Meal as Protein Feedstuff in Diets for *Heterobranchus longifilis Valenciennes*, 1840 Fingerlings Under Laboratory Condition. *Research Journal of Environmental Sciences*, 2, 2008, pp. 23–31. eISSN : 2152-8238.
- [24] Moreki, J.- Tiroesele, B.: Termites and Earthworms As Potential Alternative Sources of Protein for Poultry. *International Journal for Agro Veterinary and Medical Sciences*, 6, 2012, pp. 368-376. DOI:10.5455/ijavms.174.
- [25] Bourre, J. M. : Enrichissement de l'alimentation des animaux avec les acides gras ω -3: Impact sur la valeur nutritionnelle de leurs produits pour l'homme. *Medecine/Sciences*, 21, 2005, pp.773–779. ISSN : 0767-0974.
- [26] Dunshea, F. R. - D'Souza, D. N.- Pethick, D. W.- Harper, G. S.- Warner, R. D. : Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, 71, 2005, pp. 8–38. DOI:10.1016/j.meatsci.2005.05.001.
- [27] Özcan, M.- Seven, S. : Physical and chemical analysis and fatty acid composition of peanut, peanut oil and peanut butter from ÇOM and NC-7 cultivars. *Grasas y Aceites*, 54, 2003, pp. 12–8. DOI:10.3989/gya.2003.v54.i1.270.
- [28] Yu, J.- Ahmedna, M.- Goktepe, I. : Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food Chemistry*, 103, 2007, pp. 121–129. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.08.012.
- [29] Edwards, A.- Little, D.- Yakoupitiyage, A. :“A Comparison of Traditional and Modified Inland Artisanal Aquaculture Systems.” *Aquaculture Research*, 28, 1997, pp. 777–88. DOI:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.00942.x>.
- [30] Edwards, C. A.: Production of Feed Protein From Animal Waste by Earthworms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 310, 1985, pp.299–307. DOI:10.1098/rstb.1985.0120.
- [31] Sogbesan, O. A.- Ugwumba, A. A. A.- Madu, C. T. : Productivity potentials and nutritional values of semi-arid zone earthworm (*Hyperiodrilus euryaulos*; Clausen, 1967)

- cultured in organic wastes as fish meal supplement. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *10*, 2007, pp. 2992–2997. ISSN: 18125735.
- [32] Luciano, G.- Moloney, A. P.- Priolo, A.- Röhrle, F. T.- Vasta, V.- Biondi, L. López-Andrés, P. - Grasso, S. - Monahan, F. J.: Vitamin E and polyunsaturated fatty acids in bovine muscle and the oxidative stability of beef from cattle receiving grass or concentrate-based rations. *Journal of Animal Science*, *89*, 2011, pp. 3759–3768. DOI:10.2527/jas.2010-3795.
- [33] Cherian, G. : Nutrition and metabolism in poultry: Role of lipids in early diet. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *6*, 2015. DOI:10.1186/s40104-015-0029-9.
- [34] Milićević, D. - Vranić, D. – Mašić, Z. – Parunović, N. – Trbović, D. - Nedeljković-Trailović, J. - Petrović, Z.: The role of total fats, saturated/unsaturated fatty acids and cholesterol content in chicken meat as cardiovascular risk factors. *Lipids in Health and Disease*, *13*, 2014, pp. 13-42. DOI:10.1186/1476-511X-13-42.
- [35] Rouabah-Sadaoui, L. – Marcel, R. : Les Glucides Et Les Lipides Du Clitellum Et De L'Albumen Du Cocon Chez *Eisenia Fetida* Sav (Annelide Oligochete). *Reproduction Nutrition Development*, *35*, 1995, pp.537–548. ISSN: 0926-5287
- [36] Lalas, S. – Tsaknis, J. : Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety “Periyakulam 1.” *Journal of Food Composition and Analysis*, *15*, 2002, pp. 65–77. DOI:10.1006/jfca.2001.1042.
- [37] Di Pasquale, M. G. : The essentials of essential fatty acids. *Journal of Dietary Supplements*, *6*, 2009, pp. 143–161. DOI:10.1080/19390210902861841.
- [38] Mirshekar, R. – Boldaji, F. – Dastar, B. – Yamchi, A. – Pashaei, S. : Longer consumption of flaxseed oil enhances n-3 fatty acid content of chicken meat and expression of FADS2 gene. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*, 2015, pp.810–819. DOI:10.1002/ejlt.201300500.
- [39] Shin, E. C. – Hwang, C. E. – Lee, B. W. – Kim, H. T. – Ko, J. N. M. – Baek, I. Y. - Lee, Y. B. - Choi, J. S. - Cho, E. J. - Seo, W. T. - Cho, K. M.: Chemometric approach to fatty acid profiles in soybean cultivars by principal component analysis (PCA). *Preventive Nutrition and Food Science*, *17*, 2012, pp. 184–191. DOI:10.3746/pnf.2012.17.3.184.
- [40] Kabeya, N. – Fonseca, M. M. – Ferrier, D. E. K. – Navarro, J. C. – Bay, L. K. – Francis, D. S. - Tocher, D. R. - Castro, L. F. C. - Monroig, Ó.: Genes for de novo biosynthesis of omega-3 polyunsaturated fatty acids are widespread in animals. *Science Advances*, *4*, 2018, pp. 1–8. DOI:10.1126/sciadv.aar6849.
- [41] Limsuwatth, M. – Sooksai, S. – Chunhabund, S. – Noitung, S. – Ngamrojana, N. – Petsom, A. : Fatty Acid Profile and Lipid Composition of Farm-raised and Wild-caught Sandworms, *Perinereis nuntia*, the Diet for Marine Shrimp Broodstock. *Asian Journal of Animal Sciences*, *6*, 2012, pp. 65–75. DOI:10.3923/ajas.2012.65.75.

ARTICLE 5 : PERSPECTIVES ZOOTECHNIQUES ET ÉCONOMIQUES LIÉES À L'UTILISATION DU VER DE TERRE *EUDRILUS EUGENIAE* DANS L'AVICULTURE AU GABON.

Adapté de la « communication » acceptée pour publication dans la revue du RAMES,
« Science de la vie, de la terre et agronomie ».

Patrick Byambas, Nassim Moula, Frédéric Francis, Jean-Luc Hornick,

Résumé

Eudrilus eugeniae est une source de nutriments pour les omnivores et notamment les volailles. Cette étude a consisté à introduire des lombrics dans l'alimentation des poussins et à en mesurer les effets sur les performances zootechniques et économiques. L'expérience a duré 28 jours et a été réalisée avec 20 animaux, de souche Hubbard, divisés en 2 lots homogènes. Le groupe témoin a reçu un aliment conventionnel et l'autre a reçu un aliment iso-azoté contenant 3% de MS de ver de terre *E. eugeniae*.

Les résultats montrent que la croissance des animaux et le gain moyen quotidien des deux groupes étaient similaires ($P > 0,05$). La différence observée entre les indices de consommation des deux groupes n'a pas été significative ($P > 0,05$) mais la quantité cumulée d'aliment consommé par les animaux du lot expérimental a été significativement inférieure ($P < 0,05$) à la quantité consommée par le lot témoin. Le poids final du lot expérimental ($1118 \pm 20,1$ g) a été supérieur de 9 g de celui du lot témoin mais non significativement ($P > 0,05$). Les 10 volailles du lot témoin ont consommé plus d'aliment (1854 g), pour une valeur de 1,22 € (806 fcfa) contre 1,19 € (783 fcfa) pour le lot expérimental (1822 g). Le dispositif de lombriculture est relativement peu coûteux, le prix de revient du kg de ver de terre a été de 1,4 € (938 fcfa) pour un résultat net annuel estimé à 2102 € (1 378 985 fcfa). Ces résultats suggèrent que le ver de terre peut être un bon complément nutritif pour l'alimentation des poulets et peut générer des ressources financières intéressantes pour l'éleveur.

Abstract

Animal production and economic prospects on the use of earthworm *Eudrilus eugeniae* in poultry farming in Gabon

Eudrilus eugeniae is a source of nutrients for omnivores, especially poultry. This study aimed to introduce this earthworm into diet of chicken and to measure the effects on both animal and economic performances. The experiment lasted for 28 days and was performed with 20 chicks, Hubbard strain, divided into 2 homogeneous batches. The control group received a conventional feed and the other received an iso-N feed containing 3% of DM as earthworms. The results show that the animal growth and the average daily gain in the two groups were similar ($P > 0.05$). The difference of feed conversion ratio between the two groups was not significant ($P > 0.05$) but the feed intake of the experimental group was significantly ($P < 0.05$) lower than that of the control group. The final weight of the experimental batch (1118 ± 20.1 g) was higher at about 9 g than that of the control group but the difference was not significant ($P > 0.05$). The animals of the control group consumed on average more feed (1854 g), for a value of 1.22 € (806 fcfa) versus 1.19 € (783 fcfa) for the experimental group (1822 g). The vermiculture device is relatively inexpensive, the cost price per kg of earthworm was 1.4 € (938 fcfa) for an estimated annual income of 2102 € (1 378 985 fcfa). These results suggest that *E. eugeniae* can be a good feed supplement for chicken and can provide valuable financial resources for farmer.

1. INTRODUCTION

Les vers de terre représentent jusqu'à 70 % de la biomasse du sol (39). Ils sont présents dans la majorité des écosystèmes terrestres, principalement dans les régions tempérées et tropicales. L'importance des lombrics a beaucoup évolué grâce à leurs multiples usages dans la gestion des déchets organiques, la fertilisation des terres agricoles (18) et l'élevage (7, 37).

Le rôle économique des lombrics a été démontré aux Philippines et en Inde où ils permettent de réduire les charges d'exploitation (35) et procurent des revenus supplémentaires pour les exploitants (2). Au Canada, la lombriculture entre dans la filière de production d'appâts pour la pêche sportive (11, 21). En Asie, il est utilisé aussi pour ses vertus médicinales (16). Son rôle environnemental reste important à travers la gestion des déchets organiques par le vermicompostage (37, 38). Enfin, dans le cadre de la fertilisation raisonnée des sols, son intérêt agronomique est devenu manifeste (19).

Selon Rémond (31), près de 15 % de la population mondiale souffre chroniquement de la faim et un milliard d'êtres humains reçoivent des apports protéiques inadéquats. Dans le contexte de demande alimentaire croissante, il existe un débat sur l'opportunité de produire pour l'alimentation animale des aliments concurrentiels vis-à-vis de celle de l'homme, compte tenu d'un rapport végétal/animal de transformation protéique de 2,5 à 10 (10) et d'une compétition alimentaire homme-animal qui ne fait que croître (26). Les ressources alimentaires non conventionnelles (insectes, vers de terre, déjections animales, etc.) sont ainsi des solutions potentielles aux besoins protéiques des animaux.

Différentes études ont rapporté l'intérêt zootechnique du ver de terre dans l'alimentation animale (22, 24) particulièrement comme source de protéine pour l'aviculture mais aussi pour son avantage économique. Au sud Vietnam, (15) on produit mensuellement 6 kg de vers de terre par m², pour un coût de 27,5 €/m³ (15). En Inde, une unité de lombricompostage de 1500 m² employant 6 ouvriers peut produire chaque année 70 tonnes de ver de terre (28).

Le ver de terre a été utilisé en production piscicole en Malaisie (1), au Nigéria (33) au Royaume Uni (29) et en Thaïlande (32). Au Brésil, il a été utilisé dans l'alimentation porcine (9).

Une étude a rapporté que la composition en acides aminés des protéines de vers de terre est similaire à 70% à celle du poisson (34), ce qui en fait un substitut remarquable en alimentation des monogastriques (23). Ainsi, des essais de substitution de la farine de poisson par celle du ver de terre dans la ration des volailles ont été réalisés au Cameroun (3), au Vietnam (15), au Nigeria (34), au Venezuela (25), en Indonésie (28) et au Botswana (5) sans effet négatif sur le gain de poids des animaux.

Hormis son apport en protéines, le ver de terre est également une source d'acides gras (soit environ 1% de la matière sèche des tissus). Selon l'espèce de ver de terre, la teneur en minéraux dans la matière sèche peut varier de 1 à 7 mg/g pour le calcium et de 1 à 3 mg/g pour le fer (27).

A ce jour, seulement une seule étude (3) a été réalisée sur l'incorporation de ver de terre dans l'alimentation de la volaille en zone équatoriale et aucune au Gabon où cependant le ver de terre *Eudrilus eugeniae* (Kinberg, 1867) a été identifié par James et Divina (17).

Le Gabon importe chaque année pour un peu plus de 610 millions d'euros (400 milliards de FCFA) de produits alimentaires et la viande de volaille représentent plus de 50% des viandes importées. Dans ce pays, l'agriculture ne représente pas plus de 5% du PIB et le secteur élevage y est quasi inexistant (14). Pour améliorer la rentabilité de la production avicole dont l'alimentation représente près de 70% des coûts de production (17), le recours à des sources alternatives de protéine à moindre coût pourrait être un élément de solution pour le développement de l'aviculture gabonaise.

Cette étude préliminaire se propose de (1) tester l'impact de l'incorporation du ver de terre dans la ration alimentaire sur les paramètres de croissance et la consommation alimentaire du poulet de chair de souche « Hubbard » et d'en (2) estimer le coût économique au Gabon.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Milieu d'étude

L'étude a été réalisée à Libreville au Gabon qui est situé en pleine forêt équatoriale avec une latitude de 4°S - 2°3N et une longitude de 8°E - 15°E. La moyenne des pluies est de 2000 mm/an pour une température moyenne de 27°C et une humidité relative de 80% (13, 20). L'élevage expérimental a été installé dans une ferme partenaire de l'Institut de Recherches Agronomiques et Forestières (IRAF).

2.2. Vermiculture

Les vers de terre utilisés étaient issus d'un précédent élevage d'*E. eugeniae* qui a été réalisé selon la technique de production décrite par Francis et al. (15), Coulibaly et Zoro Bi (8) et Tahir et Hamid (36). La lombriculture a été réalisée dans dix-huit bacs en plastique de 9,8 litres (L: 33 cm, l: 23 cm, H: 13 cm) soit 176,4 dm³ pour les 18 bacs du dispositif. Le substrat était composé d'un mélange de différentes matières organiques disponibles localement et gratuites (9% de bouse de vaches, 29% de terreau, 24% de fibres de noix de coco, 24% de sciure de bois, et 9% de pré compost). Le mélange a été fait de manière à obtenir un rapport carbone (C) /azote (N) = 30 (4). Les parois des bacs ont été peintes en noir pour empêcher le passage de la lumière et maintenir les vers de terre dans l'obscurité. Le substrat a été arrosé, régulièrement, pour maintenir un niveau d'humidité compris entre 70 et 85% (11). L'humidité dans le substrat a été mesurée avec un humidimètre de sol. L'entretien de la lombriculture se faisait tous les 3 jours et un aliment (arachide broyée) était apporté aux vers de terre durant cette opération. La quantité d'aliment était équivalente à la biomasse de ver de terre dans chaque bac. Pour mesurer la biomasse des vers de terre, ils ont été régulièrement et délicatement sortis des bacs et pesés avant de les y replacer. Seuls les vers de terre clitellés ont été sélectionnés pour cette expérimentation. Le poids moyen des vers de terre utilisés a été d'environ 2,3 g. Les vers ont été collectés et nettoyés avec du papier essuie tout avant d'être pesés à l'aide d'une balance digitale. Les lombrics ont été prélevés du bac d'élevage puis rincés dans de l'eau à température ambiante pendant 15 minutes, pour permettre la vidange du tractus digestif (36), avant d'être utilisés pour l'alimentation des poussins.

Une évaluation du coût de production d'1 kg de vers de terre a été réalisée à partir des charges : le prix d'achat des 18 bacs en plastiques, le prix d'achat de la bouse de vache, du terreau, des fibres de noix de coco, de la sciure de bois, et du pré compost. Tous ces éléments sont disponibles gratuitement dans la zone d'étude. Seule la main d'œuvre pour le ramassage des ingrédients, a été rémunérée, ainsi que la main d'œuvre pour le suivi de la vermiculture. Les opérations d'entretien de l'élevage des vers de terre nécessitaient 0,37 UMO (Unité de Main d'œuvre) par semaine. Les coûts des différents intrants sont présentés dans le tableau 5.5.

2.3. Animaux et dispositif expérimental

L'élevage a été réalisé au sol sur une litière de copeau de bois. Un lot de 20 poussins mâles de souche « Hubbard » d'un jour a été obtenu chez un fournisseur local de poussins d'un jour d'âge. Ils ont été répartis aléatoirement en 2 lots (témoin et traitement) de 10 sujets, placés dans des compartiments individuels séparés par du grillage. La composition du ver de terre rapportée par Sogbesan et al. (30) est présentée dans le Tableau 5.2. L'énergie apportée est exprimée en Energie Métabolisable à bilan azoté nul (EMan). Le calcul a été fait en partant de l'Energie brute de la MS du ver de terre (4701 Kcal/kg), avec un coefficient de digestibilité (CD) de 85% et un coefficient de métabolisabilité de l'énergie digestible (mED) de 75%, sur la base de la perte, à l'entretien, du quart de l'énergie brute de la protéine sous forme d'acide urique. Le calcul stœchiométrique a été le suivant : $Y = \text{acide urique produit (g/100g de protéine)} = N \text{ protéique (g/100g protéine)} / \text{proportion d'azote dans l'acide urique} = 16/0,33 = 48,5$. Proportion d'énergie emportée par l'acide urique (par 100g protéine) = $Y \times EB_{\text{ac urique (kcal/g)}} / EB_{\text{protéine (kcal/100g)}} = 25\%$. Les deux lots ont reçu ad libitum, les 7 premiers jours, un aliment standard pour poussins de chair, vendu sur le marché local, puis l'aliment a été rationné et différencié les jours suivants. La composition de l'aliment témoin est présentée telle qu'elle est indiquée sur l'étiquette du fabricant local (Tableau 5.3). Le coût de l'aliment témoin sur le marché local était de 0,66 €/kg (435 fcfa/kg de matière fraîche). Pour les besoins de notre expérience le fabricant a élaboré un aliment spécial suivant notre formulation. La fabrication de l'aliment a été élaborée pour répondre, principalement aux besoins énergétiques et protéiques du poulet de chair Hubbard, présentés dans le tableau 5.1 (16). Le lot expérimental a reçu l'aliment expérimental après le 7^{ème} jour d'élevage. La formulation de l'aliment expérimental a été réalisée avec le SOLVER d'Excel (Tableau 5.4). La proportion de tourteau de palmiste a été réduite de 6 à 1,2 % dans l'aliment distribué d'une part, et d'autre part, la proportion de MS de ver de terre a été apportée à raison de 3 % de la ration, compte tenu de la différence de teneur en protéine des deux ingrédients.

Tableau 5.1 : Besoins nutritionnels du poulet Hubbard en climat chaud (16)

Désignation	valeurs
Période (jours)	0 - 31
Energie métabolisable (Kcal/kg)	2900 - 3100
Protéines brutes (%)	21 - 23
Matières grasses totales (%)	4 - 6

Tableau 5.2 : Composition chimique (g/100g de MS) et énergétique (kJ/100g de MS) du ver de terre *Eudrilus eugeniae* d'après Sogbesan & Ugwamba, (32)

Apports nutritionnels (par rapport à la MS)	Valeurs
Protéines brutes	65,7
Lipides	4,3
Cellulose brute	1,9
Cendres	10,5
Extrait non azoté	17,5
Energie métabolisable AN	2997
Sodium	0,4
Calcium	0,5
Potassium	0,6
Phosphore	0,9

Tableau 5.3 : Composition, coût et apports nutritionnels de l'aliment fourni par le vendeur local

Ingrédients (par rapport à la MS)	Valeurs
Maïs %	60
Tourteau d'arachide %	23
Remoulage de blé %	7,8
Tourteau de palmiste %	6
Craie alimentaire %	2,5
L-Lysine HCl %	0,4
DL-Méthionine (98%) %	0,2
Coût du Kg de cet aliment (FCFA)	435

Apports nutritionnels	Valeurs
Protéines brutes %	19,0
Energie métabolisable kcal/kg	2893
Calcium %	1,2
Phosphore %	0,5
Lysine %	0,9
Méthionine %	0,4
EM (kcal/kg) / PB (g/kg)	15,2

Tableau 5.4 : Composition, coût et apports nutritionnels de l'aliment expérimental

Ingrédients (MS)	Valeurs
Maïs %	60
Ver de terre %	3
Tourteau d'arachide %	23
Remoulage de blé %	9,6
Tourteau de palmiste %	1,2
Craie alimentaire %	3
L-Lysine HCl %	0,1
DL-Méthionine (98%) %	0,2
Coût du Kg de cet aliment (FCFA)	430

Apports nutritionnels	Valeurs
Protéines brutes %	20
Energie métabolisable Kcal/kg	2985
Calcium %	1,3
Phosphore %	0,3
Lysine %	0,8
Méthionine %	0,5
EM (Kcal/kg) / PB (g/kg)	14,9

Tableau 5.5 : Charges liées au dispositif de production des vers de terre

Désignation	Quantité	Unité	PU fcfa	Total fcfa	Total euro
Bac plastique (investissement amorti en 12 mois)	18	unité	1 500	27 000	41,16
Fibre de noix de coco (gratuit)	0,3	kg	0	0	0,00
Bouse de vaches (gratuite)	18	kg	0	0	0,00
Terreau (consommable)	10	kg	120	1 200	1,83
Morceau de sac de joute (gratuit)	18	unité	0	0	0,00
Main d'œuvre entretien (1 hr/semaine)	9	UMO	325,00	2 925	4,46
Main d'œuvre collecte des intrants (3 hr)	3	UMO	325,00	975	1,49
Dépenses totales sur 2 mois				32 100	48,94

2.4. Collecte des données

Les poussins, les vers de terre et l'aliment ont été pesés avec une balance digitale à $\pm 0,01$ g de précision. Les poids des animaux ont été obtenus par pesée hebdomadaire entre le 1^{er} et le 28^{ème} jour d'âge. La consommation individuelle d'aliment a été mesurée en faisant la différence entre les quantités servies et les restes d'aliment collectés dans les mangeoires avant d'assurer un nouveau service. Ainsi, le Gain Quotidien Moyen (GQM) a été obtenu en divisant le gain de poids sur la période d'élevage par 28 jours. L'Indice de Consommation (IC) a été calculé en faisant le rapport entre la quantité d'aliment consommée et le gain de poids obtenu sur la période d'élevage.

2.5. Analyse statistique

Après avoir vérifié la normalité des données, les données ont été analysées avec le logiciel statistique SAS suivant un modèle mixte, incluant les effets du temps (âge) du régime (témoin et expérimental) et leur interaction (régime*temps) sur les paramètres. Une structure de covariance autorégressive de type 1 a été utilisée.

Les gains de poids totaux, le GQM et l'IC à partir de J8 ont été analysés selon un modèle linéaire général incluant l'effet du régime, du temps et leur interaction.

Les différences ont été considérées comme significatives au seuil de $P < 0,05$.

3. RÉSULTATS

3.1. Les paramètres de croissance

Les performances zootechniques obtenues sont présentées dans le tableau 5.6. Elles ont été mises en parallèle avec les normes de références pour les poulets Hubbard. Les poids des volailles du groupe expérimental ($1118 \pm 20,1$ g), à 28 jours, ont été supérieurs à ceux du groupe témoins ($1109 \pm 21,5$ g) mais ils n'ont pas été significativement différents ($P > 0,05$).

La même tendance a été observée avec l'indice de consommation et le GQM qui n'ont montré aucune différence significative entre les deux lots de poulets ($P > 0,05$). Au 28^{ème} jour d'âge, la consommation cumulée d'aliment pour le groupe de control ($1854 \pm 0,9$ g) a été significativement supérieur ($P < 0,05$) à celle du groupe expérimental ($1822 \pm 0,5$ g).

Tableau 5.6. Paramètres de croissance des poulets recevant un aliment standard ou un aliment contenant 3% de MS d'*Eudrilus. eugeniae*

	Contrôle	Traitement
Poids initial (g)	32 ± 3,04 ^a	33 ± 3,1 ^a
Poids final (g)	1109 ± 21,5 ^a	1118 ± 20,1 ^a
GQM (g/j)	40 ± 7,6 ^a	40 ± 7,7 ^a
Consommation d'aliment (g)	1854 ± 2,5 ^b	1822 ± 1,6 ^a
Indice de consommation	1,72 ± 0,8 ^a	1,68 ± 0,6 ^a
Indice de conversion énergétique⁽¹⁾	4,9	4,7
Indice de conversion protéique⁽²⁾	0,3	0,3

⁽¹⁾Efficacité énergétique = EM ingérée (kcal/j) / GMQ (g/j) ; ⁽²⁾ Efficacité protéique = Protéine ingérée (g/j) / GMQ (g/j) (25)

3.2. Paramètres économiques

Les différents éléments de calcul du coût de production des vers de terre sur 2 mois sont présentés dans le Tableau 5.7. La culture n'étant qu'au stade embryonnaire au Gabon, le prix de vente utilisé est celui appliqué en Europe (15), afin d'estimer ce que la vente des vers de terre pourrait générer financièrement. Toutefois, une simulation basée sur un prix de vente théorique du kg de poissons (3500 fcfa soit 5,3 €) au Gabon est présentée en annexe. Il permet, pour mémoire, d'avoir une estimation du revenu, si le kg de ver de terre était inférieur à celui du poisson, soit 3000 fcfa / kg de ver de terre (4,6 €/ kg de ver de terre).

Avec le dispositif expérimental, il était possible de quasiment doubler le poids des vers en 2 mois d'élevage; tandis que les charges liées à la production restent stables et se composent seulement du coût de la main d'œuvre nécessaire pour le suivi de la vermiculture. Ainsi une estimation de la production annuelle des vers de terre est présentée dans le tableau 5.6. Annuellement, le dispositif montre qu'il est possible de produire jusqu'à 49,1 kg de vers de terre pour un prix de revient de 1,4 € (938 fcfa). Le coût de la main d'œuvre représentait 38% du coût de production alors que les matières premières et la structure de lombriculture représentaient, respectivement 2 et 55% des charges. Ces résultats, montrent aussi que le revenu généré n'est pas négligeable suivant le prix de vente. Il est de 154 € et peut fortement augmenter suivant le prix appliqué. Les détails de tous les calculs sont donnés en annexe de ce document.

Sur la période de 28 jours, une économie d'aliment a pu être réalisée avec les 10 sujets du lot expérimental. Le coût de l'aliment qui serait économisé sur une année avec une bande de 1500 volailles sur la phase de démarrage est présenté dans le Tableau 5.8. En général au Gabon, la taille moyenne d'une bande de poulets en élevage est de 1500 sujets et la distribution, de l'aliment démarrage a lieu pendant 28 jours.

Tableau 5.7 : Evaluation économique du modèle de lombriculture potentiellement pratiqué, au Gabon

Matières premières				
	Quantité (kg/an)	Prix (Fcfā/kg)	Coût total (Fcfā/an)	Coût total (Euro/an)
Bouse de vaches	18	0	0	0
Fibres de noix de coco	0,3	0	0	0
Terreau	10	120	1 200	2
Sciure de bois	1,8	0	0	0
Total			1200	1,8
Main d'oeuvre				
Temps de travail en heure	Heure sur l'année	Prix (Fcfā/heure)	Coût total (Fcfā/an)	Coût total (Euro/an)
	55	325	17 875	27,3
Production des vers de terre				
Coût de production	Quantité (kg/an)	Coût de revient (Fcfā/kg)		Coût de revient (Euro/kg)
	49,1	938		1,4
Chiffre d'affaires	Quantité (kg/an)	Prix de vente (Fcfā/kg)*	Recette total (Fcfā/an)	Recette total (Euro/an)
Pour prix de vente 1	49,1	29 000	1 423 900	2 171
Resultat net			Résultat (Fcfā/an)	Résultat (Euro/an)
			1 378 985	2 102

Légende : *: Le prix affiché est celui utilisé en Europe (15).

Tableau 5.8 : Economie d'aliment réalisée avec l'introduction du ver de terre *E. eugeniae* dans l'alimentation de poulets au Gabon

	Lot témoin (sans ver de terre)	Lot expérimental (avec ver de terre)	Economie réalisée
Consommation d'aliment (g) pour 10 poulets en 28 jours	1 854	1 822	32
Prix de l'aliment (fcfa/kg)	435	430	
Coût de l'aliment	806 fcfa (1,22 eur)	783 fcfa (1,19 eur)	23 fcfa (0,03 eur)
Economie d'aliment réalisée sur 1500 poulets			
Economie réalisée sur 28 jours d'élevage			4800 g
Economie réalisée sur 1 an d'élevage			62 571 g
Economie financière annuelle			26 905 fcfa (41,01 eur)

4. DISCUSSION

La production de vers de terre pour l'alimentation des volailles est dans sa phase embryonnaire au Gabon et cette expérience est pionnière dans ce domaine. Il est donc difficile de tirer des conclusions définitives sur les résultats présentement obtenus. Les paramètres de croissance présentés dans le tableau 5.6 montrent que le poids des volailles du lot expérimental était similaire à celui du groupe de control. La différence entre les poids finaux a été de 9 g ($P>0,05$). Ceci suggère que le régime expérimental n'a pas influencé significativement la croissance des animaux. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Agbédé et al. (3) avec la même souche de poulets. Il faut noter que l'apport énergétique et protéique de l'aliment expérimental était légèrement supérieur à celui de l'aliment témoin. D'autres travaux avec un nombre plus important de volailles devraient permettre de mieux affiner les chiffres. Le ver de terre est ainsi, l'un des facteurs qui pourraient influencer le développement musculaire des poulets grâce à son taux très élevé (60%) de protéines (30). L'apport du ver de terre augmente le taux théorique de méthionine qui passe de 0,43 à 0,48 % alors que celui de la lysine baisse de 0,99 à 0,87 %. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Morón-Fuenmayor et al. (25) qui avaient observé une influence de l'apport de lombric sur le dépôt de la masse musculaire chez le poulet. L'absence d'effet statistiquement significatif pourrait s'expliquer par le faible taux d'incorporation du lombric dans la ration de la volaille. Agbede et al. (3), suggéraient des taux d'incorporation compris entre 6 et 14 % pour espérer un effet significatif sur la croissance du poulet.

Les gains de poids observés dans les deux lots n'ont pas été significativement différents ($P>0,05$) car le même GQM (40 g) a été observé dans les deux groupes de volailles. Les aliments ont donc eu le même effet sur la croissance quotidienne des animaux malgré l'apport de ver de terre. La même tendance a été observée par Agbede et al. (3), mais la différence fut plus marquée dans les résultats obtenus par Morón-Fuenmayor et al. (25) avec un taux d'incorporation des vers de terre supérieur à celui utilisé par Agbede et al. (3), sachant que l'augmentation du taux d'incorporation influence positivement le gain de poids (6).

Les consommations cumulées d'aliment entre les deux groupes ont montré une différence significative ($P>0,05$). Le groupe expérimental a consommé moins d'aliment ($1822 \pm 0,5$ g) que le groupe témoin ($1854 \pm 0,9$). Bien que les IC des deux groupes ne soit pas significativement différents, on observe que l'IC du groupe expérimental est inférieur à celui du groupe témoin, Néanmoins, on ne peut en déduire un rapport avec une meilleure efficacité alimentaire issue de la présence de l'ingrédient de ver de terre. D'autres études à plus large échelle sont nécessaires. Cependant, ces résultats ont le mérite de pouvoir éventuellement être exploités dans le cadre de méta-analyses.

Ces données montrent que la consommation a été régulière durant la période d'élevage et que le ver de terre ne modifie ni l'appétit ni l'appétabilité de l'aliment. Moreki et Tiroesele (22) ont relevé la grande palatabilité du lombric pour le poulet. D'autres études ont rapporté l'acceptabilité des aliments non conventionnels par les poussins de chair et des poulets de races traditionnelles (26).

En se basant sur les valeurs numériques des indices obtenus, l'utilisation des vers de terre comme substitut protéique permet une bonne efficacité alimentaire.

Il faut remarquer que les résultats obtenus pour les paramètres de croissance, restent inférieurs aux chiffres de références données pour les volailles de souche Hubbard (16, 38). Ces différences pourraient être dues à la qualité du poussin au départ de l'élevage. Les poussins utilisés, bien qu'étant de souche Hubbard, étaient produits localement par un élevage de parentaux et leur poids le 1^{er} jour variait entre 30 et 35 g alors que la référence Hubbard renseigne un poids compris entre 40 et 42 g le 1^{er} jour (16). Les écarts pourraient aussi s'expliquer par la valeur énergétique et protéique, relativement faible de l'aliment, alors que la référence donnée par Hubbard (16) pour les poulets en climat chaud est de 2900 à 3050 Kcal/kg pour l'énergie métabolisable et 20 à 22 % de protéines brutes. Ces données confortent l'idée de continuer les investigations pour améliorer le protocole expérimental et la qualité de l'aliment. Le lot témoin a consommé une quantité cumulée d'aliment de 1854 g par animal contre 1822 g pour le groupe expérimental, sur la période d'élevage, soit respectivement une valeur totale de 1,22 € (806 fcfa) et 1,25€ (821 fcfa). L'économie réalisée a été de 0,04 € (32 fcfa). Bien que ce chiffre soit faible, il permet de supposer que sur une période d'élevage plus longue avec un nombre plus important de volailles, l'économie réalisée pourrait devenir significative pour le producteur des poulets. Sur la phase de démarrage, le passage de 10 à 1500 sujets, permettrait d'augmenter significativement l'économie d'aliment. Ce résultat montre également que l'éleveur peut produire lui-même la protéine et s'affranchir en partie du soja ou du poisson comme autre source de protéine dans l'alimentation des poulets, en plus de celle utilisé dans cette expérience. Ce qui suggère de reprendre cette étude en utilisant le soja et le poisson comme source de protéine.

Les données relatives au dispositif expérimental utilisé montrent qu'à surface égale, la quantité de vers de terre produite est similaire à celle obtenue par Francis et al. (16) pour 1 m² de surface de lombriculture. Les légères différences que l'on peut observer avec les chiffres obtenus dans notre étude et ceux obtenus par Francis et al (16) et Rajendran (27) seraient la résultante de l'espèce de ver de terre utilisée pour cette production. Au Sud Vietnam, *Perionyx excavatus* a été utilisé. Selon Dominguez et Edwards (12) *P. excavatus* est plus prolifique qu'*E. eugeniae*. De plus, son cycle est plus court (50 contre 70 jours pour *E. eugeniae*) et son taux de viabilité est plus élevé (90 % contre 84 % pour *E. eugeniae*). Avec le dispositif utilisé la production annuelle peut atteindre 49 kg / m² soit environ 4 kg par mois et 130 g par jour; sachant qu'en élevage, à plus de 25°C, *E. eugeniae* peut doubler sa biomasse chaque mois (Dominguez et Edwards (12)). Cette quantité devrait permettre d'assurer la nutrition protéique de 6 poulets en 30 jours d'élevage à raison de 20 g de vers de terre/poulet/jour (15), soit 5 g de matière sèche. Un dispositif d'un m³ de lombricompostière permettrait ainsi la nutrition protéique journalière de 14 poulets.

La lombriculture est encore embryonnaire au Gabon, donc il n'existe pas de prix de vente du kg des vers de terre. Pour les besoins de l'étude nous avons utilisé le prix de vente utilisé en Europe (15) pour estimer le chiffre d'affaires annuel sur 1 m² de lombricompostière, il est de 2170,7 €/ an (1.423.900 fcfa/an)

pour un prix de revient 1,4 €/an/kg de vers de terre (938 fcfa/an/kg de vers de terre). Le résultat net annuel est de 2.102,2 €/an (1.378.985 fcfa/an). Cette différence entre le faible coût de revient et le chiffre d'affaires s'explique par la gratuité des principaux ingrédients. L'investissement le plus onéreux (55% des charges) est représenté par les bacs plastiques qui s'amortissent en 1 an. Le résultat annuel net de 2.102,2 € (1.378.985 fcfa) est nettement supérieur au revenu annuel d'un employé payé au SMIG (80.000 fcfa soit 122 €) au Gabon. Ces calculs ne prennent pas en compte le temps de ramassage des différents ingrédients, qui sont obtenus gratuitement. Cette durée de ramassage n'excède pas 0,13 UMO par jour pour toutes les matières premières et les quantités collectées ne sont pas limitées. La lombriculture revêt un caractère écologique par le fait qu'il contribue à réduire les quantités de fibres de coco, de sciure de bois et même de bouse de vaches laissées à l'abandon dans l'environnement. Le fait que la lombriculture participe à l'amélioration de l'environnement avait déjà été rapporté par Temgoua et al. (37) pour la gestion des déchets dans les villes africaines. Ces chiffres économiques sont à relativiser dans l'attente d'un prix de vente du kg de vers de terre au Gabon. Toutefois, une simulation de calcul économique a été faite avec un prix théorique (3000 fcfa soit 4,5 €/kg de vers de terre) inspiré du prix du kg de poissons (3500 fcfa soit 5,3 €). Les détails de ce calcul sont donnés en annexe de ce document.

5. CONCLUSIONS

Cette étude préliminaire se proposait de montrer l'intérêt de l'utilisation du ver de terre *E. eugeniae* pour la production avicole au Gabon. Au stade actuel des recherches sur ce sujet au Gabon, il est, pour le moment, difficile d'adopter une position définitive sur la question. Toutefois, au regard des résultats obtenus, il ressort que le pays présente de réels potentiels pour le développement de la lombriculture grâce à son climat, la disponibilité de la matière première et le coût, relativement bas, de mise en œuvre de la structure. L'utilisation d'*E. eugeniae* comme source de protéines présente des avantages zootechniques et économiques pour l'aviculture au Gabon avec un potentiel de développement qui reste à exploiter. Ces résultats rejoignent les observations relevées déjà par d'autres auteurs sur le fait que les vers de terre sont très nutritifs et peuvent avoir des effets positifs quand on les incorpore dans la ration alimentaire animale. Mais il faut prendre en compte les risques de contamination liés à l'utilisation des vers de terre dans l'alimentation des volailles. La durée de l'élevage, le taux d'incorporation et la qualité nutritionnelle de l'aliment pourraient être des limites à cette étude. Des recherches plus approfondies basées sur l'augmentation de la durée d'élevage et intégrant un taux d'incorporation compris entre 6 et 14% devraient ouvrir de nouvelles perspectives pour l'utilisation d'*E. eugeniae* dans la nutrition avicole.

Remerciements

Nos remerciements vont au Dr Y. Bgafou, à Mme A. C. Ngo Ongla et à Mme F. B. Tofic Daher pour leur participation à la réalisation de cette étude.

Références bibliographiques

1. Abd Rahman Jabir MD, Razak SA, Vikineswary S. 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J. Biotechnol.* 11(24):6592–98
2. Adorada JL. 2007. Assessment of Vermicomposting as a Waste Management Technology and a Livelihood Alternative in the Philippines. *J. Environ. Sci. Manag.* 10(2):28–39
3. Agbédé G, Nguekam, Mpoame M. 1994. Essai d'utilisation de la farine de vers de terre *Eudrilus eugeniae* dans l'alimentation des poulets de chair en finition. *Tropicultura.* 12(1):3–5
4. Byambas P, Lemtiri A, Hornick JL, Ndong TB, Francis F. 2017. Rôles et caractéristiques morphologiques du ver de terre *Eudrilus eugeniae* (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 21(2):1–11
5. Chiripasi SC, Moreki JC, Nsoso SJ, Letso M. 2013. Effect of feeding mopane worm meal on mineral intake, retention and utilization in guinea fowl under intensive system. *Int. J. Poult. Sci.* 12(1):19–28
6. Coulibaly SS, Kouassi KI, Tondoh EJ, Zoro BIA. 2014. Influence of the population size of the earthworm *Eudrilus eugeniae* on the heavy metal content reduction during vermicomposting of animal wastes. *Appl. Sci. Reports.* 3(2):
7. Coulibaly SS, Zoro Bi IA. 2010. Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *Eur. J. Soil Biol.* 46(3–4):225–29
8. de Lino Vieira M, Soares Ferreira A, Lopes Donzelle J. 2004. Digestibilidade da farinha de minhoca para suínos. *Bol. Indústria Anim.* 61(1):83–89
9. Delaby L, Dourmad J-Y, Béline F, Lescoat P, Faverdin P, et al. 2014. Origin, quantities and fate of nitrogen flows associated with animal production. *Adv. Anim. Biosci.* 5(s1):28–48
10. Dominguez J, Edwards C a. 2011. Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting. © 2011 by Taylor Fr. Group, LLC, pp. 30–31
11. Dominguez J, Edwards CA, Dominguez J. 2001. The biology and population dynamics of *Eudrilus eugeniae* (Kinberg) (Oligochaeta) in cattle waste solids. *Pedobiologia (Jena).* 45(4):341–53

12. Emame Mba S, Edou-Minko A. 2003. Etude des propriétés physiques des sols de savane du plateau manganésifère Okouma (Gabon) en zone équatoriale. *Sci. Médecine*. 02:25–43
13. FAOSTAT. 2017. *Imports : produits par pays*. FAO. <http://www.fao.org/faostat/fr/#data>
14. Francis F, Haubruge E, Thang PT, Kinh L V., Lebailly P, Gaspar C. 2003. Technique de Lombriculture au Sud Vietnam. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 7(3–4):171–75
15. Ferme du Moutta. 2015. Vente de lombrics/vers de terre de compost - Lombricomposteur, vers de terre, lombriculture. <https://www.fermedumoutta.fr/vente-vers-lombric.html>
16. Hubbard C. 2017. Guide d'élevage du poulet de chair Hubbard 2. , p. 10
17. James SW, Divina GB. 2012. Earthworms (Clitellata: Acanthodrilidae, Almididae, Eudrilidae, Glossoscolecidae, Ocnerodrilidae) of the coastal region of Gamba, Ogooué-Maritime Province, southwestern Gabon. *Zootaxa*. 3458(1):133–18
18. Kumar M, Chand R, Shah K. 2018. *Mycotoxins and pesticides: Toxicity and applications in food and feed*, Vol. 2. 207-252 pp.
19. Lemtiri A, Liénard A, Alabi T, Brostaux Y, Cluzeau D, et al. 2016. Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils. *Appl. Soil Ecol*. 104:67–78
20. Meka M'Allogho F. 2013. *Analyse comparative entre superficies officielles et SIG des permis forestiers: Cas des Petits Permis Forestiers Gabonais*. https://www.memoireonline.com/12/08/1758/m_ANALYSE-COMPARATIVE-ENTRE-SUPERFICIES-OFFICIELLES-ET-SIG-DES-PERMIS-FORESTIERS-Cas-des-Petits-Permi2.html
21. Moreki J, Tiroesele B. 2012. Termites and Earthworms As Potential Alternative Sources of Protein for Poultry. *Int. J. Agro Vet. Med. Sci*. 6(5):368
22. Morin E. 2004. *Le Lombricompostage : Guide Pratique*. Montreal: Eco-quartier. 20 pp.
23. Morón-Fuenmayor OE, Diaz D, Pietrosevoli S, Barrera R, Gallardo N, et al. 2008. Efecto de la inclusión de harina de lombriz sobre el rendimiento en canal, en cortes y calidad físico-química de la carne de codorniz (*coturnix coturnix japonica*) TT - Effect of earthworm (*Eisenia* spp) meal inclusion on dressing and physical-chemical cha. *Rev. la Fac. Agron*. 25(4):674–84

24. Moula N, Scippo ML, Douny C, Degand G, Dawans E, et al. 2018. Performances of local poultry breed fed black soldier fly larvae reared on horse manure. *Anim. Nutr.* 4(1):73–78
25. N'Guessan NZ, Diambra OH, Zongo D, Coulibaly M, Valeille R. 1989. Influence des taux énergétique et protéique à rapport C/P constant sur la croissance, l'engraissement et les rendements carcasse de poulets élevés en climat chaud et humide. *Ann. Zootech.* 38(4):219–28
26. Prayogi HS. 2011. The Effect of Earthworm Meal Supplementation in the Diet on Quail's Growth Performance in Attempt to Replace the Usage of Fish Meal. *Int. J. Poult. Sci.* 10(10):804–6
27. Rajendran P, Jayakumar E, Kandula S, Gunasekaran P. 2008. *Vermiculture and Vermicomposting Biotechnology for Organic Farming and Rural Economic Development.* <https://www.eco-web.com/edi/080211.html>
28. Rawling MD, Merrifield DL, Snellgrove DL, Kühlwein H, Adams A, Davies SJ. 2012. Haemato-immunological and growth response of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed a tropical earthworm meal in experimental diets. *Fish Shellfish Immunol.* 32(6):1002–7
29. Reinecke AJ, Viljoen SA, Saayman RJ. 1992. The suitability of *Eudrilus eugeniae*, *perionyx excavatus* and *Eisenia fetida* (Oligochaeta) for vermicomposting in southern africa in terms of their temperature requirements. *Soil Biol. Biochem.* 24(12):1295–1307
30. Remond D. 2016. Protéines animales – protéines végétales : Quel équilibre pour une alimentation saine et durable ?
31. Sivasankari B, Indumathi S, Anandharaj M. 2013. A Study on life cycle of Earth worm *Eudrilus eugeniae*. *Int. J. Res. Pharm. Life Sci.* 1(2):64–67
32. Sogbesan AO, Ugwumba AAA. 2008. Nutritional values of some non-conventional animal protein feedstuffs used as fishmeal supplement in aquaculture practices in Nigeria. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.* 164(1):159–64
33. Sogbesan OA, Madu CT. 2008. Evaluation of Earthworm (*Hyperiodrilus euryaulos*, Clausen, 1914; Oligochaeta: Eudrilidae) Meal as Protein Feedstuff in Diets for *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840 (Teleostei, Clariidae) Fingerlings Under Laboratory Condition. *Res. J. Environ. Sci.* 2(1):23–31

34. Sogbesan OA, Ugwumba AAA, Madu CT. 2007. Productivity potentials and nutritional values of semi-arid zone earthworm (*Hyperiodrilus euryaulos*; Clausen, 1967) cultured in organic wastes as fish meal supplement
35. Sonaiya EB, Swan SEJ. 2004. *Production en Aviculture familiale - un manuel technique*. Rome: FAO. 1-140 pp. FAO ed.
36. Tahir TA, Hamid FS. 2012. Vermicomposting of two types of coconut wastes employing *Eudrilus eugeniae*: a comparative study. *Int. J. Recycl. Org. Waste Agric.* 1(1):7
37. Temgoua E, Ngnikam E, Dameni H, Kouedeu-Kameni GS. 2014. Valorisation des ordures ménagères par compostage dans la ville de Dschang, Cameroun. *Tropicultura.* 32(1):28–36
38. Tossou M, Houdonougbo M, Abiola F, Chrysostome CAAM. 2014. Comparaison des performances de production et de la qualité organoleptique de la viande de trois souches de poulets de chair (Hubbard, Cobb et Ross) élevées au Bénin. *Rev. du comes.* 02(1):30–35
39. Yadav A, Garg VK. 2011. Recycling of organic wastes by employing *Eisenia fetida*. *Bioresour. Technol.* 102(3):2874–80
40. Zirbes L, Renard Q, Dufey J, Tu PK, Duyet HN, et al. 2011. Valorisation of a water hyacinth in vermicomposting using an epigeic earthworm *Perionyx excavatus* in Central Vietnam. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(1):85–93

PARTIE 3 : DISCUSSION INTEGRÉE

Discussion générale

La recherche des sources de protéines disponibles dans la nature et à faible coût, a permis le développement dans plusieurs pays, d'élevages non conventionnels pour l'alimentation des animaux domestiques. Dans la zone équatoriale, le Gabon est aussi impliqué dans cette recherche d'aliment à moindre coût dans le cadre des productions animales et notamment des volailles. Cette dernière décennie, ces besoins ont conduit à l'émergence de la production de vers de terre pour l'alimentation des animaux d'élevage.

Le premier article de cette thèse est une revue bibliographique sur le ver de terre *E. eugeniae* qui décrit les conditions de sa lombriculture; en détaillant les connaissances sur les caractères physiques, anatomiques et chimiques de ce ver épigé découvert au Gabon il y a quelques années par James et Divina (2012). Il y est présenté les conditions d'élevage d'*E. eugeniae* en climat équatorial et son potentiel apport dans l'alimentation des poulets dans cette sous-région d'Afrique centrale. Bien que découvert au Gabon, *E. eugeniae* reste très peu connu dans ce pays et son exploitation, par le biais de la mise en place d'unités de production, n'y a jamais été pratiquée. Dans la sous-région Afrique centrale, il y a un déficit d'informations sur *E. eugeniae*, surnommé « Ver Nocturne Africain » (Edwards et Bolhen, 1996). Les résultats de ce travail permettent de progresser sur la connaissance d'*E. eugeniae* et son élevage dans des zones climatiques variées, et particulièrement au Gabon sous l'équateur. En plus de son utilité pour la nutrition animale, le développement de la vermiculture peut ouvrir des voies pour son exploitation comme appât de pêche (Morin, 2004), surtout dans une sous-région Afrique centrale où la pêche à la ligne utilise déjà le ver de terre comme appât. L'avantage de cette production serait dans la mise à disposition de cet appât dans les zones où on ne peut pas toujours le trouver facilement. Seulement la production industrielle, comme en Amérique du nord ou en Asie, n'est pas encore possible (Byambas et al., 2017). Les obstacles liés à la culture, aux moyens techniques et à la formation des producteurs restent à surmonter dans le cas particulier du Gabon. Sur le plan culturel, le ver de terre comme aliment des volailles est plus facilement accepté par rapport à d'autres invertébrés comme le cafard qui renvoie une image d'insecte de tombe et de sépulcre. Ainsi le poulet nourri au ver de terre peut facilement être consommé par les populations gabonaises qui ont eu l'habitude d'observer des poulets se nourrir de lombrics prélevés dans du fumier, en zone paysanne.

La vermiculture nécessite une assez bonne connaissance du lombric : sa biologie, ses caractéristiques physiques et ses habitudes alimentaires. Plusieurs études ont été réalisées sur des espèces de vers de terre comme *Eiseinia fetida* mais très peu sur *E. eugeniae* (Byambas et al., 2017). Cette revue bibliographique a permis de mieux envisager la poursuite des recherches sur *E. eugeniae* et pourrait faciliter l'élaboration d'une clé d'identification pour ce ver épigé.

Bien qu'il soit reconnu comme une source de protéines pour l'alimentation animale (Sogbesan et al., 2008), il représente tout de même un vecteur potentiel de dangers biologiques et non-biologiques pour les volailles qui consommeraient un aliment contenant des vers de terre contaminés. La revue des connaissances sur ce sujet a fait l'objet de la partie suivante de notre travail

En effet, parmi les dangers non-biologiques, les métaux lourds sont les plus importants identifiés chez le ver de terre et *E. eugeniae* n'est pas une exception. Les vers de terre sont connus pour être d'importants bio-accumulateurs et bio-indicateurs de la présence des métaux lourds dans le sol (Byambas et al., 2019). Dans le cadre de ce travail, les vers de terre *E. eugeniae* n'ont pas fait l'objet d'une analyse pour la détection des métaux lourds mais plusieurs études y ont révélé la présence de plomb, de mercure, de cadmium, de l'aluminium et de l'arsenic qui font partie des métaux les plus toxiques même à très faibles concentrations. Le taux maximal acceptable de cadmium, par exemple, est de 1 mg/kg d'aliment animal, selon la Commission européenne (2003). On le trouve à des taux allant parfois jusqu'à 7 mg/kg chez le ver de terre *E. eugeniae* (Soobhany et al., 2015), ce qui montre le danger d'utiliser des lombrics issus d'un sol contaminé en cadmium, et souligne l'intérêt du choix des sites de prélèvement des vers de terre pour une vermiculture. Il importe ici de préciser qu'étant des accumulateurs des métaux lourds, les vers de terre utilisés dans l'aliment des animaux destinés à nourrir les populations humaines, doivent faire l'objet d'un choix méticuleux. Dans le cas du Gabon certaines zones minières ou pétrolières ne devraient pas être recommandées pour le prélèvement des vers de terre destinés à l'alimentation animale à cause de leur richesse en métaux lourds. C'est le cas de la province du Haut-Ogooué au sud-est du pays, reconnue pour la richesse de son sol en manganèse (Lepengue et al., 2019). Certains micro-organismes peuvent être à l'origine d'intoxications alimentaires avec la présence dans l'aliment des vers de terre de mycotoxines produites par ces micro-organismes. Les nématodes font aussi partie du groupe des risques biologiques. Malgré la présence potentielle de ces dangers pour les volailles et pour l'Homme, il est important de relativiser le risque. Les métaux lourds et les éléments traces sont en général plus abondants dans les couches inférieures du sol ; même si on rencontre le Pb et le Cd en surface (Baize, 2000). *Eudrilus eugeniae* se trouvant dans la couche supérieure du sol, le risque de contamination serait moins important. Certaines bactéries comme *B. ceurus*, représentent un danger immédiat pour les volailles élevées sur parcours ; mais ce danger est moins important pour l'Homme, qui consommerait une volaille contaminée par cette bactérie. Dans le cas d'autres dangers chimiques dus par exemple aux PCB, le risque pour la volaille et pour l'Homme reste relativement faible dans des conditions favorables. Ce n'est pas le cas pour la maladie du charbon bactérien dont le risque reste élevé pour la volaille et pour l'homme. Quel que soit le risque, pour une lombriculture saine, les vers de terre fondateurs doivent être prélevés dans un sol se trouvant loin des zones d'exploitation minières ou pétrolières. Il faut aussi les prélever dans les horizons de surface où vit naturellement le ver épigé *E. eugeniae*.

Eudrilus eugeniae est une des sources importantes de nutriments pour l'alimentation des poulets d'élevage dans les pays en développement car ils peuvent aider à réduire le coût de l'alimentation avicole

pour les producteurs locaux et au Gabon en particulier. Pour assurer la sécurité sanitaire de ce mode d'alimentation, il est donc indispensable que les vers de terre soient issus d'un milieu contrôlé et sans aucun facteur de danger biologique ou non-biologique.

Afin d'apporter un début de solution à ce problème, un essai expérimental de lombriculture a été initié au Gabon avec des résultats similaires à ceux obtenus dans d'autres pays (Francis et al., 2003 ; Tahir et Hamid, 2012). Le choix des sources de carbone et d'azote a été fait en se basant sur l'apport en N ou C par ingrédient. Les résultats de l'étude expérimentale montrent que pour un bon substrat d'élevage de ver de terre en climat équatorial, c'est l'association de bouse de vache et de fibre de noix de coco qui est plus indiquée. Avec le substrat contenant des fibres de noix de coco, la production des cocons commence après 5 semaines d'élevage puis vient l'éclosion. La population d'*E. eugeniae* a augmenté de près de 40 % sur la période d'élevage. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus en Inde par Tahir et Hamid (2012) avec *E. eugeniae* élevé sur fibres de coco. Dans ce substrat, les fibres de noix de coco étaient la source de carbone et la bouse de vache la source d'azote. Les résultats obtenus confirment ceux de Coulibaly et Zoro Bi (2010) sur les apports de la bouse de vache pour la lombriculture d'*E. eugeniae*. La bouse de vache fournirait de meilleures conditions de reproduction, une croissance plus rapide des vers de terre juvéniles et un taux de viabilité des adultes plus intéressant comparativement au fumier de poules pondeuses. La bouse de vache peut ne pas être disponible dans la zone de vermiculture. L'utilisation du fumier de poules peut alors être une alternative mais les risques de présence des résidus de certains médicaments vétérinaires dans les fientes sont élevés (Akoumbe et al., 2017). Dans les élevages de volailles l'utilisation des produits vétérinaires entraîne la présence de résidus d'antibiotiques dans les fientes. Ces derniers peuvent avoir des effets nocifs sur le ver de terre en élevage (Byambas et al., 2017). Abiola et al. (2005) ont détecté la présence de résidus de plusieurs produits vétérinaires dans des fientes de poules. Parmi ces produits il y avait les résidus de tétracycline (16%) et de sulfamides (5%). Il est important de choisir l'origine des bouses de vache ou du fumier de poules. Les élevages traditionnels ou semi extensifs sont les plus adaptés de par leur faible utilisation des produits vétérinaires. Toutefois cette étude expérimentale montre que la lombriculture est possible au Gabon. Le niveau de production pourrait rapidement augmenter car Dominguez et al. (2010) ont rapporté qu'à plus de 25 °C, il est possible pour le ver de terre *E. eugeniae* de doubler sa biomasse chaque mois.

Le profil en acides gras est une partie de la composition de la valeur nutritive du ver de terre (Musyoka et al., 2019). L'étude expérimentale réalisée au Gabon a révélé que la valeur nutritive et le profil en acides gras d'*E. eugeniae* seraient influencés par le type d'aliment reçu par les vers de terre durant la période d'élevage. Bien que les informations sur des études similaires soient peu disponibles, à notre connaissance, les résultats de cette étude préliminaire vont dans le sens des études menées par Bourré (2005) et Dunshea et al. (2005), qui ont révélé que le régime alimentaire peut significativement influencer la composition des nutriments apportés par un organisme animal. Parmi les constituants de la composition nutritive des aliments, il y a, entre autres les protéines et les minéraux, dont les teneurs ont

connu dans cette étude une augmentation numérique chez *E. eugeniae* nourri avec de la poudre de graine d'arachide. Entre le groupe témoin et expérimental, les concentrations ont progressé de 10 à 20 % mais certains constituants comme les cendres et le magnésium ont montré des augmentations de teneurs de près de 50 %. L'évolution des proportions des éléments nutritifs pourraient être dues aux caractéristiques de l'aliment donné mais aussi à la spécificité biologique du ver de terre, décrite par Gunya et al. (2016) en parlant de la capacité du ver *E. fetida* à accumuler des éléments traces présents dans le milieu de vie. Cette caractéristique d'*E. fetida* devrait être présente chez *E. eugeniae* et expliquerait en partie ces croissances globales des teneurs en minéraux.

Le profil en acides gras a aussi été influencé positivement par le régime alimentaire. La teneur en matière grasse de 4 % chez *E. eugeniae* est inférieure à celle de 5,9 % obtenue au Nigeria par Sogbesan et Ugwamba (2007) avec une espèce de ver de terre plus grande, à savoir *Hyperiodrilus euryaulos*. Limsuwatthanathamrong et al. (2012) suggéraient que la teneur en acides gras était influencée par le type d'aliment servi aux lombrics, après une vermiculture de vers de sable nourris avec des végétaux riches en huile végétale. Dans les groupes des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés on observe que l'acide palmitique, stéarique, oléique, linoléique, arachidonique et eicosapentaénoïque sont les plus abondants chez *E. eugeniae*, ce qui est conforme aux résultats obtenus par Limsuwatthanathamrong et al. (2012) en Thaïlande avec le ver *Perinereis nuntia*. Dans leur étude, Limsuwatthanathamrong et al. (2012) ont montré qu'il y a une augmentation globale des acides gras issus des vers vivant dans le milieu naturel et ayant reçu un complément alimentaire par rapport à ceux qui n'ont rien reçu. Ce constat est fait aussi pour le ver *E. eugeniae* nourri avec la poudre de graine d'arachide et on observe qu'il y a une augmentation globale des lipides chez les vers du groupe expérimental par rapport à ceux du groupe témoin. Cette observation permet de suggérer que le régime alimentaire et l'environnement influencent le profil en acides gras du ver de terre *E. eugeniae* (Sriket et al., 2007).

L'effet des acides gras de l'aliment sur les produits d'élevage comme la viande et les œufs de poule a été documenté tout comme l'impact du transfert des acides gras polyinsaturés sur la qualité de la viande de volailles (Chilliard et al., 2008; Motard-Belanger, 2008; Dang Van et al., 2013).

Vu que la composition alimentaire peut influencer la composition chimique et le profil en acides gras du vers de terre, ce dernier à son tour peut, à travers l'alimentation des volailles, influencer la qualité de la viande de poulet au plan des caractéristiques zootechniques mais aussi gustatives. C'est dans ce sens qu'un travail préliminaire d'incorporation des vers de terre *E. eugeniae* dans l'alimentation des poulets a été entrepris au Gabon. Il importe de souligner que l'augmentation des teneurs en acide gras polyinsaturés dans les tissus des vers de terre du groupe expérimental laisse espérer une biosynthèse des acides gras $\omega 3$ par le ver de terre, car ils sont quasiment absents dans l'arachide (Kamatali et al., 1992). Le processus de biosynthèse des acides gras par les vers de terre n'est pas clairement décrit. Mais Pond et al. (2002) ont rapporté que la nutrition de certains invertébrés est essentiellement composée de bactéries chimio autotrophes qui sont capables de produire des $\omega 3$ sous la forme C20 :5 $\omega 3$ notamment.

On suppose qu'elles sont la source des acides gras C22: 6n-3 et C20: 5n-3 chez les invertébrés des fonds marins, privés de lumière, résultant d'une association entre l'animal invertébré et la bactérie. Toutefois, ce fait n'est pas définitivement établi. Le ver de terre vivant en absence de lumière pourrait aussi bénéficier des avantages de cette association avec les bactéries de son tube digestif. Des travaux spécifiques à *E. eugeniae* dans ce sens devront permettre de mieux préciser cette biosynthèse potentielle.

Pour vérifier l'effet du ver de terre sur les paramètres de croissance du poulet Hubbard, un élevage expérimental a été conduit dans ce sens. Cette expérience a montré que la croissance des poulets est identique et aucune différence statistique n'a été observée entre les groupes. Cela fut aussi observé au Cameroun par Nguekam et Pouamé (1994) avec des poulets ayant reçu des vers de terre *E. eugeniae* comme complément alimentaire. Toutefois, les performances de croissance du groupe expérimental sont meilleures numériquement par rapport à ceux du groupe témoin. Morón-Fuenmayor et al. (2008) ont obtenu des résultats allant dans le même sens mais les écarts entre les deux groupes étaient plus importants. Dans leur élevage expérimental, les volailles étaient plus nombreuses (25 par lot) et regroupées en cage collective au lieu des cages individuelles comme ce fut le cas dans cette étude préliminaire. Le calcul de l'IC des poulets a permis de voir que le ver de terre est un aliment bien valorisé par le poulet (Moreki et Tiroesele, 2012) même si les chiffres obtenus restent inférieurs aux normes de référence du poulet Hubbard (Hubbard, 2017). Malgré cette différence, les résultats révèlent l'efficacité alimentaire de l'aliment contenant du ver de terre dont la consommation cumulée en 28 jours est plus basse de 32 g avec un IC est inférieur à celui de l'aliment témoin. Sur le plan zootechnique, il est difficile d'adopter une position définitive sur l'influence du ver de terre sur les paramètres de croissance du poulet Hubbard. Même en l'absence d'effet significatif à 3% d'incorporation des vers de terre dans l'aliment des volailles, on peut dire que les vers de terre peuvent aisément se substituer à une autre source de protéines comme le tourteau de palmiste. Cette étude ouvre la voie à des travaux plus approfondis et plus élaborés avec des paramètres d'élevage qui permettront de mieux apprécier l'apport du ver de terre dans la nutrition avicole. Au regard des quantités consommées entre les deux lots on peut affirmer que l'incorporation des vers de terre *E. eugeniae* dans la ration alimentaire a permis de réaliser une économie relative de 0,02 € (13 fcfa) avec 10 sujets sur 28 jours d'élevage. L'effectif moyen d'un petit producteur de volailles au Gabon est de 1.500 sujets, ce qui permet d'atteindre une économie d'aliment de 41,5 € (27218 fcfa). Le ver de terre *E. eugeniae* pouvant doubler sa biomasse chaque mois (Morón-Fuenmayor et al., 2008) , une simulation de production sur 12 mois partant des 0,78 kg produit en 2 mois d'élevage, nous a permis de calculer une production potentielle de 49 kg de vers de terre pour 1 m² de dispositif de lombriculture. Cette quantité correspond aux 4 kg de vers de terre par mois, rapporté par François et al. (2003), ce qui est proche des 47 kg par an rapportés par Rajendram (2008). Ce niveau de production permet d'espérer un résultat net annuel de 2.102,2 € pour le producteur pour un prix de revient du kg de vers de terre à 1,4 €. Pour les besoins de l'étude, le prix de vente des vers de terre en Europe a été utilisé. La lombriculture n'existant pas au Gabon, il n'existe pas de prix de vente des vers

de terre. Toutefois nous avons choisi un prix de vente qui est donné en annexe de ce document pour estimer le revenu que pourrait générer la production de 49 kg de vers de terre. Pour assurer une alimentation régulière des poulets avec des vers de terre il faudrait un dispositif adapté. Ainsi 20 g de matière sèche de ver de terre par jour et par sujet permettrait d'assurer une couverture protéique complète à l'animal (Francis et al. 2003).

PARTIE 4 : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Cette étude a permis de mettre en évidence les contraintes de la lombriculture pour l'alimentation du poulet en zone équatoriale. Les résultats de ce travail ont apporté une meilleure connaissance du ver épigé *Eudrilus eugeniae* et malgré la pertinence des informations obtenues sur cette espèce de lombric, des études complémentaires sont nécessaires pour approfondir le savoir sur sa biologie, son anatomie, son mode de reproduction, son milieu de vie et ses habitudes alimentaires. Les recherches réalisées sur *E. eugeniae* ont apporté aussi de nouvelles informations sur les risques liés à son utilisation dans l'alimentation animale et particulièrement pour les volailles en liberté chez lesquelles, le ver de terre reste un aliment accessible directement dans le sol. Les risques biologiques et non-biologiques s'avèrent être des menaces, dans certaines conditions, pour les volailles mais aussi pour l'Homme. Parmi les mesures préventives suggérées dans cette étude il y a la lombriculture maîtrisée pour les vers de terre, destinée à l'alimentation des poulets.

La vermiculture en zone équatorial, et au Gabon en particulier, est une première expérience qui ouvre la voie à d'autres études sur *E. eugeniae* dans cette sous-région d'Afrique centrale. L'élevage non conventionnel a mis en évidence la capacité de reproduction et de croissance relativement rapide du ver *E. eugeniae* en milieu équatorial. Ce travail suppose qu'à l'instar des pays asiatiques notamment, la lombriculture au Gabon pourrait représenter une source de revenu pour le producteur des vers de terre destinés à la pêche et à l'amélioration de la fertilité des terres agricoles. *Eudrilus eugeniae* représente une source nutritionnelle pour les volailles car il est l'un de leurs aliments naturels. C'est dans ce sens que l'analyse des apports nutritionnels a été réalisée avec *E. eugeniae*.

Les résultats de l'étude sur la composition nutritive et le profil en acides gras du ver de terre *E. eugeniae* ont confirmé que l'animal est une bonne source de protéines pour la volaille. Compte tenu de sa teneur en protéine proche de celle de la farine de poisson, la substitution de la farine de poisson par la farine du ver de terre *E. eugeniae* est possible pour l'alimentation des poulets au Gabon, ce qui rejoint les expériences déjà réalisées dans d'autres pays. Cette étude montre que la teneur en éléments nutritifs peut être influencée par la qualité du régime alimentaire du ver de terre. Cette influence du régime alimentaire a été observée aussi pour le profil en acides gras qui, à son tour, influence la qualité de la viande de volaille, en plus de ses paramètres zootechniques.

L'alimentation des poulets avec un aliment contenant des vers de terre *E. eugeniae* a permis d'obtenir des résultats sur les paramètres de croissances similaires à ceux observés dans d'autres pays, ce qui

confirme qu'*E. eugeniae*, comme d'autres vers de terre est très nutritif et n'a pas d'effets négatifs sur les paramètres zootechniques des volailles. Des travaux sur une durée plus longue et un effectif plus important, devraient permettre de préciser les taux optimum d'incorporation de la farine d'*E. eugeniae* dans l'alimentation de la volaille, et de préciser l'impact de ce lombric sur la qualité gustative de la viande de poulet.

L'utilisation des vers de terre dans l'alimentation des volailles est relativement courante dans certains pays d'Asie. Cette pratique peut apporter au Gabon une nouvelle voie dans la recherche des systèmes d'alimentation des volailles. Et ainsi réduire de manière substantielle le coût de l'aliment qui représente près de 60% des coûts de production du poulet au Gabon.

Ce travail préliminaire ouvre des nouvelles voies de recherches sur *E. eugeniae* mais aussi sur son utilisation dans l'élevage comme source de protéines mais aussi comme source d'autres éléments nutritifs pour les animaux d'élevage. Ce lombric relativement peu étudié, comparativement à d'autres espèces de ver de terre, voit augmenter les connaissances s'y rapportant.

La lombriculture est réalisable au Gabon, si les conditions de production sont réunies et l'alimentation des poulets avec les vers de terre est possible. Il serait toutefois judicieux de déterminer les zones où les sols sont moins adaptés pour cet élevage, au regard des caractéristiques pédologiques chimiques spécifiques au sol de chaque région.

La production de vers de terre pour l'alimentation des poulets est non seulement une source de protéines animales mais peut être une source de revenus substantiels pour le producteur de vers de terre. Pour la suite de ce travail, une étude d'acceptation du poulet nourrit avec des vers de terre et un test gustatif à l'aveugle, permettrons de déterminer si cette technique de production des poulets peut être facilement vulgarisée au Gabon.

Malgré les connaissances apportées dans cette étude, il serait intéressant de poursuivre l'étude de la composition chimique du ver de terre *E. eugeniae*. Les résultats obtenus dans la présente étude suggèrent notamment une biosynthèse des acides gras $\omega 3$ par le ver de terre *E. eugeniae*. Des expérimentations plus spécifiques permettraient de mieux préciser les capacités de biosynthèse des vers de terre et spécifiquement d'*E. eugeniae*.

RÉFÉRENCES

- Abd Rahman Jabir, M.D., Razak, S.A., Vikineswary, S., 2012. Nutritive potential and utilization of super worm (*Zophobas morio*) meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African J. Biotechnol.* 11, 6592–6598. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1084>
- Agbédé, G., Nguékam, Mpoame, M., 1994. Essai d'utilisation de la farine de vers de terre *Eudrilus eugeniae* dans l'alimentation des poulets de chair en finition. *Tropicultura* 12, 3–5.
- Banque Mondiale, 2019. La banque mondiale au Gabon [WWW Document]. Banq. Mond. URL <https://www.banquemondiale.org/fr/country/gabon/overview>
- Bourre, J.M., 2005. Enrichissement de l'alimentation des animaux avec les acides gras ω -3: Impact sur la valeur nutritionnelle de leurs produits pour l'homme. *Medecine/Sciences* 21, 773–779.
- Brito-Vega, H., Espinosa-Victoria, D., 2009. Bacterial Diversity in the Digestive Tract of Earthworms (*Oligochaeta*). *J. Biol. Sci.* 9, 192–199. <https://doi.org/10.3923/jbs.2009.192.199>
- Brown, G.G., Callaham, M.A., Niva, C.C., Feijoo, A., Sautter, K.D., James, S.W., Fragoso, C., Pasini, A., Schmelz, R.M., 2013. Terrestrial oligochaete research in Latin America: The importance of the Latin American Meetings on Oligochaete Ecology and Taxonomy. *Appl. Soil Ecol.* 69, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.12.006>
- Busisiwe, G., Masika, P., Arno, H., Voster, M., 2016. Nutrient Composition and Fatty Acid Profiles of Oven-dried and Freeze-dried Earthworm *Eisenia foetida*. *J. Food Nutr. Res.* 4, 343–348. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-6-1>
- Butt, K.R., Briones, M.J.I., 2011. life cycle studies of the earthworm *Lumbricus friendi* (Cognetti, 1904). *Pedobiologia (Jena)*. 54, 27–29.
- Byambas, P., Hornick, J.L., Marlier, D., Francis, F., 2019. Vermiculture in animal farming: A review on the biological and nonbiological risks related to earthworms in animal feed. *Cogent Environ. Sci.* 5, 1–12. <https://doi.org/10.1080/23311843.2019.1591328>
- Byambas, P., Lemtiri, A., Hornick, J.L., Ndong, T.B., Francis, F., 2017. Rôles et caractéristiques morphologiques du ver de terre *Eudrilus eugeniae* (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 21, 1–11.

- Chilliard, Y., Bauchart, D., Lessire, M., Schmidely, P., Mourot, J., 2008. Qualité des produits Modulation par l'alimentation des animaux de la composition en acides gras du lait et de la viande. *Prod. Anim.* 21, 95–106.
- Climats et voyages, 2019. Climat-Gabon [WWW Document]. *Clim. Voyag.* URL <https://www.climatsetvoyages.com/climat/gabon>
- Coulibaly, S.S., Zoro Bi, I.A., 2010. Influence of animal wastes on growth and reproduction of the African earthworm species *Eudrilus eugeniae* (Oligochaeta). *Eur. J. Soil Biol.* 46, 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.03.004>
- Dang Van, Q.C., Focant, M., Froidmont, E., Larondelle, Y., 2013. Influence de la structure de la ration et de la supplémentation lipidique sur la qualité nutritionnelle de la matière grasse du lait Certains acides gras du lait présentent des propriétés bénéfiques pour la santé 98–104.
- Dominguez, J., Edwards, C. a, 2011. *Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting*. © 2011 by Taylor Fr. Group, LLC 30–31.
- Duffus, J.H., 2002. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 74, 793–807. <https://doi.org/10.1351/pac200274050793>
- Dunshea, F.R., D'Souza, D.N., Pethick, D.W., Harper, G.S., Warner, R.D., 2005. Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Sci.* 71, 8–38. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.05.001>
- European Commission, 2002. Directive 2002/32/EC of the European Parliament and the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Off. J. Eur. Communities L* 269, 1–15.
- FAOSTAT, 2018. Cultures et produits animaux, importation de viande de volailles en 2016 au Gabon [WWW Document]. FAO. URL <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/TP>
- Francis, F., Haubruge, E., Thang, P.T., Kinh, L. V., Lebailly, P., Gaspar, C., 2003. Technique de Lombriculture au Sud Vietnam. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 7, 171–175.
- Francis, F., Thang, P.T., Lebailly, P., Gaspar, C., Haubruge, E., 2005. Perspectives de développement de la lombriculture au Sud Vietnam. *Notes fauniques de Gembloux* 58, 7–10.
- Gómez-Brandón, M., Lores, M., Domínguez, J., 2012. Species-specific effects of epigeic earthworms on microbial community structure during first stages of decomposition of organic matter. *PLoS One* 7, 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031895>
- Guay, jean-H., 2019. le Gabon: importations et exportations [WWW Document]. *Perspect. monde.* URL

- perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BMImportExportPays?codePays=GAB
- Hellebaut, F., 2001. Le ver de terreau *Perionyx excavatus*. Guid. techn. d'élevage 6, 2–6.
- James, S.W., Divina, G.B., 2012. Earthworms (Clitellata: Acanthodrilidae, Almidiae, Eudrilidae, Glossoscolecidae, Ocnerodrilidae) of the coastal region of Gamba, Ogooué-Maritime Province, southwestern Gabon. *Zootaxa* 3458, 133–18.
- Limsuwatth, M., Sooksai, S., Chunhabund, S., Noitung, S., Ngamrojana, N., Petsom, A., 2012. Fatty Acid Profile and Lipid Composition of Farm-raised and Wild-caught Sandworms, *Perinereis nuntia*, the Diet for Marine Shrimp Broodstock. *Asian J. Anim. Sci.* 6, 65–75. <https://doi.org/10.3923/ajas.2012.65.75>
- Moreki, J., Tiroesele, B., 2012a. Termites and Earthworms As Potential Alternative Sources of Protein for Poultry. *Int. J. Agro Vet. Med. Sci.* 6, 368. <https://doi.org/10.5455/ijavms.174>
- Moreki, J., Tiroesele, B., 2012b. Termites and Earthworms as Potential Alternatives Sources of Protein for Poultry. *Int. J. Agro Vet. Med. Sci.* 6, 368. <https://doi.org/10.5455/ijavms.174>
- Morón-Fuenmayor, O.E., Diaz, D., Pietrosevoli, S., Barrera, R., Gallardo, N., Peña, J., Leal, M., 2008. Efecto de la inclusión de harina de lombriz sobre el rendimiento en canal, en cortes y calidad físico-química de la carne de codorniz (*coturnix coturnix japonica*) TT - Effect of earthworm (*Eisenia* spp) meal inclusion on dressing and physical-chemical cha. *Rev. la Fac. Agron.* 25, 674–684.
- Motard-Belanger, A., 2008. Étude de l'impact des acides gras trans de source naturelle sur les lipides plasmatiques. Université LAVAL.
- Musyoka, S.N., Liti, D.M., Ogello, E., Waidbacher, H., 2019. Utilization of the earthworm, *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) as an alternative protein source in fish feeds processing: A review. *Aquac. Res.* 2301–2315. <https://doi.org/10.1111/are.14091>
- Okoye, C.O.B., Ibeto, C.N., Ihedioha, J.N., 2011. Assessment of heavy metals in chicken feeds sold in south eastern, Nigeria. *Pelagia Res. Libr.* 2, 63–68.
- PNUD, 2018. Le Gabon [WWW Document]. PNUD. URL ga.one.un.org/content/unct/gabon/fr/home/about/le-gabon.html
- Prayogi, H.S., 2011. The Effect of Earthworm Meal Supplementation in the Diet on Quail's Growth Performance in Attempt to Replace the Usage of Fish Meal. *Int. J. Poult. Sci.* 10, 804–806.
- Sivasankari, B., Indumathi, S., Anandharaj, M., 2013. A Study on life cycle of Earth worm *Eudrilus eugeniae*. *Int. J. Res. Pharm. Life Sci.* 1, 64–67. <https://doi.org/na>
- Sogbesan, A.O., Ugwumba, A.A.A., 2008. Nutritional values of some non-conventional animal protein feedstuffs used as fishmeal supplement in aquaculture practices in Nigeria. *Turkish*

- J. Fish. Aquat. Sci. 164, 159–164.
- Sogbesan, O.A., Madu, C.T., 2008. Evaluation of Earthworm Meal as Protein Feedstuff in Diets for *Heterobranchus longifilis* Valenciennes, 1840 Fingerlings Under Laboratory Condition. Res. J. Environ. Sci. 2, 23–31.
- Sogbesan, O.A., Ugwumba, A.A.A., Madu, C.T., 2007. Productivity potentials and nutritional values of semi-arid zone earthworm (*Hyperiodrilus euryaulos*; Clausen, 1967) cultured in organic wastes as fish meal supplement. Pakistan J. Biol. Sci.
- Suthar, S., Singh, S., 2008. Vermicomposting of domestic waste by using two epigeic earthworms (*Perionyx excavatus* and *Perionyx sansibaricus*). Int. J. Environ. Sci. Tech 5, 99–106. <https://doi.org/10.1007/BF03326002>
- Tahir, T.A., Hamid, F.S., 2012. Vermicomposting of two types of coconut wastes employing *Eudrilus eugeniae*: a comparative study. Int. J. Recycl. Org. Waste Agric. 1, 7. <https://doi.org/10.1186/2251-7715-1-7>
- Wang, K., Qiao, Y., Zhang, H., Yue, S., Li, H., Ji, X., Liu, L., 2018. Bioaccumulation of heavy metals in earthworms from field contaminated soil in a subtropical area of China. Ecotoxicol. Environ. Saf. 148, 876–883. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.058>
- World Health Organization., 2007. Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. World Health Organization Regional Office Europe.
- Zirbes, L., Renard, Q., Dufey, J., Tu, P.K., Duyet, H.N., Lebailly, P., Francis, F., Tech, G.A., 2011. Valorisation of a water hyacinth in vermicomposting using an epigeic earthworm *Perionyx excavatus* in Central Vietnam. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15, 85–93.

ANNEXES

Annexes 1 : Compte de production des vers de terre avec le prix de vente appliqué en Europe

EMPLOIS	Quantité	Prix unitaire	Total	RESSOURCES	Quantité	Prix unitaire	Total
Consommation intermédiaire (CI)				Produits en nkg (Pt)			
Fibre de noix de coco (gratuit)	0,3	0	0	Production ver de terre vendue:	49,1	29 000,0	1 425 060
Bouse de vaches (gratuit)	18	0	0				
Téreau	10	120	1 200	Total (Pt):			1 425 060
Morceau de sac de joute (gratuit)	18	0	0	Total (Pt):			2 172,49
			0				
Total (CI):			1 200				
Valeur ajoutée brute (VAb):			1 423 860				
Amortissement (Am)				prix de revient du kg de ver de terre en FCFA			937,63
Bac plastique			27 000	prix de revient du kg de ver de terre en Euros			1,43
Total (Am):			27 000				
Valeur ajoutée nette (VANt):			1 396 860	Formule de calcul			
				Vab = Pt - CI			
Main d'œuvre salariée (MO)			17 875	VANt = Vab - Am			
main d'œuvre collecte des instrants	52	325	16 900	VNe = VANt - MO			
main d'œuvre suivi vermiculture	3	325	975				
Résultat Net d'exploitation (VNe) :			1 378 985				
Résultat Net d'exploitation mensuel Fcfa			114 915				
Résultat Net d'exploitation mensuel Euros			175				

Annexe 2 : Compte de production des vers de terre avec une estimation du prix au Gabon

EMPLOIS	Quantité	Prix unitaire	Total	RESSOURCES	Quantité	Prix unitaire	Total
Consommation intermédiaire (CI)				Produits en nkg (Pt)			
Fibre de noix de coco (gratuit)	0,3	0	0	Production ver de terre vendue:	49,1	3 000,0	147 420
Bouse de vaches (gratuit)	18	0	0				
Térreau	10	120	1 200	Total (Pt):			147 420
Morceau de sac de joute (gratuit)	18	0	0	Total (Pt):			224,74
			0				
Total (CI):			1 200				
Valeur ajoutée brute (VAb):			146 220				
Amortissement (Am)				prix de revient du kg de ver de terre en FCFA			937,63
Bac plastique			27 000	prix de revient du kg de ver de terre en Euros			1,43
Total (Am):			27 000				
Valeur ajoutée nette (VANt):			119 220	Formule de calcul			
				Vab = Pt - CI			
Main d'œuvre salariée (MO)			17 875	VANt = Vab - Am			
main d'œuvre collecte des intrants	52	325	16 900	VNe = VANt - MO			
main d'œuvre suivi vermiculture	3	325	975				
Résultat Net d'exploitation (VNe) :			101 345				
Résultat Net d'exploitation mensuel Fcfa			8 445				
Résultat Net d'exploitation mensuel Euros			13				

Annexe 3 : Evolution de la trésorerie avec le prix de vente du Vietnam

Prix de vente en Europe

Mois	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5	Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	Total	Total euros
Charges	2 482	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	19 062,00	
Fonctionnement	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	1 200,00	
Frais de MO	2 382	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	17 862,00	
Production kg	0,00	0,78	0,78	0,78	1,56	1,56	3,12	3,12	6,24	6,24	12,48	12,48	49,14	4,10
Chiffre d'affaires*	0	22 620	22 620	22 620	45 240	45 240	90 480	90 480	180 960	180 960	361 920	361 920	1 425 060	2 172,49 €
Solde	-2 482	21 113	21 113	21 113	43 733	43 733	88 973	88 973	179 453	179 453	360 413	360 413	1 405 998	2 143,43 €
Solde cumulé	-2 482	18 631	39 743	60 856	104 589	148 322	237 294	326 267	505 720	685 173	1 045 585	1 405 998	4 575 695	6 975,60 €

*Prix de vente en Europe

Annexe 4 : Evolution de la trésorerie avec estimation du prix de vente au Gabon

	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5	Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	Total	Total euros
Charges	2 482	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	1 507	19 062	
Fonctionnement	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
Frais de MO	2 382	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407	1 407		
Production kg	0,00	0,78	0,78	0,78	1,56	1,56	3,12	3,12	6,24	6,24	12,48	12,48	49,14	
Chiffre d'affaires*	0	2 340	2 340	2 340	4 680	4 680	9 360	9 360	18 720	18 720	37 440	37 440	147 420	224,74 €
Solde	-2 482	833	833	833	3 173	3 173	7 853	7 853	17 213	17 213	35 933	35 933	128 358	195,68 €
Solde cumulé	-2 482	-1 650	-817	16	3 189	6 362	14 214	22 067	39 280	56 493	92 425	128 358	357 455	544,94 €

*Estimation prix de vente au Gabon

Réflexion personnelle sur mon parcours académique

La formation agronomique

Après mon baccalauréat série D en 1996, j'avais pour objectif, une formation dans les nouvelles technologies de l'information. Ainsi je me suis organisé pour suivre une formation universitaire en télécommunication. Pendant que cette voie faisait face à des obstacles divers, un collègue de classe terminale me propose de bénéficier d'une bourse gouvernementale pour suivre une formation en agronomie. C'est ainsi que je me retrouve dans le cycle d'ingénieur en agronomie à l'université de Dschang au Cameroun. Au fil de la formation, je me découvre une passion pour les animaux et je m'oriente vers la production animale. En 2001 j'obtiens mon diplôme d'ingénieur agronome option production animale.

Entrée dans la vie professionnelle

Avec mon diplôme d'ingénieur agronome, j'obtiens, juste après mon retour au Gabon, un poste de chef d'exploitation adjoint dans une entreprise de production et de transformation des produits d'élevage en 2002. C'est ainsi que je rentre dans la vie professionnelle sans avoir l'idée de suivre une formation doctorale. En 2004, je participe à un Programme d'Appui Développement de l'Agriculture Péri-urbaine (PADAP) financé par l'Agence Française de Développement (AFD). Après cette expérience, en 2008, je suis recruté à l'Institut de Recherche Agronomique et Forestières (IRAF). Le Directeur de l'IRAF, le Pr Auguste NDOUTOUME NDONG, me dit qu'il faut que je reprenne le cours de mes études pour obtenir un doctorat, si je veux faire de la recherche. C'est là que l'idée de faire une thèse prend forme dans mon esprit.

Retour aux études pour un doctorat

J'entame alors des démarches pour trouver une université et mon choix s'est orienté vers la Belgique, car j'avais aimé le cadre de vie lors de mon séjour à Gembloux en 2005.

C'est à la Faculté de Médecine Vétérinaire (FMV) de l'Université de Liégé que ma demande d'inscription avait été acceptée, pour suivre un master complémentaire en gestion des ressources animales et végétales en milieux tropicaux (GRAMVT).

Le département des productions animales de la FMV devient alors mon cadre de travail. Sous l'encadrement du Pr Jean-Luc HORNICK, j'obtiens en mon diplôme de Master

complémentaire en GRAMVT. Il m'encourage, ensuite à m'inscrire en formation doctorale et à réfléchir sur un sujet de recherche. Les volailles ont été pour moi, un choix évident. Trouver des débuts de solution pour une alimentation à moindre coût fut pour moi l'axe de recherche à explorer.

Pour le Gabon, l'aviculture reste un problème à solution car cette production pâtit d'une part des couts élevée de l'alimentation et d'autre part de la concurrence des poulets surgelé importés à très faibles coût.

Pendant la formation doctorale, le Pr JL HORNICK me parle du ver de terre comme sujet de recherche. Dans un premier temps il était juste question d'étudier ce lombric. Mais au fil des recherches, il s'est révélé être une source de nutriments pour les volailles.

Une fois inscrit en doctorat, avec le concours du Pr Frédéric FRANÇIS, les différentes utilisations du ver de terre sont devenues plus claires pour moi. C'est ainsi que mon sujet de thèse s'est orienté ver : « l'utilisation du ver de terre pour l'alimentation des volailles ».

Comme tout sujet c'est au fur et à mesure que j'avais dans l'étude du ver de terre *Eudrilus eugeniae* que la passion est venue. Je me lance alors dans l'élevage expérimental du ver de terre *Eisenia fetida*, à liège puis celui d'*Eudrilus eugeniae* à Libreville.

Je me souviens encore des regards de mes voisins et des membres de ma famille. D'abord parce que pour les gens le ver de terre est une ressource intarissable dans le sol, donc pourquoi en faire l'élevage. Mais aussi parce que la vue d'un ver de terre est déjà pas très agréable mais les voir entassés est insupportable pour certains. Et dans tout cela moi je me retrouve à les manipuler avec les mains.

Les connaissances acquises durant cette thèse on vraiment forgées en moi le désir d'aller plus loin dans la recherche sur les ressources alimentaires non conventionnelles. Je désire aussi approfondir les recherches sur le ver de terre *Eudrilus eugeniae*. Je retiens aussi le caractère méticuleux du Pr JL HORNICK, lorsqu'il corrigeait les documents que je lui soumettais. Cette recherche de la perfection par moment était devenu pour moi un supplice mais je dois le reconnaître ce fût un mal nécessaire. Cette rigueur m'a inspiré et elle me servira dans ma carrière de d'enseignant-chercheur.

Le fruit de toutes ces années de labeur, se matérialise aujourd'hui avec un doctorat en sciences vétérinaires.

Presses de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège

4000 Liège (Belgique)

D/2020/0480/17

ISBN 978-2-87543-164-6



9 782875 431646