



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة باجي مختار-عنابة

Université Badji -Mokhtar Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Animale Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie Environnementale

Option : Biologie et Ecologie Animale

THEME

Biodiversité des Gastéropodes Hélicidés dans la région Est du pays. Réponses d'*Helix aperta in situ* et suite à une contamination en laboratoire avec un insecticide organophosphoré (Actara) : activité de l'ACHé et stress oxydatif

Présenté par : Mlle Amina Nawel OURFELLA

Directeur de thèse : Mr Nouredine SOLTANI Pr. Université de Annaba.

Les membres du jury :

Présidente :	Mlle Nadia ARIBI	Pr. Université de Annaba.
Examinatrice :	Mme Wahida LOUCIF	Dr. Université de Annaba.
Examineur :	Mr Tarek DAAS	Pr. Université de Annaba.

Année universitaire 2011/2012

Remerciements

Je remercie Melle Nadia ARIBI, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui me fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Je remercie spécialement Mr Nouredine SOLTANI, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui m'a permis de mener à bien ce travail, pour sa patience, et son aide scientifique. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération.

Je remercie Mme Wahida LOUCIF, Docteur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.

Je remercie Mr Tarek DAAS, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui a bien voulu prendre part à ce jury, et examiner mon travail.

Je tien également à remercier tout les membres du laboratoire de Biologie Animale Appliquée qui m'ont aidé quant à l'utilisation du matériel de laboratoire. J'aimerais remercier tout particulièrement Rabah LARBA, Akila AMIRA, Nadjoua Louiza DOUAFER et Soumaya BELABED pour la patience dont ils ont fait preuve pour toutes les questions que je leur ai posées.

Dédicace

Je remercie Dieu pour la force et la patience qui m'a donné.

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère et mon père qui ont fait de leur mieux pour que je sois ce que je suis aujourd'hui.

Mon frère qui m'a enseigné beaucoup de choses.

Mes amies TAHRAOUI, KHELLOU et BELHAMRA qui m'ont soutenu.

HAMDI, qui m'a aidé et encouragé.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION.....	01
2. MATERIEL ET METHODES	06
2.1 Présentation des sites d'études	06
2.2 Analyses physico-chimique des sols	08
2.2.1 Texture	08
2.2.2 Matière organique	10
2.2.3 pH eau	11
2.2.4 Conductivité électrique	12
2.2.5 Calcaire	12
2.2.5.1 Calcaire total	12
2.2.5.2 Calcaire actif	13
2.2.6 Porosité	13
2.2.6.1 Densité apparente	14
2.2.6.2 Densité réelle	14
2.3 Inventaire des Gastéropodes	15
2.4 Indices écologiques	16
2.5 Mesure <i>in situ</i> des biomarqueurs	17
2.5.1 Dosage de l'acétylcholinestérase.....	18
2.5.2 Dosage du glutathion	20
2.6 Extraction et dosage des protéines	22
2.7 Modèle biologique testé	22
2.7.1 Taxonomie	22
2.7.2 Morphologie	23
2.7.3 Anatomie	23
2.7.4 Reproduction	26
2.8 Présentation de l'insecticide et traitement	27
2.9 Traitement statistique des données	28

3. RESULTATS	29
3.1 Analyses physico-chimique des sols	30
3.2 Inventaire des Gastéropodes dans les sites d'études	31
3.3 Indices écologiques	33
3.4 Mesure <i>in situ</i> des biomarqueurs... ..	37
3.5 Effet en laboratoire de l'Actara sur les biomarqueurs chez <i>H. aperta</i>.....	41
 4. DISCUSSION	 45
4.1 Inventaire des Gastéropodes terrestres	45
4.2 Indices écologiques	46
4.3 Mesure <i>in situ</i> des biomarqueurs	48
4.4 Effets du traitement insecticide.....	51
 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	 55
 6. RESUMES	 57
 7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
1	Statistiques des données climatiques sur 21ans (1990-2011). (<i>The Weather Network</i>).	8
2	Echelle de la texture selon Gauchers (1968).	9
3	Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Solter, 1981).	11
4	La gamme de pH des sols (Gaucher et Soltser, 1981).	11
5	Echelle de salinité du sol (Delaunois, 1976)	12
6	Classification des sols d'après leurs teneurs en calcaire (Duchauffour, 1970).	13
7	La gamme d'étalonnage des protéines.	22
8	Les paramètres physico-chimiques des différents sols des sites étudiés.	30
9	Les espèces de gastéropodes terrestres rencontrées dans les différents sites d'études du mois de décembre 2010 au mois de mai 2011.	31
10	Nombre d'individus (ni) des différentes espèces du peuplement.	33
11	Caractéristiques du peuplement des Gastéropodes par la richesse spécifique, la richesse moyenne et l'abondance.	35
12	Fréquence centésimale (F) dans les sites d'études.	36
13	La diversité (H') et l'équipartition (E).	36
14	Activité de l'ACHé ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n= 10$) chez <i>Helix aperta</i> en hiver et au printemps (2011) dans différents sites d'étude.	37

15	Dosage du GSH (μM / mg de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n= 10$) chez <i>Helix aperta</i> en hiver et au printemps (2011) dans différents sites d'étude.	39
16	Effet de l'Actara sur l'activité de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n= 10$) chez <i>H. aperta</i> . (Pour un même site, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ; $p > 0,05$).	41
17	Pourcentage d'inhibition de l'activité de l'AChE pour les deux doses (200mg matière active/l et 400mg matière active /l).	42
18	Effet de l'Actara sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n= 10$) chez <i>H. aperta</i> . (Pour un même site, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ; $p > 0,05$).	43
19	Pourcentage d'inhibition du taux du GSH pour les deux doses (200 et 400mg matière active /l).	43

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
1	Localisation géographique des sites d'étude.	7
2	Dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman <i>et al.</i> , 1961).	19
3	Dosage du glutathion (Weckberker & Cory, 1988).	21
4	<i>Helix aperta</i> jeune	23
5	<i>Helix aperta</i> adulte	23
6	Anatomie interne d'un escargot.	24
7	Diaphragme obstruant l'ouverture de la coquille	25
8	Bave sécrétée par l'escargot.	25
9	Accouplement de l'espèce.	26
10	Œufs pondus dans le sol à quelques centimètres de la surface.	26
11	Les escargots éclos remontent à la surface de la terre.	27
12	Structure chimique du thiaméthoxame : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4-imine.	27
13	<i>Cernuella virgata</i> (Da Costa, 1778)	32
14	<i>Cochlicella barbara</i> (Linnaeus, 1758)	32
15	<i>Dupotetia alabastra zonata</i> (Pallary, 1926)	32
16	<i>Helicella itala</i> (Linnaeus, 1758)	32
17	<i>Helix aperta</i> (Born, 1778)	32
18	<i>Helix aspersa</i> (Müller, 1774)	32

19	<i>Milax gagates</i> (Draparnaud, 1801)	32
20	<i>Milax nigricans</i> (Philippi, 1836)	32
21	<i>Otala lactea</i> (Müller, 1774)	32
22	<i>Poiretia cornea</i> (Brumati, 1838)	32
23	<i>Rumina decollata</i> (Linnaeus, 1758)	33
24	<i>Zebrina detrita</i> (Müller, 1774)	33
25	Structure des gastéropodes recensés au niveau des sites : (A) El Hadjar, (B) Annaba, (C) El Tarf, (D) El Kala, (E) Guelma.	34
26	Activité de l'acétylcholinestérase chez <i>Helix aperta</i> dans différents sites de l'Est algérien durant deux saisons en 2011 (A : Hiver; B : Printemps). Test de Tukey : les moyenne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$).	38
27	Taux du glutathion chez <i>Helix aperta</i> dans différents sites de l'Est algérien durant deux saisons en 2011 (A : Hiver; B : Printemps). Test de Tukey : les moyenne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$).	40

1. INTRODUCTION

L'utilisation des produits phytosanitaires a permis d'augmenter considérablement les rendements agricoles en réduisant les pertes dues aux ravageurs des cultures, mais cela n'a pas été sans contre partie. En effet, Carson (1962), dénonça pour la première fois la toxicité liée aux organochlorés. Cet ouvrage déclencha un renversement dans la politique nationale envers les pesticides. Par la suite, des études ont démontré l'accumulation des organochlorés dans l'environnement et la chaîne alimentaire. Par ailleurs, dans les années 70, des premiers travaux ont montré que les produits phytosanitaires peuvent aussi être transférés vers les eaux de surface et les eaux de profondeur (Schiavon & Jacquin, 1972; Schiavon & Jacquin, 1973). Une prise de conscience des pouvoirs publics dans le monde a entraîné en 1972 une interdiction des organochlorés aux Etats-Unis et en Europe (Merhi, 2008).

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement, principalement dans l'air par dérive sous forme de gouttelettes ou sur le sol (Pimentel, 1995). La vitesse d'infiltration des pesticides dans le sol dépend des caractéristiques physico-chimiques du sol (humidité, taux de matière organique, pH) et du pesticide (Merhi, 2008).

L'utilisation des invertébrés comme bioindicateurs de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques (Phillips, 1977) et terrestres (Eijsackers, 1983). Selon la définition générale de Spellerberg (2005), un indicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans lequel elle vit. Il doit pour cela répondre à un certain nombre de critères (Hopkin, 1993 ; Edward et *al.*, 1996) :

- Participer activement au fonctionnement de l'écosystème,
- Etre sédentaire, largement distribué et facile à identifier et à échantillonner,
- Etre bioaccumulateur,
- Etre tolérant aux fortes contaminations de l'environnement,
- Leur écologie et physiologie doivent être connues.

Plus récemment, on s'est intéressé à la faune du sol et notamment aux Escargots (Mollusques, Gastéropodes, Pulmonés) (Gimbert, 2006). Ils remplissent les critères précédemment développés et sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger & Dallinger, 1993 ; Corotet *et al.*, 1999). En effet, ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (Dallinger *et al.*, 2001) et occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (Barker, 2001). De plus, ils intègrent des sources et voies de contamination multiples et possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants organiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Sverdrup *et al.*, 2006). Enfin, ils représentent des réponses biochimiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006) quand ils sont exposés aux contaminants et constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beedy, 1985 ; Laskowski & Hopkin, 1996b ; Scheifler *et al.*, 2002a).

Les Escargots comptent parmi les nombreux outils biologiques utilisés par les chercheurs afin de caractériser les pollutions du sol, d'identifier ou de prévoir les atteintes aux écosystèmes et de suivre leur évolution dans le temps et l'espace. Ce gastéropode a la particularité de concentrer dans ses tissus des substances polluantes, tel que les insecticides. On le trouve presque partout. Il bioaccumule de nombreux contaminants (Coeurdassier *et al.*, 2001).

Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux plantes adventices pouvaient atteindre des proportions importantes (Oerke & Dehne, 1997). Les organophosphorés (insecticides de contact très

puissants) descendent des gaz neurotoxiques développés par les Allemands pendant la deuxième guerre mondiale. Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture et ont contribué à l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole.

De plus, certains experts estiment que l'augmentation des rendements des terres agricoles a permis de limiter la déforestation et donc de préserver 50% de la surface de la forêt actuelle en 50 ans (International Workshop on Crop Protection Chemistry, 2005).

Cependant, aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement. En effet, ils sont fréquemment mis en cause dans la dégradation de la qualité des eaux douces souterraines et des eaux côtières, dans la réduction de la biodiversité terrestre constatée dans les zones agricoles et dans les milieux naturels contaminés, ou bien encore dans des cas de surmortalité des abeilles et de baisse de production des ruches. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérogènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne des pesticides ont été mis rapportés chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (Merhi, 2008).

Des travaux antérieurs ont montré que la pollution métallique est prépondérante dans la région d'Annaba (Semadi & Deruelle, 1993 ; Abdenmour *et al.*, 2000 ; Beldi *et al.*, 2006). Les biomarqueurs constituent un outil biologique naturel qui peut signaler la pollution d'un milieu ainsi que la biodisponibilité des substances toxiques (Lam, 2009).

La présente étude utilise une espèce bioindicatrice de la pollution des sols *Helix aperta* (Born, 1778) (Mollusca, Gasteropoda) très abondante dans la région (Douafer, 2010) et vise à :

- 1/ Evaluer la pollution des sols de quelques sites de l'Est algérien.
- 2/ Tester la réponse de cette espèce en laboratoire à un insecticide organophosphoré (Actara), très utilisé par les agriculteurs, et ceci par la mesure de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) et du taux du glutathion (GSH). Le glutathion est un tripeptide

constitué d'acide glutamique, cystéine et glucine. Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, il participe avec le glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptides et prend part au métabolisme des xénobiotiques présents dans la majorité des tissus (Boyd, 2010). L'acétylcholinestérase (AChE) est le site cible d'inhibition essentiellement par les organophosphorés et les carbamates (Lam, 2009) et les métaux lourds (Amiard-Triquet *et al.*, 1998).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des sites d'études

Les sites d'études sont localisés dans le Nord Est algérien (Fig. 1). Ils sont définis comme suit :

El Hadjar : Position géographique : N 36,80350 ; E 7,74264 ; Altitude 1 mètre. C'est une daïra située à la périphérie de la ville d'Annaba qui a un grand complexe de sidérurgie, ArcelorMittal.

Annaba : Position géographique : N 36,86607 ; E 7,76367 ; Altitude 3 mètres. C'est une ville côtière, quatrième grande ville d'Algérie et est un pôle touristique et industriel important (Fertial, Ferovail). Son relief est constitué principalement de montagnes à vocation forestière : 52,16%, collines et piémonts : 25,82 % et plaines : 18,08% (Wikipedia, 2009). La région est richement arrosée (650 à 1000 mm/an), sa température moyenne est de 18 °C, la biomasse y est estimée à quelque 30.000 tonnes. Le potentiel agro-pédologique représente près de 58 600 ha. Près de 58% des terres cultivables se situent dans les zones de piémont. (Wikipedia, 2010).

El Tarf : Position géographique : N 36,776920 ; E 8,22185 ; Altitude 13 mètres. Ville urbaine. Elle abrite un lac de 15 ha appelé Lac Des Oiseaux, ce lac constitue une zone d'hivernage pour les oiseaux migrateurs qui trouvent leur plaisance.

El Kala : Position géographique : N 36,85490 ; E 8,33262 ; Altitude 8 mètres. C'est une ville côtière située à l'extrême Nord-Est de l'Algérie, en frontière avec la Tunisie, avec un très grand parc national (76 438 ha), qui est servi par un ensemble de conditions naturelles éminemment favorables à une richesse biologique peu commune (Benyacoub et Chabi, 2000).

Guelma : Position géographique : N 36,53554 ; E 7,46682 ; Altitude 307 mètres. Ville urbaine et agricole. Elle se situe au cœur d'une grande région agricole, entourée de montagnes (Maouna, Dbegh, Houara) ce qui lui donne le nom de ville assiette, sa région bénéficie d'une grande fertilité grâce notamment à l'Oued Seybouse et d'un grand barrage qui assure un vaste

périmètre d'irrigation (Wikipedia, 2009). Elle occupe aussi une position géographique stratégique en sa qualité de carrefour reliant le littoral des Wilaya de Annaba, El Tarf et Skikda, aux régions intérieures telles que les Wilaya de Constantine, Oum El Bouaghi et Souk-Ahras ; avec climat humide et subhumide, pluviométrie 450-600 mm/an ; ainsi qu'un important pôle industriel (wikipedia, 2009) avec : CYCMA (Complexe de fabrication cycles et cyclomoteurs), une raffinerie de sucre, une unité de céramique et vaisselle (ECVE), une conserverie Amor Benamor (CAB) et une semoulerie (Les Moulins Benamor).



Figure 1. Localisation géographique des sites d'étude (www.google maps.fr).

Caractères climatiques :

Le climat de nos sites d'étude est un climat méditerranéen en règle générale, avec de légères différences. On peut distinguer des saisons pluvieuses allant de l'automne jusqu'au printemps, et une saison sèche, l'été (Tableau 1).

Tableau 1. Statistiques des données climatiques sur 21 ans (1990-2011) (*The Weather Network*).

Données climatiques à Annaba.													
Mois	jan.	fév.	mar.	avr.	mai	jui.	jui.	aoû.	sep.	oct.	nov.	déc.	année
Température minimale moyenne (°C)	7	7	8	10	13	16	19	20	18	15	11	8	12
Température moyenne (°C)	11	12	13	15	18	21	24	25	23	20	15	12	17
Température maximale moyenne (°C)	15	16	17	19	22	26	29	30	28	24	20	16	22
Précipitations (mm)	100	70	70	40	30	10	0	10	30	70	60	100	630

2.2. Analyses physico-chimiques des sols

Préparation du sol

Des échantillons de sol, d'environ 1kg, sont prélevés des sites d'études des sites d'études sont ramenés au laboratoire et séchés, à l'air libre sur du papier journal, pendant quelques jours ; puis une grande partie a été broyée et tamisée à 2 mm. Le reste (agrégats) est gardé tel quel pour les tests de porosité.

2.2.1. Texture :

Elle est réalisée selon la technique de Gaucher (1968) basée sur la méthode par saturation, qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (Y) et à le comparer à une échelle donnée (Tableau 2).

- Prendre 50 g de sol qu'on imbibe d'eau, goutte à goutte, tout en mélangeant jusqu'à ce que la pâte soit luisante, et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient, puis :
- Peser une capsule vide (P 1).
- Prélever une quantité de pâte (sol mouillé) et la mettre dans la capsule puis on repèse (P2).
- Sécher à l'étuve à 150°C pendant 24 heures.
- Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P3), qui correspond au poids de la capsule vide plus le poids du sol sec.

La texture est mesurée selon la formule suivante :

$$\begin{aligned} X1 &= P2-P3 \text{ (poids de l'humidité).} \\ X2 &= P3-P1 \text{ (poids du sol sec)} \end{aligned}$$

P1 : poids de la capsule vide (g)

P2 : poids de la capsule + sol mouillé (g)

P3 : correspond au poids de la capsule vide + le poids du sol sec après la sortie de l'étuve (g)

Pour calculer le pourcentage d'humidité :

$$\begin{aligned} X1 &\longrightarrow X2 \text{ g de sol sec} \\ Y &\longrightarrow 100 \text{ g de sol sec} \end{aligned}$$

Enfin, on compare (Y) au tableau 2 suivant pour déterminer la texture.

Tableau 2. Echelle de la texture selon Gauchers (1968).

Pourcentage d'humidité (%)	Texture
<12	Sableuse
12-24	Sablo-limoneuse
24-37,5	Limono-sableuse
37,5-45	Limono-argileuse
45-75	Argilo-limoneuse
75<	Argileuse

2.2.2. Matière organique :

Elle est déterminée selon les étapes suivantes :

On met 0,5 g de sol dans un Erlenmeyer, on ajoute 10 ml de bichromate de potassium (8%) avec 15 ml d'acide sulfurique concentré. On laisse bouillir pendant 5 mn sur une plaque chauffante, après refroidissement on transpose le contenu dans une fiole de 100ml et on ajoute de l'eau jusqu'au trait de jauge. On prend 20 ml de la solution, on ajoute 100 ml d'eau distillée ainsi que 2 à 3 gouttes de diphénylamine et une pincée de Naf. On titre la solution avec le sel de Mohr (0,2 N) jusqu'à ce que la solution vire de la couleur violette à la couleur verte, la quantité de sel de Mohr utilisée est **X**.

On fait un témoin dans les mêmes conditions que l'échantillon, mais sans sol, et **Y** est la quantité de sel de Mohr utilisée pour le titrage du témoin (Tableau 3). La matière organique est calculée à partir de la relation suivante :

$$\text{Le pourcentage de carbone} = (Y-X) \times 0,615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000).$$

Y : la quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer le témoin.

X : la quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer l'échantillon.

0,615 : facteur d'équivalence entre le sel de Mohr et le carbone (en mg)

100/20 : on utilise 20ml à partir de 100 ml.

P : poids du sol sec (1g).

$$\text{Le pourcentage de matière organique dans le sol} = C (\%) \times 1,72$$

1,72 : coefficient de passage du carbone à la matière organique.

Tableau 3. Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Solter, 1981).

% de la matière organique	Appréciation
< 1	Extrêmement faible
1 -1,5	Très faible
1,5 -2,5	Faible
2,5 -3,5	Moyen
3,5 -4,5	Moyennement élevé
4,5 -5	Elevé
5<	Très élevé

2.2.3. pH eau :

C'est la mesure de l'acidité d'une suspension de terre dans de l'eau, avec un rapport terre /eau normalisée (1 /5). Il indique aussi la concentration en ions H^+ présents dans l'eau (Morel, 1986). Le mélange est agité deux heures dans un agitateur mécanique. La lecture du pH se fait sur un pH mètre. On compare les valeurs du pH selon l'échelle de Gaucher (Tableau 4).

Tableau 4. La gamme de pH des sols (Gauchers et Solter, 1981).

pH	Désignation des sols
3 - 4,5	Extrêmement acides
4,5 – 5	Très fortement acides
5 - 5,5	Très acides
5,5 – 6	Acides
6 - 6,75	Faiblement acides
6,75 - 7,25	Neutres
7,25 - 8,5	Alcalins
8,5	Très alcalins

2.2.4. Conductivité électrique :

La conductivité électrique est la mesure du degré de salinité du sol étudié. Avec un rapport terre /eau normalisée (1/5). La lecture se fait à l'aide d'un conductimètre (Delaunois, 1976). Les valeurs sont comparées à une gamme de salinité (Tableau 5).

Tableau 5. Echelle de salinité du sol (Delaunois, 1976).

Conductivité électrique (ms/cm)	Salure
0 -0,6	Non salé
0,6 -1,4	Peu salé
1,4 -2,4	Salé
2,4 -6	Très salés

2.2.5. Calcaire :

C'est la mesure du pourcentage de calcaire contenu dans le sol, selon la méthode de Duchaufour (1970). On a deux types de calcaire :

2.2.5.1. Calcaire total :

On pèse 5 g de sol, qu'on met dans un Erlenmeyer puis on ajoute : 10 ml d'acide sulfurique et 50 ml d'HCl (0,5 N). On met l'Erlenmeyer sur une plaque chauffante, qu'on couvre. On retire de la plaque à la formation de la première goutte de vapeur sur le couvercle. On laisse refroidir et filtre la solution. On prélève 20 ml du filtrat, on le verse dans un bécher, on ajoute 2 gouttes de phénophtaléine ; on titre le mélange par NaOH (1N) jusqu'à ce que la solution vire au rose. Le calcaire total est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ CaCO}_3 = \frac{50 \text{ ml (HCl)} \times 0,5 \text{ N} - X \text{ ml (NaOH)} \times 0,25}{5 \text{ g (Poids du sol)}} \times 5$$

2.2.5.2. Calcaire actif :

On met 10g de sol dans un flacon avec 250 ml d'oxalate d'ammonium (0,2N), qu'on agite pendant 2 heures à l'aide d'un agitateur mécanique. On filtre la solution et on prélève 9 ml du filtrat, on complète par 1ml d'acide sulfurique pur et on titre le mélange par le permanganate de potassium (KMnO_4) (1N) sur un agitateur magnétique chauffant réglée à 60°C jusqu'à l'obtention d'une coloration en rose.

Le calcaire actif est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ Teneur de calcaire actif} = (N-n) \times 12,5$$

N : quantité de permanganate de potassium nécessaire pour titrer le témoin

n : permanganate de potassium nécessaire pour titrer l'échantillon.

On classe les sols selon la teneur en calcaire (Tableau. 6).

Tableau 6. Classification des sols d'après leurs teneurs en calcaire (Duchauffour, 1970).

Calcaire en %	Désignation des sols
0 -5	Peu calcaire
5 -15	Moyennement calcaire
15 -30	Calcaire
> 30	Très calcaire

2.2.6. Porosité :

La détermination de la porosité totale des petits agrégats de terre conduit à l'évaluation de la porosité texturale, ou l'estimation de la porosité minimale d'assemblage. Selon Delaunois (1976), la porosité structurale comprend deux paramètres, la densité apparente (D_a) et la densité réelle (D_r).

2.2.6.1. Densité apparente :

On entoure de fil à coudre de poids négligeable un agrégat de sol (de 10 à 15 g), on le met dans l'étuve pendant 24 heures à une température de 105 ° C, puis on pèse l'agrégat (P1). On le plonge dans une solution de paraffine dissoute, puis on pèse l'échantillon avec la paraffine (P2). Ensuite on replonge l'agrégat dans une éprouvette de 100 ml contenant un volume (Vt) de 50 ml d'eau distillée, et on note le changement de volume V2 (d'agrégat + paraffine).

La densité apparente « **Da** » est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Densité apparente (g/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Masse de l'échantillon}}{\text{Volume de l'échantillon}}$$

2.2.6.2. Densité réelle :

Elle exprime la densité des éléments constituant la phase solide du sol ; la Dr représente la masse du solide / le volume du solide et est généralement comprise entre 2,5-2,6 g/cm³ (Morel, 1989).

La densité réelle (Dr) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Densité réelle (g/cm}^3\text{)} = \frac{\text{Masse du sol}}{\text{Volume du sol}}$$

La porosité est le rapport du volume des vides au volume total ; elle peut être exprimée par la formule suivante :

$$\text{Porosité (\%)} = 1 - \frac{\text{Densité apparente}}{\text{Densité réelle}} \times 100$$

La porosité doit être en relation avec la texture (Morel, 1989):

- Texture sableuse : porosité > 30 %.
- Texture sablo – limoneuse : porosité assez forte 20 - 30 %.
- Texture sablo – argileuse: porosité assez faible 10 - 20%.
- Texture Argileuse: porosité faible < 10%.

2.3. Inventaire des Gastéropodes :

Les Gastéropodes forment la plus importante classe des Mollusques avec 90 000 espèces connues (Leveau, 2001). Les méthodes d'identification décrites par Bonnet *et al.* (1990) et Chevalier (1992) se basent sur le nombre de bandes spirales au niveau des coquilles ainsi que la couleur et la forme des coquilles.

Les Gastéropodes sont caractérisés par une coquille univalve spiralée, un pied aplati dont la face inférieure sert à la locomotion, une tête bien distincte où s'ouvre la bouche et portant des organes sensoriels, et par une masse viscérale située dorsalement, enveloppée par le manteau et protégée par la coquille (Gaillard, 1991). La classe des gastéropodes se divise en 3 sous-classes (Gaillard, 1991 ; Grizimek & Fontaine, 1973) qui sont :

- Les Pulmonés, qui constituent la quasi-totalité des Gastéropodes, avec ou sans coquille, habitant les domaines terrestres et les eaux douces (Gaillard, 1991). Ce sont les seuls Mollusques bénéficiant d'une respiration pulmonaire. Ils sont fréquemment hermaphrodites (Grizimek & Fontaine, 1973).
- Les Prosobranches représentent la quasi-totalité des Gastéropodes marins à coquille (Gaillard, 1991). Ils correspondent à la description du Gastéropode typique, à coquille spiralée ou non, et dissymétrique dans son anatomie (Grizimek & Fontaine, 1973).
- Les Opisthobranches constituent la totalité des Gastéropodes marins adaptés à la vie benthique littorale ou à la vie pélagique (Gaillard, 1991). Certains possèdent une coquille, mais la grande majorité a un aspect limaciforme (Grizimek & Fontaine, 1973).

L'inventaire c'est fait par la collecte de Gastéropodes terrestres dans différents écosystèmes terrestres, qui ont été ramené au laboratoire pour identification et dénombrement. Durant la période allant du mois de Décembre 2010 jusqu'au mois de Mai 2011, un relevé par mois a été établis dans les différents sites d'étude.

2.4. Indices écologiques :

Un peuplement peut être caractérisé par sa composition taxonomique mais aussi par sa densité, sa richesse, sa diversité spécifique. Les indices suivants ont été déterminés :

Abondance (ni) : c'est le nombre d'individus d'une espèce.

Richesse totale (S) : c'est le nombre total des espèces recensées dans un peuplement.

Richesse moyenne (s) : c'est la moyenne des richesses stationnelles ou richesse par relevé. Ce paramètre exprime le nombre d'espèces les plus représentatives du milieu au sens de la fréquence de leur présence.

La fréquence relative (f) : c'est le nombre d'individus d'une espèce sur le nombre total d'espèces. $f = ni/N$ où :

ni : abondance spécifique de l'espèce i.

N : abondance du peuplement.

La fréquence d'occurrence ou centésimale (F) : c'est le pourcentage du nombre de relevés où une espèce est présente sur le nombre total de relevés. On considère qu'une espèce est accidentelle ($F \leq 25\%$), accessoire ($25\% \leq F \leq 50\%$), régulière ($50\% \leq F \leq 75\%$), constante ($75\% \leq F \leq 100\%$), omniprésente ($F = 100\%$).

$$F = ri/R \times 100$$

ri : nombre de relevés dans lequel l'espèce i est présente.

R : nombre total de relevés.

La diversité (H') : la diversité d'un peuplement exprime le degré de complexité de ce peuplement. Elle s'exprime par un indice qui intègre à la fois, la richesse du peuplement et les abondances spécifiques. Parmi les indices disponibles permettant d'exprimer la structure du peuplement, nous avons retenu celui de Shannon et Weaver (1963).

$$\begin{array}{c}
 \mathbf{i = n} \\
 \mathbf{H' = -\sum_{i=1}^n P_i \text{Log}_2 P_i} \\
 \mathbf{i = 1}
 \end{array}
 \quad \text{où} \quad
 \mathbf{P_i = n_i/N}
 \quad
 \mathbf{\text{Log}_2 P_i = \text{Log } p_i \times 3,322}$$

ni : effectif de l'espèce i.

N : effectif total du peuplement.

H' est exprimé en Bit (Binary digit).

Cet indice mesure le degré de complexité d'un peuplement. Une valeur élevée de cet indice correspond à un peuplement riche en espèces dont la distribution d'abondance est équilibrée. Par contre une valeur faible de cet indice correspond soit à un peuplement caractérisé par un petit nombre d'espèces pour un grand nombre d'individus, soit à un peuplement dans lequel il y a une espèce dominante.

L'équitabilité ou équipartition :

Des peuplements à physionomie très différente peuvent ainsi avoir la même diversité. Il est nécessaire de calculer parallèlement à l'indice de diversité H', l'équitabilité (E) en rapportant la diversité observée à la diversité théorique maximale (H' max).

$$\mathbf{E = H'/H' \text{ max}} \quad \text{où} \quad \mathbf{H' \text{ max} = \text{Log}_2 S}$$

L'équitabilité varie de 0 à 1 ; elle tend vers 0 quand la quasi totalité des effectifs est concentrée sur une espèce, elle tend vers 1 lorsque toutes les espèces ont une même abondance, cas théorique dans la mesure où il existe toujours des espèces rares dans un peuplement.

2.5. Mesure *in situ* des biomarqueurs :

Les dosages ont été effectués sur des individus vivants, récoltés en hiver et au printemps. Après dissection, la tête et hépatopancréas sont prélevés. Le dosage des biomarqueurs GSH et AChE est effectué respectivement au niveau des tissus de

l'hépatopancréas et de la tête. Les résultats sont exprimés par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon Bradford (1976).

2.5.1. Dosage de l'acétylcholinestérase :

Le dosage de l'AChE a été effectué selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) décrite précédemment (Sifi *et al.*, 2007). Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm. La mise au point d'un réactif spécifique des groupements thiols, le DTNB a permis la réalisation d'un protocole qui utilise comme substrat de la réaction un dérivé soufré de l'acétylcholine, dont l'hydrolyse libère des groupements sulfhydriques quantifiable par spectrophotométrie.

Le principe de la réaction est décrit ci-après :



Les fragments de tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra acétique), 1ml Triton X 100% 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)] à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrasons, puis centrifugés (9000 tours /mn pendant 15 mn) (fig. 2) ; le surnageant récupéré servira pour la mesure de l'activité de l'AChE. Celle-ci est déterminée comme suit :

Une fraction aliquote de 100 μ l de surnageant sont additionnées à 100 μ l de DTNB (0,1 M, pH 8) [(39,6 mg de DTNB, 15 mg CO_3HNa) dans 10 ml du Tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml du tampon Tris (0,1 M, pH 7) ; 3 à 5 minutes sont nécessaires pour épuiser la réaction spontanée. 100 μ l du substrat Acétylthiocholine iodide (118 mg d'acétylthiocholine dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 mn contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente. Les résultats obtenus ont été exprimés en $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines.

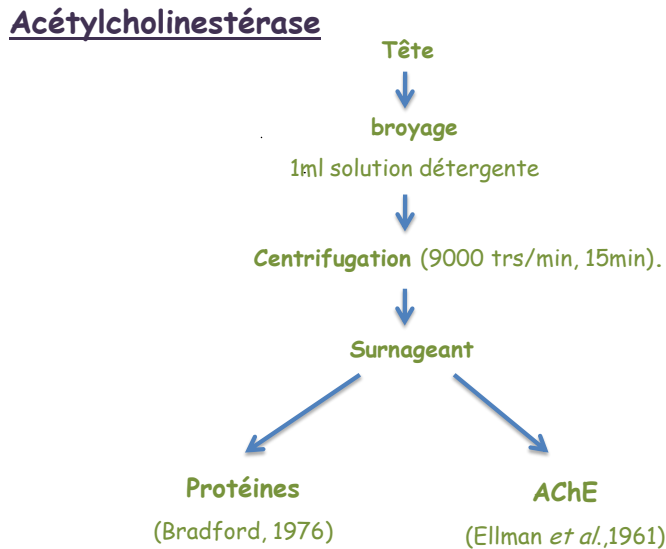


Figure 2. Dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961).

La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 mn contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente. Les résultats obtenus ont été exprimés en $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines.

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta\text{DO}/\text{mn}}{1,36 \times 10^4} \times \frac{V_t}{V_s} \quad \text{mg de protéines}$$

X : activité spécifique de l'AChE en micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines.

ΔDO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

$1,36 \times 10^4$: Coefficient d'extinction molaire du DNTB.

V_t : volume totale de la cuve : 1,3 ml (0,1 ml surnageant+ 0,1ml DNTB + 1ml Tampon Tris (0,1 M, pH 7) + 1 ml acétylthiocholine).

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

mg de protéines : Concentration de l'homogénat en protéine (mg /g de tissu).

2.5.2. Dosage du glutathion :

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, cystéine et glucine. Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, il participe avec le glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptides et prend part au métabolisme des xénobiotiques présents dans la majorité des tissus. Le glutathion joue un rôle principal dans la réduction de tout peroxyde organique, en présence de glutathion peroxydase (GPx).

Le glutathion est extrait de l'hépatopancréas et dosé selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) écrite précédemment (Zaidi & Soltani, 2011) (fig. 3). Cette méthode repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque (DTNB) (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion. Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1ml d'une solution d'éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M [7,4448 g EDTA dans 1000 ml d'eau distillée] à l'aide d'un ultrason. Afin de protéger les groupements thiol du glutathion l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25% [0,25 g d'ASS dans 100 ml d'eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange est agité et laissé pendant 15 mn dans un bain de glace, puis centrifugé à 1000 tours/mn pendant 5 mn.

Une fraction aliquote (500 µl) du surnageant récupéré est ajouté à 1ml du tampon tris-EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g Tris, 7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96g DTNB dans 1000 ml méthanol absolu]. Le mélange est laissé pendant 5 mn à température ambiante pour la stabilisation de la couleur, contre un blanc où les 500 µl du surnageant sont remplacés par 500 µl eau distillée. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm dans un spectrophotomètre.

Glutathion

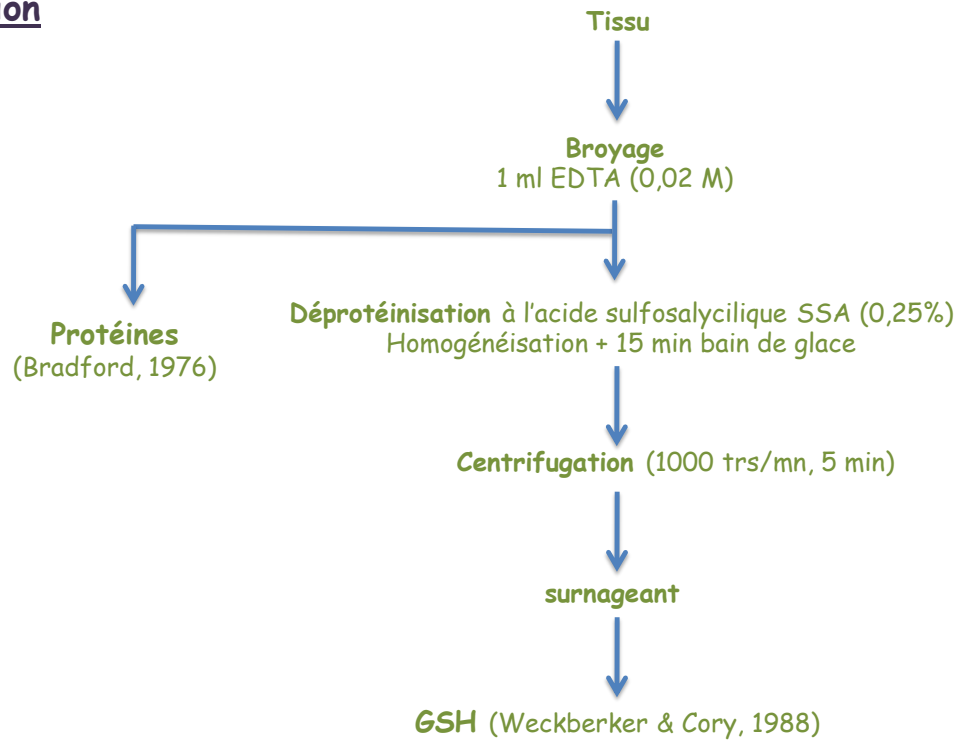


Figure 3. Dosage du glutathion (Weckberker & Cory, 1988).

Le taux de glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{Do \times Vd \times Vt}{13,1 \times Vh \times Vs} \text{ /mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (μM/ mg de protéines)

DO : densité optique après hydrolyse du substrat.

Vd: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation du (0,2ml ASS + 0,8ml homogénat).

Vt : le volume total des solutions utilisées (0,025 ml DTNB +0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA) : 1,525 ml.

13,1 : coefficient d'absorbance (concernant le groupement –SH à 412 nm).

Vh : le volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vs : le volume du surnageant utilisé : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité des protéines exprimé en mg.

2.6. Extraction et dosage des protéines :

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976). Le dosage s'est effectué sur une fraction aliquote de 0,1ml de l'homogénat avec 4 ml de Bleu Brillant de Coomassie (BBC) (G250, Sigma) comme réactif (100 mg de BBC, 50 ml d'éthanol (95%), 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et complété à 1000 ml par l'eau distillée). L'albumine sérum de bœuf (BSA), (Sigma, France) a été utilisée comme standard. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm dans un spectrophotomètre et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de bœuf (1 mg/ml) (Tableau. 7).

Tableau 7. La gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif (BBC) (ml)	4	1	4	4	4	4

2.7. Model biologique testé :**2.7.1. Taxonomie (Born, 1778) :****Règne :** Animalia**Embranchement :** Mollusca**Classe :** Gasteropoda**Ordre :** Stylomatophora**Famille :** Helicidea**Genre :** *Helix***Espèce :** *aperta*



Figure 4. *Helix aperta* jeune (1cm - 6,67mm).



Figure 5. *Helix aperta* adulte (1cm - 6,75mm).

2.7.2. Morphologie :

Helix aperta est un escargot terrestre de grosseur moyenne de 13,46 mm de hauteur pour un diamètre de 22,37 mm, avec un poids moyen de 4,28 g. Les jeunes ont une coquille jaune-vert et le corps beige-jaune (Fig.4), qui vont s'assombrir à l'âge adulte, la coquille est uniformément brune et le corps est presque noir (Fig. 5). Le corps d'*H. aperta* est constitué de 3 grandes parties : la tête, le pied, et les viscères sous la coquille. La tête est munie le plus souvent de deux paires de tentacules. La première paire de tentacules porte les yeux tandis que la seconde située en dessous est munie d'un organe olfactif et tactile.

2.7.3. Anatomie :

Le tube digestif débute par le bulbe buccal, au plancher duquel se situe l'appareil radulaire dont la partie active, la radula, est animée par une forte masse musculaire. L'œsophage reçoit les conduits de deux glandes salivaires. Quant aux canaux de l'hépatopancréas (qui est une volumineuse glande digestive) ils se déversent dans l'estomac (Gaillard, 1991) (Fig. 6).

Le système nerveux comprend deux ganglions cérébroïdes, situés au dessus de l'œsophage. Deux colliers partent de ces ganglions : l'un rejoint les ganglions pédieux, l'autre, plus externe, les ganglions pleuro-viscéraux et viscéraux. Les organes des sens sont les yeux, les tentacules sensorielles portés sur la tête et les statocystes situés dans le pied (Gaillard, 1991).

Concernant leur appareil circulatoire, les Gastéropodes possèdent un cœur. Celui-ci se trouve dans le tiers postérieur du corps et commande la circulation du liquide sanguin (appelé hémolymphe, car il correspond à la fois au sang et à la lymphe des Vertébrés). Il n'existe pas de vaisseaux sanguins proprement dits, par conséquent l'hémolymphe circule dans les interstices des organes de la cavité viscérale (Grzimek & Fontaine, 1973). L'escargot se fie peu à sa vue pour se déplacer. Il utilise le plus souvent ses cornes inférieures pour tâter le terrain, flairer sa nourriture et détecter les dangers. Pour se déplacer, l'escargot utilise son pied élargi en un disque reptateur. Ce pied qui est en fait un énorme muscle capable de se contracter et de s'allonger n'autorise qu'un déplacement vers l'avant.

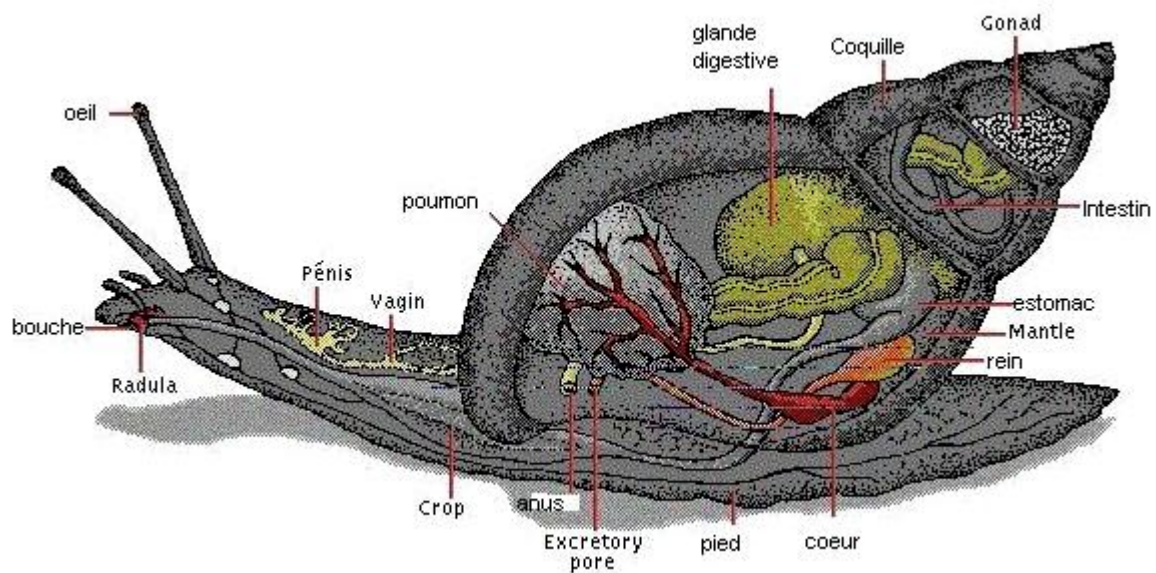


Figure 6. Anatomie interne d'un escargot.

Pour aider à son déplacement, l'escargot sécrète différents types de mucus. Cette bave est composée de nombreux éléments chimiques comme de l'allantoïne, du collagène, de l'élastine. La bave permet à l'escargot de mieux glisser sur des surfaces accidentées et de mieux s'accrocher sur des surfaces planes ou verticales (www.aujardin.info). En hiver quand les températures sont basses il se terre à quelques centimètres de la surface ou bien il ferme sa coquille à l'aide d'un mucus calcaire que sécrète le foie et qui se durcit à l'air; cet opercule

s'appelle l'épiphragme (fig. 7). En été aussi, quand les températures augmentent il obstrue son ouverture pour estiver et évité la dessiccation.



Figure 7. Diaphragme obstruant l'ouverture de la coquille (1cm - 4,08mm).

Quand il se sent en danger il a alors un moyen surprenant pour se défendre, il produit un bruit aigue et inhabituel pour un animal comme lui, il « pompe » de l'air qu'il expulse en sécrétant aussi une grande quantité de mucus (Fig. 8). La production de bruit inhabituel et puissant, est une stratégie plus efficace que de se réfugier dans sa coquille qui a une large ouverture qui laisse apparaître une grande partie de son pied.

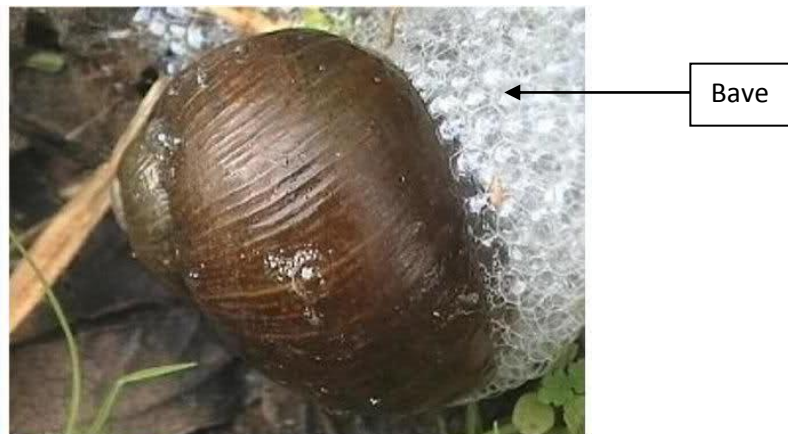


Figure 8. Bave sécrétée par l'escargot.

2.7.4. Reproduction :

La reproduction des gastéropodes est toujours sexuée (Fig. 9). La fécondation est interne dans le corps maternel et la transmission des spermatozoïdes assurée par des organes copulateurs (Zhao *et al.*, 1994). La ponte s'effectue sous terre (Fig. 10). Dès les premiers jours d'incubation, l'embryon élabore une coquille protéique qui se calcifie au cours de son développement. En condition naturelle l'incubation varie de 15 à 30 jours, il se libère par rupture de la membrane externe de l'œuf qu'il consomme. Le nouveau né à une coquille transparente (fig. 11), il attend qu'elle jaunisse et se solidifie dans le nid de ponte (6 à 10 jours) (Bertrand-Renault, 2004).

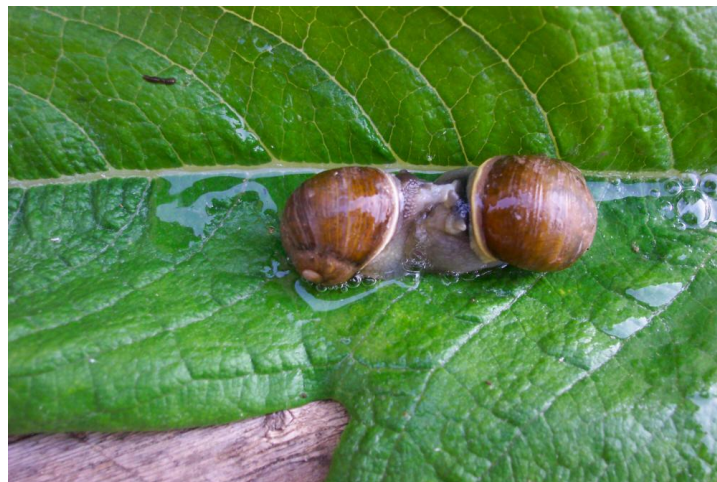


Figure 9. Accouplement de l'espèce (1cm - 12,57mm).



Figure 10. Œufs pondus dans le sol à quelques centimètres de la surface (1cm - 3,33mm).



Figure 11. Les escargots éclos remontent à la surface de la terre (1cm - 5mm).

2.8. Présentation de l'insecticide et traitement :

Présentation de l'insecticide : L'Actara est insecticide découvert par la société Ciba (maintenant Syngenta AG) en 1991 (Senn *et al.*, 1998). Cet organophosphoré fait partie de la classe des néonicotinoïdes ; ces derniers fonctionnent comme l'acétylcholine un neurotransmetteur, et se fixent sur son récepteur au sein des synapses des cellules nerveuses modifiant ainsi l'influx nerveux. L'actara a un large spectre d'action sur de nombreuses cultures. Il est utilisé pour éliminer les pucerons et les doryphores. Il a une formulation granulée avec 25% de thiaméthoxame (l'ingrédient actif) (Fig. 12). Une fois les insectes se nourrissent sur la plante ou entrent en contact avec le thiaméthoxame, l'alimentation est irréversiblement arrêtée.

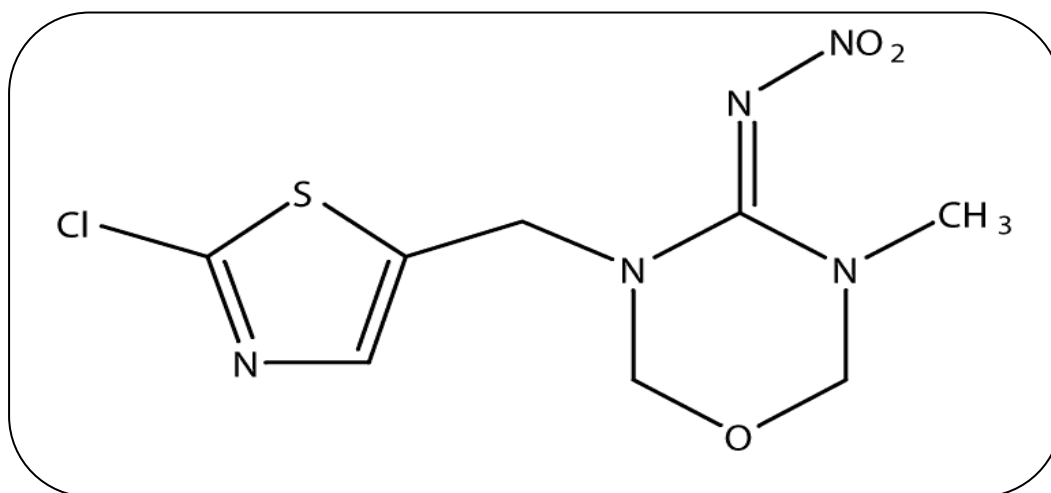


Figure 12. Structure chimique du thiaméthoxame : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-méthyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4-imine.

Traitement : Pour chaque traitement insecticide, des boîtes en plastiques (de 2 litres de capacité chacune) ont été placées au niveau du laboratoire. L'ouverture de chaque boîte a été bien couverte avec un tissu filet fixé avec une bande d'élastique. Des individus d'*H. aperta* ont été récoltés, durant les saisons hiver et printemps, des différents sites étudiés, puis ramenés au laboratoire. Une analyse biométrique nous a permis de classer les individus par corpulence. Des lots de 10 escargots, de taille similaire ($13,46 \pm 2,23$ mm de hauteur de coquille pour un diamètre de coquille de $22,37 \pm 2,49$ mm, avec un poids moyen de $4,28 \pm 1,49$ g) sont placés dans les différentes boîtes.

Des essais préliminaires ont été réalisés et deux doses : 200 mg et 400 mg de matière active par litre d'eau distillée ont été retenues dans nos essais. Des feuilles de laitue fraîches sont plongées dans la solution de l'insecticide, puis séchées à l'air libre, durant 2 heures, et présentées aux animaux, préalablement mis à jeun. L'opération est renouvelée tous les jours. L'essai est conduit avec trois répétitions. Les analyses biochimiques (biomarqueurs, protéines) ont été faites après 96 heures de traitement.

2.9. Traitement statistique des données :

Les données sont représentées par la moyenne et l'écart type ($m \pm SD$). Les différents tests statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB (Version 13.31, Penn State College, PA, USA) disponible au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée. La quantification des protéines est réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage dont l'équation exprime les absorbances en fonction de la quantité d'albumine standard. Le test de Tukey a été utilisé pour l'analyse statistique des données.

3. RESULTATS

3.1. Analyses physico-chimiques des sols :

Les résultats montrent que les sols des différents sites ont une texture argilo-limoneuse. La matière organique dans les sols est en moyenne bien présente. Le taux enregistré varie de 2,70% à 18,88% ; à El-Kala le taux est très élevé avec 18,88%, à El-Hadjar le taux est moyen avec 2,7%. Le pH est alcalin pour les sols d'El Hadjar, Annaba, El Tarf, et très alcalin à El Kala ; à Guelma le pH est faiblement acide. La conductivité électrique est pour tous les sols inférieure à 0,6 μ S. Les différents sites ont des sols calcaires pour ce qui est du calcaire total mais aussi pour le calcaire actif ; le calcaire actif du sol de Guelma est très calcaire avec 33,75%. La porosité est faible pour El Tarf avec 8,07% ; en revanche, elle est assez faible pour le reste des sites (Tableau 8).

Tableau 8. Les paramètres physico-chimiques des différents sols des sites étudiés.

Paramètres	El-Hadjar	Annaba	El-Tarf	El-Kala	Guelma
Texture (%)	65,29 argilo- limoneuse	63,13 argilo- limoneuse	49,16 argilo- limoneuse	55,37 argilo- limoneuse	55,17 argilo- limoneuse
Matière organique (%)	2,70 moyenne	4,97 élevée	4,57 élevée	18,88 très élevée	4,63 élevée
pH eau	7,82 alcalin	8,06 alcalin	7,63 alcalin	8,84 très alcalin	6,36 acide faible
Conductivité électrique (μS)	0,58	0,13	0,38	0,07	0,14
Calcaire total (%)	23,02 calcaire	19,83 calcaire	23,72 calcaire	19,75 calcaire	24,73 calcaire
Calcaire actif (%)	16,25 calcaire	20 Calcaire	27,5 calcaire	24,38 calcaire	33,75 très calcaire
Porosité (%)	12,12 assez faible	15,59 assez faible	08,07 faible	12,00 assez faible	12,36 assez faible

3.2. Inventaire des Gastéropodes dans les sites d'études :

Les méthodes d'identification et de classification des Gastéropodes Pulmonés avec les clés utilisées décrites par Bonnet *et al.* (1990) et Chevallier (1992) se basent sur le nombre de bandes spiralés au niveau des coquille, ainsi que la couleur et la forme de ces dernières. Le nombre total d'espèces retrouvées et identifiées dans les sites d'étude est de 12 espèces, leur répartition en famille est comme suit : Cochlicellidae (*Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758)), Hygromiidae (*Helicella itala* (Linnaeus, 1758), *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778)), Helicidae (*Dupotetia alabastra zonata* (Pallary, 1926), *Helix aperta* (Born, 1778), *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Otala lactea* (Müller, 1774)), Milacidae (*Milax nigricans* (Philippi, 1836), *milax gagates* (Draparnaud, 1801)), Subulinidae (*Rumina decollata* (Linnaeus, 1758)), Enidae (*Zebrina detrita* (Müller, 1774)) et Oleacinidae (*Poiretia cornea* (Brumati, 1838)) (Tableau. 9).

Tableau 9. Les espèces de gastéropodes terrestres rencontrées dans les différents sites d'études du mois de décembre 2010 au mois de mai 2011.

Familles	Genres	Espèces de gastéropodes terrestres
Cochlicellidae	<i>Cochlicella</i>	<i>barbara</i> (Linnaeus, 1758).
Hygromiidae	<i>Helicella</i>	<i>itala</i> (Linnaeus, 1758).
	<i>Cernuella</i>	<i>virgata</i> (Da Costa, 1778).
Helicidae	<i>Dupotetia</i>	<i>alabastra zonata</i> (Pallary, 1926).
	<i>Helix</i>	<i>aperta</i> (Born, 1778).
		<i>aspersa</i> (Müller, 1774).
	<i>Otala</i>	<i>lactea</i> (Müller, 1774).
Milacidae	<i>Milax</i>	<i>gagates</i> (Draparnaud, 1801).
		<i>nigricans</i> (Philippi, 1836).
Subulinidae	<i>Rumina</i>	<i>decollata</i> (Linnaeus, 1758).
Enidae	<i>Zebrina</i>	<i>detrita</i> (Müller, 1774).
Oleacinidae	<i>Poiretia</i>	<i>cornea</i> (Brumati, 1838).



Figure 13. *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778) (1cm = 3mm).



Figure 14. *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758) (1cm = 1,4mm).



Figure 15. *Dupotetia alabastrazonata* (Pallary, 1926) (1cm= 7mm).



Figure 16. *Helicella itala* (Linnaeus, 1758) (1cm = 4,5mm).



Figure 17. *Helix aperta* (Born, 1778) (1cm = 8mm).



Figure 18. *Helix aspersa* (Müller, 1774) (1cm = 17,7mm).



Figure 19. *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) (1cm = 13mm).



Figure 20. *Milax nigricans* (Philippi, 1836) (1cm = 12mm).



Figure 21. *Otala lactea* (Müller, 1774) (1cm = 5,8mm).



Figure 22. *Poirotia cornea* (Brumati, 1838) (1cm = 10,7mm).



Figure 23. *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) (1cm = 5,9mm).



Figure 24. *Zebrina detrita* (Müller, 1774) (1cm = 3,7mm).

3.3. Indices écologiques :

Les indices écologiques étudiés sont les indices de composition et les indices de structures suivants: l'abondance, la richesse totale, la richesse moyenne, la fréquence relative, la fréquence d'occurrence, la diversité et l'équitabilité.

Le nombre d'individus des différentes espèces est très variable. Les espèces retrouvées en grand nombre dans tous les sites sont *Helix aspersa* et *Helix aperta*, de 10 à 70 individus sont récoltés par site. Par contre, une espèce n'est retrouvée qu'une seule fois à El Kala c'est *Poiretia cornea*. Seulement deux individus de la limace *Milax gagates* sont retrouvés à Annaba (Tableau.10).

Tableau 10. Nombre d'individus (ni) des différentes espèces du peuplement.

Espèces \ sites	El Hadjar	Annaba	El Tarf	El Kala	Guelma
<i>C. virgata</i>	7	1	21	44	3
<i>C. barbara</i>	35	24	4	11	1
<i>D. alabastra zonata</i>	1	0	19	28	0
<i>H. itala</i>	26	3	14	5	0
<i>H. aperta</i>	69	35	10	70	53
<i>H. aspersa</i>	39	48	16	40	51
<i>M. gagates</i>	0	2	0	0	0
<i>M. nigricans</i>	2	0	0	4	0
<i>O. lactea</i>	33	4	0	23	30
<i>P. cornea</i>	0	0	0	1	0
<i>R. decollata</i>	1	5	0	7	1
<i>Z. detrita</i>	0	0	0	3	0

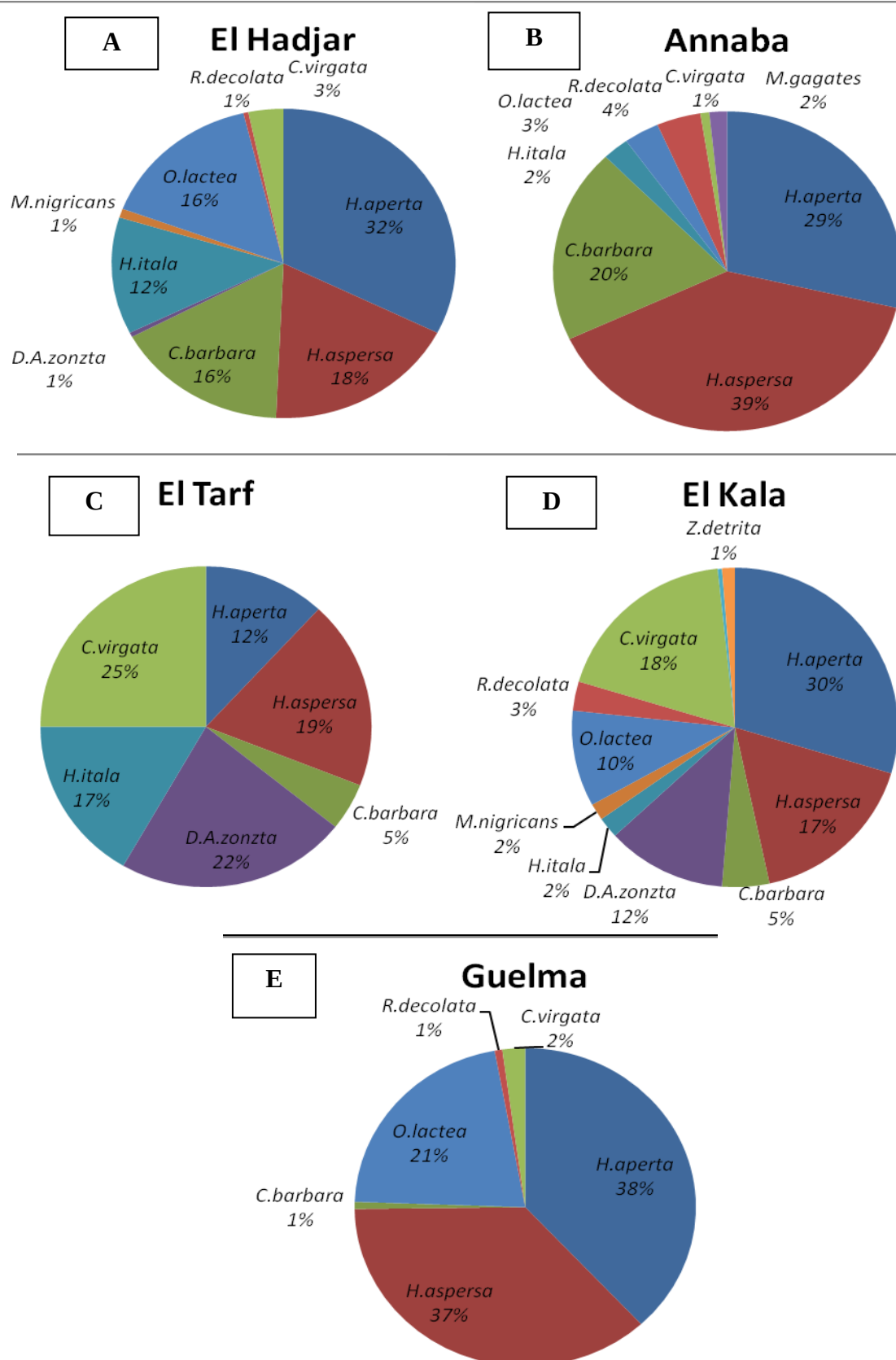


Figure 25. Structure des gastéropodes recensés au niveau des sites : (A) El Hadjar, (B) Annaba, (C) El Tarf, (D) El Kala, (E) Guelma.

Les résultats montrent que la richesse totale n'est pas homogène dans les différents sites, elle varie de 6 à 11 espèces. La richesse moyenne, elle, varie de 4,5 (à El-Tarf et Guelma) à 6,75 (à El-Kala). L'abondance du peuplement des Gastéropodes varie de 84 à 237 individus (Tableau.11).

Tableau 11. Caractéristiques du peuplement des Gastéropodes par la richesse spécifique, la richesse moyenne et l'abondance.

Sites	Richesse totale S (espèces)	Richesse moyenne s	Abondance du peuplement N
El Hadjar	9	4,67	213
Annaba	8	5,33	93
El Tarf	6	4,5	84
El Kala	11	6,75	237
Guelma	6	4,5	91

La fréquence centésimale (F) de l'espèce *H. aperta* varie de 50 à 83,33%, tandis que celle des espèces *P. cornea* et *Z. detrita* de 0 à 12,5%. A El Tarf, de nombreuses espèces ne sont pas rencontrées, c'est le cas de *M. gagates*, *M. nigricans*, *O. lactea*, *P. cornea*, *R. decollata* et *Z. detrita*.

A El Hadjar, les espèces *H. itala*, *H. aperta*, et *H. aspersa* ont une fréquence de 50%. Tandis que *M. gagates*, *P. cornea*, et *Z. detrita* ne sont pas retrouvées dans les relevés.

H. aspersa est bien représentée dans tous les sites échantillonnés et surtout dans les deux sites d'Annaba et d'El Kala avec une fréquence centésimale de 62,5% et 60% respectivement.

Tableau 12. Fréquence centésimale (%) des espèces inventoriées dans les sites d'études.

espèce/site	El Hadjar	Annaba	El Tarf	El Kala	Guelma
<i>C. virgata</i>	16,7	16,7	28,6	50	16,7
<i>C. barbara</i>	33,3	60	28,6	37,5	16,7
<i>D. alabastra zonata</i>	16,7	0	14,3	25	0
<i>H. itala</i>	50	40	14,3	25	0
<i>H. aperta</i>	50	80	71,43	75	83,33
<i>H. aspersa</i>	50	60	28,6	62,5	33,3
<i>M. gagates</i>	0	16,7	0	0	0
<i>M. nigricans</i>	16,7	0	0	25	0
<i>O. lactea</i>	33,3	40	0	25	33,3
<i>P. cornea</i>	0	0	0	12,5	0
<i>R. decollata</i>	16,7	16,7	0	25	16,7
<i>Z. detrita</i>	0	0	0	12,5	0

La diversité du peuplement des gastéropodes (H') dans le Nord Est algérien varie de 1,76 Bit à Guelma, à 2,78 Bit à El Kala. Elle est de 2,26 Bit à Annaba, de 2,45 et 2,49 Bit respectivement à El Tarf et à El Hadjar. L'équipartition est élevée pour tous les sites, elle est de 0,68 à Guelma, de 0,75 à Annaba, de 0,79 à El Hadjar, de 0,80 à El Kala, et de 0,95 à El Tarf (Tableau.13).

Tableau 13. La diversité (H') et l'équipartition (E) du peuplement de gastéropode dans les différents sites étudiés.

Sites	H' Diversité en Bit	Equipartition E
El Hadjar	2,49	0,79
Annaba	2,26	0,75
El Tarf	2,45	0,95
El Kala	2,78	0,80
Guelma	1,76	0,68

3.4. Mesure *in situ* des biomarqueurs :

L'activité de l'acétylcholinestérase mesurée *in situ* en hiver varie de 23,34 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à Annaba (valeur la plus faible) à 40,46 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à El Kala (valeur la plus élevée). Au printemps, les valeurs sont, en général, élevées par rapport à l'hiver avec des taux allant de 44,02 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines à 80,08 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines. (Tableau.14). Le test de Tukey montre une différence très significative ($p < 0,01$) entre les deux saisons hiver et printemps (représentée par les lettres en minuscule). La comparaison entre les sites montre aussi des différences significatives (représentées par des lettres en majuscules) ; pour une même saison les individus du site d'El Kala et les individus du site d'Annaba ont une différence très hautement significative.

Tableau 14. Activité de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$) chez *Helix aperta* mesuré en hiver et au printemps de l'année 2011 dans les différents sites d'étude*.

Sites	Activité de l'AChE $m \pm \text{sd}$	
	Hiver	Printemps
El Hadjar	25,07 $\pm$ 5,77 a B	50,12 $\pm$ 6,05 b D
Annaba	23,34 $\pm$ 4,3 a D	44,02 $\pm$ 3,95 b D
El Tarf	33,41 $\pm$ 10,75 a A	69,48 $\pm$ 7,24 b B
El Kala	40,46 $\pm$ 9,81 a A	80,08 $\pm$ 11,03 b A
Guelma	25,99 $\pm$ 8,61 a C	63,97 $\pm$ 9,79 b C

* Test de Tukey : les moyennes d'un même site, suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$; tandis que celles d'une même saison suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$.

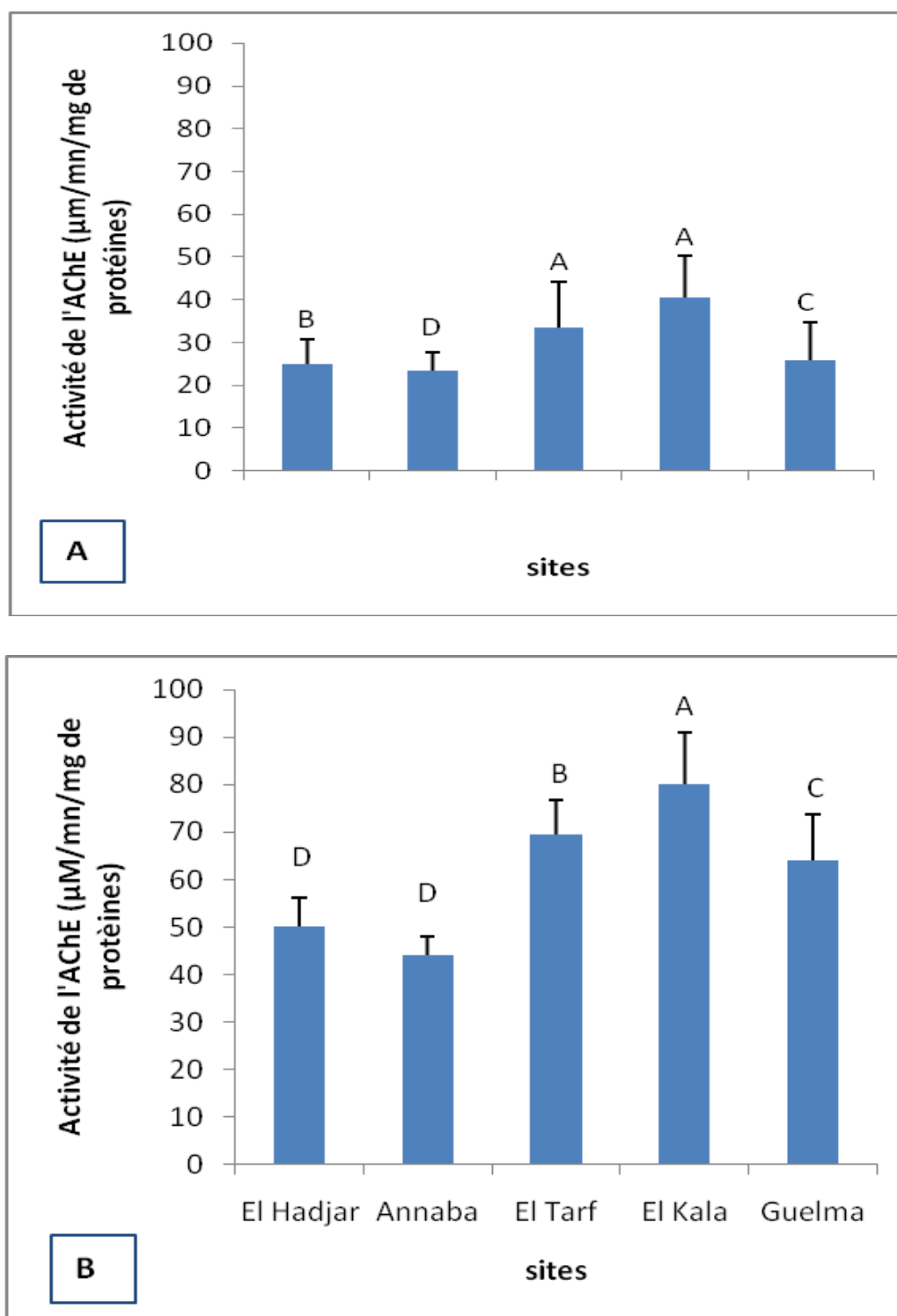


Figure 26. Activité de l'acétylcholinestérase chez *Helix aperta* dans différents sites de l'Est algérien durant deux saisons en 2011 (**A** : Hiver; **B** : Printemps). Test de Tukey : les moyenne affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Les résultats du dosage du glutathion montrent qu'en hiver, le taux le moins élevé est mesuré chez les individus récoltés à Annaba avec 0,29 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines. Le taux le plus élevé est égal à 1 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines, prélevé sur les individus d'El Kala. Au printemps, les valeurs du GSH augmente allant de 0,58 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines à Annaba jusqu'à 1,05 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines à El Kala (Tableau.15). Le test de Tukey ne montre pas de différence significative ($p>0,05$) pour la majorité des sites entre les deux saisons (représentée par les mêmes lettres en minuscule). La comparaison entre les sites montre des différences significatives (représentées par des lettres en majuscules) ; en hiver les individus du site d'El Kala et les individus du site d'Annaba et d'El Hadjar ont une différence très hautement significative, en revanche au printemps les tests ne montrent pas de différences significatives entre les individus des sites d'El Tarf, El Kala et Guelma.

Tableau 15. Taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n= 10$) chez *Helix aperta* mesuré en hiver et au printemps de l'année 2011 dans les différents sites d'étude*.

Sites	Dosage du GSH $m \pm \text{sd}$	
	Hiver	Printemps
El Hadjar	0,47 $\pm$ 0,15 a D	0,73 $\pm$ 0,13 b B
Annaba	0,29 $\pm$ 0,09 a D	0,58 $\pm$ 0,08 b C
El Tarf	0,9 $\pm$ 0,12 a A	1 $\pm$ 0,08 a A
El Kala	1 $\pm$ 0,06 a A	1,05 $\pm$ 0,25 a A
Guelma	0,75 $\pm$ 0,21 a B	0,92 $\pm$ 0,14 a A

* Test de Tukey : les moyennes d'un même site, suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes $p>0,05$; tandis que celles d'une même saison suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes $p>0,05$.

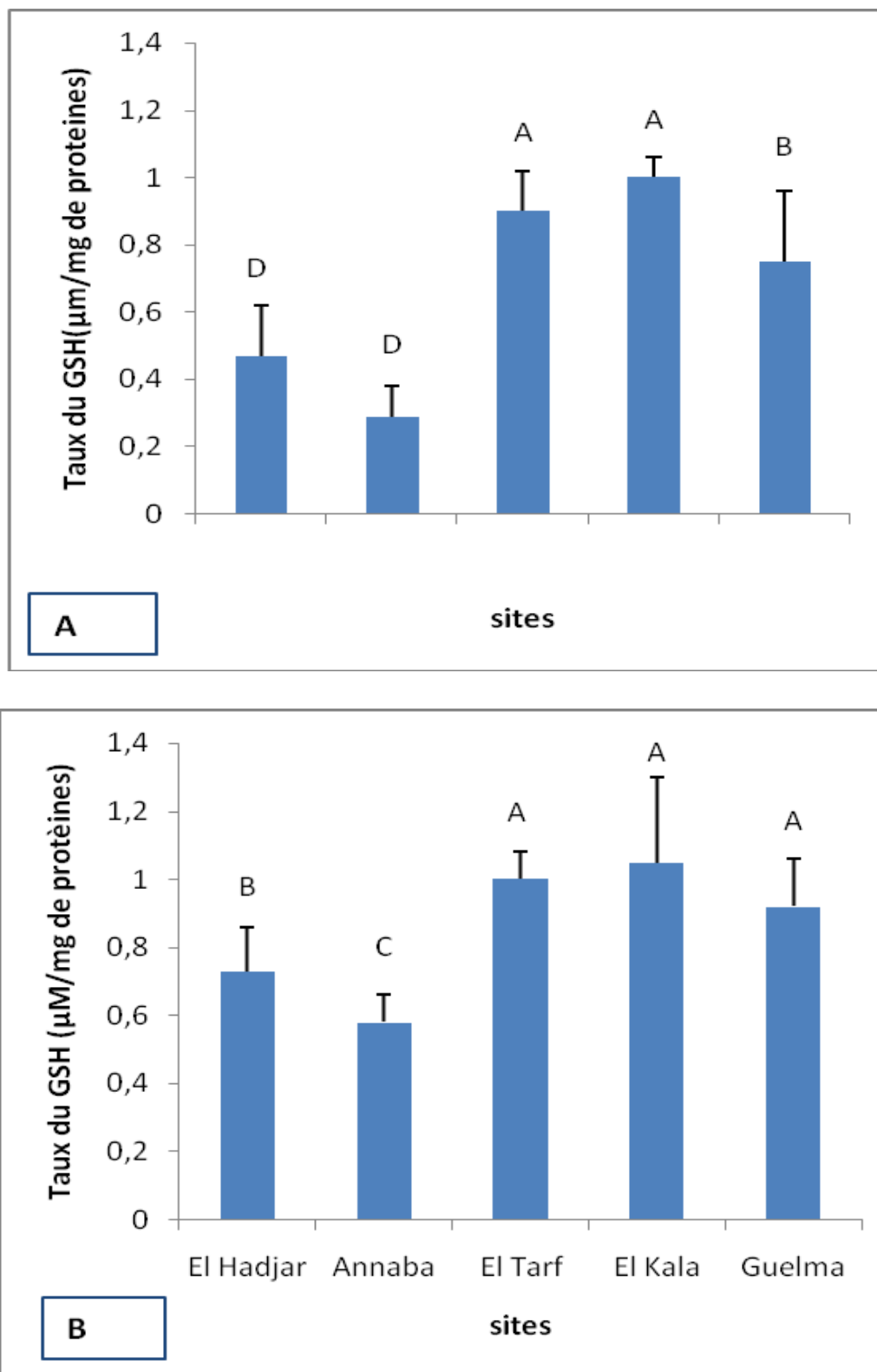


Figure 27. Taux du glutathion chez *Helix aperta* dans différents sites de l’Est algérien durant deux saisons en 2011 (**A** : Hiver; **B** : Printemps). Test de Tukey : les moyennes affectées d’une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

3.5. Effet en laboratoire de l'Actara sur les biomarqueurs chez *H. aperta* :

AChE : Lors du traitement de *H. aperta* avec l'insecticide Actara, nous notons une diminution de l'activité de l'AChE, après 96h, par rapport aux témoins. La première dose (200 mg matière active/L) abaisse l'activité de l'AChE des individus d'El Hadjar de 37,60 à 19,31 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; celle de Annaba de 33,68 à 31,80 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; d'El Tarf de 51,45 à 49,67 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; d'El Kala de 60,27 à 31,64 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; de Guelma de 44,98 à 34,02 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines. La deuxième dose (400 mg m.a./L) diminue l'activité de l'AChE des individus d'El Hadjar à 12,81 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; de Annaba à 18,45 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; celle d'El Tarf à 20,71 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; de El Kala à 18,77 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines ; et de Guelma à 16,44 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines.

Tableau 16. Effet de l'Actara sur l'activité de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$) chez *H. aperta*. (Pour un même site, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ; $p > 0,05$).

Sites	Témoins	D1 : 200mg/L	D2 : 400mg/L
El Hadjar	37,60 $\pm$ 11,83 a	19,31 $\pm$ 4,52 d	12,81 $\pm$ 4,96 d
Annaba	33,68 $\pm$ 8,25 a	31,80 $\pm$ 5,56 a	18,45 $\pm$ 6,66 c
El Tarf	51,45 $\pm$ 17,98 a	49,67 $\pm$ 9,72 a	20,71 $\pm$ 3,12 c
El Kala	60,27 $\pm$ 20,84 a	31,64 $\pm$ 9,67 c	18,77 $\pm$ 3,85 d
Guelma	44,98 $\pm$ 18,99 a	34,02 $\pm$ 9,34 b	16,44 $\pm$ 3,42 d

Le traitement des individus d'*Helix aperta* avec les doses d'Actara engendre une inhibition de l'activité de l'AChE. Pour la dose une, qui est de 200 mg de matière active d'Actara dissoute dans 1L d'eau distillée induit des taux d'inhibition proches pour les individus récoltés dans les sites d'El Hadjar et d'El Kala avec 48,64% et 47,50% ; pour les individus récoltés à Guelma l'inhibition est de 24,37% ; pour les sites d'Annaba et d'El Tarf les taux sont proches avec 5,58 et 3,45%. Pour la deuxième dose qui est de 400 mg m.a./L

l'inhibition atteint des taux proches, avec 68,86% pour les individus d'El Kala ; 65,93 % pour les individus d'El Hadjar, 63,45% pour ceux de Guelma, 59,74% pour ceux d'El Tarf, et 45,22% pour ceux d'Annaba.

Concernant l'inhibition de l'activité de l'AChe, *H. aperta* manifeste une relation dose-réponse.

Tableau 17. Pourcentage d'inhibition de l'activité de l'AChe par rapport aux témoins d'un même site, pour les deux doses (200 et 400 mg matière active /L).

Sites	200 mg m.a./L	400 mg m.a./L
El Hadjar	48,64	65,93
Annaba	5,58	45,22
El Tarf	3,45	59,74
El Kala	47,50	68,86
Guelma	24,37	63,45

GSH : Lors du traitement de *H. aperta* avec l'insecticide Actara, nous notons une diminution du taux du GSH, après 96h, par rapport aux témoins. La première dose (200 mg m.a./L) abaisse le taux du GSH des individus d'El Hadjar de 0,60 à 0,47 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; celle de Annaba de 0,44 à 0,41 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; d'El Tarf de 0,95 à 0,65 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; d'El Kala de 1,03 à 0,40 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; de Guelma de 0,84 à 0,72 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$. La deuxième dose (400 mg m.a./L) diminue le taux du GSH des individus d'El Hadjar à 0,17 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; de Annaba à 0,19 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; celle d'El Tarf à 0,40 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; de El Kala à 0,30 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$; et de Guelma à 0,39 $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$.

Tableau 18. Effet de l'Actara sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) ($m \pm \text{SD}$, $n=10$) chez *H. aperta*. (Pour un même site, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ; $p>0,05$).

Sites	Témoins	D1 : 200mg/L	D2 : 400mg/L
El Hadjar	0,60 $\pm$ 0,28 a	0,47 $\pm$ 0,07 b	0,17 $\pm$ 0,02 d
Annaba	0,44 $\pm$ 0,17 a	0,41 $\pm$ 0,07 a	0,19 $\pm$ 0,06 d
El Tarf	0,95 $\pm$ 0,20 a	0,65 $\pm$ 0,10 c	0,40 $\pm$ 0,07 d
El Kala	1,03 $\pm$ 0,32 a	0,40 $\pm$ 0,12 d	0,30 $\pm$ 0,01 d
Guelma	0,84 $\pm$ 0,35 a	0,72 $\pm$ 0,07 b	0,39 $\pm$ 0,06 d

En ce qui concerne les taux de GSH. La première dose de traitement (200mg m.a./L), inhibe le taux du glutathion dans l'hépatopancréas des individus de l'espèce étudiée pour le site d'El Kala de 60,98%, pour les sites d'El Tarf, El Hadjar, Guelma, et Annaba les taux sont respectivement de 31,58%, 21,67%, 13,77% et 5,75%. Pour la deuxième dose (400mg m.a./L), l'inhibition du taux de GSH est de 71,67%, 70,73%, 57,89%, 56,32% et 53,29% respectivement pour El Hadjar, El Kala, El Tarf, Annaba et Guelma (Tableau.19).

On note également une relation dose –réponse chez *H. aperta* concernant l'inhibition du taux de GSH.

Tableau 19. Pourcentage d'inhibition du taux de GSH, par rapport aux témoins d'un même site, pour les deux doses (200 et 400mg m.a./L).

Sites	200 mg m.a./L	400 mg m.a./L
El Hadjar	21,67	71,67
Annaba	5,75	56,32
El Tarf	31,58	57,89
El Kala	60,98	70,73
Guelma	13,77	53,29

4. DISCUSSION

4.1. Inventaire des Gastéropodes terrestres:

Les sols des sites étudiés sont argilo-limoneux, alcalins, non salés, calcaires, avec une faible porosité et un taux de matière organique assez élevé. Ce qui a rassemblé un certain nombre d'espèces de Gastéropodes terrestres dans ces sites.

Notre inventaire s'est déroulé en hiver et printemps 2011, période propice pour la vie de la malacofaune terrestre. En effet les données de Bonavita *et al.* (1962) confirment qu'une vie active n'est possible pour des mollusques méditerranéens que dans un intervalle assez restreint des variables de l'environnement, qui, en conditions naturelles, correspondraient typiquement aux conditions de l'automne, d'une partie du printemps et de l'hiver ainsi que quelques nuits d'été. Au-delà de cet intervalle limité des facteurs environnants, les escargots s'inactivent et tombent en estivation ou en hibernation suivant les conditions locales climatiques. Que ce soit l'une ou l'autre, ces animaux entrent dans une sorte de léthargie s'accompagnant d'une diminution notable de toute activité métabolique. Les pulmonés résistent à la déshydratation grâce au mucus qu'ils produisent. Les limaces s'entourent de 'cocon' muqueux favorisant leur résistance.

L'inventaire des Gastéropodes terrestres dans les sites d'étude a été effectué du mois de décembre 2010 au mois de mai 2011. Sept familles ont été retrouvées: Cochlicellidae (*Cochlicella barbara*), Hygromiidae (*Helicella itala*, *Cernuella virgata*), Helicidae (*Dupotetia alabastra zonata*, *Helix aperta*, *Helix aspersa*, *Otala lactea*), Milacidae (*Milax nigricans*, *milax gagates*), Subulinidae (*Rumina decollata*), et Enidae (*Zebrina detrita*), Oleacinidae (*Poiretia cornea*). Avec une dominance de l'espèce *Helix aperta* dans les sites d'El Hadjar (32%), d'El Kala (30%), et de Guelma (38%); une dominance de l'espèce *Helix aspersa* dans le site de Annaba (39%); et une dominance de l'espèce *Cernuella virgata* dans le site d'El Tarf (25%).

Les résultats obtenus sur la diversité des Gastéropodes Hélicidés dans la région Est du pays ont été comparés avec ceux rapportés dans d'autres régions de leur aire de répartition. Douafer (2010) avait noté 6 familles de Gastéropodes dans le Nord Est Algérien, avec une richesse spécifique à Guelma atteignant 10 espèces.

Une dominance de l'espèce *Helix aspersa* à été remarquée par Douafer (2010) au niveau du Nord Est Algérien, et précisément dans les sites d'El Kala, Néchmaya, Sidi Amar, El Bouni, représenté par un taux de 21% et un taux de 16% à Guelma. Boudechiche (2007) a également trouvé une dominance de cette espèce et de ses variétés au niveau du parc nationale d'El Kala. Dans la région de Tlemcen, Damerdji (2008) à montré une dominance d'*H. aspersa*.

Sur 218 espèces animales recueillies sur le romarin, dans la région de Tlemcen, Ladjmi (1999) cité par (Damerdji *et al.*, 2005) a retrouvé 18 espèces de Gastéropodes réparties entre 3 familles, celles des Sphincterochilidae, des Helicidae et des Subulinidae. Les premières et troisièmes familles citées comportent une espèce chacune. Par contre, celle des Helicidae regroupe 16 espèces réparties entre 2 sous-familles celles des Helicinae et des Helicellinae. La sous-famille des Helicinae comprend 10 espèces dont *Helix aspersa*, *Archelix punctata*, *Eobania vermiculata* et *Euparypha pisana*. Les Helicellinae n'en renferme que 6 dont *Helicella virgata*, *H. pyramidata*, *H. terveri* et *Cochlicella acuta*.

Sur *Ampelodesma mauritanicum*, Adjlani (1998) a reconnu 13 espèces malacologiques alors que Bouhellou (1998) en observe 19 sur *Chamaerops humilis*. Enfin, Kassemi (2001) signale également 19 espèces sur *Thymus ciliatus*. Sur le *Calycotome spinosa* il a été dénombré 21 espèces de Gastéropodes (Damerdji & Djedid, 2003). Par ailleurs, dans les monts de Tlemcen, Damerdji (1997a) a récolté 27 espèces d'escargots. De même dans la zone steppique située au Sud de Tlemcen, Damerdji (1996) compte 15 espèces faisant partie de la malacofaune alors que Khelil (1984) n'en avait noté qu'une seule avec *Leucochroa candidissima* (Damerdji *et al.*, 2005). *Helix aperta* est une espèce répandue dans le pourtour méditerranéen, présente en France, Turquie, Chypre, et Afrique du Nord (Kerney & Cameron, 1979; Schütt, 2001).

4.2. Indices écologiques :

La richesse en espèces du peuplement de Gastéropode est variable. Néanmoins les familles des Cochlicellidae, Hygromiidae, Helicidae sont présentes dans tous les sites. A El Tarf et Guelma la richesse est de 6 espèces. A Annaba et El Hadjar le nombre est proche avec 8 et 9 espèces. Le site d'El Kala regroupe 11 espèces, cela peut être expliqué par la faible densité de population humaine et fait partie d'une zone protégée ayant un climat humide. De

ce fait ce milieu naturel reste, d'une manière générale, peu altéré et favorable à la présence d'une grande diversité biologique (Benyacoub & Chabi, 2000).

La richesse moyenne, qui exprime le nombre d'espèce les plus représentatives du milieu, a des valeurs proches pour les quatre sites, 4,5 pour El Tarf et Guelma, 4,67 pour El Hadjar, 5,33 pour Annaba et 6,75 pour El Kala.

L'abondance du peuplement des Gastéropodes est de 237 individus toutes espèces confondues à El Kala. L'espèce *C. virgata* est accidentelle à El Hadjar, Annaba et Guelma, et elle est accessoire à El-Tarf et El Kala. *C. barbara* est accidentelle à Guelma, régulière à Annaba et accessoire dans le reste des régions. *D. alabastra zonata* est accidentelle à El Hadjar, El Tarf et El Kala. *H. itala* est accidentelle à El Tarf et El Kala, et est accessoire à El Hadjar et Annaba. L'espèce *H. aperta* n'est accessoire qu'à El-Hadjar, par contre elle est régulière à El Tarf et El Kala, et constante à Annaba et Guelma. *H. aspersa* est accessoire dans trois sites sur cinq, et régulière à Annaba et El Kala. Concernant les limaces *M. gagates* est une espèce accidentelle à Annaba et n'est retrouvée dans aucun autre site ; *M. nigricans*, elle, n'est retrouvé qu'à Annaba et El Kala. *O. lactea* est accessoire dans les différents sites sauf à El Tarf où elle n'est pas retrouvée et à El Kala où elle est accidentelle. *R. decollata* est une espèce accidentelle dans tous les sites mais n'est pas retrouvé à El Tarf. *P. cornea* et *Z. detrita* sont retrouvées dans un relevé sur huit donc elles sont accidentelles. A Tlemcen, Damerджи *et al.*, (2005) avait trouvé que *H. aspersa* était accessoire, *C. virgata* constante, et *R. decollata* constante.

En résumé *Helix aspersa* est une espèce accessoire à l'Est comme à l'Ouest de l'Algérie. L'espèce *C. virgata* n'est que accessoire ou accidentelle dans la région Est du pays, alors que c'est une espèce constante à l'Ouest. Il en est de même pour l'espèce *R. decollata*, qui est constante à Tlemcen et est accidentelle au Nord Est du pays.

L'indice de Shannon – Weaver (H') varie entre 2,26 et 2,78 Bits pour Annaba, El Tarf, El Hadjar et El Kala, ce qui indique que le peuplement dans ces régions est riche en espèces et que leurs abondances est équilibrée ; en revanche à Guelma H' est égale 1,76 Bits, ce qui nous montre que dans le peuplement il ya une espèce dominante, en l'occurrence *H. aperta*.

L'équipartition dans les différents sites ne tend pas vers zéro et est même supérieure à 0,68 ce qui nous prouve que la totalité des effectifs ne sont pas concentrés sur une seule espèce.

Les travaux de Damerdj *et al.* (2005) ont montré que H' varié entre 2,74 et 2,99 bits, et que l'équipartition indique un équilibre entre les effectifs des différentes espèces présentes. L'indice H' de la région de Tlemcen rapportés par Damerdj *et al.* (2005) est un peu plus élevé que celui de nos sites d'études, dans le cas présent le nombre d'espèce est différent 18 espèces à Tlemcen, alors que durant notre étude seulement 12 espèces sont dénombrées.

4.3. Mesures *in situ* des biomarqueurs:

La contamination des sols a une double origine : par les apports de pesticides et d'engrais dans les agrosystèmes, et par le lessivage des polluants atmosphériques (gaz et poussières) par les pluies. Les Gastéropodes terrestres se déplacent à la surface du sol où ils consomment des végétaux et de la terre, mais certaines phases de leur cycle biologique (repos, abri, ponte, développement embryonnaire, hibernation) se passent dans le sol dont ils absorbent des contaminants. Leur vaste répartition, la facilité de leur récolte, leur capacité importante de bioaccumulation et leur régime phytophage ont amené plusieurs chercheurs à considérer les Gastéropodes terrestres comme les indicateurs de pollution (Le Bras, 2007).

Les Gastéropodes survivent bien sur des sites contaminés en métaux, ainsi, *H. pomatia* est considérée comme l'un des concentrateurs les plus efficaces de métaux traces des habitats terrestres pollués. Cette résistance résulte de la capacité que présentent ces invertébrés terrestres de retenir et d'inactiver les métaux toxiques soit par compartimentation intracellulaire et excrétion, soit par liaison avec des protéines dont les métallothioneines qui se lient fortement aux métaux (surtout le cadmium) et permettent leur stockage durant de longues périodes. (Le Bras, 2007).

Aussi les escargots présentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (Dallinger *et al.*, 2001), ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (Barker, 2001), ils possèdent des capacités de bioaccumulations importantes pour de nombreux polluants métalliques (Dallinger & Wieser, 1984a ; Brooks *et al.*, 1992 ; Gomot & Pihan, 1997 ; Menta & Parisi, 2001 ; Gomot-de Vaufléury & Pihan, 2002 ; Viard *et al.*, 2004) et organiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ;

Sverdrup *et al.*, 2006). Ils présentent des réponses physiologiques (Laskowski & Hopkin, 1996b ; Gomot, 1997 ; Swaileh & Ezzughayyar, 2001 ; Gomot-de Vaufleury & Bispo, 2000) et biochimiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006) quand ils sont exposés aux contaminants.

Les escargots constituent un élément de réseau trophique qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beedy, 1985 ; Laskowski et Hopkin, 1996b ; Scheifler *et al.*, 2002a), pour ces caractéristiques, ils sont reconnues comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger & Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999) utilisés dans la biosurveillance des écosystèmes terrestres.

L'utilisation des paramètres biochimiques, appelés biomarqueurs, comme indicateurs de la qualité des écosystèmes est devenu courant dans le monde scientifique. L'inhibition ou l'induction *in vivo* des biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur les organismes (Ozmen *et al.*, 1999 ; Mc Laughlin *et al.*, 2000 ; Sturn *et al.*, 2000)

L'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification chez les êtres vivants. Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme : dans les jonctions inter-neuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre. (Le Bras, 2007). L'inhibition de cette enzyme par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, ce qui conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Badilla, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Bainsy, 2000). Les escargots de l'espèce *H. aperta* choisis pour les mesures de l'AChE présentent des mensurations relativement assez proches $13,46 \pm 2,23$ mm de hauteur de coquille pour un diamètre de coquille de $22,37 \pm 2,49$ mm, avec un poids moyen de $4,28 \pm 1,49$ g. Nos résultats montrent que les valeurs de l'AChE chez les individus récoltés en hiver sont significativement moins élevées ($p < 0,01$) comparées à celles des individus récoltés au printemps, et ceci pour tous les sites. Cela serait lié à une différence de pluviométrie entre les deux saisons ; les pluies printanières, plus abondantes, ont contribué à diminuer le taux de contaminants dans le sol par lessivage.

Les résultats obtenus par Douafer (2010) montrent que l'activité de l'AChE mesurée au niveau de la tête d'*H. aspersa* est maximale en hiver, et diminue au printemps pour les

différents sites. En comparant l'activité de l'AChE dans les sites d'études, Douafer (2010) a trouvé un faible taux au niveau des sites El Bouni et Sidi Amar.

Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, il participe avec le glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptides et prend part au métabolisme des xénobiotiques présents dans la majorité des tissus. Le glutathion joue un rôle principal dans la réduction de tout peroxyde organique, en présence de glutathion peroxydase (GPx). Il est utilisé par les glutathion S-transférases, mais également par d'autres enzymes impliquées dans la lutte contre le stress oxydant, telles que la GSH réductase et la GSH peroxydase. Il peut également intervenir seul pour réduire des protéines portant des groupements thiols oxydés ou détoxifier des radicaux libres ou des agents oxydants. Dans la cellule, le GSH est donc un anti-oxydant essentiel. (Rahman & MacNee, 2000). Le stress oxydant est susceptible d'être provoqué par des polluants, des variations environnementales ainsi que des facteurs endogènes notamment des taux élevés en acide gras polyinsaturés et teneurs élevées en oxygène. Cependant beaucoup d'organismes semblent dotés de systèmes antioxydants qui se mettent en activité lors d'un stress oxydant (Cossu *et al.*, 1997). Plusieurs travaux ont montré que des activités antioxydantes sont induites par des polluants organiques (HAP, PCB...) ou des métaux lourds. La lipoperoxydation n'exclut pas l'induction de ces activités mais elle traduit leur inefficacité à faire face au stress (Cossu *et al.*, 1997)

Le stress oxydant n'est pas toujours lié à la pollution. Il peut être le résultat de facteurs physiologiques (reproduction...) ou environnementaux (climat...); il se traduit par l'activation de systèmes antioxydants. Lorsque l'induction des enzymes antioxydantes est suffisante, elle permet l'adaptation des individus et le retour à la normale alors que leur inhibition est souvent associée à des effets de toxicité (Cossu *et al.*, 1997).

Nos résultats montrent ici aussi une différence au niveau des taux du GSH entre les individus récoltés en hiver et ceux du printemps. Les différences sont aussi notées entre les sites et pour une même saison. En hiver les sites El Kala, El Tarf, et Guelma ont un taux de GSH supérieur à celui de Annaba et El Hadjar, cela peut se traduire par de nombreux critères de pollution. Une pollution provenant de la zone industrielle : ArcelorMittal, Fertial et Ferovial. Rajouté à cela le transport de polluants *via* les vents, par exemple le transport de Cd dans les engrais phosphatés (Hamon *et al.*, 1998). Les émissions atmosphériques liées au trafic routier (Denison & Silbergeld, 1998), vue l'importance de la densité de la population

humaine dans les deux sites. Cependant, le test de Tukey ne révèle pas d'effet saison significatif.

4.4. Effets du traitement insecticide :

La fabrication de produits phytosanitaires est destinée à la protection des cultures. Parmi les nombreuses molécules susceptibles d'inhiber l'AChE, les composés organophosphorés (ou organophosphates) et les carbamates, tous deux utilisés comme matière active dans la préparation d'insecticides, sont les plus puissants. (Le Bras, 2007).

Le développement des organophosphorés en tant qu'insecticides date du début des années 1970, favorisé par l'interdiction d'utilisation des composés organochlorés comme le DDT (dichloro-diphenyl-trichloroethane) hautement rémanent et dont le comportement lipophile en fait une substance extrêmement bioaccumulable. Les organophosphorés s'imposent rapidement par une très grande efficacité, notamment contre les insectes, et leur comportement dans l'environnement est considéré comme relativement inoffensif quand on les oppose aux organochlorés. Ceci dit, ces molécules ne doivent en aucun cas être considérées comme ne présentant pas de risques écotoxicologiques (Le Bras, 2007). Il est difficile d'évaluer les quantités réelles d'OPs utilisées, et si certains chiffres par produit ou par type de traitement sont connus, une estimation globale de la consommation de matières actives est délicate.

Notons encore, comme inhibiteurs potentiels de l'activité cholinestérasique, les pyréthroides (utilisés dans les produits domestiques de lutte contre les insectes), les triazines et le paraquat (tous deux herbicides puissants agissant sur les processus de respiration et de photosynthèse des végétaux), certaines toxines algales et les métaux lourds. (Le Bras, 2007). L'azinphos-méthyl, le chlorfenvinphos, le chlorpyrifos, le déméton, le diazinon, le dichlorvos, le fénitrothion, le malathion, le parathion, la phosalone, le téméphos et le terbufos sont parmi les OPs les plus utilisés (Tronczynski, 1990 ; Barcelo *et al.*, 1991 ; Lartiges & Garrigues, 1993).

Une fois l'information transmise, l'acétylcholine est rapidement inactivée par l'AChE, ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux neurotoxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Bocquené, 1996).

Des essais préliminaires ont été réalisées avec l'Actara, insecticide organophosphoré très utilisé en Algérie, deux doses ont été retenues : 200 et 400 mg ma/L. L'espèce traitée est *H. aperta*, espèce abondante dans nos sites d'étude. Les résultats montrent que l'insecticide administré à une dose de 200 mg de matière active/ litre est sans effet significatif sur l'inhibition de l'AChE. En revanche, le traitement avec une dose de 400 mg ma/L provoque une inhibition de l'AChE très significative ($p < 0,01$) comparativement à la série témoin.

Le taux d'inhibition de l'AChE pour les individus d'Annaba et d'El Tarf est relativement faible pour la première dose.

Chez les mollusques terrestres, Rorke & Gardner (1974) ont rapporté qu'une forte inhibition de l'activité AChE dans l'hémolymphe de *H. aspersa* est causée par un carbamate ou par l'oxon matière active du fénitrothion (organophosphoré).

Les composés insecticides très toxiques, de la classe des organophosphorés, sont des inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase (wikipedia, 2010).

Les résultats de l'étude de Coeurdassier *et al.* (2001), ont montré que les inhibitions mesurées étaient de plus de 75%, cela pourraient expliquer la léthargie observée des escargots (*H. aspersa*). De nombreux auteurs ont également signalé que les organismes peuvent survivre à une forte inhibition de l'AChE activités ($> 80\%$) (Bocquené *et al.*, 1997).

Des crevettes d'eau douce *Australiensis paratya* exposées pendant 96h aux carbaryl, chlorpyrifos, diméthoate et profenofos séparément, montrent une importante inhibition de l'AChE, avec une mortalité dans les crevettes correspondant à des taux d'inhibition de l'AChE compris entre 70 et 90%. La lente reprise de l'activité AChE diminuée peut signifier que les organismes concernés dans le système naturel sont incapables de soutenir les activités physiques telles que la recherche de nourriture ou échapper à des prédateurs (Kumar *et al.*, 2010).

Les travaux de Damiens *et al.*, 2004 notent la diminution de l'activité AChE avec la salinité chez *Nereis diversicolor* (annélide polychète), dans des conditions expérimentales (Scaps & Borot, 2000).

Certaines études ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par d'autres contaminants environnementaux incluant les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Dellali *et al.*, 2001).

Le GSH est impliqué dans des processus métabolique et de transport et dans la protection des cellule contre les effet toxique d'une série de composés endogènes et exogènes, y compris des espèces réactive de l'oxygène et les ETM (Meister & Anderson, 1983 ; Sies et Ketterer, 1988 ; Taniguchi *et al.*, 1989). Les fonctions du GSH sont principalement dues à sont caractère nucléophile. En effet, sa conjugaison aux composés électrophiles rend ceux-ci plus hydrosolubles et donc plus facilement transportables donc excrétables de la cellule. De cette façon, il est impliqué dans de nombreuses fonctions physiologiques, et joue notamment un rôle centrale dans la défense cellulaire contre le stress oxydant et les xénobiotiques (Choi *et al.*, 1997). Le taux du GSH doit être correctement régulé, car toute déplétion, qui peut avoir pour origine une activité accrue des glutathion S-transférases lors d'une exposition à un agent électrophile, peut conduire à un stress oxydant (Rahman & MacNee, 2000). Nos bioessais indiquent qu'après un traitement avec l'insecticide Actara, le taux du GSH est significativement ($p < 0,01$) inhibé seulement avec la dose la plus élevée.

Une diminution du niveau de GSH a été observé au niveau de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par les pesticides : carbofuran et paraquat respectivement à des doses : 125 µg/ escargot et 230µg/escargot, mais une augmentation du niveau de GSH signalée chez les escargots traités par les pesticides : le methomyl (60µg/escargot) et le chlorpyriophos (225µg/escargot) (Salama *et al.*, 2005) citée par Douafer (2010). Aussi Atilia (2009) a observé une diminution du taux de GSH dans l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par le cadmium. Boucenna (2010) a montré l'effet des particules métalliques sur l'espèce *Helix aspersa* provoqué une diminution du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES :

La présente étude porte sur la biodiversité des Gastéropodes terrestres dans les régions Est de l'Algérie. Nous avons recensé 12 espèces : *Cochlicella barbara*, *Helicella itala*, *Cernuella virgata*, *Dupotetia alabastra zonata*, *Helix aperta*, *Helix aspersa*, *Otala lactea*, *Milax nigricans*, *milax gagates*, *Rumina decollata*, *Zebrina detrita* et *Poiretia cornea*.

On observe un gradient de pollution selon un transect Ouest-Est des sols de l'Est algérien croissant dans le sens suivant : El Kala, El Tarf, Guelma, El Hadjar, Annaba. El Kala étant le site le moins pollué et éloigné des sources de pollution que sont les usines ArcelorMittal, Fertial et Ferovial entre autres. De plus, pour un même site, les valeurs enregistrées en hiver particulièrement pour l'AChE, sont moins élevées comparativement à celles enregistrées au printemps, probablement en relation avec l'abondance des pluies printanières.

Les bioessais de contamination de l'espèce bioindicatrice avec l'Actara révèlent une induction du système de détoxification de l'espèce mis en évidence par l'activité neurotoxique révélée par l'inhibition de l'AChE et une inhibition du taux de GSH.

Nous avons confirmé que l'espèce *Helix aperta* est un organisme bioindicateur de pollution du sol. L'exposition d'*H. aperta* à l'insecticide révèle un effet dose- réponse à l'égare des deux biomarqueurs.

Les résultats histologiques confirment son mécanisme d'action primaire sur le système nerveux puisque la matière active, le thiaméthoxame, est un agoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine. De plus, le traitement induit un stress oxydatif révélé par la réduction du taux de GSH comparativement à la série témoin.

Dans l'état actuel de nos connaissances, si les indicateurs écologiques ou biologiques sont largement utilisés, l'emploi des biomarqueurs dans la surveillance de l'environnement est encore limité à certains types de pollution bien précis. Mais si nous admettons qu'un effet toxique est toujours lié à une expression biochimique, physiologique ou anatomique chez les

êtres vivants, on peut envisager le développement dans le futur d'autres indicateurs biologiques et élargir ainsi le spectre des contaminations décelées (Le Bras, 2007).

Les expérimentations menées méritent d'être poursuivies pour :

- Un dosage des métaux lourds dans les tissus et organes d'*H. aperta*.
- Cinétique d'accumulation de l'insecticide dans les différents organes d'*H. aperta*.
- Refaire l'inventaire des Gastéropodes dans le temps pour étudier l'impact de la pollution métallique sur la biodiversité.

RESUMÉ

Notre travail a pour but l'inventaire de la biodiversité des Gastéropodes Hélicidés dans la région Est du pays. Les 12 espèces de gastéropodes terrestres retrouvées dans les sites d'étude sont : *Cochlicella barbara*, *Helicella itala*, *Cernuella virgata*, *Helix aperta*, *Helix aspersa*, *Otala lactea*, *Milax nigricans*, *milax gagates*, *Rumina decollata*, *Zebrina detrita*, *Poiretia cornea*.

Cette étude vise aussi à évaluer la réponse d'*Helix aperta* (Born, 1778) (Mollusca, Gasteropoda) vis-à-vis d'un insecticide organophosphoré l'Actara (formulation granulée avec 25% de thiamethoxame) très utilisé en agriculture.

L'acétylcholinestérase (AChE) et le glutathion (GSH), biomarqueurs de neurotoxicité et du stress oxydatif respectivement, ont été mesurés *in situ* chez des individus récoltés durant l'hiver et le printemps de l'année 2011 dans divers sites de l'Est algérien (El-Kala, El-Tarf, Annaba, El-Hadjar et Guelma) et chez des individus contaminés en laboratoire par voie orale avec l'Actara (200 et 400 mg de matière active par litre d'eau distillée). L'AChE a été extrait de la tête tandis que le GSH de l'hépatopancréas.

Les résultats *in situ* montrent des effets saison significatifs pour l'activité de l'AChE ($p < 0,01$) avec un gradient de pollution des sols croissant suivant : El Kala, El Tarf, Guelma, El Hadjar, Annaba. Le site de référence El Kala étant le moins pollué. De plus, les sols sont moins pollués au printemps par rapport à la saison hivernale, ceci peut être expliqué en rapport avec l'abondance des pluies printanières.

Les bioessais de contamination de l'espèce bioindicatrice avec l'Actara réalisés en laboratoire révèlent une induction du système de détoxification de l'espèce mis en évidence par une inhibition du taux de GSH et une inhibition de l'activité de l'AChE en rapport avec son mode d'action (neurotoxique).

Mots clés: Pollution, Sols, Est Algérien, Bioindicateur, *Helix aperta*, Insecticide, Actara, Biomarqueurs.

ABSTRACT

Our work is to inventory the biodiversity of Gastropods slug pellets in the East region of the country. The 12 species of terrestrial gastropods found in the study sites are: *Cochlicella barbara*, *Helicella Itala*, *Cernuella virgata*, *Helix aperta*, *Helix aspersa*, *Otala lactea*, *Milax nigricans*, *Milax gagates*, *Rumina decollata*, *Zebrina detrita*, *Poiretia cornea*.

The aim of this study is to evaluate the response of *Helix aperta* (Born, 1778) (Mollusca, Gasteropoda) to the Actara, an organophosphate insecticide (granular formulation with 25% thiamethoxam) widely used in agriculture.

The acetylcholinesterase (AChE) and glutathione (GSH), biomarkers of neurotoxicity and oxidative stress respectively, were measured *in situ* in individuals collected during the winter and spring of 2011 in different sites in East of Algeria (El-Kala, El-Tarf, Annaba, El-Hadjar and Guelma) and in individuals infected orally by Actara in the laboratory (200 and 400 mg of active ingredient per liter of distilled water). The AChE was extracted from head while the GSH from the hepatopancreas.

The *in situ* results show significant effects season for AChE activity ($p < 0.01$) with increasing gradient of soil pollution following: El Kala, El Tarf, Guelma, El Hadjar, Annaba. the least polluted site is El-Kala. Furthermore, soils are less polluted in spring compared to winter, this is related to the spring rains are more abundant.

Bioassays of contamination bioindicator species with Actara performed in the laboratory revealed an induction of detoxification system of the species highlighted by an inhibition of GSH and inhibition of AChE activity in connection with its mode of action (neurotoxic).

Key words: Pollution, Soil, Eastern Algeria, Bioindicator, *Helix aperta*, Insecticide, Actara, Biomarkers.

الملخص

الهدف من عملنا هذا هو حصر التنوع البيولوجي للرخويات في شرق الجزائر. الأنواع 12 من الرخويات الأرضية التي وجدناها في مواقع الدراسة هي:

Cochlicella barbara, Helicella itala, Cernuella virgata, Hélix aperta, Hélix aspersa, Otala lactea, Milax nigricans, milax gagates, Rumina decollata, Zebrina detrita, Poiretia cornea.

تهدف هذه الدراسة لتقييم الاستجابة للـ *Helix aperta* (Born, 1778) (mollusca , Gasteropoda) اتجاه المبيد الحشري Actara الفوسفوري العضوي (الشكل الحبيبي مع ثيامثوكسام 25٪) مستخدم على نطاق واسع في مجال الزراعة.

تم قياس أستيل (أستيلكولينستراز) والجلوتاثيون (GSH)، من المؤشرات الحيوية العصبية والأكسدة على التوالي، في الوضع الطبيعي في الأفراد، التي تم جمعها خلال فصلي الشتاء والربيع من عام 2011 في المناطق الشرقية للجزائر (القالمة، الطارف، عنابة، الحجار وقالمة). وفي الأفراد المصابين في المختبر بـ "Actara" عن طريق الفم (200 و 400 ملغ من المكون النشط لكل لتر من الماء المقطر). تم استخراج أستيلكولينستراز من رأس الأفراد في حين أن GSH من البنكرياس الكبدي.

وأظهرت النتائج الموقع الطبيعي تأثيرات موسمية كبيرة لنشاط أستيلكولينستراز ($P > 0.01$) مع التزايد التدريجي لتلوث الترب كما يلي: القالة، الطارف، قالمة، الحجار ثم عنابة. الموقع المرجعي القالة هو الأقل تلوثا. علاوة على ذلك، الترب أقل تلوثا في الربيع مقارنة مع فصل الشتاء، وهذا راجع إلى غزاره الأمطار في فصل الربيع.

وكشفت الاختبارات البيولوجية التي أجريت في المختبر على الدال البيولوجي الملوث بـ Actara انها قامت بإنقاص عمل النظام في إزالة السموم من الأنواع التي ظهرت لنا من خلال تثبيط نسبة GSH وتثبيط نشاط أستيلكولينستراز.

الكلمات المفتاحية: التلوث، الترب، شرق الجزائر، الدال البيولوجي، *Helix aperta*، مبيدات الحشرات، Actara، العلامات الحيوية.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:

- Abdenmour, C., Smith, B.D., Boulakoud, M.S., Samraoui, B., and Rainbow, P.S., 2000.** Trace metals in shrimps and sediments from Algerian water. *J. Catalo. Mat. Env.*, **3**: 9-12.
- Adjani, M., 1998.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune d'*Ampelodesma mauritanicum* (Poiret) Durd et Shinz, 1895 (Graminées) dans la région de Tlemcen. Thèse Ing. Ecol. Inst. Sci. Natu., Univ. Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 117 p.
- Amiard-Triquet, C., Altmann, S., Amiard, J.C., Ballan-Dufrançais, C., Baumard, P., Budzinski, H., Crouzet, C., Garrigues, J.P., His, E., Jeantet, A.Y., Menasria, R., Mora, P., Mouneyrac, C., Narbonne, J.F. and Pavillon, J.F., 1998.** Fate and effects of micropollutants in the Gironde estuary, France: a multidisciplinary approach. *Hydrobiologia*, **373/374**: 259-279.
- Atilia, A., 2009.** Effet des rejets métalliques sur un organisme animal bioaccumulateur/bioindicateur de pollution *Helix aspersa*. Thèse de Magister en Biologie Animale. Ecotox. Université d'Annaba. 45 p.
- Badilla, S., 1995.** Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology*, **102**: 105.
- Bainy, A.C.D., 2000.** Biochemical responses in peneids caused by contaminants. *Aquaculture*, **191**: 163-168.
- Barker, G.M., 2001.** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 567 p.
- Beedy, A., 1985.** The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology*, **22**: 267-275.
- Beldi, H., Gimbert, F., Maas, S., Scheifler, R., and Soltani, N., 2006.** Seasonal variations of Cd, Cu, Pb and Zn in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca, Bivalvia) from the gulf of Annaba, Algeria. *Afric. J. Agric. Res.*, **1(4)**: 85-90.

- Benyacoub, S., Chabi, Y., 2000.** Diagnose écologique de l'avifaune du parc national d'El-Kala. *Revue des Sciences et Technologie. Synthèse*, 7 : 7.
- Berger, B., et Dallinger, R., 1993.** Terrestrial snail as quantitative indicators of environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25 : 65-84.
- Bertrand-Renault, S., 2004.** Je construis mes apprentissages en sciences au premier degré, 1-43.
- Bocquené, G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de Doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes, 250 p.
- Bocquené, G., Galgani, F., Walker, C.H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In Lagadic L, Caquet T, Amiart JC, Ramade F, eds, *Biomarqueurs en Ecotoxicologie, Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, France, 209–240.
- Bonavita, A., et Bonavita, D., 1962.** Contribution à l'Etude Ecologique d'*Euparypha pisana* (Müller) des Rivages Méditerranéens de la Provence, Note Préliminaire, Publ. Staz. Zool., Napoli, 32 suppl. : 189 – 204.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain, *INRA*, 1-5.
- Boucenna, M., 2010.** Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique sur un modèle bioaccumulateur *Helix aspersa*. Thèse de magister en biologie. Option Ecotoxicologie. Université d'Annaba. 74 p.
- Boudechiche, L., 2007.** Biodiversité des hélicidés du Parc National d'El Kala (extrême Nord Est Algérien). *Bulletin de l'INSTM N° Spécial 12 : Actes des Neuvièmes Journées Tunisienne des Sciences de la Mer (Tabarka, déc. 2007)*.
- Bouhellou, B., 1998.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune de *Chamaerops humilis* (Doum) (Monocotylédones, Palmacées) dans la région de Tlemcen. Thèse Ing. Ecol. Inst. Sci. Natu., Univ. Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 93 p.
- Boyd, R.S., 2010.** Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers. *Chem. Ecol.*, 36: 46-58.

- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein -dye binding. *Anal biochem.*, **72** : 248-254.
- Brooks, A.W., White, K.N., Bailey, S.E.R., 1992.** Accumulation and excretion of aluminium and iron by the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Comparative biochemistry and physiology*, **103C**: 577-583.
- Carson, R., 1962.** Silent Spring. H. M. Company, Ed., pp. 297. New York.
- Chevalier, H., 1992.** L'élevage des escargots. Production et préparation du petit- gris. Edit. Du point vétérinaire, Maisons-Alfort, 144 p.
- Choi, J., Liu, R.M., and Forman, H.J., 1997.** Adaptation to oxidative stress : quinone-mediated protection of signaling in rat lung epithelial L2 cells. *Biochem. pharmacol.*, **53** (7): 987-993.
- Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D. and Badot, P.M., 2001.** The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**: 1951-1957.
- Corotet, J., Gomot-de Vaufleury, A., Pointso-Blaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D., 1999.** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutants effects. *European Journal of Soil Biology*, **35**: 115-134.
- Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M.-C. & Vasseur, P., 1997.** Biomarqueurs de stress oxydant chez les animaux aquatiques, 149-161. in Lagadic, L., T. Caquet, J.-C. Amiard & F. Ramade eds. , 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. *Collection Écologie*, Paris, Masson, 419 p.
- Dallinger, R., Wieser, W., 1984a.** Molecular Fractionation of Zn, Cu, Cd, and Pb in the midgut gland of *Helix pomatia* L. *Comparative Biochemistry and physiology*, **79C**: 125-129.
- Dallinger, R., Berger, B., Triebkorn, R., Köhler, H., 2001.** Soil biology and ecotoxicology. In : Barker, G.M. (Ed.). The biology of terrestrial molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 489-525.

- Damerdj, A., 1996.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune malacologique dans la zone steppique de la région de Tlemcen (Algérie). *Journées d'étude Eco.-Dev.*, 13 -16 novembre 1996, Adrar.
- Damerdj, A., 1997a.** Etude de la faune malacologique des Monts de Tlemcen : Inventaire – Aperçu écologique et répartition. *Comm. Orale*, 1ères journées d'étude sur l'agriculture de montagne, 13 - 14 mai 1997, Mascara.
- Damerdj, A. et Djedid, A., 2003.** La faune du Genêt (*Calycotome spinosa* Lamk.) dans la région de Tlemcen : Inventaire – Distribution spatio-temporelle des principaux groupes. *Comm. affichée*, 1ères Journées sur la Protection de l'Environnement. Université Aboubekr BELKAID, Tlemcen, 28 et 29 Mai 2003.
- Damerdj, A., Ladjmi, L., Doumandji, S., 2005.** Malacofaune associée à *rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) : Inventaire et aperçu bioécologique près de Mansourah (Tlemcen, Algérie). *Sciences & Technologie*, C – N°23 : 11-20.
- Damerdj, A., 2008.** Contribution à l'étude écologique de la malacofaune de la zone Sud de la région de Tlemcen (Algérie). *Université Aboubakr BELKAID-Tlemcen. Afrique Science*, 04 (1) : 138-153.
- Damiens, G., His, E., Gnassia-Barelli, M., Quiniou, F., Roméo, M., 2004.** Evaluation of biomarkers in oyster larvae in natural and polluted conditions. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138(2): 121-128.
- Delaunois, A., 1976.** Travaux pratiques de pédologie générale. 2-86.
- Dellali, M., Barelli, M.G., Romeo, M., & Aissa, P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of bizarta lagon. *Comp. Biochem. And Physiol.*, Part C, 130 : 227-235.
- Denison, R.A., et Silbergeld, E.K., 1998.** Risks of municipal solid waste incineration: an environmental perspective. *Risk analysis*, 8: 343-355.
- Douafer L., 2010.** Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa* (Mollusca, Gasteropoda): inventaire, activité enzymatique et composition physico-chimique des sols. Mémoire de magistère en

- Biologie Animale, option Ecotoxicologie. Département de Biologie, Université d'Annaba. 98 p.
- Duchauffour, P., 1970.** *Précis de pédologie*. Ed. masson et cie, Paris. 33-212.
- Edward, C.A., Subler, S., Chen, S.K., Bogomolov, D.M., 1996.** Essential criteria for selecting bioindicator species, processes, or systems to assess the environmental impact of chemicals on soil ecosystems. In : Van Straalen, N.M., Krivolutsky, D.A., (Eds). *Bioindicator Systems for Soil Pollution*. Kluwer, Amsterdam, The Netherlands, 67-84.
- Eijsackers, H., 1983.** Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, **3**: 307-316.
- Ellman, G.L., Courtney, K.O., Andrres, V., & Featherstone, R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol. and Physiol.*, **38** : 84-90.
- Forget, J., 1998.** Impact neurotoxique de contaminants (pesticides et métaux) sur un crustacé marin *Tigriopus brevicornis* (Müller). Caractérisation de la cholinestérase et application à la surveillance des effets des polluants sur l'environnement marin. Thèse de Doctorat, Université Paris 6.
- Forjet, J., Pavillon, J.F., Beliaeff, B., & Bocquené, G., 1999.** Joint action of pollutant combination (pesticides and metals) on survival (LC50 Values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chemes.*, **18(5)** : 912-918.
- Gaillard, J., 1991.** Les mollusques, document photocopié du module de la conférence sur les animaux venimeux au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, juillet 1999. 1-18.
- Gaucher, A., 1968.** Traité de pédologie agricole. Le sol et ses caractéristiques agronomiques. 2-97.
- Gimbert, F., 2006.** Cinétiques de transfère de polluants métalliques du sol à l'escargot. Thèse de doctorat. *Université de Franche Comté. Sciences de la vie*. 5-6.
- Gomot, L., 1997.** Dose-dependent effets of cadmium on the growth of snail in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **33**: 209-216.

- Gomot, A. et Pihan, F., 1997.** Comparison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc in two snail subspecies (*Helix*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **38**: 85-94.
- Gomot-de Vaufléury, A., and Bispo, A., 2000.** Method for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails. 1. Sublethal effects on growth. *Environmental Sciences and Technology*, **34**: 1865-1870.
- Gomot-de Vaufléury, A. et Pihan, F., 2002.** Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails : metal bioavailability and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**: 820-827.
- Grue, C.E., Hart, A.D.M., Mineau, P., 1991.** Biology and the consequence of depressed cholinesterase activity in wildlife. In Mineau P, ed, *Cholinesterase-Inhibiting Insecticides. Impact on wildlife*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 151–209.
- Grzimek, B., Fontaine, M., 1973.** *Le Monde Animal*, Edition stauffacher S.A., Zurich volume III : Mollusques Echinodermes 19-23, 123-134.
- Hamon, R.E., Mc Laughlin, M.J., Naidu, R., Correll, A., 1998.** Long-term changes in Cadmium bioavailability in soil. *Environmental sciences and Technology*, **32**: 3699-3703.
- Herbert, A., Guilhermino, L., Assis, H.C.S., and Hansen, P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift angewandt zoologie*, **3**: 1-5.
- Hopkin, S.P., 1993.** In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In : Calow P (Ed). *Handbook of ecotoxicology*, Blackwell, Oxford, 397-427.
- International Workshop on Crop Protection Chemistry, 2005.**
- Ismert, M., Oster, T., Bagrel, D., 2002.** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, **46** : 273-280.
- Kassemi, N., 2001.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune de *Thymus ciliatus* Desf. (Thym) (Labiées) dans la région de Tlemcen. Thèse Ing. Ecol. Inst. Sci. Natu., Univ. Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 120 p.
- Kerney, M.P., Cameron, R.A.D., 1979.** A Field Guide to the Land Snails of Britain and NW Europe. London, William Collins Sons & Co. Ltd., 288 p.

- Khelil, M.A., 1984.** Bioécologie de la faune alfatière dans la région steppique de Tlemcen. Thèse Magister, Inst. Nat. Agro. El-Harrach, 68 p.
- Ladjmi, L., 1999.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune de *Rosmarinus officinalis* L. (Romarin) (Labiées) dans la région de Tlemcen. Thèse Ing. écol., Inst. Sci. natu., Univ. Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 108 p.
- Lam, P.K.S., 2009.** Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean and Coastal Management*, **52**: 348-354.
- Laskowski, R. et Hopkin, S.P., 1996b.** Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail *Helix aspersa* : implications for predators. *Environmental pollution*, **91**: 289-297.
- Le Bras, G., 2007.** Ecotoxicologie & Méthodes d'investigation - Les bioindicateurs, Version 2.0 – 2000-2007. 33 p.
- Leveau, N., 2001.** Encyclopédie de la Plongée – Ed. Vigot.
- Mc Laughlin, N., Yin, D., Maltby, L., Wood, R.M., and Yu, H., 2000.** Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**: 2085-2092.
- Meister, A., et Anderson, M.E., 1983.** *Glutathione*. *Ann. Rev. Biochem.*, **52**: 711-760.
- Menta, C., Parisi, V., 2001.** Metal concentration in *Helix pomatia*, *Helix aspersa* and *Arion rufus* : a comparative study. *Environmental Pollution*, **115** : 205-208.
- Merhi, M., 2008.** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse doctorat. Toulouse. Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition. 140 p.
- Morel, R., 1989.** *Les sols cultivés*. Lavoisier 2^{ème} édition. Paris., 51-74.
- Oerke, E., and Dehne, H., 1997.** Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*, **103**: 203-215.
- OMS. 2007.** Global insecticides use for vector-borne disease control. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- Ozmen, M., Sener, S., Mete, A., Kucukbay, H., 1999.** *In vitro* and *in vivo* acetylcholinesterase inhibition effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**: 241-246.
- Phillips, D.J.H., 1977.** The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments. A review. *Environmental Pollution*, **13**: 281-317.
- Pimentel, D., 1995.** Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, **8**: 17-29.
- Rahman, I., MacNee, W., 2000.** Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir.*, **16**: 534-54.
- Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., Piva, F., 2006.** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: An integrated approach. *Environmental Health Perspectives*, **114**: 63-69.
- Rorke, M.A., Gardner, D.R., 1974.** Lethality and behavioural symptoms produced by some organophosphorous compounds in the snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **11**: 417-424.
- Salama A.K., Osman, K.A., Saber, N.A., et Soliman, S.A., 2005.** Oxydative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **8(1)**: 92-96.
- Scaps, P., Borot, O., 2000.** Acetylcholinesterase activity of the polychaete *Nereis diversicolor* effects of temperature and salinity. *Comp. Biochem. Physiol.*, **125C**: 377-383.
- Scheifler, R., Gomot-de Vaufléury, A., Toussaint, M.L., Badot, P.M., 2002a.** Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*, **48**: 571-579.
- Schiavon, M., and Jacquin, F., 1972.** Contribution to the technical study of the migration of some organic compounds in soils. *Bulletin de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires*, 221-225.
- Schiavon, M., and Jacquin, F., 1973.** Studies on the migration of two triazines as influenced

- by precipitation. *Symposium on Herbicides and the Soil*, 80-90.
- Schütt, H., 2001.** Die Türkische Landschnecken 1758-2000. *Acta Biologica Benrodis*, Suppl. 4: 550 p.
- Semadi, A., Deruelle, S., 1993.** Lead pollution monitoring by transplanted lichens in Annaba area (Algeria). *Rev. Poll. Atmos.*, 35 (140): 86-102.
- Senn, R., Hefer, D., Hoppe, T., Angst, M., Wyss, P., Brandl, F. et al., 1998.** *Proc. Br. Crop Prot. Conf. - Pests Dis.*, 1: 27.
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1963.** The mathematical theory of communication. Urbana Univ. Press Illinois : 117-127.
- Sies, H., et Ketterer, B., 1988.** Glutathione Conjugaison : Mechanisme and Biological Significance. *Academic Press*, London, 480 p.
- Sifi, K., Chouahda, S., & Soltani N., 2007.** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba. *Mésogée* 63: 11-18.
- Spellerberg, I.F., 2005.** Monitoring ecological change. Second Edition, Cambridge University Press, Cambridge, England, 410 p.
- Sturn, A., Worgam, J., Segner, H., et Liess, M., 2000.** Different sensitivity to organophosphate of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gastersteus vaculeatus*) : application on biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1607-1617.
- Sverdrup, L.E., de Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S.B., Loibner, A.P., Jensen, J., 2006.** Effects dans uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1941-1945.
- Swaileh, K.M., et Ezzughayyar, A., 2001.** Dose-dependent effects of dietary Pb and Zn on feeding and growth rates of the land snail *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 50: 9-14.
- Taniguchi, N., Higashi, T., Sakamoto, Y., Meister, A., 1989.** Glutathione Centennial : Molecular Perspectives and Clinical Applications. *Academic Press*, London, 441 p.

- van Lenteren, J.C. 2000.** A greenhouse without pesticides : fact or fantasy? *Crop Prot.*, **19**: 375-84.
- Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C., 2004.** Standar use condition of terrestrial gasteropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, **6**: 103-107.
- Weckberker, G., & Cory, G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters*, **40**: 257-264.
- Zaidi, N., & Soltani, N., 2011.** Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control*, **59 (4)**: 106-113.
- Zhao, Q., Smith M.L, Stetto B.K., 1994.** The ω -conotoxin SNX 111, a N-type Ca^{2+} channel blocker dramatically ameliorates brain damage due to transient focal ischemia. *Acta Physiol. Scand.*, **150**: 459-461.

WEBOGRAPHIE:

[http:// www.aujardin.info](http://www.aujardin.info)

[http:// www.google maps.fr](http://www.google.fr/maps)

[http:// www.weatherbase.com](http://www.weatherbase.com)

[http:// www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)