



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE CIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة.

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie et Physiologie Animale

Option: Ecotoxicologie

Thème

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 du sol.

Présenté Par : M^{lle} Louiza DOUAFER

Directeur de thèse : Pr. Nouredine SOLTANI

Devant le jury composé de:

Présidente : M^{me} N. ARIBI

Pr. Univ. Annaba

Examineur: M. M.L. OUAKID

MC. Univ. Annaba

Examineur: M. T. DAAS

MC. Univ. Annaba

2009/2010

Remerciements

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la capacité d'effectuer ce travail.

Je remercie chaleureusement Madame N. Aribi (Professeur à l'université d'Annaba), qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Mes sincères remerciements vont également au Professeur N. Soltani, directeur de la thèse, qui a su me transmettre avec compétence et pédagogie son enthousiasme pour la recherche, ainsi m'avoir ouvert les portes de ses connaissances et ses aides.

Je tiens également à remercier Monsieur M. Ouakid (Maitre de conférences à l'université d'Annaba), qui a bien voulu prendre part à ce jury afin de juger mon travail.

Je fais part de mes sincères remerciements à Monsieur T. Daas (Maitre de conférences à l'université d'Annaba), qui a accepté de participer à mon jury de thèse.

Je remercie beaucoup l'équipe de laboratoire de Biologie Animale Appliquée et laboratoire de pédologie, ainsi l'ensemble des collègues de la promotion Ecotoxicologie, surtout les deux amies Assma et Nassima.

En fin, je ne peux terminer ces remerciements sans citer ma famille, à qui je dois tant. Sans son encouragement, son soutien et son affection, je n'aurais pu mener ce travail à bien.

Sommaire

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATERIEL ET METHODES.....	5
2.1. Présentation des stations d'étude.....	5
2.1.1. Données climatiques des stations.....	7
2.1.2. Inventaire de la flore dans les sites d'étude.....	9
2.2. Inventaire des Gastéropodes Pulmonés et clés d'identification	10
2.3. Modèle biologique.....	11
2.3.1 Présentation de l'espèce (<i>Helix aspersa</i>).....	11
2.3.2. Classification de l'espèce et Distribution géographique.....	13
2.3.3. Anatomie générale d'un escargot terrestre.....	13
2.3.3.1. Anatomie externe de l'escargot.....	13
2.3.3.2. Anatomie interne de l'escargot.....	15
2.3.4. Reproduction de l'escargot.....	16
2.3.4.1. Accouplement.....	17
2.3.4.2. Ponte.....	17
2.3.4.3. Incubation, éclosion.....	17
2.3.5. Physiologie.....	18
2.3.5.1. Activité saisonnière.....	18
2.3.5.2. Activité journalière.....	19
2.4. Dissection et prélèvement des organes.....	19
2.5. Biométrie des espèces.....	20
2.6. Indices écologiques.....	21
2.6.1. Indices de composition.....	21
2.6.2. Indices de structure.....	22
2.7. Mesure des biomarqueurs.....	23
2.7.1. Dosage du glutathion.....	23
2.7.2. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	24
2.7.3. Extraction et dosage des protéines.....	26
2.8. Analyse physico-chimiques du sol.....	27
2.8.1. Texture.....	27
2.8.2. Matière organique.....	28

2.8.3. pH eau.....	29
2.8.4. Conductivité électrique.....	30
2.8.5. Calcaire.....	30
2.8.5.1. Calcaire total.....	30
2.8.5.2. Calcaire actif.....	30
2.8.6. Porosité.....	31
2.8.6.1. Densité apparente.....	31
2.8.6.2. Densité réelle.	32
2.9. Traitement statistique des données.....	32
3. RESULTATS.....	33
3.1. Inventaire des Gastéropodes dans les zones d'études.....	33
3.1.1. Structure des Gastéropodes dans les sites d'étude.....	34
3.2. Biométrie des espèces.....	37
3.2.1. Le poids des gastéropodes.....	37
3.2.2. Le diamètre de la coquille des gastéropodes.....	38
3.2.3. La hauteur de la coquille des gastéropodes.....	39
3.3. Les indices écologiques.....	41
3.3.1. Indices de composition.....	41
3.3.2. Indices de structure.....	43
3.4. Dosage des biomarqueurs.....	44
3.4.1. Dosage du glutathion.....	44
3.4.2. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	50
3.4.3. Dosage des protéines.....	56
3.5. Analyses physicochimiques du sol dans les différents sites d'études	56
3.5.1. Taux (%) des métaux dans les sols.....	57
4. DISCUSSION.....	59
4.1. Inventaire des Gastéropodes.....	59
4.1.1. Biométrie des espèces	61
4.2. Indices écologiques.....	61
4.3. Dosage des biomarqueurs.....	62
4.4. Les paramètres physicochimiques du sol :.....	69
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	76
6. Résumés.....	78
7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	81

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
01	Localisation géographique des sites d'échantillonnages. (1: El Kala, 2: Sidi Ammar, 3: El Bouni, 4: Néchmaya et 5: Guelma). (www.google.fr).	07
02	Anatomie interne (A) et externe(B) de l'escargot. (www.google.fr).	15
03	Coupure de la coquille d'escargot.	19
04	La dissection de l'escargot et prélèvement des organes (tête, hépatopancréas).	20
05	Les paramètres de biométrie mesurés chez l'escargot (hauteur: H ; diamètre: D).	21
06	Les Gastéropodes Pulmonés Terrestres recensés dans les différents sites de l'Est algérien.	35
07	Structure des gastéropodes recensés au niveau d'El Kala (A), Guelma (B), Néchmaya (C), Sidi Ammar (D) et El Bounin (E).	37
08	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	46
09	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	47
10	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	49
11	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans les sites (El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni) en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	50
12	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) ($\text{pM}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	52

13	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	53
14	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/min/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	54
15	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans les sites El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	55
16	Dosage des protéines et droite de régression exprimant l'absorbance (DO) en fonction de la quantité d'albumines (μg).	56

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre
01	Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à El Kala (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique d'El Kala).
02	Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à la Wilaya d'Annaba (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique d'Annaba).
03	Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à la Wilaya de Guelma (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique de Guelma).
04	Les espèces botaniques recensées dans les cinq sites d'études. (Novembre 2008 à juin 2009).
05	Classification de la variabilité de la taille d' <i>Helix aspersa</i> (selon Chevalier, 1977 ; 1980 ; 1992).
06	La gamme d'étalonnage des protéines.
07	Echelle de la texture selon Gauchers (1968).
08	Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Solter, 1981).
09	La gamme de pH des sols (Gaucher et Soltser, 1981).
10	Echelle de salinité du sol (USSL, 1981).
11	Classification des sols d'après leurs teneurs en calcaire, Duchauffour (1970).
12	Liste des espèces malacologiques recensées dans les cinq sites d'études (Novembre 2008 à juin 2009).
13	Les Gastéropodes Pulmonés Terrestres (nombre d'individus) recensés dans les cinq sites d'études (Novembre 2008 à juin 2009).
14	Moyennes Pondérales ($m \pm s$, g) des gastéropodes pulmonés terrestres recensées au niveau des cinq sites d'études ($n = 100$).
15	Moyennes des Diamètres ($m \pm s$, mm) des gastéropodes pulmonés terrestres recensés au niveau des cinq sites d'études ($n = 100$).
16	Moyennes des Hauteurs ($m \pm s$, mm) des gastéropodes pulmonés terrestres recensées au niveau des cinq sites d'études ($n = 100$).
17	Richesse totale et moyenne de la population des gastéropodes pulmonés terrestres dans les cinq sites d'étude (Novembre 2008 à Juin 2009).

18	Fréquence centésimale (F) en (%) dans les cinq sites d'étude.
19	La constance (C) (%) dans les cinq sites d'étude.
20	Indice de diversité de Shanon-Weaver (H') et l'équitabilité (E) des gastéropodes dans les cinq sites d'étude (Novembre 2008 à Juin 2009).
21	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).
22	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Analyse de la variance: modèle linéaire généralisé.
23	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.
24	Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.
25	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/min/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).
26	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Analyse de la variance: modèle linéaire généralisé.
27	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.
28	Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Analyse de la variance à un critère de classification
29	Paramètres physico-chimiques des sols des cinq sites d'étude ($m \pm s$, $n = 3$).
30	Taux (%) de quelques métaux dans les sols* des cinq sites selon la norme AFNOR.*Laboratoire Analyse Matière Première, Direction Qualité, Arcelor Mettal, Annaba.

Introduction

1. INTRODUCTION

L'environnement de l'homme est très important, sa protection relève donc l'intérêt de tous. C'est après les catastrophes que l'on prend conscience des dégâts infligés par l'homme à l'environnement. (Bouffard, 2000). Cependant par notre industrie, nos habitudes de vie, notre agriculture, et plus généralement par toute notre activité, nous menaçons le monde dans le quel nous vivons. De ce fait, est née une nouvelle discipline en biologie : l'écotoxicologie, qui mit en charge l'identification et la lutte contre les pollutions du milieu naturel. C'est la science qui traite l'impact des composés chimiques sur les écosystèmes. Elle intègre la chimie, l'écologie et la toxicologie (Truhaut, 1997 ; Pelletier, 2004). Plusieurs travaux publiés depuis les années 1990 ont mis l'accent sur l'évaluation de l'impact des contaminants sur les écosystèmes (Landis & Yu, 1995 ; Wright & Welborn, 2002).

Le sol est également un écosystème à part entière réunissant une quantité et une variété immense d'organismes vivants ; Ces derniers remplissent des fonctions écologiques essentielles. Le sol est caractérisé par différents facteurs microbiologiques, physiques, chimiques et mécaniques, il est donc le support d'une activité biologique intense. Il en résulte que le sol est une ressource essentielle pour les sociétés humaines et les écosystèmes : une ressource économique pour la production alimentaire en étant à la base de 90% de l'alimentation humaine et animale, et comme un support de toute activité humaine. Le sol étant à des pressions de plus en plus importantes (production agricole, développement urbain et industriel, problèmes environnementaux naturels...). En effet, l'activité humaine produit de nombreux polluants de nature différente, qui résultent par conséquent plusieurs types de pollutions : physiques, chimiques, biologiques. La pollution du sol a comme origines principales : les activités agricoles via les engrais, les pesticides et les pratiques et la pollution atmosphérique. En fait, les polluants atmosphériques ne séjournent pas indéfiniment dans l'air. Les précipitations et les mécanismes de dépôt sec des particules les ramènent à la surface du sol.

La qualité d'un sol, (Eijsackers, 1983) peut être défini comme le système des caractéristiques abiotiques et biotiques qui assurent le fonctionnement de l'écosystème du sol. Ces caractéristiques doivent par conséquent, posséder un certain minimum au dessus du quel la qualité d'un sol variera en fonction de la phase de succession et du type d'écosystème du sol.

Un sol est considéré pollué lorsque la dégradation de sa qualité par l'apport anthropique d'élément toxique peut porter atteinte à la santé humaine ou/et à l'environnement.

La présence d'un polluant dans le sol n'est pas en soit un danger. Le risque apparaît dès que ce polluant peut être mobilisé et agit sur l'environnement (faune, flore) ou sur l'homme (Dubey et Dwividi, 1988).

En Avril 2002, la commission européenne a souligné et identifié les différents menaces (érosion, compaction, pollution, perte de matière organique et de biodiversité, imperméabilisation, salinisation et glissement de terrain) qui présent sur le sol et a décidé de mettre en place une réflexion scientifique, technique et politique afin de garantir la protection de sol et leur utilisation durable, pour mettre en place, suivre et assurer les actions de protection et de gestion, il convient de définir, d'identifier et de quantifier les perturbations et les transformations du sol . Les outils actuellement utilisés reposent sur des propriétés physiques et chimiques du sol alors que les paramètres biologiques intègrent l'ensemble de stress environnementaux (pollution chimique, état physique du sol, variations climatiques, modifications biologiques ...) renseignant ainsi sur l'état global du sol.

Par ailleurs les métaux qui contaminent le sol, sont d'origine naturelle ou sont issus de l'activité humaine, tout comme les pesticides employés dans l'agriculture, donc cette contamination désigne la présence anormale, ou par excès en éléments traces métalliques plus ou moins toxiques. Ces derniers sont les 68 éléments chimiques dont la concentration dans la croûte terrestre, et pour chacun d'entre eux inférieure à 0,1%, ils ne représentent que 0,6% du total (Alloway, 1995 ; Baize, 1997). Les micropolluants minéraux : métalliques et non métalliques les plus concentrés sont : le cadmium, le chrome, le cuivre, le mercure, le nickel, le plomb, le silicium, le zinc, l'arsenic, le molybdène, le cobalt, le bore et le thallium (Merian, 1991), certains micropolluants sont des oligoéléments rencontrés dans le règne végétal (B, Co, Cu, Mo, Ni, et Zn) et animal (As, Cu, Co, F, Mo, Ni, Se, Zn) ces éléments sont également désignés sous le terme « éléments potentiellement toxiques ». De fait, l'estimation de la biodisponibilité du métal dans les sols et les effets sur les organismes est une question cruciale dans l'écotoxicologie et la gestion de l'environnement parce que la relation et les rapports entre les concentrations et leurs effets subséquents différent selon la durée d'exposition, cette dernière est dépend à la fois de la physico-chimie du milieu et de la biologie de l'organisme considéré (Van Staalen et Van Gestel, 1998). La biodisponibilité des éléments traces métalliques (ETM) dans le sol est un concept complexe qui dépend de nombreux facteurs chimiques, physiques et biologiques (Philips et Kainbow, 1993 ; Peijnenburg *et al.*, 1997), elle est actuellement en cours de discussion entre chimistes, biologistes, animaux ou végétaux ou écotoxicologues.

Certaines espèces présentent un intérêt particulier dans le contexte de la surveillance de la de la qualité des milieux. Elles sont susceptibles d'être utilisées comme indicatrices de la présence et de la toxicité de certains contaminants, de façon plus globale comme indicateur de la santé de l'écosystème (Lower & Kendall, 1990 ; Beeby, 2001). Selon la définition générale de Spellerberg (2005), un bioindicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans le quel il 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 ; être sédentaire, largement distribué et facile à identifier ; être bioaccumulateur, tolérant...).

L'utilisation des invertébrés pour l'évaluation des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques (Philips, 1977) et terrestres (Eijsackers, 1983). Les mollusques gastéropodes pulmonés terrestres sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger et Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999), par leur grande capacité d'accumulation des ETM . Les ETM les plus fréquents à savoir le Cd, le Cu, le Pb et le Zn) ; cette propriété a été mise à profit pour utiliser les escargots comme bioindicateurs de la pollution par les ETM (Coughtrey et Martin, 1977 ; Berger et Dallinger, 1993 ; Gomot de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Beeby et Richmond, 2002 ; Viard *et al.*, 2004a ; Notten *et al.*, 2005). De plus, l'effet toxique des substances organiques et inorganiques sur les escargots a été évalué par plusieurs chercheurs (Beeby & Richmond, 2002, 2003 ; Viard *et al.*, 2004 ; Regoli *et al.*, 2005 ; Achuba, 2008). Parmi ces espèces ; l'escargot *Helix aspersa* qui constitue un élément de la chaîne trophique et contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beeby, 1985 ; Laskowski et Hopkin., 1996b ; Scheifler *et al.*, 2002a). Ainsi, il possède une capacité de bioaccumulation importante pour de nombreux polluants métalliques (Dallinger et Weiser, 1984a ; Brouks *et al.*, 1992 ; Gomot et Pihan, 1997 ; Menta et Parisi, 2001 ; Gomot de Vaufleury et Pihan, 2002 ; Viard *et al.*, 2004) et organiques (Cœurassier *et al.*, 2001 ; Sverdrup *et al.*, 2006).

Des études ont été menées sur les effets de la pollution par les ETM sur les caractères biologiques « life history traits » individuels d'*Helix aspersa* (coissance, fécondité, reproduction et mortalité) dans une approche populationnelle (Cœurassier, 2001 ; Laskowski et Hopkin, 1996a ; Gomot, 1997; Mandoz-Escande, 2005) ; les principaux résultats soulignent que le coefficient de croissance de la population est plus affecté par un retard de maturité sexuelle que par de forte inhibition de la fécondité.

L'accumulation des métaux est influencée par les facteurs environnementaux (saison, type de sol,...) et les paramètres biologiques des escargots (âge, espèces,...) (Beeby & Eaves, 1983).

Les biomarqueurs ont pour but de mettre en évidence de façon précoce une pollution (Van der Oost *et al.*, 2003). Un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique et cellulaire, de l'organisme (Peakall, 1994), de la population ou de l'écosystème qui peut être relié à une exposition ou à des effets toxiques des polluants chimiques environnementaux (Lagadic *et al.*, 1997 ; Galloway & Depledge, 2001 ; Van der Oost *et al.*, 2003). Les différents travaux scientifiques réalisés ont permis de classer les biomarqueurs suivant la spécificité de leur réponse à certaines molécules polluantes ou à un type d'effet. Ainsi, classiquement, les auteurs distinguent les biomarqueurs d'expositions et les biomarqueurs d'effet et les biomarqueurs de sensibilité (Lagadic *et al.*, 1997 ; Kammenga *et al.*, 2000). Ces changements sont plus sensibles que les paramètres mesurés à un niveau supérieur d'organisation biologique tel que l'organe, l'individu ou la population et sont de meilleurs candidats pour tenter d'établir un lien entre la santé des organismes et les niveaux de pollution. Parmi les biomarqueurs on peut citer l'acétylcholinestérase (Lionetto *et al.*, 2003 ; Abes, 2004 ; Coeurdassier *et al.*, 2001) et le glutathion (Regoli & Principato, 1995 ; Casni *et al.*, 1999 ; Drarja-Beldi & Soltani, 2003 ; Souissi *et al.*, 2008).

L'étude vise à : 1/ établir un inventaire quantitatif et qualitatif des Gastéropodes Pulmonés Terrestres dans les sites (Parc National d'El Kala (PNEK), Guelma, Nechmaya, Sidi Ammar et El Bouni) de l'Est algérien choisir selon un trajet Nord-Sud afin de choisir une espèce bioindicatrice ; 2/ évaluer le stress environnemental par la mesure des deux biomarqueurs le Glutathion (dans l'hépatopancréas) et l'acétylcholinestérase (dans la tête) chez l'espèce la plus répondeuse, *Helix aspersa*. Et enfin de corrélérer les variations de ces deux biomarqueurs avec les caractéristiques physico-chimiques des sols T (°C), pH, conductivité électrique (ms /cm), humidité (%), matière organique (%), porosité (%) et calcaire (%) total et actif).

Matériel et Méthodes

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des sites d'étude (Fig. 1)

Le Parc National d'El Kala :

L'Algérie a créé dix parcs nationaux dont nous citons le parc national d'El Kala (PNEK), il figure parmi les zones protégées les plus prestigieuses de la méditerranée. Il est servi par un ensemble de conditions naturelles éminemment favorable à une richesse biologique peu commune (Benyakoub et Chabi, 2000 cité par Nezzal A, 2007), considéré comme une entité de référence sur le plan de la biodiversité en Algérie qui a toujours attiré les naturalistes nationaux et internationaux pour étudier sa faune et sa flore (Telailia, 1990 ; Bouguessa, 1993 ; Semraoui *et al.*, 1993 ; Djeddi, 2004). Le PNEK est situé au Nord-est du pays. Ce site a de 76 438 ha (Wikipédia, 2009), également déclaré Réserve de la Biosphère dans le réseau des réserves du programme MAB (Man and Biosphère) de l'UNESCO (Benyakoub *et al.*, 1998) depuis 1991. Il borde la Mer Méditerranée et comprend une belle mosaïque d'habitats qui implique une grande diversité biologique notamment au niveau de la faune (Lazli, 2003): Zones humides (trois lacs), forêts de pins et de chênes (dont une rare forêt littorale de Pins d'Alep), zones montagneuses et écosystèmes marins. El Kala constitue en particulier la première zone d'hivernage algérienne pour les oiseaux migrateurs. Plusieurs espèces rares y nichent, comme le Balbuzard pêcheur (*Pandion haliaetus*), l'Erismature à tête blanche (*Oxyura leucocephala*) ou le Fuligule nyroca (*Aythya nyroca*) (Wikipédia, 2009). Il abrite aussi de nombreux mammifères rares et protégés tels que le Cerf de Barbarie., 840 espèces de plantes (De Belair, 1990 cité par Lazli, 2003), dont 27 % sont des espèces rares et très rares et dont 26 sont protégées par décret.

Guelma:

Elle se situe au cœur d'une grande région agricole à 290 m d'altitude, 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 la Sybouse et d'un grand barrage qui assure un vaste périmètre d'irrigation. Sa qualité de carrefour dans la région Nord-Est de l'Algérie, reliant le littoral des Wilaya de Annaba, EI Tarf et Skikda, aux régions intérieures (Constantine, Oum El Bouagui et Souk-Ahras). Elle a une superficie de 4 101km² et une population de 190 461 hab en 2008. Ses Coordonnées géographiques sont : 36° 27' 58" N et 07° 26' 02"E ; un Climat humide et sub-humide (Wikipédia, 2009) ; Elle compte au pôle industriel :

- CYCMA (Complexe de fabrication cycles et cyclomoteurs).
- Raffinerie de sucre.
- Unité de céramique et vaisselle (ECVE).
- Conserverie Amor Benamor (CAB) pour la Harissa.
- Les Moulins Benamor : Semoulerie.

Néchmaya :

elle est située, entre Guelma et Ain El Berda, c'est parmi les principales communes de Guelma, s'éloigne de quelques vingtaines de kilometres à la ville de Guelma, une region se caracterise par les activités agricoles.

Annaba :

Elle est située à l'extrême Nord-Est de l'Algérie, entre l'Oued Seybouse et la frontière tunisienne. Elle est limitée géographiquement par La Méditerranée, au nord, la Willaya de Guelma au sud, la Willaya d'El Taref, à l'est, la Willaya de Skikda à l'Ouest. Elle comptait 640 050 hab en 2008. Elle s'étend sur 1 439 km² soit 0,06% du territoire national (Wikipédia, 2009). La région est richement arrosée (650 à 1000 mm/an). Elle possède un lac, le Fezzara et l'Oued Seybouse. Annaba abrite un important pôle industriel avec :

- Le complexe sidérurgique d'El-Hadjar.
- Le complexe phosphatier de la Sébouse.
- Le complexe métallurgique d'Allelik. (Wikipédia, 2009).

El Bouni :

Située à environ 8 Km au sud de la ville d'Annaba, la commune d'El Bouni se trouve au contre bas du pied montagne de l'Edough, encadré par le Nord d'Annaba et de Seraidi, par le Sud d'El Hadjar, de Berrahel et de Sidi Ammar .l'Est par El Taref et par l'Ouest d'Oued Aneb, elle est considérée comme la 2éme commune de la Willaya d'Annaba.. El Bouni est caractérisée par un ensemble d'activités industrielles (le complexe phosphaté, Asmidal, le complexe de sidérurgique d'ISPAT...) qui sont considérés comme des sources principales de la pollution.

Sidi Ammar :

Située à 12 Km de la ville d'Annaba près du complexe sidérurgique d'El Hadjar, elle couvre 45 km², soit 3 % de la superficie de la Wilaya d'Annaba et 12 % de sa population, donc Sidi Ammar est parmi les principales communes de la Wilaya.

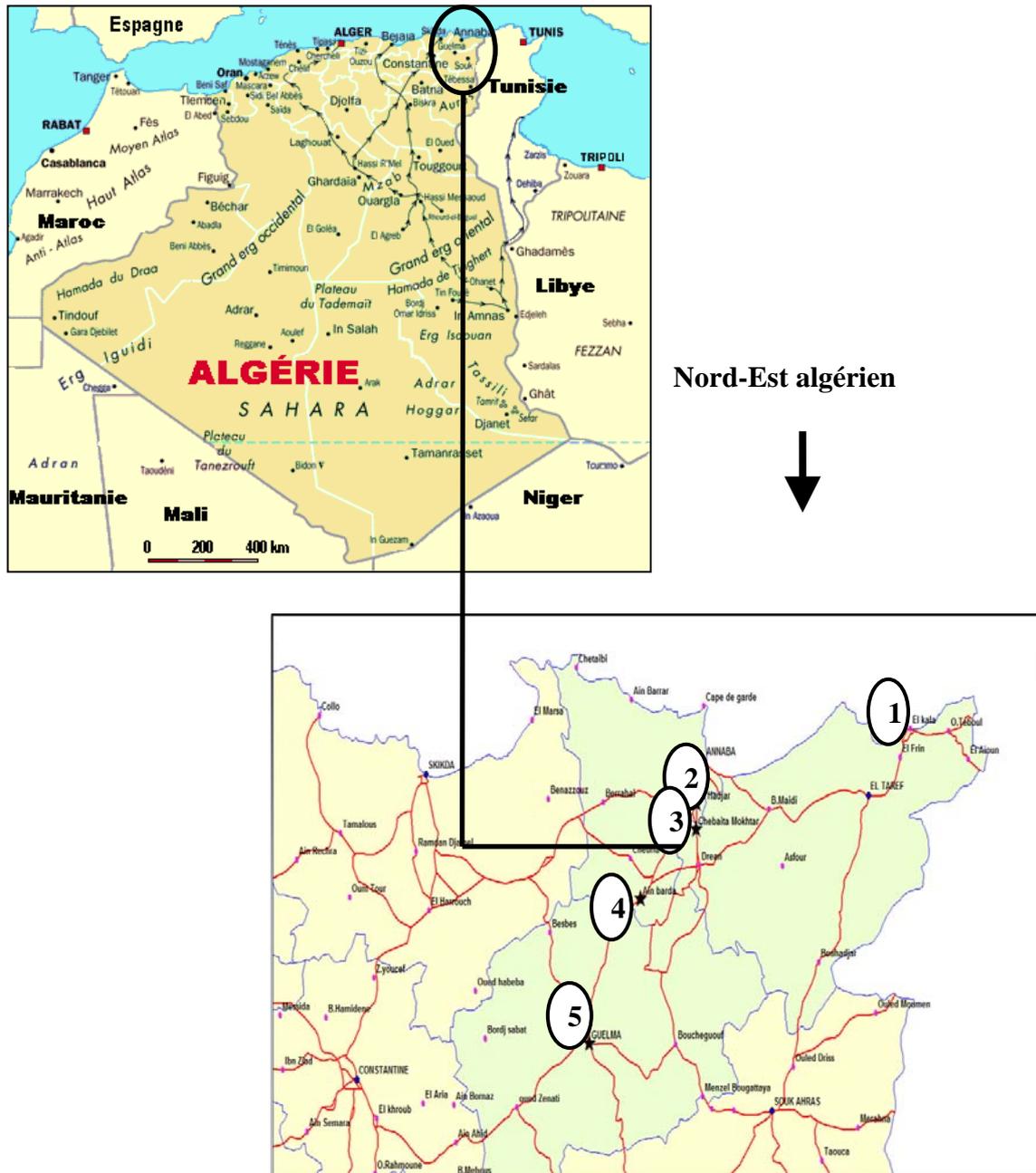


Figure. 1 Localisation géographique des sites d'échantillonnage. (1: El Kala, 2: El Bouni, 3: Sidi Ammar, 4: Néchmaya et 5: Guelma).(www.google.fr).

2.1.1. Données climatiques des stations d'étude :

L'impact des facteurs du milieu se manifeste sur le peuplement des Gastéropodes terrestres avec en priorité les facteurs physiques, l'humidité et la température. En effet, les facteurs climatiques interviennent dans la croissance et la distribution des populations locales

des mollusques. Les Gastéropodes présentent un polymorphisme du point de vue couleur en rapport avec le rayonnement photo solaire (Damerdji *et al.*, 2006). Ces facteurs en excès ou en baisse déclenchent les phénomènes d'estivation ou d'hibernation.

Etat hygrométrique:

Les mollusques terrestres présentent une teneur en eau de leurs tissus en relation directe avec la température et l'humidité du milieu ambiant (Bigot, 1957). Tous les pulmonés ont besoin d'eau et d'air humide. La pluviométrie est un facteur important de l'activité (Ricou, 1964). La majorité des limaces et des Escargots n'étant actifs que si l'humidité du milieu est suffisante (Bachelier, 1978). Selon Charrier et Daguzan, l'humidité préférentielle des escargots est de 75 à 95 % (Daguzan, 1981).

Température:

Chaque espèce de pulmonés possède son optimum thermique ; elle peut supporter des variations de faible ou de forte amplitude. Des températures basses provoquent la congélation des tissus alors que celles qui sont élevées entraînent la coagulation (Pelseneer, 1935). Les escargots ressentent toujours directement les températures du milieu et meurent dès que celles-ci descendent au-dessous de zéro ou atteignent des valeurs trop élevées (Sacchi, 1971).

Tableau 1: Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à El Kala (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique d'El Kala).

Mois						
Paramètres	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril
Température (°C)	16,00	12,3	11,8	11,3	10,1	15,3
Humidité (%)	76	80	81	80	78	82
Précipitations (mm)	114	140	187	184	186	172

2: Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à la Wilaya d'Annaba (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique d'Annaba).

Mois Paramètres	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril
Température (°C)	14,8	11	11	10,5	12,1	14,4
Humidité (%)	71	79	80,1	75	51	79
Précipitations (mm)	40,5	87,3	217	83	91	127

Tableau 3: Moyennes mensuelles de : Température (°C), Humidité (%) et Précipitations (mm) enregistrées à la Wilaya de Guelma (Novembre 2008-Avril 2009) (Station météorologique de Guelma).

Mois Paramètres	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril
Température (°C)	13,7	10,1	10	9,3	11,8	13,8
Humidité (%)	68	75	79	71	73	78
Précipitations (mm)	70,5	35,7	160,4	67,1	98	134,2

2.1.2. Inventaire de la flore dans les cinq sites d'étude:

Les escargots sont des végétariens, ils préfèrent les végétaux frais, la salade fraîche, les feuilles fraîches, les champignons, la carotte et la tomate.... Il est indispensable d'identifier préalablement les végétaux naturellement consommés par l'escargot. Dans les sites d'étude on a recensé les espèces des végétaux suivantes, utilisées comme sources de nutrition ces espèces sont déterminées par Mr ZAAFOUR (Université d'Annaba) (Tableau 4).

Tableau 4: Les espèces botaniques recensées dans les cinq sites d'études. (Novembre 2008 à juin 2009).

Famille botanique	Espèce botanique
Asteraceae	<i>Picris inermis</i>
Asteraceae	<i>Urospermum dalichampii</i>
Poaceae (Gramineae)	<i>Deschampsia cespitosa subsp. cespitosa</i>
Europhobiaceae	<i>Euphorbia terracina</i>

2.2. Inventaire des gastéropodes et clés d'identification :

Les Mollusques sont des animaux dépourvus d'axe vertébral. Ils possèdent une coquille, qui peut cependant manquer dans des groupes importants. Par ailleurs, ils présentent une symétrie bilatérale primitive, mais susceptible de se trouver profondément altérée dans certain groupes (Gaillard, 1991). Le corps des Mollusques est mou, non segmenté, dépourvu d'appendices articulés, et se divise en cinq grandes régions (Grasse, 1960). Les Gastéropodes regroupent 80 000 espèces caractérisées par une coquille univalve spiralée, un pied aplati dont la face inférieure sert à la locomotion, une tête bien distincte ou s'ouvre la bouche et portant organes sensoriels, et par une masse viscérale située dorsalement, enveloppée par le manteau et protégée par la coquille (Gaillard, 1991). Il en résulte une position en U du tractus digestif et du système nerveux (Purves & Heller, 1992). Sur le plan de la systématique, la classe des Gastéropodes se divise en trois sous-classes (Gaillard, 1991 ; Grzimek & Fontaine, 1973).

-les Prosobranches, qui constituent la quasi-totalité des Gastéropodes marins à coquille (Gaillard, 1991).

- les Opisthobranches, qui constituent la totalité des Gastéropodes marins adaptés à la vie benthique littorale ou à la vie pélagique. Certains possèdent une coquille, mais la grande majorité est d'aspect limaciforme (Grzimek & Fontaine, 1973).

-les Pulmonés, qui constituent la quasi-totalité des Gastéropodes, avec ou sans coquille, habitant les domaines terrestres et les eaux douces (Gaillard, 1991). Se sont les seuls Mollusques bénéficiant d'une respiration pulmonaire. Ils sont fréquemment hermaphrodites (Grzimek & Fontaine, 1973).

Les méthodes d'identification décrites par Bonnet *et al.* (1990) et Chevallier (1992) se basent sur le nombre de bandes spirales au niveau des coquilles ainsi que la couleur et la forme de ces dernières.

Pour les variétés d'*Helix aspersa* :

- * la variété *typica* caractérisée par une coquille de coloration générale foncée, possède quatre bandes chagrinées, les bandes n° 2 et 3 étant confondues, sa formule s'écrivant : 1.(2.3).4.5*.
- *la variété *lutescens* qui correspond également à quatre bandes de formule 1. (2.3).4.5, mais de coloration générale claire.
- *la variété *fasciata*: coquille foncée à cinq bandes.
- *la variété *zonata*: coquille claire à cinq bandes.
- *la variété *unicolor*: coquille sans bandes de couleur ocre ou fauve.
- *la variété *obscurata*: coquille très foncée à bandes délayées.
- *la variété *flammea*:coquille claire à bandes délayées se traduisant par des flammules verticales brun clair.
- *la variété *exalbida*: coquille jaune verdâtre très pale à bandes estompées par l'albinisme.
- *la variété sans bandes ou *unicolore*: coquille sans bandes et marron.

2.3. Modèle biologique

2.3.1. Présentation et classification de l'espèce (*Helix aspersa*)

Helix aspersa ou le petit gris, est un escargot appartient à l'embranchement des Mollusques, animaux à corps mou et dépourvu de squelette, sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certain de ses organes (Bonnet *et al.*, 1990) : Il fait partie de la classe des Gastropodes, il possède un poumon (ou cavité palléale), ce qui le situe dans la sous classe des Pulmonés, il appartient au sous ordre des Stylomatophores, caractérisés par le port des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. Sa coquille enroulée caractérise la famille des Hélicidés ; sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre, pouvant contenir tout son corps. La masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columbaire. *Helix aspersa* est une espèce polymorphique et polytypique, sa variabilité concernant la taille des animaux peut se résumer dans le Tableau 5.

5: Classification de la variabilité de la taille d' *Helix aspersa* (selon Chevalier, 1977 ; 1980 ; 1992).

Dénomination de la forme ou de la classe de taille		Diamètre de la coquille (mm)	Poids vif de l'animal (g)
minor		< 28	< 6
Nemoralis	Petite taille	28 à 32	6 à 7
Nemoralis	taille moyenne	32 à 35	7 à 10
Nemoralis	belle taille	35 à 39	10 à 14
Major		39 à 43	14 à 20
Maxima		> 43	20 à 40

A la fin de la croissance l'escargot dit « Bordé », mesure de 28 à 35 mm pour un poids adulte de 7 à 15 g, il est sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de l'épithélium olfactif. L'escargot se déplace par reptation, grâce à son pied, en secrétant de la bave pour mieux glisser, sa vitesse moyenne est de 7,5 cm / mn (Cadart, 1975).

Il peut vivre entre 5 et 10 ans, (Auguste, 1838); s'il n'est pas dévoré par ses prédateurs ; il est nuisible aux cultures.

La plupart de l'activité de l'escargot (y compris ses repas) a lieu de nuit avec un pic 2 à 3 heures après la tombée de la nuit, la fraîcheur nocturne, et la rosée facilitent leur déplacement. L'escargot est un animal à sang froid, il s'adapte aux différentes saisons pour réguler sa température. En hiver, il entre en hibernation ; en été son activité est réduite par les conditions climatiques défavorables, donc il entre en estivation pour se réhydrater. Dans ces deux périodes, il se rétracte à l'intérieur de sa coquille qu'il obture par un voile muqueux (courte inactivité), imprégné de calcaire durcit en séchant c'est l'épiphragme. L'escargot reprend son activité quand les conditions climatiques seront favorables. *Helix aspersa* est un hermaphrodite, mais doit s'accoupler car il ne peut pas s'autoféconder (Bertrand *et al.*, 2004).

L'Homme apprécie l'escargot comme alimentation, ainsi sa bave peut être utilisée pour cicatriser les plaies, arrêter les hémorragies, aussi elle sert en cosmétologie, en neurologie ; De plus cette espèce sert à dépolluer l'environnement, et mesurer le degré de pollution, il a la particularité de concentrer dans ses tissus les substances chimiques présentes dans le sol, l'air et les plantes de son environnement.

Classification

Helix aspersa (Müller, 1774) est un Mollusque gastropode, pulmoné terrestre, aussi nommé *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature récente (Barker, 2001) ou le petit gris.

Selon Bonnet et Vrillon (1990) sa position systématique est la suivante:

Règne:	Animalia
Embranchement :	Mollusca
Classe :	Gastéropoda
Sous -classe :	Pulmonés
Ordre :	Stylomatophora
Super-famille :	Helicacea
Famille:	Helicidae
Genre :	<i>Helix</i>
Espèce :	<i>aspersa</i>
Sous-espèce :	<i>aspersa</i>

2.3.2. Distribution géographique

Grâce à ses pouvoirs adaptatifs aux variations climatiques, *Helix aspersa* est très commun ; se trouve dans ses zones habituelles de répartition : jardins, buissons, haies, champs, rochers, et vignobles, généralement, il est très commun au niveau de la région méditerranéenne, dans le monde, il se distribue selon l'Université de Flauride (2009) comme suit:

Afrique : le nord d'Afrique (Algérie) et l'Afrique du sud.

Asie : Turquie, rives de la mer noire.

Pacifique : Australie (Queens land, Tasmanie), nouvelle Zélande.

Europe : Grande-Bretagne (principalement les régions du sud et côtières), Belgique ,France, Allemagne, Grèce, Irlande, Italie, Portugal, Espagne.

Îles : les Canaries, Haïti.

Amérique du nord : Mexique, Etats-Unis (AZ-,CA,HI,ID,LA,NM,NV,OR,TX,UT,WA).

Amérique du sud : Argentine, Chili.

2.3.3. Anatomie générale de l'escargot

2.3.3.1. Anatomie externe de l'escargot

Le corps : est mou, visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de trois parties : la tête, le pied et la masse viscérale (Bonnet *et al.*, 1990). (Fig. 2 (A)).

La tête : comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens constitués de deux paires de tentacules. Les tentacules inférieures, tactiles, sont dirigés vers le bas, les tentacules supérieures, oculaires, portant un œil simple et un organe olfactif, qui sont dirigés vers le haut (Bonnet *et al.*, 1990).

Le pied : est musculeux, large et plat, il supporte une coquille calcaire formée d'une seule pièce en forme de spirale. Sa face inférieure, en contact avec le sol, forme une sole de reptation, lorsque l'escargot se déplace, elle laisse une trace brillante formée de mucus

La masse viscérale: dont la plus grande partie est enfermée dans la coquille (Chevalier, 1987), contenant presque tous les organes: poumon, glande digestive, cœur..., elle est richement vascularisée.

Trois orifices impairs: se sont bien visibles sur le corps de l'animal qui sont: L'orifice génital situé en arrière du tentacule oculaire droit; l'orifice respiratoire, situé sur le côté droit du bourrelet qui sépare la coquille du pied (bourrelet palléal), et qui s'ouvre et se ferme rythmiquement ; l'anus, situé à proximité de l'orifice respiratoire, qui se révèle par l'apparition d'un petit cordon d'excréments verdâtres.

Un quatrième orifice, l'orifice urinaire, situé à proximité de l'anus, est généralement indétectable en raison de sa petite taille (Vallardi, 1971).

La coquille: est une squelette externe secrétée par la face dorsale et le bord libre du manteau, elle est globoïde, spirale, a un enroulement dextre, son ouverture est évasée, descendante; son bord externe est appelé: péristome ; la forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont souvent une grande importance dans l'identification des espèces des gastéropodes. La coquille protège les organes. Elle est composée de:

-une partie organique: trame protéique, représentant 1 à 2% de la coquille.

-une partie minérale: carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite représentant 98% de la coquille. Elle est constituée de trois couches distinctes:

-couche externe appelée: le périostracum .

-couche moyenne appelée : l'ostracum .

-couche interne appelée : l'hypostracum (Vallardi, 1971).

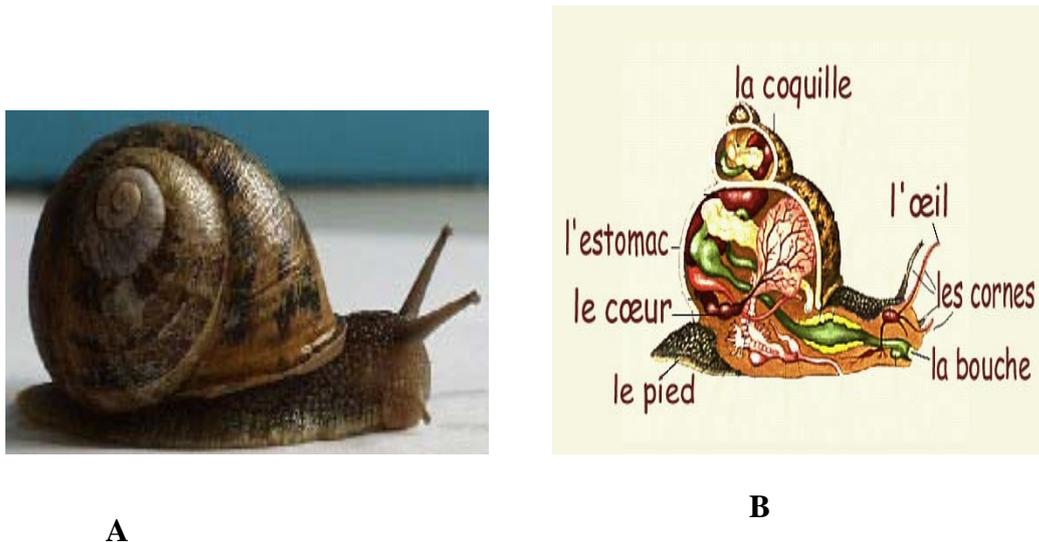


Figure 2. Anatomie externe (A) et interne (B) de l'escargot.(www.google.fr).

2.3.3.2. Anatomie interne de l'escargot: (Fig. 2 (B))

Appareil digestif :

En raison de la torsion 180° du corps de l'escargot, le tube digestif forme une boucle ramenant l'anus vers l'avant. La bouche se prolonge par un bulbe buccal à l'intérieur duquel se trouve une langue musculaire recouverte d'une lame cornée: la radula, son rôle est de broyer les aliments. Dans la partie postérieure du bulbe buccal on trouve deux glandes salivaires. Ce bulbe se prolonge par un œsophage qui se renfle en un estomac, lui-même prolongé par un intestin formant une double circonvolution autour de hépatopancréas et aboutissant à l'anus.

Système nerveux:

Le système nerveux sympathique est constitué par une paire de ganglions buccaux situés sous le bulbe buccal. Ils sont reliés par deux cordons nerveux aux ganglions cérébroïdes et innervent la plus grande partie du tube digestif. Le système nerveux central est situé dans la région céphalique. Il est formé d'une chaîne de ganglions formant un double collier péri œsophagien complexe.

Appareil génital

L'escargot est hermaphrodite. Cette particularité explique la complexité de l'appareil, formé d'organes à la fois mâles et femelles et d'organes uniquement mâles ou femelles.

Il comprend:

- un ovotestis, où se forment ovules et spermatozoïdes située à l'extrémité postérieure de

l'hépatopancréas.

- un canal hermaphrodite servant l'évacuation des gamètes.
- une glande de l'albumine qui élabore les réserves vitellines.
- un ovospermiducte (Bonnet *et al.*, 1990).

Puis l'appareil se divise en deux voies :

- la voie mâle comprenant un spermiducte où les spermatozoïdes s'accumulent en un spermatophore ainsi qu'un organe copulateur, le pénis.
- la voie femelle comprend la poche qui sécrète le dard calcaire lors de l'accouplement, le vagin et l'orifice génital .

Appareil circulatoire:

Se compose essentiellement d'un cœur, est constitué d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur. Le sang ou hémolymphe contient un pigment, l'hémocyanine. Il est incolore sous sa forme désoxydée et bleu sous sa forme oxydée. Le sang est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes.

L'aorte antérieure irrigue le pied et la postérieure le tortillon. Le sang revient au cœur par un système de veines et de sinus veineux.

Appareil respiratoire:

Le poumon est une poche formée de l'épithélium palléal, irrigué par les vaisseaux Pulmonaires (Bonnet *et al.*, 1990), situé entre la masse viscérale et le manteau qui recouvre l'intérieur de la coquille. Il s'ouvre à l'extérieur par l'orifice respiratoire dont on peut observer aisément les mouvements rythmiques d'ouverture et de fermeture (Bonnet *et al.*, 1990). L'air y circule au travers du pneumostome par des mouvements de contraction de son ouverture.

2.3.4. Reproduction:

Helix aspersa est un hermaphrodite, il possède à la fois des lignées germinales mâles et femelles, l'accouplement est ce pendant nécessaire pour la fécondation (Bertrand *et al.*, 2004). Le printemps est la pleine saison de la reproduction, une fois fécondée la glande hermaphrodite se modifie: la partie mâle se résorbe d'elle même et la partie femelle se développe. L'accouplement se fait une fois au printemps et une fois en été. Les escargots, possèdent un spermathèque lorsqu'une nouvelle portée d'œufs arrivent, ceux sont donc fécondés par un mélange de spermatozoïdes provenant de différents mâles. Cela favorise le

brassage génétique indispensable à toute population .

2.3.4.1. L'accouplement

Dans la nature, L'accouplement est nocturne, dure de quatre à douze heures de nuit, lors de l'accouplement, les spermatozoïdes collectés peuvent être conservés plusieurs mois ou années avant d'être utilisés pour fertiliser des ovaires, pendant la copulation, l'escargot plante un dard calcaire dans son conjoint afin de favoriser la survie des millions de spermatozoïdes transmis, le dard calcaire contient un mucus contractant temporairement le système reproducteur femelle de l'escargot récepteur qui peut ainsi stocker un plus grand nombre de spermatozoïdes dans sa zone de stockage . L'accouplement et la ponte sont très dépendant de la photopériode, l'accouplement débute lorsqu'il y a au moins 10 heures de lumière par jour (Wikipédia, 2009).

2.3.4.2. La ponte

L'intervalle entre l'accouplement et la ponte est variable, en conditions constantes de température et d'hygrométrie (20°C et 85%) les durées moyennes sont de 10 à 15 jours, *Helix aspersa* peut pondre jusqu'à trois fois entre Mars et Octobre (wikipédia, 2009). Pour pondre, l'escargot creuse dans la terre un nid de ponte, de 4 à 5 cm de profondeur et pond de 80 à 130 œufs par ponte . Ces œufs sont blancs et sphériques de 4 mm de diamètre et pesant 3 à 4 mg, La ponte dure 12 à 48 heures, La basse température et un faible degré d'humidité réduisent la fréquence de l'oviposition.

2.3.4.3. Incubation, éclosion :

Après la ponte, dès les premiers jours d'incubation, l'embryon élabore une coquille protéique qui se calcifie au cours de son développement. En conditions naturelles l'incubation varie de 15 à 30 jours, il se libère (s'écloso) par répture de la membrane externe de l'œuf qu'il consomme . Le nouveau né a une petite coquille transparente, il attend qu'elle jaunisse et solidifiée dans le nid de ponte de 6 à 10 jours (Bertrand, 2004) ; puis il remonte jusqu'à la surface du sol. Il pèse alors de 10 à 40 mg , mesure 2 à 4 mm de diamètre ; il est apte à se nourrir de la végétation qu'il trouve .

le taux de maturation étant déterminé par la concentration de calcaire dans le milieu. Cette espèce peut survivre à -10°C et devient active entre 4,5°C et 21,5°C. Donc on peut souligner l'importance de la lumière, l'hygrométrie et la température dans le déterminisme de la reproduction ainsi que la nécessité d'une hibernation suffisante préalable .

2.3.5. Physiologie

2.3.5.1. Activité saisonnière:

Helix aspersa présente un cycle d'activité saisonnière caractérisé par deux stades dont la période et la durée sont pour un lieu géographique donné, relativement stable d'une année sur l'autre (Bailey, 1981). L'escargot est un poikilotherme, il peut régler sa température corporelle et adapter, en climat tempéré aux variations thermiques saisonnières selon trois rythmes d'activités annuels marqués par trois états physiologiques :

-l'un se caractérise par un ralentissement du métabolisme et intervient lors des basses températures hivernales: l'hibernation.

Hibernation:

L'hiver, lors des basses températures (inférieures à 5°C) et la diminution de la durée du jour; le petit gris entre en vie ralentie: il recroqueville au fond de sa coquille en sécrétant une bave qui se dessèche et obture ainsi l'ouverture de la coquille par des disques minces (épiphragme) et poreux-ce ci limite les pertes en eau qui atteignent cependant 30% du poids frais de l'animal (Bailey, 1981), donc c'est une période de repos, de jeûne prolongé (4 à 6 mois ne s'alimente pas) que l'escargot doit aborder le maximum de réserves . l'hibernation est constante en durée et en période dans une région donnée indépendamment des variations thermohydrométriques Bailey (1981). En effet, la photopériode a un impact spécifiquement sur la croissance et la reproduction (Aupinel et Bonnet, 1996), ce facteur est déjà considéré comme étant l'un des principaux éléments susceptibles d'induire ou d'inhiber l'activité saisonnière et journalière de l'escargot. L'effet positif sur la croissance des longues photophases (15h/jour) (Aupinel et Bonnet, 1996), a été constaté par un grand nombre d'auteurs.

-l'autre s'étend entre le printemps et l'automne, où les conditions climatiques seront favorables. Cette période se caractérise par une reprise des fonctions importantes de la vie de l'animal : l'activité locomotrice, l'alimentation, le déclenchement de la croissance des jeunes et la reproduction des adultes, donc les escargots redeviennent actifs après la rupture de l'epiphragme.

-En été, l'escargot présentera également une période de vie ralentie, appelée: estivation.

-Estivation :

Les conditions climatiques seront défavorables (climat chaud et sec), son activité peut par fois

réduite, il entre en estivation pour se réhydrater, un mucus solidifié est alors secrété devant l'ouverture de sa coquille; c'est un état de résistance ponctuel qui disparaît lorsque les conditions climatiques redeviennent favorables.

2.3.5.2. Activité journalière:

Il a été établi par un grand nombre d'auteurs (Thomas et Chevallier, 1994) un modèle théorique du rythme d'activité nyctéméral de l'escargot en conditions de photopériode "jour long" :

- La première phase d'activité débute la tombée de la nuit et une durée supérieure à 6 heures.
- La phase dite d'inactivité relative à une durée inférieure à 18 heures.
- Une autre phase d'activité, ne concernant pas tous les individus, se produit avant le lever du jour.

2.4. Dissection et prélèvement des organes :

2.4.1. Protocole expérimental

Dans une cuvette dissection, placer un escargot et découper la coquille avec les ciseaux en suivant le bord d'enroulement de la coquille (trait pointillé rose). (Fig. 3).



Figure 3. Coupure de la coquille d'escargot.

- Découper lentement la coquille par petits morceaux et les enlever délicatement avec une pince en évitant de crever le manteau et le poumon situé en dessous .
- Le poumon rose occupant un grand espace .
- La tête est apparaît en avant, prenant les tentacules.
- Le cœur de couleur jaunâtre entouré d'une fine peau: le péricarde.
- A l'arrière du cœur se trouve le rein allongé de couleur jaunâtre avec des veinules brunes.
- Et finalement l'hépatopancréas brun violacé.

- Avec les pinces extraire l'hépatopancréas et déposer le sur le verre de montre ainsi la tête.
- Découper délicatement un petit morceau de l'hépatopancréas et de la tête avec les ciseaux ;on les mit dans des tubes Epindorf contenant respectivement le TCA et la solution détergente, pour les conserver au dosage. (Fig. 4).

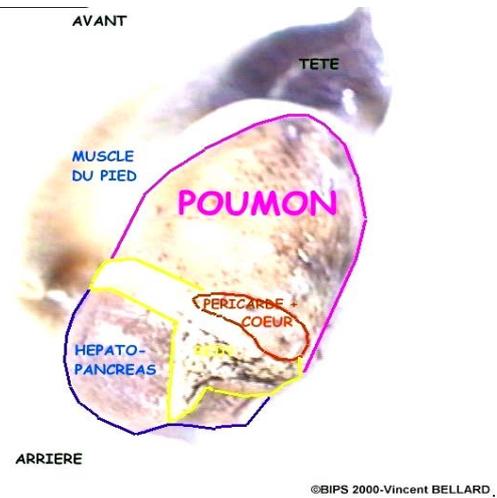


Figure 4. La dissection de l'escargot et prélèvement des organes (tête, hépatopancréas).

2.5. Biométrie des espèces:

Les escargots (*Helix aspersa*) adultes, récoltés au hasard des sites d'étude, une fois par mois. Des mesures biométriques du poids: Les escargots sont pesés à l'aide d'une balance de précision Sortorius H11 (précision 0,1 mg) ; du diamètre (D) et de l'hauteur (L) de coquilles en utilisant le pied à coulisse gradué au 1/10 mm. Ce paramètre constitue un indice révélateur de la croissance des individus, de plus on utilise les méthodes d'identification décrites par Bonnet *et al.* (1990) et Chevallier (1992) se basant sur le nombre de bandes spirales au niveau des coquilles ainsi que la couleur de ces dernières. (Fig. 5).



Figure 5. Les paramètres de biométrie mesurés chez l'escargot (hauteur: H; diamètre: D).

2.6. Indices écologiques :

Les indices écologiques qui retiennent notre attention pour l'exploitation de nos résultats sont : la qualité de l'échantillonnage, la richesse totale et moyenne, la fréquence, la constance, l'indice de Shannon-Waever et l'indice d'équirépartition.

2.6.1. Indices de composition

2.6.1.1. Richesse spécifique (ou totale) et moyenne

La richesse totale d'un peuplement est le nombre d'espèces (**S**) rencontrées dans la région d'étude, tandis que la richesse moyenne (**S'**) est le quotient du nombre total d'individus (**Ki**) pour chacune des espèces sur le nombre total de relevés (**N**) effectués, C'est-à-dire :

$$S' = Ki / N.$$

2.6.1.2. Fréquence centésimale (F):

La fréquence (**F**) permet d'étudier la distribution d'une espèce dans une région donnée et de dire si elle est commune, rare ou très rare.

Elle est donnée par la formule suivante : $F = (ni \cdot 100) / N$

ni : le nombre d'individus de l'espèce prise en considération.

N : le nombre total d'individus.

-**Espèce commune** : présente dans plus de 50 % de relevés.

-**Espèce rare** : présente dans 25 à 50 % de relevés.

-**Espèce très rare** : présente dans moins de 25 % de relevés.

2.6.1.3. Constance (C):

La constance (C) est le rapport exprimé sous la forme de pourcentage du nombre de relevés contenant l'espèce **i** prise en considération, divisé par le nombre total de relevés (Dajoz, 1985) ; elle s'exprime de la manière suivante : $C = p / N \times 100$.

P : le nombre de relevés contenant l'espèce.

N : le nombre de relevés effectués.

Selon la valeur de C, on distingue les catégories suivantes :

-**Espèce omniprésente** si $C = 100 \%$.

-**Espèce constante** si $75 \% \leq C < 100 \%$.

-**Espèce régulière** si $50 \% \leq C < 75 \%$.

-**Espèce accessoire** si $25 \% \leq C < 50 \%$.

-**Espèce accidentelle** si $5 \% C < 25 \%$.

-**Espèce rare** si $C \leq 4 \%$.

2.6.2. Indices de structures

2.6.2.1. Indice de diversité de Shanon – Weaver

L'indice de diversité de Shanon et Weaver (**H'**) est la quantité d'information apportée par un échantillon sur les structures du peuplement dont provient l'échantillon et sur la façon dont les individus y sont répartis entre diverses espèces (Daget, 1976). L'indice de diversité se calcule comme suit :

$$H' = - \sum_{i=1}^n [p_i \cdot \text{Log}_2 p_i] \quad \text{ou } p_i = n_i / N$$

H' : Diversité spécifique.

N : Effectif total du peuplement.

n_i : Effectif de l'espèce (i).

Une valeur élevée de cet indice correspond à un peuplement riche en espèce, dont la distribution d'abondance est équilibrée. A l'inverse, une valeur faible de cet indice correspond soit à un peuplement caractérisé par un nombre d'espèces faible pour un nombre d'individus élevé, soit à un peuplement dans lequel il y'a une espèce dominante.

2.6.2.2. Equitabilité (équirépartition)

L'équitabilité (**E**) constitue une seconde dimension fondamentale de la diversité (Ramade, 1984). Elle est le rapport entre la diversité spécifique (**H'**) et la diversité maximale (**Hmax**), elle s'exprime comme suit :

$$E = H' / Hmax \quad \text{avec } Hmax = \text{Log}_2(S)$$

S : étant le nombre d'espèces formant le peuplement.

L'équitabilité permet de comparer les structures des peuplements. La valeur de (**E**) varie de 0 à 1 ; elle tend vers 0 quand les différentes populations ne sont pas en équilibre entre elles et lorsque la quasi-totalité des effectifs est concentrés sur une espèce, elle tend vers 1 quand il existe un équilibre entre les populations et lorsque les espèces ont une même abondance.

2.7. Mesure des biomarqueurs :

Les échantillons utilisés pour le dosage des biomarqueurs sont des escargots bordés (*Helix aspersa*), prélevés au hasard des sites d'étude. Les dosages ont été effectués sur des individus vivants, après la dissection, on prélève les organes : tête et hépatopancréas (glande digestive).

Le dosage des deux biomarqueurs GSH et AChE est effectué au niveau des différents tissus des organes : l'hépatopancréas et la tête respectivement. L'activité spécifique des biomarqueurs est exprimée par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon Bradford (1976).

2.7.1. 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 polypeptidiques 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 dosé selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) qui 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-2nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Le dosage s'effectue après homogénéisation pendant 30 secondes des échantillons (des fragments de l'hépatopancréas) dans 1 ml d'une solution EDTA (Ethylène Diamine Tétracétique) à 0,02 M [7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée] à l'aide d'un ultrason (Sonifer B-30). afin de protéger les groupements thiol du glutathion.

L'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) 0,25 % [0,25 g d'ASS ,100 ml d'eau distillée] ou' 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange est vortexé (agitation) et laisser pendant 15 mn dans un bain de glace ; puis centrifugé à 1000 tours/mn pendant 5 mn.

Une aliquote de 500 µl du surnageant récupérée est ajoutée à 1 ml 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 (5-5' dithio-bis-2-nitrobenzoïque) (0,01 M) [3,96 g DTNB,1000 ml méthanol absolu]. Le mélange est laissé pendant 5 mn à température ambiante pour la stabilisation de la couleur, contre un blanc ou' les 500 µl du surnageant sont remplacés par 500µl eau distillée. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm.

Le taux de glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux du GSH } (\mu\text{M/mg de protéines}) = \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéines}}$$

DO : densité optique.

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

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

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

0,8 : le volume de l'homogénat utilisé en ml.

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

mg de protéines : les protéines en mg.

2.7.2. Dosage de l'acétylcholinestérase :

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman *et al.*, 1961) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'AChE catalyse l'hydrolyse de

l'acétylcholine et libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide . La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique, la thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB) pour former un complexe (produit) de couleur jaune que l'on dose à 421 nm.

La mise au point d'un réactif spécifique des groupements thiols, le DTNB a permis la réalisation d'un protocole qui utilise comme un 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 échantillons (fragments de la tête) sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de la solution détergente [38,03 mg éthylène glycol tris-béta aminoéthyl-éther N N N'N' ou EGTA, 1 ml Triton X 100%, 5,845 g Na Cl, 80 ml tampon tris 10 mM, pH 7] à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrason (Sonifer B-30), puis centrifugés à 5000 tours/mn pendant 5 minutes, le surnageant est alors utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité de l'AChE ou peut être conservé pendant plusieurs mois (6 mois à 85°).

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est déterminée comme suit :

100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (0,1 M; PH 8) [39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃ Na, dans 10 ml du Tris 0,1 M, PH 7] et 1000 µl du tampon Tris (0,1 M, pH 7) ; 3 à 5 minutes sont nécessaires pour épuiser la réaction spontanée .100 µl du substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) [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 (100 µl). Les résultats obtenus ont été exprimés en µ M/mn/mg de protéines.

L'activité spécifique de l'acétylcholine est déterminée d'après la formule suivante d'Ellman :

$$X = \frac{\Delta DO}{13,6 \times 10^4} \times \frac{1}{\frac{\text{Volume de l'homogénat}}{\text{Volume total de la cuve}}} \times CO$$

X : activité spécifique de l'AChE en μ Mole ou μ Mole de substrat hydrolysé par minute et par mg de tissu.

ΔDO : densité optique.

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

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

Volume de l'homogénat : 50 μ l.

Volume totale de cuve : 1000 μ l (50 μ l homogénat + 50 μ l DNTB +850 Tampon Tris + 50 μ l du substrat d'acétylchothiocoline).

2.7.3. 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 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de Bleu Brillant de Comassie (BBC) (C250, Merk) comme réactif [100 mg de BBC, 50 ml d'éthanol (95%) ,100 ml d'acide ortho phosphorique (85%) et complété à 1000 ml par l'eau distillée] et l'albumine sérum de bœuf (BSA, Sigma) comme standard.

La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm, dans un spectrophotomètre Janway 6300 et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de bœuf (1 mg/ml) selon les indications ci-dessous dans le tableau 6.

Tableau 6: La gamme d'étalonnage des protéines.

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

2.8. Analyses physico-chimiques du sol

Préparation du sol

Les échantillons ramenés au laboratoire sont séchés à l'aire libre pendant quelques jours, puis la grande partie a été broyée et tamisée à 2 mm.

2.8.1. Texture :

Elle est réalisée selon la méthode de Gauchers (1968). Pour déterminer la texture du sol, on a utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (Y) et à le comparer à une échelle qui détermine la texture lui Correspondant (Tableau 7). Tout d'abord on a pris 50 g de sol et on a imbibé d'eau, goutte à goutte tout en mélangeant jusqu'au point où la pâte devienne luisante et glisse doucement lorsqu'on incline le récipient.

Ensuite on a suivi les étapes suivantes :

-Peser une capsule vide (P1).

-Prendre une petite quantité de pâte (sol mouillé) et la mettre dans la capsule puis repeser (P2).

-Mettre à l'étuve à 105°C pendant 24 heures.

-Peser une troisième fois la capsule à la sortie de l'étuve (P3), le poids correspond donc au poids de la capsule vide + le poids du sol sec.

La texture est mesurée selon la formule suivante :

$$\mathbf{X1 = P2 - P3} \text{ (poids de l'humidité).}$$

$$\mathbf{X2 = P3 - P1} \text{ (poids du sol sec).}$$

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).

Ensuite on applique la règle de trois pour calculer le pourcentage d'humidité :

$$\mathbf{X1 \longrightarrow X2 \text{ g de sol sec}}$$

$$\mathbf{Y \longrightarrow 100 \text{ g de sol sec}}$$

Enfin comparer (Y) au tableau 7 suivant pour déterminer la texture.

7: 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

2.8.2. Matière organique :

Elle est déterminée selon la méthode d'Anne (1945) 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, puis refroidir, transvaser le contenu dans une fiole de 100 ml et ajouter de l'eau jusqu'à trait de jauge.

On prend 20 ml de la solution, on l'ajoute à 100 ml d'eau distillée puis on ajoute 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 virage de la solution qui passera 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, soit **Y** la quantité de sel de Mohr utilisée pour le titrage du témoin. (Tableau 8).

La matière organique est calculée à partir de la relation suivante :

$$C\% = (Y-X) \times 0,615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000).$$

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

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

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

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

P : poids du sol sec (1g).

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

$$\% \text{ matière organique} = \% C \times 1,72$$

Tableau 8: 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

2.8.3. pH eau :

C'est la mesure de l'acidité d'une suspension de terre dans de l'eau, avec un rapport terre / eau normalisé (1/5). Il indique aussi la concentration en ions « H⁺ » présente dans l'eau. (Morel, 1986). La lecture du pH se fait sur le pH mètre lorsque l'aiguille est stabilisée et après un repos au moins d'une heure. (Ben Amara, 2007). On compare les valeurs du pH selon Gaucher (Tableau 9).

Tableau 9: La gamme de pH des sols (Gauchers et Soltser, 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

2.8.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique (salinité) est la mesure du degré de la salinité du sol étudié. La détermination de la conductivité électrique se fait sur extrait de sol (rapport sol / eau=1/5) à l'aide d'un conductimètre (Delaunois, 1976). Les valeurs sont comparées à une étude de salinité, résumées dans le tableau 10.

Tableau 10: Echelle de salinité du sol (USSS, 1981).

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

2.8.5. Calcaire :

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

2.8.5.1. Calcaire total :

Peser 5 g du sol, le mettre dans un erlenmeyer puis ajouter : 10 ml d'acide sulfurique et 15 ml d'HCL (0,5 N). Ensuite mettre l'erlenmeyer sur la plaque chauffante jusqu'à voir la première goutte de la vapeur. Laisser refroidir et filtrer la solution. On prélève 20 ml de filtrat, le verser dans un bécher et on ajoute 2 gouttes de phénophtaléine, titré le mélange par NaOH jusqu'à que la solution aura une couleur rose. Le calcaire total est calculé selon la formule suivante :

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

2.8.5.2. Calcaire actif :

Mettre 10 g du sol dans un flacon avec 250 ml d'oxalate d'ammonium (0,2). Ensuite agiter pendant 2 heures à l'aide d'un agitateur mécanique ; on filtre la solution et on prélève 9 ml du filtrat, on complétant par 1 ml d'acide sulfurique et on, puis on titre le mélange par le

permanganate de potassium jusqu'à la coloration rose, avec agitation, le tout sur une plaque chauffante de 60°C.

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 : quantité de permanganate de potassium nécessaire pour titrer l'échantillon, le tableau 11

Présente la Classification des sols selon leurs teneurs en calcaire.

Tableau 11: 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

2.8.6. 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. (Barrius, Andreux et Portal, 1990).

La partie de l'espace poral qui est à l'origine de la diminution de la porosité totale des blocs de terre est due aux fissures et aux canalicules est appelée la porosité structurale. Comprend deux paramètres, la densité apparente (D_a) et la densité réelle (D_r) (Delaunois, 1976).

2.8.6.1. Densité apparente:

Mettre un agrégat de sol (10 à 15 g), dans l'étuve pendant 24 heures à une température de 105°C, puis l'entourer d'un fil à coudre de poids négligeable puis peser l'agrégat (P1). Puis, plonger l'agrégat dans une solution de paraffine dissoute, pendant 5 à 10 minutes, après peser l'échantillon avec la paraffine (P2). Ensuite replonger l'agrégat dans une éprouvette de 100 ml contenant un volume (V_t) d'eau distillé 50 ml et noter le changement de volume V_2 (d'agrégat + paraffine).

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

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

2.8.6.2. 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, elle est généralement entre 2,5 g / cm³ et 2,6 g / cm³. (Morel, 1989). La densité réelle «Dr » calculée selon la formule suivante :

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

Donc la **Porosité** est le rapport du volume des vides au volume totale, 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 :

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

2.9. Traitement statistique des données :

Les données obtenues ont été analysées à l'aide d'un logiciel de statistique approprié MINITAB version 13.31 disponible au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée. Les résultats sont exprimés sous forme moyenne et en écart type ($m \pm s$). Les différents tests réalisés sont: analyse de la variance à un critère de classification et le Modèle linéaire Généralisé (MLG), suivi du test de Tukey.

Résultats

3. RESULTATS

3.1. Inventaire des Gastéropodes dans les zones d'études :

Le tableau 12 et la Figure 6 présentent les résultats de l'inventaire des gastéropodes pulmonés terrestres (escargots et limaces) au niveau des cinq sites d'étude ; Les résultats sont portés à partir de nos observations personnelles, nous avons établi la liste systématique des espèces rencontrées dans la région de l'Est algérien. Le tableau 13 montre que l'espèce d'*Helix aspersa* est presque la plus dominante dans les cinq sites et que le site PNEK est le plus riche parmi les autres, de plus l'espèce d'*Helix aperta* (l'escargot vert) présente un nombre très important par rapport aux autres espèces.

Tableau 12: Listes des espèces malacologiques recensées dans les cinq sites d'études (Novembre 2008 à juin 2009).

Famille	Espèces malacologiques
Milacidae	<i>Milax gagates</i> (Draparnaud, 1801)
	<i>Milax nigricans</i> (Phillipi, 1836)
Helicidae	<i>Helix aspersa</i> (Müller, 1774)
	<i>Helix aperta</i> (Born, 1778)
	<i>Dupotetia Albastra zonata</i> (Pallary, 1926)
	<i>Otala lactae</i> (O F Müller, 1774)
Hygromiidae	<i>Helicella virgata</i> (Da Costa, 1778)
	<i>Trochoidae elegans</i> (Gmelin, 1791)
Cochlicellidae	<i>Cochlicella barbara</i> (Linnaeus, 1758)
Subulinidae	<i>Rumina decollata</i> (Linnaeus, 1758)
Enidae	<i>Zebrina detrita</i> (Müller, 1774)

13: Les Gastéropodes Pulmonés Terrestres (nombre d'individus) recensés dans les cinq sites d'études (Novembre 2008 à juin 2009).

Sites Espèces	Guelma	Néçmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
<i>Helix aspersa</i>	600	650	690	665	900
<i>Helix aperta</i>	500	450	700	600	720
<i>Helicella virgata</i>	515	550	300	350	400
<i>Dupotetia A zonata</i>	275	220	160	192	215
<i>Cochlicella barbara</i>	350	200	700	650	722
<i>Otala lactea</i>	260	190	400	320	312
<i>Rumina decollata</i>	200	150	120	130	125
<i>Zebrina dertica</i>	480	-	-	-	500
<i>Trochoidea elegans</i>	-	500	-	-	-
<i>Milax gagates</i>	160	105	120	119	150
<i>Milax nigricans</i>	162	120	115	120	120
Totale d'individus récoltés	3502	3135	3305	3146	4064

3.1.1. Structure des Gastéropodes Pulmonés Terrestres recensés dans les sites :

La structure (%) des gastéropodes pulmonés terrestres recensés dans les sites : El Kala (PNEK), Guelma, Néçmaya, Sidi Ammar et El Bouni, est présentée graphiquement respectivement dans la figure 7 (A, B, C, D et E). L'espèce *Helix aspersa* présente un pourcentage du nombre d'individus se varie entre 16 % à Guelma et 21 % à El Kala, Néçmaya, Sidi Ammar et El Bouni. Le pourcentage des individus *Helix aperta* est variable entre 14 % à Guelma, Néçmaya, et 21 % à (Sidi Ammar). Pour l'espèce *Helicella virgata* le nombre d'individus se varie entre 9% à Sidi Ammar et 18 % à Néçmaya. *Dupotetia A zonata* qui marque un pourcentage d'individus de 5 % à El Kala et Sidi Ammar, 8 % à Guelma. *Cochlicella barbara* présente un nombre minimal (6 %) à Néçmaya ; et maximal (21 %) à Sidi Ammar et El Bouni. L'escargot *Otala lactea* arrive à un nombre important de 12 % à Sidi Ammar et un nombre faible (6 %) à Néçmaya. Pour l'espèce *Rumina decollata* est de 3 % à El Kala et 6 % à Guelma. *Zebrina detrita* a un effectif entre 10 et 14 % respectivement à El Kala et Guelma. Concernant l'espèce *Trochoidea elegans* leur nombre est de 16 % à Néçmaya. Les limaces présentent un nombre également faible se varie entre 3 et 5 % pour les deux espèces : *Milax gagates*, *Milax nigrican* dans les différents sites.



Helix aspersa (Müller, 1774)



Helix aperta (Born, 1778)



Otala lactea (Müller, 1774)



Trochoidea elegans
(Gmelin, 1791)



Cochlicella Barbara
(Linneaus, 1758)



Rumina decollata
(Linneaus, 1758)



Dupotetia A zonzta
(Pallary, 1926)



Zebrina detrita
(Müller, 1774)



Helicella virgata
(Da Costa, 1780)

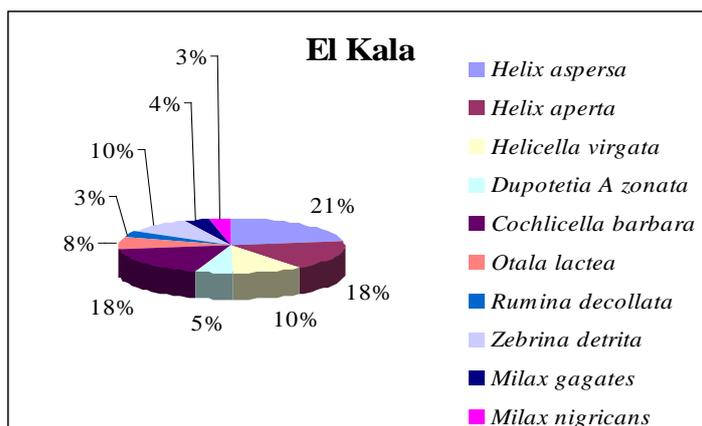


Milax gagates (Draparnaud, 1801)

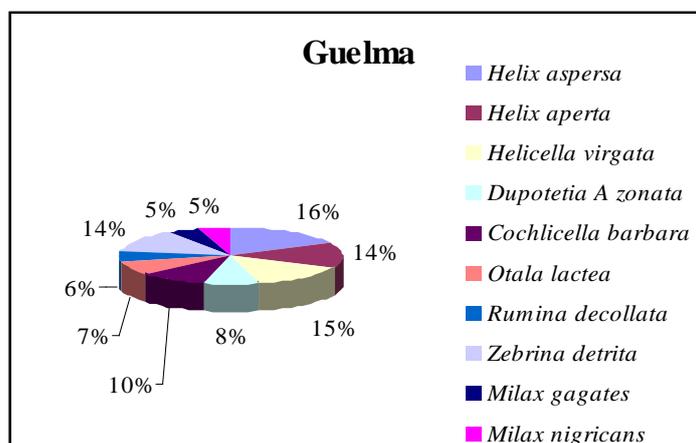


Milax nigricans (Phillipi, 1836)

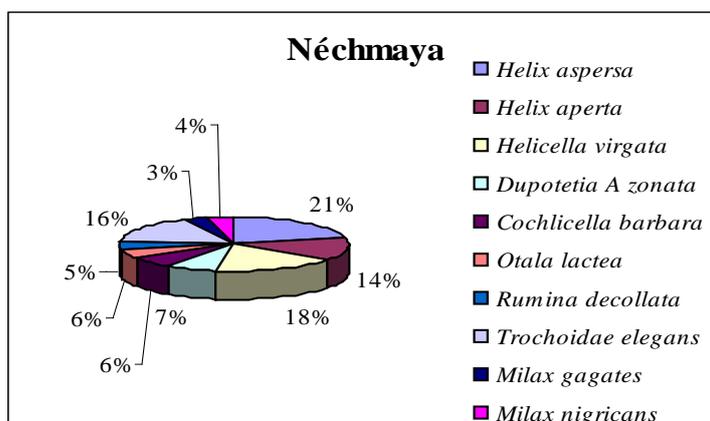
Figure 6. Les Gastéropodes Pulmonés Terrestres recensés dans les différents sites de l'Est algérien.



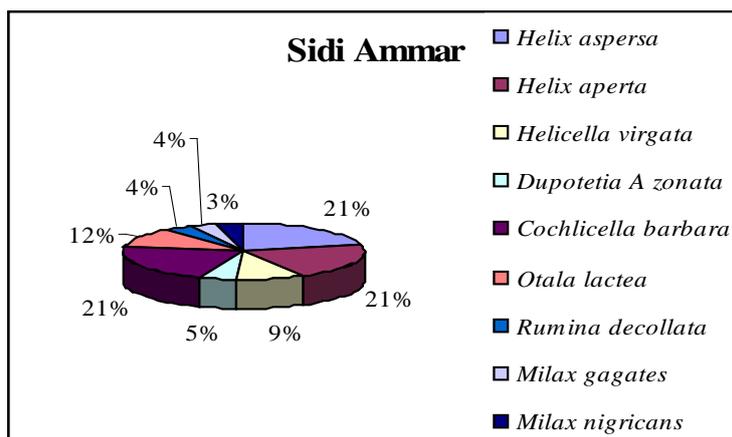
A



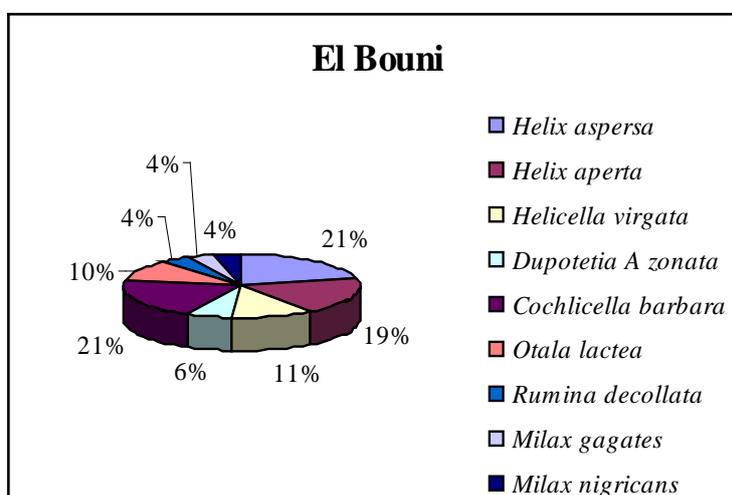
B



C



D



E

Figure 7. Structure des gastéropodes recensés au niveau d'El Kala (A), Guelma (B), Néchmaya (C), Sidi Ammar (D) et El Bouni (E).

3.2. Biométrie des espèces :

La biométrie est caractérisée par le poids (g) de l'escargot, par l'évolution du grand diamètre et des hauteurs (mm) de la coquille (Charrier, 1981).

3.2.1. Le poids des gastéropodes :

Les moyennes pondérales des escargots sont mentionnées dans le tableau 14. Les résultats montrent que le poids le plus élevé est enregistré chez l'espèce *Helix aspersa* au niveau d'El Kala (PNEK) ($10,94 \pm 5,27$ g) et le plus faible à Néchmaya ($7,72 \pm 2,17$ g) ; cette espèce a un poids relativement important par rapport aux autres espèces ; elle est suivie par

l'escargot vert (*Helix aperta*) qui présente un poids maximal de $6,45 \pm 3,80$ g à El Kala et minimal de $5,08 \pm 3,27$ g à Néchmaya. Pour les hélices à coquilles blanches : *Helicella virgata* a un poids qui se varie entre $0,14 \pm 0,09$ g à El Bouni et $2,02 \pm 1,23$ g à El Kala ; concernant *Dupotetia A zonata* les moyennes pondérales sont proches dans les cinq sites se varient entre $4,02 \pm 1,01$ g à Sidi Ammar et $5,87 \pm 0,97$ g à El Kala.

L'espèce *Cochlicella barbara* a un poids faible par rapport aux autres escargots d'une valeur maximale de $0,15 \pm 0,08$ g à Sidi Ammar et minimale de $0,07 \pm 0,03$ g à Néchmaya. Ce qui concerne l'espèce *Otala lactea*, un poids élevé est enregistré à El Kala ($4,45 \pm 2,28$ g), et un poids faible ($2,47 \pm 1,64$ g) à Guelma.

Pour l'escargot *Rumina decollata* avec un poids important de $4,05 \pm 1,17$ g à Néchmaya, et un poids faible de $2,10 \pm 0,50$ g à Sidi Ammar de $2,10 \pm 0,50$ g.

L'espèce *Zebrina detrita* son poids est de $0,09 \pm 0,04$ et $0,10 \pm 0,05$ g respectivement à Guelma et El Kala. *Trochoidea elegans* a un poids de $2,10 \pm 0,96$ g à Néchmaya ; pour la famille des limacidae (limaces) le poids est compris entre 1 à 2 g.

Tableau 14: Moyennes Pondérales (m \pm s, g) des gastéropodes pulmonés terrestres recensées au niveau des cinq sites d'études (n = 100).

Sites Espèces	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
<i>Helix aspersa</i>	$8,93 \pm 5,01$	$7,72 \pm 2,17$	$9,99 \pm 4,50$	$10,57 \pm 5,20$	$10,94 \pm 5,27$
<i>Helix aperta</i>	$5,15 \pm 4,66$	$5,08 \pm 3,27$	$6,27 \pm 4,06$	$5,61 \pm 3,38$	$6,45 \pm 3,80$
<i>Helicella virgata</i>	$1,18 \pm 0,77$	$1,64 \pm 0,99$	$1,11 \pm 0,59$	$0,14 \pm 0,09$	$2,02 \pm 1,23$
<i>Dupotetia A zonata</i>	$4,96 \pm 0,93$	$4,58 \pm 1,02$	$4,02 \pm 1,01$	$4,20 \pm 0,66$	$5,87 \pm 0,97$
<i>Cochlicella barbara</i>	$0,08 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,08$	$0,10 \pm 0,08$	$0,09 \pm 0,06$
<i>Otala lactea</i>	$2,47 \pm 1,64$	$2,55 \pm 1,45$	$4,04 \pm 3,23$	$3,32 \pm 2,38$	$4,45 \pm 2,28$
<i>Rumina decollata</i>	$3,13 \pm 1,14$	$4,05 \pm 1,17$	$2,10 \pm 0,50$	$2,81 \pm 1,14$	$2,14 \pm 0,66$
<i>Zebrina detrita</i>	$0,09 \pm 0,04$	-	-	-	$0,10 \pm 0,05$
<i>Trochoidea elegans</i>	-	$2,10 \pm 0,96$	-	-	-

3.2.2. Le diamètre de la coquille des gastéropodes:

Les moyennes des diamètres (mm) des gastéropodes sont rassemblées dans le tableau 15. *Helix aspersa* est l'escargot qui a un grand diamètre ($33,51 \pm 9,55$ mm) au niveau du PNEK par contre un diamètre faible enregistré à Néchmaya ($27,41 \pm 4,36$ mm). Pour l'escargot *Helix*

aperta, un grand diamètre de la coquille marqué à El Kala de $24,72 \pm 7,81$ mm, et faible au niveau de Néchmaya ($16,44 \pm 7,70$ mm).

Ce qui concerne *Helicella virgata*, le diamètre minimal est marqué à Sidi Ammar ($10,05 \pm 2,76$ mm) et maximal à El Kala ($14,91 \pm 2,19$ mm). Ainsi, la même chose pour l'espèce *Dupotetia A zonata*, elle présente un énorme diamètre au niveau d'El Kala de $20,84 \pm 6,89$ mm et un faible diamètre au niveau de Sidi Ammar ($15,94 \pm 4,72$ mm).

L'espèce *Cochlicella barbara* avait généralement un petit diamètre par rapport aux autres escargots qui est entre $3,35 \pm 1,09$ mm (Néchmaya) et $4,50 \pm 1,29$ mm (Sidi Ammar). *Otala lactea* présente un diamètre maximal au niveau d'El Kala ($27,62 \pm 6,68$) et minimal à Guelma ($20,33 \pm 2,98$ mm). Concernant *Rumina decollata* qui présente un diamètre de la coquille se varie entre $9,62 \pm 2,95$ mm (Sidi Ammar) et $14,74 \pm 10,06$ mm (Néchmaya). Pour *Zebrina detrita* le diamètre est entre $3,50 \pm 0,57$ et $3,69 \pm 0,70$ respectivement à Guelma et El Kala. Et *Trochoidea elegans* qui avait une coquille de $9,87 \pm 2,20$ mm de diamètre.

Tableau 15: Moyennes des Diamètres ($m \pm s$, mm) des gastéropodes pulmonés terrestres recensés au niveau des cinq sites d'études ($n = 100$).

Sites Espèces	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	PNEK
<i>Helix aspersa</i>	$29,61 \pm 7,76$	$27,41 \pm 4,36$	$32,50 \pm 8,15$	$32,80 \pm 8,96$	$33,51 \pm 9,55$
<i>Helix aperta</i>	$22,73 \pm 5,43$	$16,44 \pm 7,70$	$23,71 \pm 6,26$	$23,02 \pm 6,82$	$24,72 \pm 7,81$
<i>Helicella virgata</i>	$12,96 \pm 0,21$	$14,89 \pm 3,21$	$10,05 \pm 2,76$	$10,66 \pm 0,57$	$14,91 \pm 2,19$
<i>Dupotetia A zonata</i>	$20,18 \pm 6,07$	$19,77 \pm 6,52$	$15,94 \pm 4,72$	$16,46 \pm 4,53$	$20,84 \pm 6,89$
<i>Cochlicella barbara</i>	$3,89 \pm 0,80$	$3,35 \pm 1,09$	$4,50 \pm 1,29$	$4,18 \pm 0,49$	$3,93 \pm 1,36$
<i>Otala lactea</i>	$20,33 \pm 2,98$	$21,03 \pm 6,17$	$26,19 \pm 5,05$	$25,44 \pm 8,77$	$27,62 \pm 6,68$
<i>Rumina decolleta</i>	$13,40 \pm 9,61$	$14,74 \pm 10,06$	$9,62 \pm 2,95$	$12,66 \pm 1,57$	$9,70 \pm 3,20$
<i>Zebrina detrita</i>	$3,50 \pm 0,57$	-	-	-	$3,69 \pm 0,70$
<i>Trochoidea elegans</i>	-	$9,87 \pm 2,20$	-	-	-

3.2.3. La hauteur de la coquille des gastéropodes:

Le tableau 16 illustre les moyennes des Hauteurs (mm) des coquilles des gastéropodes recensés cinq sites. *Helix aspersa* enregistre une grande hauteur au niveau d'El Kala ($24,64 \pm 4,16$ mm) et une petite hauteur au niveau de Néchmaya ($19,52 \pm 3,29$ mm) ;

une hauteur maximale de *Helix aperta* est marquée à El Kala ($18,30 \pm 5,30$ mm) et une autre minimale à Néchmaya ($11,03 \pm 5,25$ mm). Concernant l'espèce *Helicella virgata* présente des hauteurs qui se varient entre $5,92 \pm 1,77$ mm à Sidi Ammar et $9,32 \pm 2,32$ mm à d'El Kala. Pour l'escargot *Dupotetia A zonata*, une longueur de coquille plus grande est enregistrée au niveau du site El Kala de $16,92 \pm 5,26$ mm et une autre longueur faible enregistrée au niveau de Sidi Ammar ($12,02 \pm 4,80$ mm) ; *Cochlicella barbara*, sa hauteur se varie entre $5,12 \pm 2,86$ mm (Néchmaya) et $9 \pm 2,58$ mm (Sidi Ammar). *Otala lactea*, cette espèce montre une longueur maximale de la coquille à El Kala ($21,90 \pm 7,68$ mm) et autre minimale à Guelma ($14,40 \pm 3,84$ mm).

Rumina decollata présente une hauteur variable entre $21,43 \pm 7,98$ mm à Sidi Ammar et $28,04 \pm 8,29$ mm à Néchmaya. La hauteur de la coquille chez *Zebrina detrita* est entre $12 \pm 0,81$ et $12,32 \pm 1,81$ mm respectivement à Guelma et El Kala ; et de $8,78 \pm 2,11$ mm pour *Trochoidea elegans* qui se trouve à Néchmaya.

Tableau 16: Moyennes des Hauteurs (m \pm s, mm) des gastéropodes pulmonés terrestres recensées au niveau des cinq sites d'études (n = 100).

Sites Espèce	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
<i>Helix aspersa</i>	$20,98 \pm 4,62$	$19,52 \pm 3,29$	$22,43 \pm 5,15$	$22,99 \pm 5,43$	$24,64 \pm 4,16$
<i>Helix aperta</i>	$15,44 \pm 3,71$	$11,03 \pm 5,25$	$17,66 \pm 5,33$	$17,26 \pm 4,52$	$18,30 \pm 5,30$
<i>Helicella virgata</i>	$7,88 \pm 0,87$	$8,65 \pm 2,23$	$5,92 \pm 1,77$	$6,17 \pm 1,15$	$9,32 \pm 2,32$
<i>Dupotetia A zonata</i>	$16,54 \pm 4,43$	$14,9 \pm 6,50$	$12,02 \pm 4,80$	$12,59 \pm 4,39$	$16,92 \pm 5,26$
<i>Cochlicella barbara</i>	$7,33 \pm 0,57$	$5,12 \pm 2,86$	$9,00 \pm 2,58$	$8,36 \pm 1,83$	$7,52 \pm 1,57$
<i>Otala lactea</i>	$14,40 \pm 3,84$	$15,00 \pm 3,79$	$20,00 \pm 6,92$	$18,30 \pm 4,33$	$21,90 \pm 7,68$
<i>Rumina decolleta</i>	$27,89 \pm 8,72$	$28,04 \pm 8,29$	$21,43 \pm 7,98$	$26,9 \pm 5,75$	$22,09 \pm 11,69$
<i>Zebrina detrita</i>	$12 \pm 0,81$	-	-	-	$12,32 \pm 1,81$
<i>Trochoidea elegans</i>	-	$8,78 \pm 2,11$	-	-	-

3.3. Les indices écologiques

3.3.1. Indices de composition

3.3.1.1 Richesse totale (S) et moyenne (S') :

Le tableau 17 montre que la région de l'Est algérien est riche en différentes familles et espèces des gastéropodes pulmonés terrestres exprimées par 10 espèces à Guelma, Néchmaya et El Kala.

Concernant la richesse moyenne, la valeur maximale est obtenue à El Kala de 508 et minimale à Néchmaya de 391,87 ; ainsi un nombre important d'individus à El Kala (4064) mais faible à Néchmaya (3135). Ce qui est évident, que ne sont pas les seules espèces existantes ; il reste un grand nombre à découvrir.

Tableau 17: Richesse totale et moyenne de la population des gastéropodes pulmonés terrestres dans les cinq sites d'étude (Novembre 2008 à Juin 2009).

Sites Paramètres	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
Richesse totale (S)	10	10	9	9	10
Nombre total d'individus (Ki)	3502	3135	3305	3146	4064
Nombre de relevées (N)	8	8	8	8	8
Richesse moyenne (S')	437,75	391,87	413,12	393,25	508

3.3.1.2. Fréquence centésimale (F) :

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 18, on remarque que l'espèce *Helix aspersa* présente un pourcentage minimale de 17,13 % à Guelma et maximal à El Kala de 22,14 % ; ainsi l'espèce *Helix aperta* a une valeur maximale à Sidi Ammar (21,18 %), minimale à Guelma (14,27 %).

Concernant l'espèce *Helicella virgata*, elle est majeure à Néchmaya d'une valeur de 17,54 % par contre très faible à Sidi Ammar (9,07 %) ; ainsi pour l'espèce *Dupotetia A zonata* avec un pourcentage important à Guelma (7,85 %) et très faible à Sidi Ammar (4,84 %), cette dernière contient un nombre très important des escargots *Cochlicella barbara* avec 21,18 % mais très faible à Néchmaya (6,37 %).

Pour les espèces : *Otala lactea*, *Rumina decollata* présentent des valeurs peu proches se varie entre 3,55 % et 12,10 % et une fréquence très faible entre 3,34 % et 4,62 % des limaces dans les différents sites.

Pour l'espèce *Zebrina detrita* elle présente une valeur de 9,84 % à El Kala et 13,70 % maximale à Guelma, inexistante dans les autres sites ; la même chose pour *Trochoidea elegans* (13,70 %) à Néchmaya.

En général, cette fréquence **F** des espèces varie d'un site à l'autre en fonction des conditions climatiques des régions ; mais elle est moins de 25 % dans les cinq sites ce qui explique qu'elles sont des espèces très rares.

Tableau 18: Fréquence centésimale (**F**) en (%) dans les cinq sites d'étude.

Sites Espèces	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
<i>Helix aspersa</i>	17,13	20,73	20,87	21,13	22,14
<i>Helix aperta</i>	14,27	14,35	21,18	19,07	20,48
<i>Helicella virgata</i>	14,70	17,54	9,07	11,12	11,38
<i>Dupotetia A zonata</i>	7,85	7,01	4,84	6,10	6,11
<i>Cochlicella barbara</i>	9,99	6,37	21,18	20,66	20,54
<i>Otala lactea</i>	7,42	6,06	12,10	10,17	8,87
<i>Rumina decollata</i>	5,71	4,78	3,63	4,13	3,55
<i>Zebrina detrita</i>	13,70	-	-	-	9,84
<i>Trochoidea elegans</i>	-	13,70	-	-	-
<i>Milax gagates</i>	4,56	3,34	3,63	3,78	4,26
<i>Milax nigricans</i>	4,62	3,82	3,47	3,81	3,41

3.3.1.3. Constance :

Le tableau 19 montre les valeurs de la constance **C** (%) selon Dajoz (1971), les espèces : *Helix aspersa* et *Helix aperta* présentent un pourcentage de 100 % dans les cinq zones ; ce qui explique que ce sont des espèces **omniprésentes** ($C = 100\%$) dans la région. *Helicella virgata*, est **constante** ($75 \leq C \leq 100\%$) à El Bouni et Sidi Ammar ; **omniprésente** dans les autres sites. Concernant l'espèce *Dupotetia Alabastra zonata*, elle est **constante** à Guelma, Néchmaya et El Kala avec un pourcentage entre 75% et 100% mais elle est **régulière** ($50 \leq C \leq 75\%$) à Sidi Ammar et El Bouni. Pour l'espèce *Cochlicella barbara*, elle

est **omniprésente** à Sidi Ammar, El Bouni, El Kala ; et **constante** à Guelma et Néchmaya. *Otala lactea* est **constante** à Guelma, Sidi Ammar, El Bouni et El Kala ; **régulière** à Néchmaya.

Rumina decollata est **régulière** à Sidi Ammar, El Bouni et El Kala ; **constante** à Guelma et Néchmaya.

Pour les limaces 37,5 % sont des espèces **accessoires** ($25 \leq C \leq 50\%$). *Zebrina detrita*, est espèce **rare** ($C \leq 4\%$) à Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ; et **régulière** à Guelma et El Kala. Pour l'espèce *Trochoidea elegans* qui est **constante** à Néchmaya ; **rare** à Guelma, Sidi Ammar, El Bouni et El Kala.

Tableau 19: La constance (C) (%) dans les cinq sites d'étude.

Sites Espèces	Guelma	Néchmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
<i>Helix aspersa</i>	100	100	100	100	100
<i>Helix aperta</i>	100	100	100	100	100
<i>Helicella virgata</i>	100	100	87,5	87,5	100
<i>Dupotetia A zonata</i>	87,5	87,5	62,5	62,5	75
<i>Cochlicella barbara</i>	87,5	87,5	100	100	100
<i>Otala lactea</i>	75	62,5	87,5	87,5	87,5
<i>Rumina decollata</i>	75	75	50	50	50
<i>Zebrina detrita</i>	62,5	00	00	00	50
<i>Trochoidea elegans</i>	00	75	00	00	00
<i>Milax gagates</i>	37,5	37,5	37,5	37,5	37,5
<i>Milax nigricans</i>	37,5	37,5	37,5	37,5	37,5

3.3.2. Indices de structures :

3.3.2.1. Indice de diversité de Shanon – Weaver :

Le tableau 20 indique que l'indice de diversité de Shanon – Weaver (**H'**) varie entre 2,70 à Sidi Ammar et 3,05 à El Kala.

L'équitabilité (**E**) ou l'équirépartition est la dimension fondamentale de la diversité qui permet de comparer les structures des peuplements, les résultats montrent qu'elle est entre

0,85 et 0,91 donc $E < 1$; ce qui signifie que les différentes populations ne sont pas en équilibre entre elles.

Tableau 20: Indice de diversité de Shanon-Weaver (H') et l'équitabilité (E) des gastéropodes dans les cinq sites d'étude (Novembre 2008 à Juin 2009).

Sites Paramètres	Guelma	Néçhmaya	Sidi Ammar	El Bouni	El Kala
H'	2,99	2,90	2,70	2,77	3,05
E	0,90	0,87	0,85	0,87	0,91

3.4. Dosage des biomarqueurs

3.4.1. Dosage du glutathion

L'effet de la pollution sur le taux de GSH hépatopancréatique a été évalué chez *Helix aspersa*. La détermination du taux de GSH a été réalisée selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) exprimé en ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 21.

Le taux de GSH le plus élevé est enregistré au niveau d'El Kala (PNEK) ($2,14 \pm 0,57 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) mais le taux le plus faible est remarqué au niveau d'El Bouni ($1,21 \pm 0,11 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines). L'analyse de la variance avec le Modèle Linéaire Généralisé (MLG) (Tableau 22) indique qu'il existe un effet site ($P = 0,000$) $\leq 0,0001$ très hautement significatif et un effet saison très hautement significatif ($P = 0,000$) sur le taux de GSH . L'interaction sites/saisons n'est pas significative ($P = 0,089$) $> 0,05$.

La comparaison deux à deux avec le test de Tukey entre les sites révèle qu'il existe une différence significative entre El Kala et Guelma ($P = 0,0236$) et une différence très hautement significative avec Néçhmaya, Sidi Ammar et El Bouni ($P = 0,0000$). Aussi, une différence très hautement significative entre Guelma et Néçhmaya, Sidi Ammar et El Bouni ($P = 0,0000$) ; une différence significative entre Néçhmaya et Sidi Ammar ($P = 0,0303$), et hautement significative avec El Bouni ($P = 0,0081$) ; il n'existe aucune différence significative entre Sidi Ammar et El Bouni ($P = 0,9910$). (Fig. 8).

La comparaison deux à deux avec le test de Tukey entre les saisons montre qu'il existe une différence très hautement significative ($P=0,0000$) entre les deux saisons dans les cinq sites.

Tableau 21: Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Sites \ Saisons	El Kala	Guelma	Néçmaya	Sidi Ammar	El Bouni
Hiver	2,55 ± 0,29 a	2,17 ± 0,48 a	1,66 ± 0,42 a	1,36 ± 0,07 b	1,29 ± 0,14 b
Printemps	1,73 ± 0,34 a	1,50 ± 0,10 a	1,29 ± 0,10 b	1,16 ± 0,06 b	1,13 ± 0,21 b
Taux moyen de GSH	2,14 ± 0,57 a	1,83 ± 0,47 b	1,47 ± 0,26 c	1,26 ± 0,14 d	1,21 ± 0,11 d

Tableau 22: Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Analyse de la variance: modèle linéaire généralisé.

Sources	DL	SC	CM	F	P
Saisons	1	3,3911	3,3911	40,43	0,000***
Sites	4	14,6504	3,6626	43,67	0,000***
Saisons/Sites	4	0,7025	0,1756	2,09	0,089
Erreur	80	6,7102	0,0839		
Totale	89	25,4542			

DDL: degré de liberté.

SC: somme des carrés des écarts.

CM : carré moyen.

F: F observé. P: seuil de signification.

P: seuil de signification.

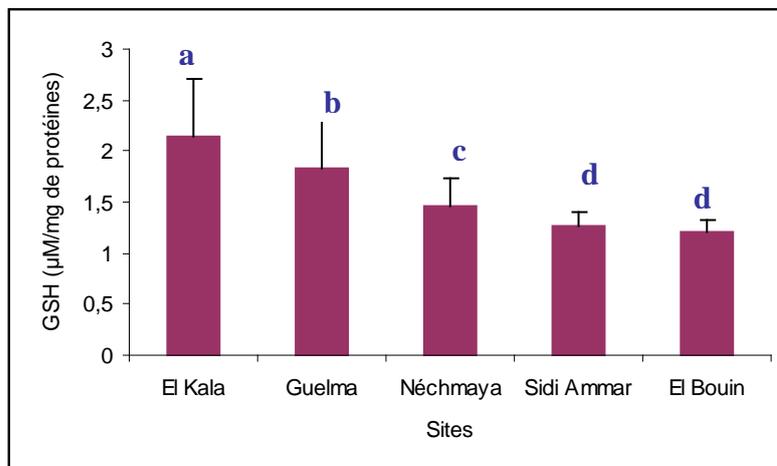


Figure 8. Taux moyen de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.1.1 Comparaison du taux de glutathion en hiver dans les cinq sites:

Le taux de GSH est variable en fonction de sites, saisons ; l'analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 23) montre qu'il existe une différence hautement significative entre les cinq sites en hiver ($P = 0,000$). La comparaison deux à deux de Tukey entre niveaux de sites révèle qu'il existe une différence significative entre El Kala et Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ; aussi entre Guelma et Sidi Ammar, El Bouni ; une variance significative existe entre Néchmaya et Sidi Ammar, El Bouni ; aucune différence significative marquée entre El Kala et Guelma ; Guelma et Néchmaya ; Sidi Ammar et El Bouni. Les résultats sont exprimés dans la figure 9.

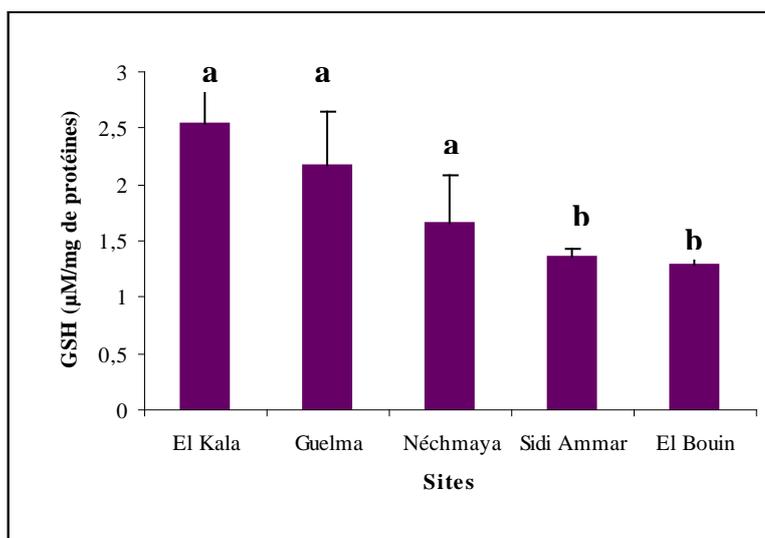


Figure 9. Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 23: Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources	DL	SC	CM	F	P
Sites	4	10,4685	2,6171	29,50	0,000***
Erreur	40	3,54822	0,0887		
Totale	44	14,0167			

DDL: degré de liberté.

SC: somme des carrés des écarts.

CM : carré moyen.

F: F observé. P: seuil de signification.

P: seuil de signification.

3.4.1.2. Comparaison du taux de glutathion en printemps dans les cinq sites d'étude :

L'analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 24) montre qu'il existe une différence hautement significative entre les cinq sites en printemps ($P = 0,000$).

La comparaison deux à deux de Tukey entre niveaux de sites révèle qu'il existe une différence significative entre El Kala et Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ; aussi entre Guelma et Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ($P < 0,05$) ; mais il n'existe pas une différence significative entre El Kala et Guelma ; Néchmaya et Sidi Ammar, El Bouni ; Sidi Ammar et El Bouni ($P > 0,05$) . Les résultats sont exprimés dans la figure 10.

Tableau 24: Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.

Source s	DL	SC	CM	F	P
Sites	4	4,4181	1,1045	12,72	0,000***
Erreur	40	3,4735	0,0868		
Totale	44	7,8917			

DDL: degré de liberté.

SC: somme des carrés des écarts.

CM : carré moyen.

F: F observé. P: seuil de signification.

P: seuil de signification.

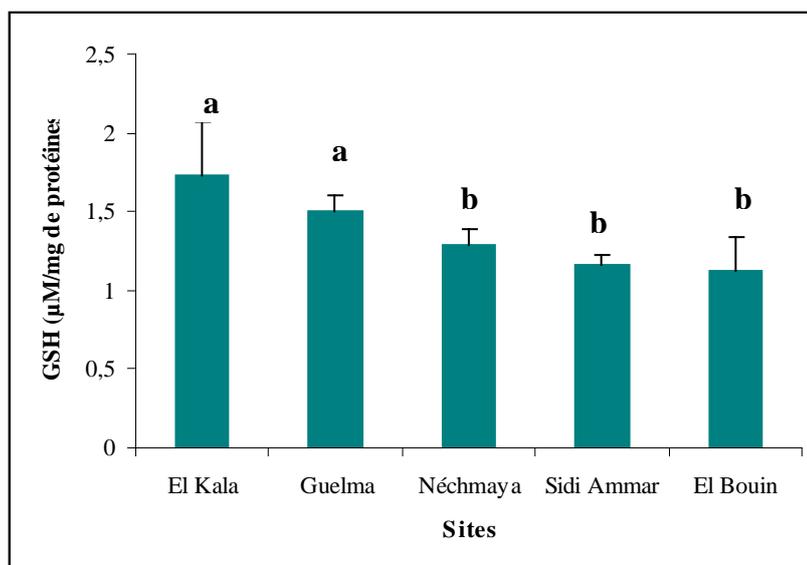


Figure 10. Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.1.3. Comparaison du taux de glutathion en hiver et en printemps dans chaque site d'étude :

Le taux du GSH dans chaque site est variable en fonction de variation des saisons (hiver et printemps). L'analyse de la variance à un critère de classification montre qu'il existe une variation significative du taux de GSH entre l'hiver et le printemps au niveau d'El kala ($P = 0,004$), Guelma ($P = 0,033$) ; hautement significative à Néchmaya et à Sidi Ammar ($P = 0,000$) ; pas de variation significative enregistrée à El Bouin ($P = 0,073$) > ($0,05$).

La comparaison deux à deux de Tukey entre niveaux de saisons révèle qu'il existe une différence significative entre l'hiver et le printemps de El Kala, Guelma, Néchmaya et Sidi Ammar ($P < 0,05$). Il n'existe pas aucune différence significative au niveaux de saisons à El Bouni. ($P > 0,05$). Les résultats sont exprimés graphiquement dans la figure 11 respectivement dans les cinq sites.

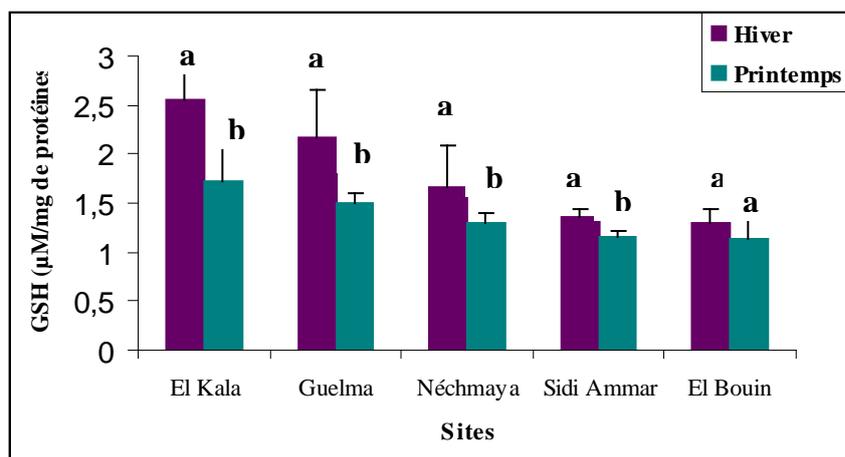


Figure 11. Taux de glutathion ($m \pm s$; $n = 9$) ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancreas d'*Helix aspersa* récoltés dans les sites (El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni) en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.2. Dosage de l'acétylcholinestérase

L'activité de l'acétylcholinestérase (Tableau 25) déterminée au niveau de la tête d'escargot *Helix aspersa* selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) dans les cinq sites d'études pendant l'hiver et le printemps ; elle est exprimée en pM/mn/mg de protéines.

L'activité de l'AChE la plus élevée a été enregistrée au niveau d'El Kala avec une valeur de $0,82 \pm 0,20$ pM/mn/mg de protéines, par contre l'activité la plus faible a été observée au niveau d'El Bouni ($0,34 \pm 0,08$ pM/mn/mg de protéines). L'analyse de la variance avec le modèle linéaire généralisé (Tableau 26) indique qu'il existe un effet site ($P = 0,000$) très hautement significatif. Et un effet saison ($P = 0,000$) très hautement significatif. L'interaction saisons/sites n'est pas significative ($P = 0,140$) sur la variation de l'activité de l'AChE.

La comparaison deux à deux avec le test de Tukey entre les sites révèle qu'il existe une différence significative entre El Kala et Guelma ($P = 0,0377$), hautement significative avec Néchmaya ($P = 0,0004$) $< 0,001$, Sidi Ammar et El Bouni ($P = 0,0000$) ; ainsi une variation très hautement significative entre Guelma et Sidi Ammar ($P = 0,0002$) et El Bouni ($P = 0,0001$). Aussi une variation significative entre Néchmaya et Sidi Ammar ($P = 0,0244$), significative avec El Bouni ($P = 0,0073$). Aucune variation significative a été enregistrée entre Guelma et Néchmaya ($P = 0,6177$) $> 0,05$; Sidi Ammar et El Bouni ($P = 0,9939$). (Fig. 12).

La comparaison deux à deux de Tukey entre les saisons indique qu'il existe une différence très hautement significative de l'activité de l'AChE entre l'hiver et le printemps ($P = 0,0000$).

Tableau 25: Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/min/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Sites \ Saisons	El Kala	Guelma	Néçmaya	Sidi Ammar	El Bouni
	Hiver	0,97 ± 0,20 a	0,83 ± 0,20 a	0,71 ± 0,30 a	0,42 ± 0,15 b
Printemps	0,68 ± 0,23 a	0,46 ± 0,20 ab	0,41 ± 0,14 b	0,31 ± 0,07 b	0,28 ± 0,14 b
Taux moyen de l'AChE	0,82 ± 0,20 a	0,64 ± 0,26 b	0,56 ± 0,21 b	0,36 ± 0,07 c	0,34 ± 0,08 c

Tableau 26: Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Analyse de la variance: modèle linéaire généralisé.

Sources	DL	SC	CM	F	P
Saisons	1	1,28642	1,28642	36,86	0,000***
Sites	4	2,92735	0,73184	20,97	0,000***
Saisons/Sites	4	0,24890	0,06223	1,78	0,140
Erreur	80	2,79204	0,03490		
Totale	89	7,25472			

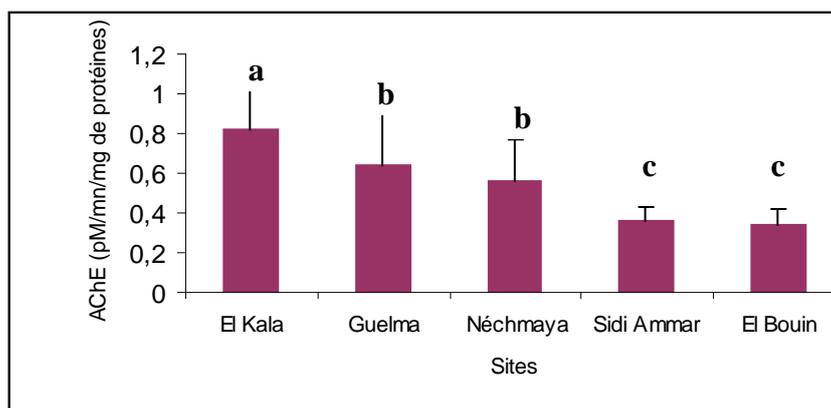


Figure 12. Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.2.1. Comparaison de l'activité de l'acétylcholinestérase en hiver dans les cinq sites:

L'activité de l'AChE est variable en fonction de sites et saisons : En hiver, l'analyse de la variance à un critère de classification révèle qu'il existe une différence très hautement significative ($P = 0,000$) de l'activité de l'AChE entre les cinq sites d'étude en hiver (Tableau 27). La comparaison deux à deux avec le test de Tukey entre niveaux de sites montre qu'il y a une variation significative entre El Kala et Sidi Ammar, El Bouni ; entre Guelma et Sidi Ammar, El Bouni ; aussi entre Néchmaya et Sidi Ammar, El Bouni ($p < 0,05$). Il n'y a pas une variation significative enregistrée entre El Kala et Guelma, Néchmaya ; ainsi entre Guelma et Néchmaya ; Sidi Ammar et El Bouni ($P > 0,05$). (Fig.13).

Tableau 27: Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources	DL	SC	CM	F	P
Sites	4	2,2792	0,5698	14,00	0,000***
Erreur	40	1,6283	0,0407		
Totale	44	3,9075			

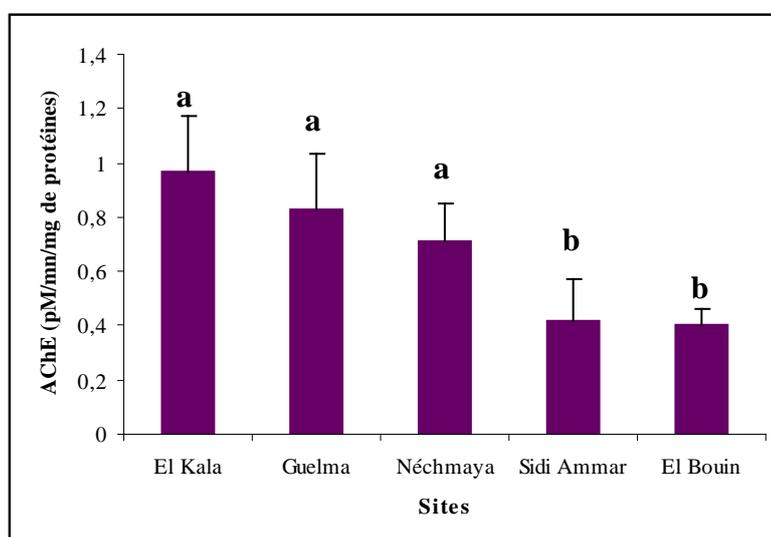


Figure 13. Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en hiver (Novembre 2008 à Janvier 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.2.2. Comparaison de l'activité de l'acétylcholinestérase en printemps dans les cinq sites:

En Printemps, l'analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 28), révèle qu'il existe une différence hautement significative ($P = 0,000$) de l'activité de l'AChE entre les cinq sites d'étude. La comparaison deux à deux de Tukey entre niveaux de sites montre qu'il a une variation significative entre El Kala et Néchmaya, Sidi Ammar, El Bouni

($p < 0,05$) ; il n'existe aucune variation significative entre El Kala et Guelma ; Guelma et Néchmaya, Sidi Ammar, El Bouni ; aussi entre Néchmaya et Sidi Ammar, El Bouni ; Sidi Ammar et El Bouni ($P > 0,05$). (Fig. 14).

Tableau 28: Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources	DL	SC	CM	F	P
Sites	4	0,8971	0,2243	7,71	0,000***
Erreur	40	1,1637	0,0291		
Totale	44	2,0608			

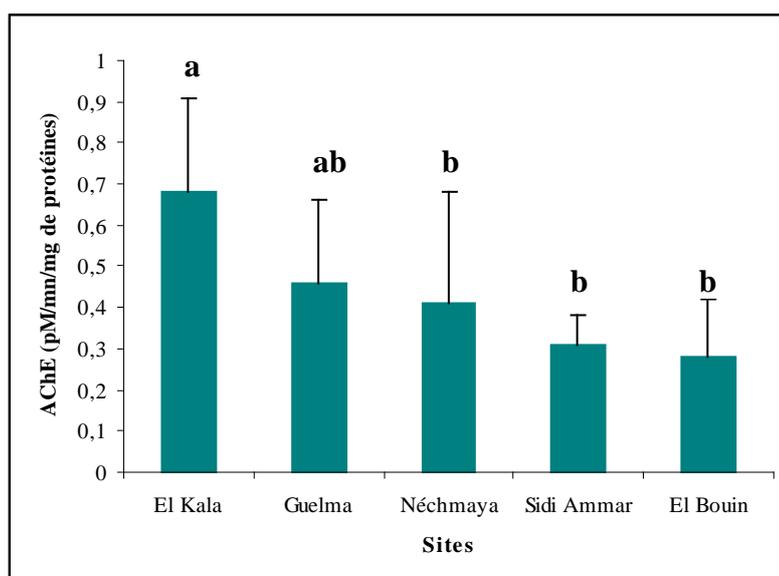


Figure 14. Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/min/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites en printemps (Février à Avril 2009). Test de Tukey: les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.2.3. Comparaison de l'activité de l'acétylcholinestérase en hiver et printemps dans les cinq sites:

L'activité de l'AChE dans chaque site est variable entre l'hiver et le printemps. L'analyse de la variance à un critère de classification entre niveaux de saisons révèle qu'il existe une

différence significative entre l'hiver et le printemps des sites: El Kala ($P = 0,011$), Guelma ($P = 0,002$), Néchmaya ($P = 0,015$), El Bouni ($P = 0,028$): ($p < 0,05$) ; mais il n'y a pas une différence significative à Sidi Ammar ($P = 0,093$).

La comparaison deux à deux de Tukey entre niveaux de saisons montre qu'il existe une différence significative dans les sites: El Kala, Guelma, Néchmaya et El Bouni ($p < 0,05$) ; mais elle n'existe pas à Sidi Ammar ($P > 0,05$). La figure 15 illustre ces résultats respectivement dans les sites : El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni.

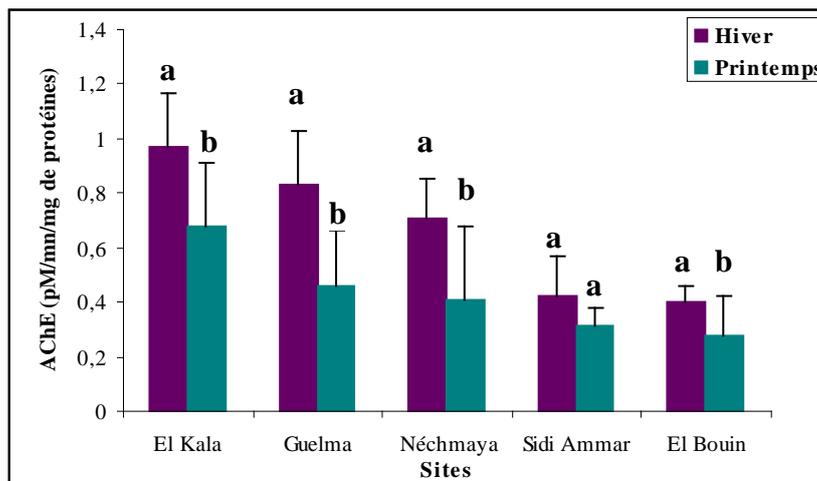


Figure 15. Activité de l'acétylcholinestérase ($m \pm s$; $n = 9$) (pM/mn/mg de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans les sites El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni en hiver et en printemps (Novembre 2008 à Avril 2009). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

3.4.3. Dosage des protéines

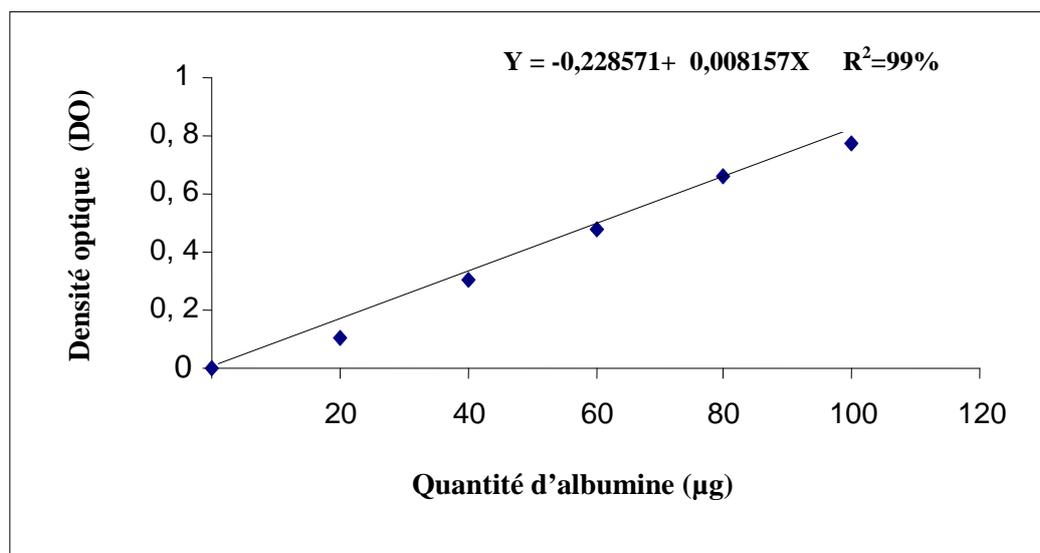


Figure 16. Dosage des protéines et droite de régression exprimant l'absorbance (DO) en fonction de la quantité d'albumines (µg).

3.5. Analyses physico-chimiques des sols dans les différents sites d'études :

Les résultats des paramètres physico-chimiques du sol dans les différents sites d'études sont mentionnés pendant la période d'étude (2009) dans le tableau 29. Ces résultats indiquent que les sols étudiés sont des sols **alcalins** du ($\text{pH} > 7,5$). Les valeurs de l'humidité varient entre 48,07 et 75,70 % et ceci explique que les sols sont **argilo-limoneuses**. Dans les sites El Kala, Guelma, Nechmaya, El Bouni ; et **limono-argileuse** à Sidi Ammar (41,66 %).

On enregistre une conductivité électrique qui varie entre 0,11 et 0,43 qui est inférieure à 0,6 ms/cm ce qui explique que les sols ne sont pas salés. Les deux types de calcaire mesurés au niveau des sites d'étude indiquent que les sols ont un calcaire actif de type **très calcaire** qui varie entre 31 et 39,74 %, et un calcaire total de type **calcaire** (15 à 30%), au niveau des cinq sites qui le calcaire varie entre 24,90 et 24,94 %.

Les sols étudiés contiennent un pourcentage plus (>) de 5 %, qui varie entre 5,83 et 7,69 % en matière organique ce qui explique que ce taux est **très élevé** donc ils sont très riches en matière organique, sauf le site d'El Bouin, le sol est moins riche en matière organique (4,87%). La porosité la plus faible a été enregistrée au niveau de Guelma 9,39 % c'est une porosité **faible** (< 10 %) et une **porosité assez faible** (10-20 %) au niveau des autres sites, les valeurs sont de 11,77 % et 18,23 % (tableau 29).

Tableau 29: Paramètres physico-chimiques des sols des cinq sites d'étude ($m \pm s$, $n = 3$).

Sites	El Kala	Guelma	Néçmaya	El Bouni	Sidi Ammar
Paramètres					
pH eau	7,79 \pm 0,09	8,47 \pm 0,02	8,71 \pm 0,07	8,28 \pm 0,07	7,89 \pm 0,08
Texture (%)	75,7 \pm 10,73	58,02 \pm 8,44	48,07 \pm 9,77	62,83 \pm 17,18	41,66 \pm 8,02
Conductivité (ms/cm)	0,43 \pm 0,02	0,13 \pm 0,005	0,15 \pm 0,04	0,15 \pm 0,02	0,11 \pm 0,01
Matière organique (%)	7,69 \pm 0,19	6,11 \pm 1,88	5,87 \pm 1,32	4,87 \pm 1,44	5,83 \pm 1,35
Calcaire actif (%)	31,66 \pm ,60	38,33 \pm 5,05	39,74 \pm 9,39	31,25 \pm 4,50	31 \pm 3,77
Calcaire total (%)	24,93 \pm 0,01	24,94 \pm 0,03	24,90 \pm 0,01	24,90 \pm 0,02	24,94 \pm 0,02
Porosité (%)	17,17 \pm 2,86	9,39 \pm 2,01	16,61 \pm 1,49	18,23 \pm 3,56	11,77 \pm 3,54

3.5.1. Taux (%) des métaux dans les sols

Les analyses des sols, prouvent que les sols des cinq sites contenant différents métaux , en quantité distincte d' un site à l'autre. Parmi les métaux et les oxydes , on a le chrome et le nickel en traces, dans tous les sites, l'oxyde de manganèse (0,24-0,33%) et des traces à El Kala et Guelma ; l'oxyde de fer plus élevé à El Bouin (1,08%) et plus faible à El Kala (0,48%). Le fer total présente un taux important, c'est le métal majeur des les cinq sites ,un taux important a été marqué à El Bouni (10,13%), et un taux plus faible a été noté à El Kala (3,24%) ; aussi des taux importants ont été marqué pour l'Aluminium Oxydé (3,18-6,11%) ; des taux non négligeables pour l'oxyde de Magnésium (0,48-0,97%) et des traces à Guelma et El Kala. (tableau 30).

30 : Taux (%) de quelques métaux dans les sols* des cinq sites selon la norme AFNOR.*Laboratoire Analyse Matière Première, Direction Qualité, Arcelor Mittal, Annaba

Métal Sites	Fet	MgO	Al2O3	MnO	FeO	Ni	Cr
El Bouni	10,13	0,97	6,11	0,33	1,08	Traces	Traces
Sidi Ammar	7,03	0,85	3,79	0,33	0,75	Traces	Traces
Néchmaya	6,47	0,48	4,48	0,27	0,54	Traces	Traces
Guelma	3,94	Traces	3,36	0,30	0,88	Traces	Traces
El Kala	3,24	Traces	3,18	0,24	0,48	Traces	Traces

Fet: Fer total

MgO: Oxyde de Magnésium

Al2O3: Aluminium Oxydé

MnO: Oxyde de manganèse

FeO: Oxyde de fer

Cr: Chrome

Ni: Nickel

Méthodes d'analyse

NF: Norme AFNOR

Fet: NF A O6125

MgO: NF B 49-417

Al2O3: NF B 49-412

MnO: NF A O6-134

FeO: NF A O6-115

Cr: NF A O6- 308

Ni: NF A O6-307

Discussion

4. DISCUSSION

La préservation de la qualité des sols est devenue au même titre que la protection des milieux aquatiques et aériens. Pour ce la, il est indispensable d'utiliser des espèces bioindicatrices qui reflètent la qualité des sols en utilisant les gastéropodes terrestres, qui font l'objet de plusieurs recherches, ces derniers ont une forte sensibilité aux variations physicochimiques de leur milieu, notamment la température (Bride *et al.*, 1993). Les fréquences électromagnétiques (Regoli *et al.*, 2005) et à toute forme de pollution urbaine (Regoli *et al.*, 2006), également vis-à-vis des xénobiotiques variés tels que les hydrocarbures (Ismart *et al.*, 2002) ou encore les éléments traces métalliques (Manzl *et al.*, 2004). On s'intéresse de l'espèce *Helix aspersa* car elle possède toutes les caractéristiques d'être une espèce sentinelle de la pollution des sols. D'une autre part, une mesure des variations des biomarqueurs de stress environnemental est élaborée (AChE et GSH) respectivement au niveau de la tête et l'hépatopancréas de l'escargot pendant la période d'expérimentation (Novembre 2008 à Avril 2009) l'hiver et le printemps, avec un inventaire des espèces malacologiques présent dans les cinq sites d'étude et des analyses physicochimiques des sols, afin de réaliser une évaluation complète de la pollution des sols.

4.1. Inventaire des Gastéropodes

Des études sur le terrain ont été réalisées pour étudier l'utilisation des escargots terrestres comme biomoniteurs (Martin et Coughtrey, 1982 ; Berger et Dallinger, 1993 ; Gomot de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Beeby et Richmond, 2002).

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 et Wieser, 1984a ; Brooks *et al.*, 1992 ; Gomot et Pihan, 1997 ; Menta et Parisi, 2001 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002 ; Viard *et al.*, 2004) et organiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Sverdrup *et al.*, 2006). Ainsi, ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance, de reproduction, mortalité) (Laskowski et Hopkin, 1996a ; Gomot, 1997 ; Swaileh et Ezzughayyar, 2001 ; Gomot-de Vaufleury et Bispo, 2000 ; Notten *et al.*, 2006) et biochimiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006) quand ils sont exposés aux contaminants, ils constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beeby, 1985 ; Laskowski et Hopkin, 1996b ; Scheifler *et*

al., 2002a), pour ces caractéristiques, ils sont reconnues comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger et Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999) utilisés dans la biosurveillance des écosystèmes terrestres : sol ; d'évaluer le diagnostic environnemental de l'état biologique de sol et de son degré de perturbation. De ce fait, il est indispensable de faire un inventaire des récepteurs écologiques (gastéropodes) présents, de leur exposition et des effets qu'ils subissent.

L'Est algérien se caractérise par un climat méditerranéen. L'inventaire des gastéropodes, indique la richesse en espèces malacologiques, au niveau des cinq sites. Une dominance de l'espèce *Helix aspersa*, a été remarquée. Le taux représente cette espèce est de 21% à El Kala, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ; et 16% à Guelma. Cette espèce de grande saveur culinaire, est connue pour être indigène aux rivages de la méditerranée (Chevalier, 1992). En accord notre résultats avec celui de Boudechiche (2007), avec une dominance de l'*Helix aspersa* avec ses variétés au niveau du Parc National d'El Kala. Aussi l'inventaire fait à Tlemcen Damerdji (2008) qui montre une diversité des gastéropodes avec une dominance d'*Helix aspersa*.

La famille des Hélicidaees est présentée par les helix : *aperta*, ou l'escargot vert avec un taux élevé de 21% au niveau du site Sidi Ammar, cet escargot préfère une forte humidité de l'aire, ainsi des taux similaires à Guelma et Néchmaya (14%), et des taux proches à El Kala et El Bouni (18-19%) ; d'après nos observation durant les deux saisons , on peut conclure que cette espèce peut être utilisée comme une espèce bioindicatrice telle que *Helix aspersa* grâce à ses caractéristiques de bioindication ; l'espèce *Otala lactea* avec un taux variable entre (6-12%) respectivement dans les cinq sites. La famille des Hygromidaes présentée par l'espèce *Helicella virgata* avec un taux important (15-18%) au niveau des sites Guelma, Néchmaya ,qui sont des zones presque sèches , et entre (9-11%) au niveau des sites Sidi Ammar, PNEK et El Bouni et Trochoidea elegans (16%) à Néchmaya.

La famille des Cochlicellidaees, *Cochlicella barbara* a un taux important (18-21%) dans les sites : PNEK, Sidi Ammar et El Bouni par rapport aux sites Néchmaya et Guelma (6-10%) ; de plus la famille des Subulinidaees (*Rumina decollata*) avec un taux presque proche dans les cinq sites (3-6%) et la famille des Enidaes présentée par *Zebrina detrita* au niveaux des sites PNEK et Guelma (10-14%). La famille des Milacidaees présentée par *Milax gagates* et *Milax nigricans* (3-5%) dans les différents sites.

Cette prédominance d'espèces à coquilles foncées (*Helix aspersa*, *Helix aperta*, *Otala lactea*) a été constatée, ce qui confirme la supposition de Chevalier (1992) définissant l'action

du milieu, frais et humide sélectionnant les variétés foncées et le milieu chaud et sec, sélectionnant les variétés claires.

Les variations des taux des espèces entre les sites, la présence de certaine espèce dans un site et leur absence dans un autre pourrait être attribuée à l'influence des conditions du milieu, notamment les facteurs climatiques qui jouent un rôle fondamental influençant la croissance des mollusques, la reproduction, la distribution (la température et l'apport hydrique insuffisants résultent des troubles de la croissance ; l'éclairement (l'intensité lumineuse reçue par les animaux, la durée d'éclairement et la qualité de la lumière) (Wikipédia, 2010), ainsi d'autre facteur environnemental c'est le rayonnement qui influence la coloration des coquilles (Damerdji et Benyoucef, 2006) et la persistance des polluants. Des facteurs pédologiques physicochimiques, décrivant la nature du sol, essentiellement des trois paramètres principales : le pH du sol, un pH neutre ou très voisin de la neutralité renferme ou non du calcaire, apparaît être le meilleur sol d'élevage des escargots ; la teneur en matière organique et l'humidité du substrat ; la disponibilité des végétations utilisées comme nourritures pour les escargots ; la densité animale et la charge biotique (Wikipédia, 2010).

4.1.1 Biométrie des espèces

Nos résultats révèlent que la moyenne la plus élevée du poids a été enregistrée au niveau d'El Kala chez *Helix aspersa* ($10,94 \pm 5,27$ g) et les autres moyennes pondérales sont entre (7,72-10,57 g). D'après ces poids, on peut caractériser la taille des escargots *Helix aspersa* par une taille nemoralis (taille moyenne) selon la classification du Chevalier (1977), ainsi en accordant les résultats des tailles trouvés par Boudechiche (2007) dans le PNEK.

Le diamètre maximal a été marqué au niveau du PNEK ($33,51 \pm 9,55$ mm) compris entre (35 et 39 mm) selon Chevalier (1977) et dans les autres sites de (27,41-32,80 mm), et la hauteur de 24,64 dans le PNEK ; tandis que la moyenne pondérale la plus faible a été enregistrée à Néchmaya chez l'espèce *Cochlicella barbara* (0,079 g) et un diamètre de $3,35 \pm 1,09$ mm et une hauteur de $5,12 \pm 2,86$ mm. Cette espèce est caractérisée par sa petite taille par rapport aux autres espèces.

4.2. Indices écologiques

La richesse spécifique des Gastéropodes est estimée de 10 espèces à Guelma, Néchmaya et El Kala, et 9 espèces dans les autres sites, elle est estimée de 8 espèces à

Tlemcen (Damerdji, 2008). La richesse moyenne, la valeur maximale est obtenue à El Kala de 508 et minimale à Néchmaya de 391,87.

La fréquence centésimale (**F**) varie d'un site à l'autre en fonction des conditions climatiques des régions ; mais elle est en général, moins de 25 % dans les cinq sites ce qui explique qu'elles sont des espèces très rares. La constance (**C**), *Helix aspersa* et *Helix aperta* présentent un pourcentage de 100 % dans les cinq zones ; ce qui explique que ce sont des espèces omniprésentes ; ces deux espèces présentent une biomasse significative et des pouvoirs adaptatifs aux différents climats et sols ; une variation de la constance a été observée pour les autres espèces entre les cinq sites.

L'indice de diversité de Shanon – Weaver (**H'**) varie entre 2,70 à Sidi Ammar et 3,05 au PNEK. Cet indice est faible de 0,26 à Tlemcen (Damerdji, 2008).

L'équitabilité (**E**) est entre 0,85 et 0,90 donc $E < 1$; ce qui signifie que les peuplements des gastéropodes ne sont pas en équilibre. L'équitabilité tend vers 0, elle est inférieure à 0.5 dans l'étude réalisé à Tlemcen, les effectifs des espèces sont différents (Damerdji, 2008). Plusieurs travaux sont s'intéressés de l'inventaire des gastéropodes : au niveau du romarin, Damerdji *et al.* 2005 trouvent que la richesse spécifique des gastéropodes est de 18 espèces réparties entre 3 familles, celles des Sphincterochilidae, des Helicidae et des Subulinidae.

Adjani (1998) a reconnu 13 espèces malacologiques alors que Bouhellou (1998) a observé 18 et que Kassemi (2001) rencontre 19 espèces dans différentes régions de Tlemcen.. Sur le *Calycotome spinosa* (Genêt) on dénombre 21 espèces de gastéropodes (Damerdji et Djedid, 2003). Khelil (1984) avait noté une seule avec *Leucochroa candidissima*. Dans son essai d'écologie quantitative sur les invertébrés de la Sansouire camarguaise, Bigot (1965) indique que la richesse spécifique est estimée de 8. Les facteurs abiotiques et biotiques restent importants dans la variation de la taille des coquilles de *Sphincterochila candidissima* (Damerdji, 2001).

4.3. Dosage des biomarqueurs

La préservation de la qualité des sols est une préoccupation majeure des sociétés humaines, l'utilisation des paramètres biochimiques appelés biomarqueurs, comme indicateurs de la qualité des écosystèmes ; Ces biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental et peuvent être chimiques, physiologiques ou biologiques (WHO, 1993) ; leur validité tient à trois caractéristiques principales: spécificité, sensibilité et préciosité (Amiard-Triquet *et al.*, 1998). 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 ; Melonghlin *et al.*, 2000; Sturn *et al.*, 2000). La capacité d'un organisme de s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique dépend principalement des mécanismes de la détoxification de divers composés endogènes (Jakanov, 2001). Les biomarqueurs peuvent être regroupés en trois catégories: les biomarqueurs d'exposition, d'effet et de sensibilité.

Après leur pénétration dans les organismes, les polluants subissent le plus souvent des transformations métaboliques, catalysées par différents systèmes enzymatiques capables de prendre en charge des substrats de nature variée. Toutes ces enzymes augmentent l'hydrosolubilité des molécules qu'ils prennent en charge afin d'en faciliter leur élimination dans l'organisme. L'activation métabolique de certaines molécules suite à leur métabolisation est cependant possible. Les réactions de biotransformation sont divisées en deux réactions ; phase I et phase II. La première phase (phase I) est assurée par des enzymes qui catalysent l'oxydation et la fonctionnalisation des xénobiotiques. La phase II est réalisée par des enzymes qui catalysent la conjugaison des molécules fonctionnalisées à des substrats endogènes. Le GSH tient une place importante parmi les enzymes de la phase II.

Le glutathion est un tripeptide (L-γ-glutamyl-L-Cysteinyl glycine) qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire (Arrigo, 1999 ; Sies, 1999). Il a été isolé et nommé pour la première fois par Hopkins en 1921 à partir de la levure du foie et des muscles. Ce tripeptide constitue le composé thiol majeur grâce à son groupement thiol de la cystéine (Yo *et al.*, 1993 ; Michel *et al.*, 1995). De plus, le glutathion est un cofacteur de plusieurs enzymes, catalyse la détoxification et l'excrétion de plusieurs composés toxiques. Parmi ces enzymes la glutathion peroxydase (GPx) réduit les hydroxydes en alcools primaires, la glutathion synthétase intervient dans la biosynthèse du GSH, et enfin la glutathion-S-transférase (GST) intervient dans les réactions de conjugaison des électrophiles (Saint-Denis *et al.*, 1998). Diverses recherches ont montré le rôle du GSH dans la détoxification des xénobiotiques (Reed, 1990 ; Reidy *et al.*, 1990 ; Avci *et al.*, 2005).

Nos résultats déterminés au cours des deux saisons (hiver et printemps) suggèrent que le taux de GSH est maximum en hiver dans les cinq sites (El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni) puis, il diminue progressivement dans le printemps. Cette variation entre saisons peut s'expliquer par des variations des facteurs environnementaux comme la température, l'hygrométrie, l'humidité, la durée du jour et l'alimentation, qui agissent principalement sur l'activité de l'escargot. En hiver, les facteurs environnementaux sont

défavorables (l'escargot soumis à un stress environnemental) donc, il entre en hibernation, ses activités physiologiques sont réduites, son métabolisme est ralenti, dans ce cas il n'est pas en contact continu avec son milieu ; une réduction des périodes d'exposition aux contaminants existant dans l'environnement, donc une faible accumulation des xénobiotiques a été constatée chez les escargots. En printemps, les facteurs environnementaux seront favorables pour reprendre ses activités physiologiques. Des longues périodes d'exposition, favorisent une importante accumulation des polluants par l'escargot. De nombreux facteurs influencent l'accumulation des métaux dans les escargots, comme les espèces d'escargots, le poids, la taille, l'état physiologique et la composition du régime (Williamson, 1979, 1980 ; Gomot et Pihan, 1997). Cela entrave l'utilisation et l'acceptation des escargots comme biomoniteurs (Beeby et Richmond, 2002). En général, les escargots terrestres ont le pouvoir d'accumuler des métaux, de stocker des volumes importants dans ses organes (Dallinger *et al.*, 2001). Les effets toxiques des métaux chez les escargots peuvent être dus à l'absorption de la nourriture ou à partir du sol, ou par l'intermédiaire de l'alimentation à travers la peau du pied (Coourdassier *et al.*, 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002).

Gimbert (2006) suggère que la saison (automne et Printemps) est un facteur environnemental influence le transfert du métal du sol vers l'escargot, en agissant sur les concentrations internes en Cd et le flux d'absorption avec une diminution de la masse d'organisme en Automne, en relation avec la diminution de la photopériode, la température, les précipitations et l'hygrométrie. En général, l'accumulation des xénobiotiques, essentiellement les ETM, existant dans le sol, au niveau des organes d'escargots, est un facteur clé permet d'expliquer les variations des taux des biomarqueurs dosés dans certains organes.

De plus, le taux de glutathion mesuré durant les deux saisons est faible dans les sites Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni, comparativement au site PNEK, qui présente un taux élevé. Cette diminution peut se traduire par une pollution provenant de la zone industrielle : Arcelor Mattal et Férrovial pour le site d'El Bouni, qui est considéré comme le site le plus pollué, aussi le site de Sidi Ammar. Les activités métallurgiques ont des apports diffus d'origine lointaine (poussières, aérosols) pouvant parcourir des centaines de kilomètres à partir de leur sources avant de se déposer (Godin *et al.*, 1985 ; Merian *et al.*, 2004) ; ou soit des apports ponctuels localisés d'origine proche liée aux activités industrielles de longues durées (Baize, 1997). La diminution du taux du GSH au niveau de Néchmaya et Guelma est exprimée par la direction des vents qui jouent un rôle dans le transport des polluants des zones industrielles précédentes et aussi par l'effet des engrais (Cd dans les engrais phosphatés ;

Hamon *et al.*, 1998) utilisés pour améliorer les propriétés du sol. Les émissions atmosphériques liées au trafic routier et à l'incinération de l'ordure ménagère (Denison et Silbergeld, 1998) influencent sur les sites de Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouin. Guelma est le site le moins pollué comparativement aux sites Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni, car il est éloigné des zones polluées. Le PNEK est le site le moins pollué comparativement aux autres sites.

L'escargot intègre les polluants essentiellement les ETM *via* différentes voies d'exposition : digestive par ingestion de nourriture (plantes, particules de sols) (Gomot *et al.*, 1989) ; cutanée par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (Coeurdassier *et al.*, 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002); respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques (Ismert *et al.*, 2002, Regoli *et al.*, 2006).

Les ETM ont une forte affinité *vis à vis* des groupements thiol du GSH et forment des complexes avec ses entités chimiques (Viarengo et NOH, 1993 ; Viarengo, 1994). Ces groupements thiol agissent comme un tampon antioxydant, la synthèse de GSH en présence de cadmium serait un mécanisme de protection dans le quel le métal se fixe aux groupements thiol du GSH, provoquant ainsi les dommages cellulaires (Hatcher *et al.*, 1995 ; Shukla *et al.*, 2000).

Plusieurs mécanismes ont été proposé pour expliquer le passage des ions métalliques à travers les membranes biologiques : diffusion passive sous forme libre ou sous forme de complexes organométalliques liposolubles (Ireland, 1982 ; Hopkin, 1989), canaux et pompes ioniques, passage facilité par des transporteurs membranaires (Simkiss et Taylor, 1989 ; Rainbow et Dallinger, 1993), structures épithéliales particulières comme les "Channel Cells" (Campion, 1961 ; Martin et Deyrup-Olsen, 1986).

Les fortes capacités d'accumulation des ETM chez les escargots sont liées à l'efficacité des systèmes de détoxification impliquant des structures de séquestration et de compartimentation intracellulaire (métallothionéines (MTs) et granules) mais aussi à leur capacités limitées à excréter certains métaux, conditionnés notamment par la nécessité d'éviter les pertes excessives d'eau (Dallinger *et al.*, 2001). Ces MTs, exprimées dans différents tissus où elles accomplissent des fonctions spécifiques à chaque métal (Dallinger *et al.*, 1993, 1997 ; Berger *et al.*, 1993, 1995).

Les effets des métaux sont exprimés à tous les niveaux d'organisation biologique (Römbke et Moltmann, 1996). Au niveau cellulaire, par exemple, l'excès de métaux dans les plantes peut modifier la perméabilité des membranes, ou de diminuer l'activité enzymatique et de synthèse (Bargagli, 1998). Au niveau individuel, la pollution de métal peut affecter la

croissance, la reproduction et de survie (Römbke et Moltmann, 1996). Ces effets d'influencer la dynamique des populations de l'espèce, et peut affecter l'abondance et la diversité des plantes et des animaux (Hopkin, 1989). En définitive, l'ensemble des écosystèmes peut être affectés par la pollution en métaux lourds.

En accord avec nos résultats la diminution du GSH à été également observée par Atailia (2009) dans l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par le cadmium, Boucenna (2010) dans l'hépatopancréas chez la même espèce traitée par les poussières métalliques, encore chez *H. aspersa* comme une réponse à l'effet électromagnétique (Régoli *et al.*, 2005) ; et à la toxicité des cadmium et zinc est observée chez *Achatina fulica* (Chandran *et al.*, 2005). Une diminution du niveau de GSH a été observée au niveau de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par les pesticides : carbofuran et paraquat respectivement à des doses : 125 µg/escargot et 230 µg/escargot, mais une augmentation du niveau de GSH signalée chez les escargots traités par les pesticides : le methomyl (60 µg/escargot) et le chlorpyrifos (225 µg/escargot) (Salama *et al.*, 2005). La diminution du taux de GSH à été observée par Drardja-Beldi & Soltani (2003) dans le corps entier des femelles de *G. affinis* traitées avec le diflubenzuron et par Aissaoui (1998) dans l'hépatopancréas de la même espèce traitée avec le lindane. Aussi, cette diminution du GSH à été reportée dans l'hépatopancréas des femelles *G. affinis* traitées avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). La diminution du taux de GSH à été aussi notée chez la truite arc-en-ciel exposée à différent niveaux de fuel (Steadman *et al.*, 1991). Le taux de GSH à été réduit chez les rats traités avec: Le dichlorodiphényl-trichloroethane (DDT) et le benzoperane (Della *et al.*, 1994), le zolone (Oueldjaoui, 1996) et l'œstrogène à différentes doses (El-Farra *et al.*, 1999). La relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination est rapportée par (Ringwood *et al.*, 1999) chez les juvéniles de la moule, *Crassostrea virginica*, exposés à un mélange de polluants industriels et par Cossu *et al.* (2000) et Doyette *et al.* (1997) chez le bivalve, *Unio tumidus*, exposé au cuivre. Cependant, quelque études ont montré une augmentation du taux de GSH tel qu'il à été observée dans le foie de la truite arc-en-ciel traitée avec le cadmium (Ait-Aissa *et al.*, 2003). Cette augmentation du glutathion correspond à un mécanisme précoce de défense cellulaire et serait suffisant pour prendre en charge les premières atteintes cellulaires, évitant ainsi l'apparition d'un stress oxydant plus important. Le taux de GSH augmente ainsi chez les rats traités au méthyle mercure (Woods & Ellis, 1995), chez les poissons exposés au plomb (Thomas & Juedes, 1992) et au chlorothalonil (Gallagher *et al.*, 1992) et chez le bivalve *Mytilis galloprovincialis* traité avec les métaux lourds (Regoli & Principato, 1995).

Gabriella *et al.* (2005) montrent que l'activité catalase dans hépatopancréas a diminué (de 30-40%) durant l'été (estivation), mais aucun changement n'est intervenu dans les activités de Glutathion réductase, le glutathion S-transférase et de Glucose-6-phosphate déshydrogénase dans le pied et l'hépatopancréas. Les niveaux de GSH ont été augmentés (par 54%) dans les muscles du pied pendant l'estivation, mais sont demeurés inchangés en hépatopancréas. En contraste avec l'hiver, les marqueurs du stress oxydatif (peroxydation des lipides, des protéines de carbonyle, et le GSSG / GSH-eq ratio) sont inchangées pendant l'estivation (Gabriella *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent que *H. aspersa* est une espèce sentinelle contrôlant la régulation du métabolisme de radicaux libres dans les différentes saisons (Gabriella *et al.*, 2005).

Contrairement au GSH, l'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification des xénobiotiques chez les êtres vivants, c'est une enzyme nécessaire au fonctionnement normal du système nerveux sensori-moteur et surtout au fonctionnement de la plaque motrice (Payne *et al.*, 1996). Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Dans les jonctions interneuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'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, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Balida, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Bainty, 2000).

Nos résultats révèlent que l'activité de l'AChE mesurée au niveau de la tête d'*H. aspersa* est maximale dans l'hiver, mais elle diminue en printemps, également dans les cinq sites d'étude. Cette diminution peut s'expliquer par l'effet du facteur saison, comme on notant précédemment pour le GSH et le rôle des variations climatiques et environnementales entre les deux saisons, qui influencent principalement la physiologie et l'activité de l'escargot. En hiver, lors des facteurs environnementaux défavorables, l'escargot répond à ce stress environnemental par l'hibernation, où l'exposition aux polluants du milieu est réduite, la durée d'exposition agit sur la capacité d'accumulation des xénobiotiques et leur transfert vers l'escargot ; Chapman *et al.* (2003) définissent l'exposition comme la coïncidence dans l'espace et dans le temps d'un récepteur (espèce identifiée) et d'un stressor (contaminant) qui entrent en contact et interagissent. Elle est exprimée comme une concentration, ou une dose (Suter II, 1993) et doit être examinée à l'échelle du site ou du parcelle (selon le temps),

considérant la variabilité spatiale de la contamination (Kooistra *et al.*, 2001), elle dépend donc à la fois de la physico-chimie du milieu et de la biologie de l'organisme considéré (Van Straalen et Van Gestel, 1998). A cet égard, une faible accumulation des contaminants particulièrement les ETM pendant l'hivernation de l'hiver se traduit par une forte activité de l'AChE en hiver et une faible activité en printemps.

En comparant l'activité de l'AChE dans les cinq sites, celle-ci est très faible au niveau des sites El Bouni et Sidi Ammar à cause d'une pollution d'origine industrielle (complexe Arcelor Mettal et Ferroviaire) et le trafic routier. En passant au site Néchmaya et Guelma où l'activité de l'AChE est augmentée respectivement, mais elle reste faible par rapport au site PNEK; cette diminution de l'activité de l'AChE est due au transport des polluants des zones polluées (Sidi Ammar et El Bouni) vers les sites : Néchmaya et Guelma grâce aux vents. De plus, le trafic routier et les activités agricoles qui rejettent plusieurs polluants essentiellement, le plomb. Dans les tissus de l'escargot *Achatina Achatina* l'absorption atomique du plomb par spectrophotométrie augmente avec l'augmentation de l'intensité de la circulation routière (Ebenso et Ologhobo, 2008); Viard *et al.* (2004) suggèrent que le plomb semble être le meilleur métal pour évaluer la contamination des transports routiers. Les métaux Zn, Cu, Cd et Pb sont largement reconnus comme un élément constitutif de différents engrais et de pesticides (Alloway, 1990; Baker, 1990; Kiekens, 1990). Une forte activité de l'AChE au niveau du site El Kala affirme que ce site est le moins pollué par rapport des autres sites.

L'activité de l'AChE mesurée au niveau de tube digestif chez *H. aspersa* exposé au Nickel est considérablement réduite même au plus faible concentration de Nickel (Dolezych *et al.*, 2010). Une inhibition de l'activité de l'AChE a été reportée chez *H. aspersa* traité par les pesticides, les carbamates : methomyl (60 µg/escargot), carbofuran (125 µg/escargot) et les organophosphorés : chlorpyrifos ou le bipyridium (225 µg/escargot) et le paraquat (230 µg/escargot); les carbamates sont les plus toxiques pour les escargots (Salama *et al.*, 2005). La diminution de l'AChE a été observée au niveau de la tête chez *G. affinis* traitée avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). L'AChE est essentiellement inhibé par deux classes d'insecticides, les organochlorés et les carbamates (Toutant, 1989; Fournier & Mutero, 1994; Ecobichon, 1996; Tomita *et al.*, 2000; Siegfried & Scharf, 2001). Cependant, certaines études ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par d'autres contaminants environnementaux incluant certains agents tensioactifs, les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995; Bocquené *et al.*, 1997; Forget *et al.*, 1999; Dellali *et al.*, 2001). L'inhibition de l'activité de l'AChE peut avoir des conséquences sur le comportement des êtres vivants; la recherche de la nourriture, la recherche de partenaire sexuel et soin des

jeunes (Little, 1990 ; Richmonds & Dutta, 1992 ; Hart, 1993 ; Saglio *et al.*, 1996 ; Khessiba *et al.*, 2001). L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus des organismes aquatiques est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par Les pesticides anticholinestérasiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999 ; Dutta & Arends, 2002) .

4.4. Les paramètres physicochimiques du sol :

Le sol est la partie superficielle de la croûte terrestre à l'échelle de la planète. Il constitue l'habitat permanent d'une multitude d'être vivant (Davet, 1996). C'est un système complexe composé d'une phase liquide, d'une phase solide et d'une phase gazeuse en interface avec l'atmosphère, la lithosphère et l'hydrosphère (Rivière, 1998).

Un sol est défini par sa texture (proportion relative des différents constituants minéraux et organiques, tels que sable, limon, argile, complexe argilo-humique, microflore et microfaune) et sa structure qui représente l'organisation spatiale de ces différents constituants, (matière organique ou humus qui contient les produits de décomposition partielle des végétaux, matière inorganique provenant de l'érosion des roches (Rivière, 1998).

La composition du sol et sa fertilité varient en fonction climatiques, géologiques et de la végétation (Prescott *et al.*, 1995). La pédologie s'intéresse des problèmes agricoles, de fertilité, érosion, désertification ainsi de pollution des sols car les sols constituent le fonctionnement de la vie des hommes, des animaux et des plantes, ainsi que le lieu d'une activité biologique (Bonin, 2006).

Le polluant présent dans le site pollué va migrer dans le sol en se distribuant dans les différentes phases qui le constituent. Se volatiliser dans l'atmosphère et contaminer les cours d'eau. Les déplacements des produits dans les sols sont déterminés par deux phénomènes principaux d'une part, les échanges entre la phase solide-immobile et la phase gazeuse et aqueuse-mobile, et d'autre part, les déplacements des phases mobiles (Rivière, 1998). L'ensemble de ces phénomènes détermine la persistance des produits dans le sol. Le transfert ne se fait pas uniquement entre milieux abiotiques : le transfert vers la biomasse (plantes et animaux).

Plusieurs caractéristiques physico-chimiques des sols sont importantes pour expliquer et prévoir le comportement des polluants : la porosité, la teneur en air et en eau, la densité, la perméabilité, la composition granulométrique, distribution des dimensions particulières à partir des trois catégories, argile, limon et sable, la teneur en carbone organique (matière

organique), la capacité d'échange de cations, le pH, le potentiel redox (Rivière, 1998), de plus les minéraux argileux, qui déterminent la capacité d'échange cationique dans les sols, l'âge de la contamination du sol, tous ces facteurs influent la biodisponibilité des ETM dans le sol (Scheifler, 2002). Les paramètres cités précédemment peuvent être considérés comme des indicateurs d'évaluation, ayant une importance majeure sur la dynamique des espèces terrestres.

Le transfert des métaux dans différents compartiments de la chaîne alimentaire est influencé par de nombreux facteurs : le type de métal, qui est une variable importante dans toutes les voies de transfert ; la spéciation des métaux, un facteur important qui détermine le transfert des métaux du sol aux plantes et aux escargots, ainsi les caractéristiques des sols, notamment le pH, la teneur en matière organique et en argile, qui influencent fortement la spéciation des métaux et donc la biodisponibilité des métaux dans le sol (Salomons et Forstner, 1984) ; de plus les concentrations des métaux dans les escargots dépendent de certains facteurs tels que les espèces d'escargots (Gomot et Pihan, 1997), l'alimentation, la saison (Williamson, 1979), l'âge, le poids et l'état physiologique (Williamson, 1980). Les concentrations des métaux libres dans la solution du sol étaient fortement déterminées par le pH eau du sol et le total des concentrations dans le sol en métal (Sauvé *et al.*, 1997 ; GE *et al.*, 2000). Plusieurs travaux de recherche sont intéressés de ses paramètres physico-chimiques des sols, essentiellement la teneur en matière organique, le pH, qui affectent la biodisponibilité des ETM dans le sol (Portail, 2005).

Dans le sol, les éléments traces métalliques se répartissent essentiellement dans la phase solide; argile, oxydes de fer et de manganèse et matière organique sont les principaux compartiments concernés. Dans le cas de sols calcaires, les carbonates de calcium sont les constituants majeurs intervenant dans la fixation des éléments-traces métalliques. La majorité des expériences de longue durée montrent que c'est essentiellement l'horizon de surface (0 - 15 cm) qui peut s'enrichir en éléments-traces métalliques, dans notre étude l'horizon de surface des sols prélevés est de (0-20 cm).

La biodisponibilité c'est la part de la quantité totale d'un ETM présent dans un compartiment environnemental spécifique, dans un laps de temps donné, est disponible pour être assimilée par un organisme à partir de son environnement immédiat (exposition cutanée) et/ou par ingestion de nourriture (voie digestive) (Peijnenburg et Jager, 2003). Grâce à sa complexité (Sauvé *et al.*, 2000), la biodisponibilité est un concept comportant trois types de processus distincts (Hamelink *et al.*, 1999 ; Peijnenburg *et al.*, 1997) :

- la disponibilité environnementale.

- la disponibilité biologique ou biodisponibilité.
- la biodisponibilité toxicologique.

La biodisponibilité est susceptible de varier significativement au cours du temps en raison de l'évolution des phénomènes physicochimiques au niveau du sol et des stades de développement des organismes, elle est spécifique d'un contaminant donné pour un organisme donné (Peijnenburg, 2002 ; Van Straalen, 2005), aussi d'étudier les cibles biologiques représentant différents niveaux trophiques. Gimbert *et al.* (2006) suggèrent que plus faible la biodisponibilité de Cd dans le sol, donc le terrain est responsable de la baisse transfert vers les escargots par rapport aux 20 du sol de l'ISO, ainsi quelque soit la concentration de cadmium dans le sol, Les concentrations à l'équilibre dans les viscères ont été de 0,7 (\pm 0.1), 11.3 (\pm 2.4), 73.3 (\pm 4.8) et 6,3 (\pm 1,3) mg Cd-1 masse sèche pour 0 ISO, ISO 20, ISO 100 et ME4 pour des escargots *Helix aspersa* soumis à trois différentes concentrations de cadmium dopés dans un sol artificiel ISO (norme ISO 0, 20 et 100 mg Cd kg-1) et à un sol sur le terrain (ME4) contaminés par l'industrie de 20 mg Cd kg -1.

La concentration en ETM dans la solution du sol est régulée par des phénomènes d'adsorption, solubilité contrôlés par les conditions environnementales. L'un des principaux facteurs influençant la spéciation des ETM est l'acidité (pH) du sol (Gimbert, 2006), une augmentation du pH modifie la partition phase solide-phase liquide des cations vers la phase solide entraînant généralement une diminution de leur mobilité et de leur disponibilité (Alloway, 1995). Un autre facteur de contrôle est la quantité de cations susceptible d'entrer en compétition disponible de sites de sorption, associée à la matière organique et à la capacité d'échange cationique (CEC) d'un sol (Lock et Janssen, 2001 ; Lock *et al.*, 2000) mais aussi la quantité de cations susceptible d'entrer en compétition pour les sites de complexation sur la phase solide du sol (Weltje, 1998). La partition des ETM entre les différentes phases de sorption est supposée à l'équilibre.

La biodisponibilité joue un rôle fondamental dans la toxicité des polluants, elle varie avec les propriétés physicochimiques des sols et influence sur la solubilisation, précipitation, absorption, désorption, oxydoréduction, hydrolyse, complexation des substances polluantes (Portail, 2005).

Nos résultats révèlent que le pH eau des sols des cinq sites est $> 7,5$ donc, ces sols ont un pH eau alcalin. Plusieurs travaux de recherche affirment que la biodisponibilité des polluants dans le sol dépend du pH, la plupart des ETM sont plus mobiles en conditions acides qu'en conditions alcalins car la liaison des ETM à la phase solide du sol (par différents mécanismes : adsorption, précipitation...) augmente avec le pH (Alloway, 1995).

L'augmentation artificielle du pH des sols (par chaulage) est une technique utilisée pour diminuer la mobilité des ETM. Ainsi, une expérience récente a montré que le chaulage *in situ* (faisant passer le pH de 4,5 à 5,1, 6,3 et 7,0) réduisant significativement la solubilité du Cd et du Zn (Knight *et al.*, 1998). Dans une autre étude concernant 30 sols forestiers et agricoles de Hollande, Römken et Salomon (1998) observent des concentrations en Cd et en Zn solubles plus importantes dans les sols forestiers que les sols agricoles et attribuent cette différence aux pH plus faibles des sols forestiers. De nombreuses expériences ont confirmé l'effet du pH du sol sur la solubilité du Cd et du Zn et son influence faible ou nulle sur le Cu (Bengtsson *et al.*, 1986 ; Crommentuijn *et al.*, 1997 ; Oste *et al.*, 2001a).

Par son action sur la solubilité et la forme des ETM, le pH est l'un des paramètres fondamentaux qui contrôlent la biodisponibilité des ETM pour les plantes (Morel, 1997), qui absorbent les ETM dans la solution du sol.

De nombreuses études ont montré une augmentation de la biodisponibilité des ETM à pH faible mais des contre-exemples existent, au moins pour le Cd (He et Singh, 1994). Chez les invertébrés du sol, les facteurs de bioaccumulation de Cd, de Pb et de Zn chez les annélides augmentent d'un facteur cinq lorsque le pH des sols auxquels ils sont exposés est réduit de 6,5 à 4,5 (Ma, 1982 ; Ma *et al.*, 1983). L'effet du pH est moins marqué pour les collemboles. En effet, Crommentuijn *et al.* (1997) n'observent pas de tendance claire à la diminution de la bioaccumulation du Cd avec l'augmentation du pH chez *F. candida* exposés à des matrices ISO dont le pH est modifié. De même, les EC50 du Cd, du Cu, du Pb et du Zn n'augmentent pas avec l'augmentation du pH chez *F. candida* (Sandifer et Hopkin, 1996).

La teneur en matière organique (MO) du sol peut être estimée à partir de l'évaluation du carbone organique, dans notre travail la teneur en matière organique est > 5%, se sont des sols très riches en matière organique, avec une quantité très importante au niveau des sites El Kala (7,69%) suivi par les sites : Guelma, Néchmaya, mais elle est faible à El Bouni comparativement aux autres sites MO < 5%. Ceci est caractérisé par un faible apport ou par une forte activité biologique, c'est dans ces sols que le processus de minéralisation qui domine. Une grande variabilité existe entre sols dans la quantité et la nature de la MO. En général, les sites chargés négativement portés par les groupements phénol ou carboxyle de la MO permettent une complexation des ETM. La diminution des teneurs en MO dans les sols conduit à une augmentation des concentrations en ETM solubles pour le Cd (Crommentuijn *et al.*, 1997). De même, la matière argileuse grâce à leur charge négative de surface influe sur les caractéristiques chimiques des sols, et notamment sur la capacité d'échange. Une étude récente indique que la production des cocons de vers de terre augmente avec l'augmentation

de la matière organique du sol (Basta, 2008), et les propriétés chimiques du sol affectent la bioaccumulation du Pb, Zn, Cd et As chez le vers de terre soumis à des sols contaminés à 2000 mg/kg (Basta, 2008). Chez les oligochètes, des expériences de manipulation des teneurs et/ou de la nature de la matière organique et la matière argileuse montrent que la toxicité du Cd et du Zn (exprimée en DL50) pour *Enchytraeus albidus* varie beaucoup en fonction de ces paramètres (Lock et Janssen, 2001a ; Lock *et al.*, 2000). L'augmentation des teneurs en matière organique et matière argileuse diminue généralement la toxicité de ces deux ETM. La biodisponibilité du Cu est très dépendante des teneurs et de la nature en Mo, l'augmentation des teneurs en MO d'un facteur deux réduit la toxicité du Cu (exprimé en LC50) pour l'oligochète *Octolasion cyaneum* (Jäggy et Streit, 1982).

Autre paramètre décrivant le sol : c'est la porosité, elle comprend deux paramètres : la densité apparente et la densité réelle ; la densité apparente indique l'état ou la condition de sol, elle diminue avec la teneur du sol humus (Duthil, 1971) ; la densité réelle exprime la densité des éléments constituant la phase solide du sol. Nos résultats indiquent que les sols se caractérisent par une porosité assez faible (10-20%), au niveau du Guelma, le sol a une porosité faible.

L'humidité hygroscopique (texture) représente la quantité d'eau que peut retenir un sol soumis aux conditions d'assèchement naturelles, c'est la quantité d'eau retenue à la surface externe des particules du sol et en équilibre avec la pression et l'humidité atmosphérique, le pourcentage de l'humidité décrit la texture du sol, dans notre travail, le pourcentage de l'humidité du sol comprend entre 45-75% dans les sites (El Kala, Guelma, Néchmaya et El Bouni) donc ces sols ont une texture argilo-limoneuse selon la classification de Gauchers (1968) qui retiennent plus d'eau que les sols sableux à structure particulaire (Ben Slema, 2006) à l'exception du site Sidi Ammar qui présente un pourcentage d'humidité proche de 45% (41,66%) donc de texture limono-argileuse. L'effet de la variation d'humidité des sols sur la biodisponibilité des ETM a également été étudié. Les résultats sont contradictoires. Aucun effet de la variation de l'humidité sur l'accumulation du Cu n'a été mis en évidence chez le vers de terre *Lumbricus rubellus* (Marinussen et Van der Zee, 1997). La variation de l'humidité de la matrice ISO n'affecte pas les concentrations Cd soluble et ne modifie ni la toxicité du Cd ni sa bioaccumulation chez *F. candida* (Van Gestel et Van Diepen, 1996). Les variations des autres facteurs : la température qui joue un rôle indirect en activant la vie biologique du sol et la production de substances acides, susceptibles de mobiliser les micro-éléments dont les métaux. Les variations de la température influencent

fortement la bioaccumulation du Cu chez *L. rubellus* exposé à des sols contaminés en parcs extérieurs (Marinussen et Van der Zee, 1997). L'aération du sol permet l'immobilisation des métaux car elle favorise la formation d'oxyde de fer et de manganèse insolubles, sur lesquels se fixe une fraction notable d'éléments-traces métalliques. La biodisponibilité dépend aussi très fortement des espèces végétales et même de la variété. (Wikipédia, 2010). Le potentiel d'oxydoréduction, qui affecte majoritairement les éléments majeurs mais également certains ETM ; les réactions d'oxydoréduction peuvent avoir une action importante sur certains éléments dont la toxicité varie beaucoup avec la forme chimique (Scheifler, 2002).

La conductivité électrique, ou salinité est une mesure de physicochimie qui nous donne une idée sur la concentration des électrolytes dans la solution du sol d'une part et du degré de salinisation des sols d'autre part.

Les résultats obtenus montrent que les sols ont une faible conductivité électrique à moyenne (0-0,6 ms/cm) ce sont des sols non salés (USSL, 1981) ce qui favorise la survie des Gastéropodes et des végétations sur ses sols.

Les analyses de calcaire, renseignent que les sols contenant du calcaire, un calcaire actif (31-39,74%) ces valeurs sont >30% donc ce calcaire actif de type très calcaire et un calcaire total (24,90-24,94) de type calcaire (15-30%) dans les cinq sites, ceux-ci reviennent à la nature du substrat et la composition des roches. La présence du calcaire dans le sol joue un rôle important dans les équilibres ioniques.

D'après les analyses des sols selon la norme AFNOR, les sols étudiés contenant différents métaux et oxydes, le métal le plus abondant est le fer total dans les cinq sites, ceux-ci reviennent aux conditions géopédologique des roches mères, de plus les activités agricoles et industrielles qui utilisent le fer comme matière première et les rejets successifs, ainsi le lessivage des sols par les eaux qui transportent les métaux d'un site à l'autre, on prend l'exemple de Oued Sébouse qui transportent les déchets des industries vers toutes les zones d'irrigation.

L'évaluation de l'accumulation des ETM chez *Helix aspersa* reposait sur la mesure des concentrations internes après une durée d'exposition généralement 28 jours (coeurdassier *et al.*, 2000 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002 ; Scheifler *et al.*, 2002b). Gimbert *et al.* (2006) montrent qu'il est indispensable d'étudier la cinétique d'accumulation du Cd dans la chaîne alimentaire sol-plante-escargot afin de permettre une évaluation précise et sensible de transfert du Cd à l'escargot. La biodisponibilité des ETM doit également être évaluée pour différentes espèces (Van Straalen *et al.*, 2005). Dans la lignée des travaux de Cainbow (2002) et Van Straalen *et al.* (2005), on a souligné les aspects biologiques et dynamiques de la

biodisponibilité des ETM pour l'escargot *H. aspersa*, il est nécessaire d'étudier la cinétique de transfert et l'amélioration de l'évaluation de la bioaccumulation et des effets des ETM et de faire progresser les procédures d'évaluation de leur biodisponibilité par l'étude des transferts du Cd, Pb, et du Zn du sol vers l'escargot *Helix aspersa* (Gimbert *et al.*, 2007), et expliquer la relation sol-plante-escargot.

Les plantes répondent à la contamination du sol en présentant des concentrations en Cd dans les parties aériennes dépendantes de la concentration en Cd dans le sol. Les escargots présentent des flux d'absorption corrélés à la fois aux concentrations en Cd dans les parties aériennes du sol et aux concentrations des métaux (Cu, Zn, Cd, et Pb) chez *Ceapaea nemoralis* montrent une relation positive avec les concentrations des métaux dans les feuilles des plantes (*Urtica dioica*) (Martje Notten, 2005). Les vers de terre influencent les transferts de métaux du sol aux escargots (Coeurdassier *et al.*, 2006). Donc, L'accumulation des polluants dépend également de leur biodisponibilité dans le sol, plus forte la biodisponibilité, plus fort le transfert vers les plantes et les escargots. Une inhibition de la croissance de 5 à 10% après et une diminution du nombre de ponte sont observés chez *Helix aspersa* après 70 et 80 jours d'exposition à un sol contaminé à 20 et 100 mg.Cd kg⁻¹ (Gimbert *et al.*, 2007). Ainsi, chez le vers de terre *Eisenia fetida* exposés à des mélanges des métaux (Cd, Cu, Zn, Pb) dans les ELD ® et de l'OCDE arti ® sol, La charge corporelle chez les vers exposés à tous les sols contaminés augmente au cours des durées de l'expérience, plus haut le taux d'accumulation pour les vers ont été exposés à des sols les plus pollués (Spurgeon et Hopkinb, 1998).

Conclusion et Perspectives

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a pour objectif l'évaluation de la pollution des sols dans l'Est algérien au niveau des sites (le parc national d'El Kala (PNEK), Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni).

Dans ce contexte, pour refléter la qualité des sols, on a réalisé un inventaire des Gastéropodes Pulmonés terrestres et des espèces végétales dans chaque site, suivi par les indices écologiques, d'une part ; d'une autre part, on a dosé les biomarqueurs de stress environnemental (AChE et GSH) au niveau de la tête et l'hépatopancréas de l'espèce bioindicateur *Helix aspersa* Müller ; et identifier les propriétés physicochimiques des sols, quantifier leurs taux des métaux contenant.

Les résultats obtenus de l'inventaire, affirme la biodiversité des Gastéropodes au niveau de l'Est-algérien, présentée par 6 familles : la famille d'Helicidae (*Helix aspersa*, *Helix aperta*, *Otala lactae* et *Dupotetia Albastra zonata*), l'Hygromiidae (*Helicella virgata* Trochoidae *elegans*), Cochlicellidae (*Cochlicella barbara*), Subulinidae (*Rumina decollata*), Enidae (*Zebrina detrita*) et Milacidae (*Milax gagates* et *Milax nigricans*). Les indices écologiques montrent que la richesse totale estimée est de 10 espèces malacologiques au niveau des sites : Guelma, Néchmaya et le PNEK, 9 espèces trouvés dans les autres sites. La richesse moyenne révèle un nombre important d'individus au niveau du PNEK (508) et faible à Néchmaya (391,87). La fréquence centésimale de l'espèce *Helix aspersa* est importante avec un taux de 22% (PNEK), 21% (El Bouni), 20,87% (Sidi Ammar), 20,73% (Néchmaya) et 17,13% (Guelma). La constance indique que les deux espèces : *Helix aspersa* et *Helix aperta* sont omniprésentes (C=100%) dans les cinq sites. L'indice de diversité de Shannon-Weaver est très important au niveau du PNEK (3,05), mais plus faible (2,70) à Sidi Ammar. L'équitabilité dans les cinq sites tend vers le zéro, ce ci signifie que les populations des Gastéropodes ne sont pas en équilibre entre eux.

Le dosage des biomarqueurs (AChE et GSH) au cours des deux saisons (hiver et printemps), révèle qu'il existe une différence significative de l'activité enzymatique de ces biomarqueurs entre les cinq sites et entre les deux saisons, et le taux d'activité le plus élevé a été enregistré au niveau du PNEK et le plus faible au niveau d'El Bouni ; ainsi l'activité de ces biomarqueurs diminue significativement en printemps. Cette variation de l'activité enzymatique se traduit par l'induction du système de détoxification par différents xénobiotique essentiellement les métaux (ETM), sous l'effet de plusieurs facteurs tel que les propriétés

physicochimiques des sols, qui affecte la biodisponibilité des métaux dans le sol, les conditions climatiques et environnementales liées des saisons, qui agissent sur les activités physiologiques de l'escargot (hibernation, estivation), en influençant l'accumulation et le transfert des xénobiotique vers la chaîne alimentaire.

Les résultats d'analyse des sols montrent que les sols des cinq sites sont alcalins, riches en matière organique et calcaire ne sont pas salés, de texture argilo-limoneuse et limono-argileuse (à Sidi Ammar); ces sols ont une porosité assez faible sauf à Guelma qui a une porosité faible. De plus, les sols contenant différents métaux et oxydes avec des taux variables, le fer total est le métal le plus abondant avec un taux important de 10,13% au niveau d'El Bouni et faible au niveau du PNEK (3,24%), ces variations des taux reviennent au nature de la roche-mère, les propriétés physicochimiques des sols et les activités humaines.

En perspective, nous avons pu confirmer le rôle exceptionnel du bioindicateur écologique *Helix aspersa*, aussi, on pourra considérer l'espèce *Helix aperta* comme une espèce bioindicatrice, pour cela il est nécessaire de faire des élevages.

Il serait intéressant de doser d'autres biomarqueurs de détoxication tels que les métalloenzymes et doser les différents métaux (fer, cadmium,..) dans le sol, afin d'obtenir des informations complémentaires sur les variations des biomarqueurs, l'action des métaux, et de rechercher l'impact des métaux au niveau de l'individu (escargot) et au niveau de la population durant les différents cycles de la vie vis-à-vis différentes doses.

De plus, il est important d'étudier les interactions : sol/escargot/plante, en vue de développer des stratégies précoces pour évaluer la qualité des sols en réalisant les objectifs :

-établir des références ou des critères de la qualité d'un sol, sur des bases chimiques et/ou toxicologiques (définir les seuils des métaux dans le sol).

-développer des méthodes pour classer les sites pollués en but de leur décontamination.

- développer des méthodes d'évaluation des risques, pour caractériser l'impact écotoxicologique (mesurer un risque).

Résumés

6. RESUME

Dans cette étude expérimentale nous intéressons de l'évaluation et de l'impact de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien, en utilisant un bioindicateur du milieu terrestre : *Helix aspersa*, (Mollusca, Gastéropoda), escargot très abondant dans les cinq sites d'étude (PNEK, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni).

Les résultats obtenus de l'inventaire montrent la biodiversité des Gastéropodes Pulmonés Terrestres ; la présence de 6 familles des gastéropodes : Helicidae (*Helix aspersa*, *Helix aperta*, *Otala lactae* et *Dupotetia Albastra zonata*), l'Hygromiidae (*Helicella virgata Trochoidae elegans*), Cochlicellidae (*Cochlicella barbara*), Subulinidae (*Rumina decollata*), Enidae (*Zebrina detrita*) et Milacidae (*Milax gagates* et *Milax nigricans*), avec une prédominance de l'espèce *Helix aspersa* avec un taux de 21% à (PNEK, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouin) et de 16% à Guelma. Les indices écologiques: l'indice de diversité de Shanon-Weaver est important de 3,05 à El Kala et faible de 2,70 à Sidi Ammar. L'équitabilité tend vers le zéro, donc les populations des gastéropodes ne sont pas en équilibre entre eux.

Le dosage des biomarqueurs (AChE et GSH) chez *H. aspersa* au cours des saisons: hiver et printemps, révèle une différence significative de l'activité enzymatique des biomarqueurs entre les cinq sites d'étude ; aussi, une diminution significative du taux de ces biomarqueurs a été marquée en printemps, la saison où l'escargot reprend ses activités physiologiques, après l'hibernation de l'hiver, il sera en exposition aux contaminants essentiellement les ETM existants dans le sol .

L'analyse physico-chimique des sols indique que les sols des cinq sites sont de pHeau alcalins (pH > 7,5), de texture en général, argilo-limoneuse avec un pourcentage important d'humidité (37,5 à 75%), sauf à Sidi Ammar (texture limono-argileuse), des sols non salés, riches en matière organique (> 5%), et en calcaire: un calcaire totale de type calcaire (15 à 30%), et un calcaire actif de type : très calcaire (> 30%). Se sont des sols d'une porosité assez faible (10 à 20%) et faible à Guelma. Le métal le plus abondant est le fer total (avec un taux important de 10,13% au niveau d'El Bouni et faible au niveau du PNEK (3,24%).

De plus, ces résultats affirment que le PNEK est le site le moins pollué, suivi par les sites en ordre croissant : Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar. Le site d'El Bouni est le plus pollué.

-clés : Pollution, ETM, Bioindicateur, *Helix aspersa*, Mollusca, Gastéropoda, Biodiversité, Physico-chimie des sols, Biomarqueurs, AChE, GSH, Indices écologiques, Est algérien.

Abstract

In this experimental study we are interested in the impact assessment and pollution of soil biota of some Eastern Algeria, using a biomarker of terrestrial environments: *Helix aspersa* (Mollusca, Gastropoda), snail very abundant in the five study sites (PNEK, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar and El Bouni).

The results show the inventory of biodiversity pulmonary Gastropods Land and the presence of six families of gastropods: Helicidae (*Helix aspersa*, *Helix aperta*, and *Otala lactae*, *Dupotetia Albastra zonata*), the Hygromiidae (*Helicella virgata* and *Trochoidae elegans*), Cochlicellidae (*Cochlicella barbara*) Subulinidae (*Rumina decollata*). Enidae (*Zebrina detritus*) and Milacidae (*Milax gagates* and *Milax nigricans*), with a predominance of the species *Helix aspersa* with a rate of 21% (PNEK, Néchmaya Sidi Ammar and El Bouni) and 16% in Guelma. The ecological indices: the index of Shannon-Weaver diversity is important in El Kala 3.05 and low 2.70 in Sidi Ammar. The evenness tends to zero, so the populations of snails are not in equilibrium with each other.

The determination of biomarkers (AChE and GSH) in *H. aspersa* during the seasons: winter and spring, shows a significant difference in enzyme activity biomarkers among the five study sites, so a significant decrease in levels of these biomarkers has been marked in the spring, the season when the snail physiological activities resumed after the winter hibernation, it will be exposure to contaminants mainly ETM existing in soil.

The physico-chemical soil indicates that the soils of five sites are pHeau alkaline (pH > 7.5), texture in general, clay-loam with a high percentage of moisture (37.5 to 75%) except in Sidi Ammar (clay-loam texture) soil unsalted, organic rich (> 5%), and limestone: a limestone full of calcareous (15-30%), and an active lime type : very hard (> 30%). Soils have a relatively low porosity (10-20%) and low in Guelma. The most abundant metal is the total iron (with a high rate of 10.13% at El Bouni and low level PNEK (3.24%).

Moreover, these results suggest that the PNEK is the least polluted site, followed by sites in ascending order: Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar. The site of El Bouni is the most polluted.

Keywords: Pollution: ETM, Bioindicator, *Helix aspersa*, Mollusca, Gastropoda, Biodiversity, soil physical chemistry, Biomarkers, AChE, GSH, Ecological index, Eastern Algeria.

الملخص

في هذه الدراسة التجريبية اهتمنا بدراسة تأثير تلوث التربة في بعض الأوساط الحيوية على مستوى الشرق الجزائري باستعمال كائن هليكس اسبرسا (رخويات) حلزون متوفر بكثرة على مستوى مناطق الدراسة (المحمية الطبيعية للقالمة، قالمة، نشماية، سيدي عمار و البوني).

النتائج المحصل عليها تظهر مدى التنوع البيولوجي للرخويات كذلك تفوق نوع هليكس اسبرا. كمية هذا النوع تصل إلى حد أقصى في ا لقاله,نشماية,سيدي عمار و البوني بنسبة 21% و 16% بقالمة إلى جانب أنواع أخرى للرخويات (*Helix aperta, Helicella virgata, Dupotetia Alabastra zonata, Otala lactea, Cochlicella barbara, Rumina decollata, Zebrina detrita, Trochoidea elegans, Milax gagates, Milax nigricans.*) العوامل البيئية, عامل التنوع Shanon-Weaver يصل الى حد مهم 3.05 في منطقة القالة و ضعيف 2.70 بسيدي عمار. اما عامل التوزع فهو قريب من الصفر في جميع المناطق مما يدل على عدم وجود توازن بين الرخويات.

يكشف تقدير جرعات من كائنين مثبتين (GSH , AChE) بأن مستوى المثبتين ينخفض في فصل الربيع مقارنة مع فصل الشتاء. كما أن نسبتهم تختلف من منطقة إلى أخرى.

التحليل الفيزيوكيميائي للأتربة بأنها ذات تركيب صلصال قاعدتها خفيفة ليست مالحة. هذه الأتربة ذات رطوبة معتبرة و لديها مسامات ضعيفة ما بين (10-20%) على مستوى المناطق الخمسة, كما أنها غنية بالمواد العضوية و الترسيبات, بالإضافة إلى احتوائها على المعادن خاصة الحديد بكمية كبيرة في البوني و اقل في القالة.

من خلال هذه الدراسة نستخلص بان الحلزون هليكس اسبرسا كائن حارس جيد و أن منطقة البوني هي إلاكثر تلوثا متبوعة بمنطقة سيدي عمار ثم النشماية و قالمة, أما القالة فهي الأقل تلوثا.

الكلمات المفتاحية: تلوث, هليكس اسبرسا , كائن حارس , منشط حيوي, GSH , AChE, تنوع بيولوجي, الشرق الجزائري تحليل فيزيوكيميائي للتربة, معادن, رخويات, العوامل البيئية.

Références Bibliographiques

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbes, A., 2004.** Variation spatio-temporelle de l'activité de trois biomarqueurs du stress environnemental (AchE, GST et LDH) chez *Ruditapes decussatus* et *Cardium glaucum* (Mollusca, Bivalvia) provenant de la lagune El Mellah. *Mémoire de Magister en Biologie Animale. Université d'Annaba.* pp 26-107.
- Achuba, F.I., Peretiemo-Clarke, B.O., and Ebokaiwe, P., 2005:** Pollution induced oxidative stress in African catfish (*Claris heterobanchus*). *European Journal of Scientific Research.* **8(2):** 62-73.
- Adjlani, 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 Ingén. Ecolog, Sciences de la Nature, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen,* 117 pages.
- Aissaoui, R., 1998.** Contribution à l'étude de la toxicité d'un insecticide organochloré, le lindine: Impact sur quelques organes d'un poisson Téléostéen d'eau douce, *Gombusia affinis.* *Mémoire de Magister. Université d'Annaba.* 45p.
- Aït-Aïssa, S., 2003.** Réponses multi-biomarqueurs chez des poissons exposés à des métaux, seuls ou en mélange. Journée de la SFRP section Environnement, Paris. p 49.
- Alloway, B.J., 1990.** Cadmium, in: Alloway, B.J. (Ed.), Heavy metals in soils. Halsted press/Blackie, Glasgow, pp. 100-124.
- Alloway, B.J., Ed., 1995.** Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK. pp 368.
- Amiard-Triquet, C., Altmann, S., Amiard, J.C., Ballan-Dufvancais, C., Baumard, P., Budzinski, H., Crouzet, C., Guarrigue, J.P., His, E., JEAUTET, A.Y., Menasira, R., Mouneyrac, C., Naarboume, J.F., & Pavillon, J.F. 1998.** Fate and effects of micropolluants in the Gironde estuary, France : a multixiplinary approach. *Hdrobiologia.* **373/374,** 259-279.
- Arrigo, A.P., 1999.** Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad. Biol. Med.* **24,** 936-944.
- Atailia, 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 pages.
- Auguste, A., et Auguste, P., 1838.** Dictionnaire classique des sciences naturelles. Tome 4ème, Bruxelles. pp. 31-74.
- Aupinel, P., Bonnet, J.C., 1996.** Influence de la photopériode sur l'activité saisonnière de l'escargot Petit-gris (*Helix aspersa* Müller). Effet spécifique sur la croissance et la reproduction. *INRA.Prod. Anim,* **9(1),** 79-83.

- Avci, A., Kacmaz, M., & Durak, I., 2005.** Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated of xenobiotics. *Ann. Biol-elin.* **38**, 49-56.
- Bachelier, G., 1978.** 'La Faune des Sols, son Ecologie et son Action', Initiations - Documentations techniques, N°38. O.R.S.T.O.M., Paris, 391 pages.
- Badilla, S., 1995.** Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology*, **102**, 105.
- Bailey, S.E.R., 1981.** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Journal of Comparative Physiology.* **142**, 89-94.
- Bainy, A.C.D., 2000.** Biochemical responses in peneids caused by contaminants. *Aquaculture.* **191**, 163-168.
- Baize, D., 1997.** Teneurs totales en éléments trace métalliques dans les sols (France). INRA, Paris, 408 pages.
- Baker, D.E., 1990.** Copper, in: Alloway, B.J. (Ed.), Heavy metals in soils. *Halsted press/Blackie, Glasgow*, pp. 150-176.
- Bargagli, R., 1998.** Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery. Springer-Verlag, Berlin. pp. 24-55.
- Barker, G.M., 2001.** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB Intrnational, Oxon, Wallingford, UK, 567 pages.
- Basta, N., 2008.** Ecological Effects of Land Application of Biosolids. *School of Environment and Natural Resources.Ohio State University.* pp.1-34.
- Beeby, A., 1985.** The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfert of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology.* **22**, p. 267-275.
- Beeby, A., 2001.** What do sentinels stand for? *Environmental Pollution.* **112**, 285-298.
- Beeby, A., Eaves, S.L., 1983.** Short-term changes in Ca, Pb,Zn and Cd concentrations of the garden snail *Helix aspersa* Müller from a central London car park. *Environmental pollution.* **30**, 233-244.
- Beeby, A., Richmond, L., 2003;** Do the soft tissues of *Helix aspersa* serve as a quantitative sentinel of predicted free lead concentrations in soil, *Appl. Soil. Ecol.* **22**, 159–165.
- Ben Amara, O., 2007.** Contribution à la caractérisation physico-chimique et microbiologique de la litière du chênes liège de la région d'El Kala. *Mémoire d'ingénieur d'état en Ecologie et Environnement. Université d'Annaba.* pp. 2-34.
- Bengtsson, G., Gunnarsson, T., et Rundgren, S., 1986.** Effects of metal pollution on the earthworm *Dendrobaena ubida* (Sav.) in acidified soils. *W.A.S.P.* **28**, 361-383.

- Benslama., 2006.** Cours d'écologie, 3^oannée écologie et environnement. pp.1-22.
- Benyakoub, S., et Chabi, Y., 2000.** Diagnose écologique de l'avifaune du Parc National d'El Kala. *Synthèse revue des science et technologie, Université d'Annaba.* p 57.
- Berger, B., et Dallinger, R., 1993.** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environmental Monitoring Assessment.* **25**, 65-84.
- Bertrand, S., et Renauld, J.M., 2004.** Je construis mes apprentissages en sciences en premier degré.pp. 1-43.
- Bigot, L., 1957.** 'Un Microclimat important de camargue : les coquilles vides de Mollusques', *Revue Terre et Vie, N°2-3*, pp. 211 - 230.
- Bigot, L., 1965.** Essai d'Ecologie quantitative sur les invertébrés de la Sansouire camarguaise. imprimerie M. DECLUME, Lons-Le-Saunier, 100 pages.
- 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 pages.
- Bocquené, G., Galgani F., Walker, H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramade F., (eds), *Biomarqueurs en écotoxicologie –Aspects fondamentaux.* Masson, Paris, pp. 209-240.
- Bonin, S., 2006.** Les souhaits des personnes en fin de vie : un inventaire systématique et structure.pp. 1-48.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain. *INRA.* pp.1-5
- Boucenna, M., 2010.** Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique d'El Hadjar sur un modèle bioaccumulateur *Helix aspersa.* *Thèse de Magister en Biologie Animale. Ecotox. Université d'Annaba.* pp.1-44.
- Bouchellou, B., 1998.** Contribution à l'étude bio-écologique de la faune de *Chamaerops humilis* (Doum) (Monocotylédones, Palmacées) dans la région de Tlemcen. *Thèse Ingé. Ecolo. Institut Sciences de la Nature, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen*, 93 pp.
- Boudechiche, L., 2007.** Biodiversité des hélicidés du Parc National d'El-Kala (extreme Nord-EST Algérien). *Bulletin de l'INSTM N°Spécial 12 : Actes des Neuvièmes Journées Tunisiennes des Sciences de la Mer (Tabarka, déc.2007).*
- Bouffard, V., 2000.** Milieux humides artificiels pour l'amélioration de l'efficacité de traitement des eaux usées domestiques d'une petite municipalité. p.150.
- Bouguessa, 1993.** Contribution à l'étude de l'entomofaune de la forêt de Boumeziane, Ain Zana (Souk-Ahras). *Thèse ing . agro. FSTSA. El-Taref.* p115.

- 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.
- Campion, M., 1961.** The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. *Quarterly Journal of Microscopical Science.* **102**, 195-216.
- Chapman, P.M., Wang, F., Janssen, C.R., Goulet, R.R., Kamunde, C.N., 2003.** Conducting ecological risk assessments of inorganic metals and metalloids : current status. *Human and Ecological Risk assessment .* **9**, 641-697.
- Charrier, M., 1981.** Contribution à la biologie et à l'écophysiologie de l'escargot *Helix aspersa* Müller. *Doctorat de 3^e cycle de l'Université de Rennes I*, 330 pages.
- Chevallier, H., 1977.** La variabilité de l'escargot Petit-gris *Helix aspersa* Müller, *Bull. Mus. Nat. Hist. Nat., 3^o sér.* **448**, *Zoologie 3 11*: pp. 425-442.
- Chevallier, H., 1980.** Les escargots du genre *Helix* commercialisés en France, *Haliotis.* **10** (1):11-23.
- Chevallier, H., 1982.** Facteurs de croissance chez les Gastéropodes Pulmonés Terrestres paléarctique en élevage, *Haliotis.* **12**, 29-46.
- Chevallier, H., 1992.** L'élevage des escargots. Production et préparation du Petit-gris. Edit. Du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 144 pages.
- Coeurdassier, M., 2001.** Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa* et aquatiques (*Lymnaea stagnalis* et *Lymnaea palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques organiques. *Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon, France*, 297p.
- Coeurdassier, M., de Vaufléury, A., Badot, P.M., 2000.** Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in the land snail *Helix aspersa*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **19**, 2571-2578.
- Coeurdassier, M., Gomot-de Vaufléury, A., Lovy, C., Badot, P.M., 2002.** Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **53**, 425-431.
- Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufléury, A., Ribera, D., Badot, P.M., 2001.** The garden snail (*Helix aspersa*.) as bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **20**, 1951-1957.

- Coeurdassier, M., Scheifler, R., de Vaufleury, A., Crini, N., Saccomani, C., Salomon Du Mont, L., Badot, P.M. 2006.** Earthworms influence metal transfer from soil to snails. *University of Franche-Comté. France. Applied Soil Ecology.* **35**, 302–310.
- Cortet, J., Gomot-de Vaufleury, A., Poinot-Balaguer, 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., Babut, M., Exinger, A., & Vasseur, P., 2000.** Antioxidative biomarkers in freshwater bivalve *Unio tumidus* in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **45**, 106-121.
- Crommentuijn, T., Doornekamp, A., et Van Gestel, C.A.M., 1997.** Bioavailability and ecological effects of cadmium on *Folsomia candida* (Willem) in an artificial soil substrate as influenced by pH and organic matter. *App. Soil. Ecol.* **5**, 261-271.
- Daget, J., 1976.** Les modèles mathématiques en écologie **8** ; Masson (Paris, New York). pp.165-170.
- Daguzan, J., 1981.** 'Elevage de l'escargot ou héliciculture', Entretiens de Bourgelat, Lyon, T.1, pp. 235 - 241.
- Dajoz, R., 1985.** Les indicateurs du statut acido-basique des sols. « *Station agronomique de l'Asine* ».pp. 25-96.
- Dallinger, R., 2003.,** Strategie of metal detoxification in terrestrial invertebrates. In: *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates* (eds R. Dallinger et R.Rainbow), Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, p. 245-289.
- Dallinger, R., Berger, B., Gruber, C., Hunziker, P., Sturzenbaum, S., 2000.** Metallothioneins in terrestrial invertebrates: structural aspects, biological significance and implications for their use as biomarkers. *Cellular and Molecular Biology.* **46**, 331-346.
- Dallinger, R., Berger, B., Hunziker, P., et Kägi, J.H.R., 1997.** Metallothionein in snail Cd and Cu metabolism. *Nature.* **388**, 237-238.
- Dallinger, R., Berger, B., Triebkorn, R., Köhler, H., 2001.** Soil Biology and ecotoxicology. In: Barker, G.M. (ed.). *The biology of terrestrial mollusks.* CAB International, Oxon, Wallingford, UK, p. 489-525.
- Dallinger, R. et Wieser, W., 19884b.** Molecular Fractionation of Zn, Cu, Cd, and Pb in the midgut gland of *Helix pomatia* L. *Comparative Biochemistry and Physiology.* **79C**, 125-129.
- Damerджи, A., 2001.** Impact des facteurs abiotiques et biotiques sur la taille des coquilles de *Sphincterochila candidissima* (Mollusca Sphincterochilidae) dans la région de Tlemcen (Algérie). *Revue I.N.R.A.A.* **9**, 101-109.

- Damerdji, A., 2008.** Contribution à l'étude écologique de la malacofaune de la zone Sud de la région de Tlemcen (Algérie). *Université Aboubekr BELKAID-Tlemcen, e. Afrique SCIENCE* **04(1)**, 138 – 153.
- Damerdji, A., et Benyoucef, B., 2006.** Impact des différents facteurs physiques et du rayonnement solaire sur la diversité malacologique dans la région de Tlemcen (Algérie). Université Aboubekr BELKAID-Tlemcen, Algérie. *Revue des Energies Renouvelables* Vol. 9 N°4 (2006) 267–276.
- Damerdji, A., et Djedid, A., 2003.** La faune du Genêt (*Calycotome spinosa Lamk.*) dans la région de Tlemcen : Inventaire-Distribution spatio-temporelle des principaux groupes. *Poster. Ières Journées sur la Protection de l'Environnement. Université Aboubekr Belkaid-Tlemcen* 28 et 29 Mai 2003.
- Damerdji, A., Ladjmi, L., Doumandji, S., 2005.** Malacofaune associée à *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae): Inventaire et aperçu bioécologique près de Mansourah (Tlemcen, Algérie). *Revue sciences et technologie, Constantine, Algérie. C- N° 23*, juin (2005) 11-20.
- Davet, P., 1996.** Vie microbienne et production végétale, *Ed/ INRA. France.* pp. 34-97.
- De Belair, G., 1990.** Structure, fonctionnement et perspective de gestion de l'éco-complexe lacustres et marécageux (El Kala Est algérien). *Thèse Univ. Montpellier II.* 193 pages.
- Delaunois, A., 1976.** Travaux pratiques de pédologie générale. pp. 2-86.
- Della, M.R., Villani, G.R., Dimartino, E., Squillacioti, D., Belisario, M.A., & station, N., 1994.** Glutathione depletion induced in rat liver fraction by seven pesticides. *Bull. Soc. Ital. Boil. Sper.* **70(8-9)**: 185.
- 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., 1988.** Risks of municipal solid waste incineration: an environmental perspective. *Risk analysis.* **8**, 343-355.
- Djeddi, A. 2004.** Contribution à l'étude de l'entomofaune d'une suseraie humide dans la région d'El Kala (PNEK).pp. 2-87.
- Dolezych, B., Zawisza-Raszka, A., Dolezych, S., Migula, P., Ligaszewski, M., 2010.** Effects of nickel exposure and acute pesticide intoxication on acetylcholinesterase, catalase and glutathione S-transferase activity and glucose absorption in the digestive tract of *Helix aspersa* (Pulmonata, Helicidae). *International Journal of Environment and Pollution*, Vol. 40, No. 4 (2010) pp. 380 – 390.

- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M., & Vasseur, P., 1997.** Antioxidant enzymes, glutathione or feild exposure in the gills and digestive gland of the freshwater bivalve, *Unio timidus*. *Aquati. Toxicol.* **39**, 93-110.
- Drardja-Beldi, H., & Soltani, N., 2003.** Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non-target species. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, **68(4a)**, 299-304.
- Dubey, B.L., et Dwividi, P., 1988.** Projective value of somatic Inkb lot – séries II in casestammering. *Journal of personality and clinical studies.* **8**, 173-176.
- Duchaufour, 1970.** Précis de pédologie. *Ed Masson et Cie. Paris.* pp. 33-212.
- Duthil, J., 1971.** Elément d'écologie et d'agronomie. Ed.J.B. Baillièrre et fils. Paris. Dunod. pp. 2-159.
- Dutta, H., M., & Arends, D., A., 2002.** Brain acetylcholinesterase activity and optomotor behavior in bluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different concentration of diazinon; *Arch. Intern. Physiol. Biochim. Biophys.* **100**, 331-334.
- Ebenso, I.E., et Ologhobo, A.D., 2008.** Effects of Lead Pollution at Industrial Contaminated Sites on Sentinel Juvenile *Achatina achatina*. *Bull Environ Contam Toxicol.* **82**,106–110.
- Ecobichon, D.J., 1996.** Toxic effects of pesticides. In Klaassen C.D. (ed). Casarett and Doull's Toxicology ; the basic science of poisons Mc Graw-Hill, New York, pp. 643-689.
- Edwards, 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, pp.67-84.
- Eijsackers, H., 1983.** Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environmental Monitoring and Assessment.* **3**, 307-316.
- El-Farra, M., 1999.** The capacity of glutathione enzymatic system and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the detoxification of estrogen hormones and corresponding metabolites. *Thèse de magister. Université d'Annaba.* pp. 3-42.
- Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., & Featherstone R. M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol. and Physiol.* **38**, 84-90.

- Fernandez-Vega, C., Sancho, E., Ferando, M.D., & Andreu-Mliner, E., 1999.** Thiobencarb toxicity and plasma AChE inhibition in the euppen eel. *Jour. Environ. Sci. Health.* **B34**, 64.
- Fischer, P.H., 1948.** 'Données sur la Résistance et la Vitalité des Mollusques', *Extrait Jour. Conch. Paris.* p. 100-140.
- Forget, J., Pavillon, J.F., Beliaeff, B., & Bocquené, G., 1999.** Joint action of pollutant combination (pesticides and metals) on survival (LC50 Values) and acetylcholinestérase activity of *tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chemes*, **18(5)**: 912-918.
- Fournier, D., & Mutero, A., 1994.** Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comp. Biochem. Physiol.* **108C**: 9.
- Gabriella, R., Ramos-Vasconcelos, Luciano, A., Cardoso, Marcelo Hermes-LimaT., 2005.** Seasonal modulation of free radical metabolism in estivating land snails *Helix aspersa*. Oxyradical Research Group, *Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasi'lia, Brasi'lia, 70910-900, DF, Brazil.*
- Gaillard, J., 1991.** Les Mollusques. Document polycopie du module de la conférence sur les animaux venimeux au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, juillet 99. p 1-18.
- Gallagher, E.P., Canada, A.T., & Digiulio, R.T., 1992.** The protective role of glutathione in chlorothalonil- induced toxicity to channel catfish. *Aqua.Toxicol.* **23**, 55-168.
- Galloway, T.S., & Depledge, M.H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology.* **10**, 5-23.
- Gauchers, 1968.** *Traité de pédologie agricole. Le sol et ces caractéristiques agronomiques.* pp. 2-97.
- Gimbert, F., 2006.** Cinétique de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargot. *Thèse de doctorat. N° 1191. Université de Franche-Comté. France.* pp. 1-153.
- Gimbert, F., de Vaufleury, A., Douay, F., Coeurdassier, M., Scheifler, R., Badot, P.M., 2007.** Long- term responses of snails exposed to cadmium contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* , **in press**.
- Gimbert, F., de Vaufleury, A., Douay, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., Badot, P.M., 2006.** Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environment International.* **32**, 866-875.
- Gimbert, F., Mench, M., Coeurdassier, M., Badot, P.M, De Vaufleury, A., 2007.** Kinetic and dynamic aspects of soil-plant snail transfer of cadmium in the field. *University of Franche-Comté. France. Environmental pollution.*

- Godin, M., Feinbert, M.H., Ducauze, C.J., 1985.** Modeling of soil contamination by airborne lead and cadmium around several emission sources. *Environmental Pollution*. **10**, 97-114.
- Gomot, A., 1997.** Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **33**, 209-216.
- Gomot, A., 1997.** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme *bull. Acad. Nattle Méd.* :1997,181 ,n°1,59-75,séance du 28janvier 1997 .
- Gomot, L., et Deray, A., 1987.** Les escargots. *La recherche* **186**, 302-311.
- Gomot, A., Gomot, L., Boukraa, S., Bruckert, S., 1989.** Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*. **55**, 1-7.
- 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 Vaufleury, A. et Bispo, A., 2000.** Method fo 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 Vaufleury, 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.
- Grasse, P.P, 1960.** Traité de zoologie, Editions Masson, Paris Tome V, Fascicule II: Bryozoaires, Brachiopodes, Ch6tognathes, Pogonophores, Mollusques. pp. 1625-1651.
- Grzimek, B., Fontaine, M., 1973.** Räumliche Effekte von Totholzstrukturen bei Landschnecken (Mollusca Gastropoda). *Forst und Holz*. **64(2)**: 22-27.
- Hamelink, J.L., Landrum, P.F., Bergman, H.L., Benson, W.H., 1994.** Bioavailability. Physical, chemical and biological interactions. Lewis Publischers, Boca Raton, F.L. USA, 239 p.
- Hamon, R.E., McLaughlin, M.J., Naidu, R., Correll, A., 1998.** Long-term changes in cadmium bioavailability in soil. *Environmental Sciences and T echnology*. **32**, 3699-3703.
- Hart, A.D.M., 1993.** Relationship between behaviour and the inhibition of acetylcholinesterase in birds exposed to organophosphorus pesticides. *Environ. Toxicol. Chem.* **12**, 321-336.

- Hatcher, E.L., Chen, Y., Kang, Y.J., 1995.** Cadmium resistance in A549 cells correlates with elevated glutathione content but not antioxidant enzymatic activities. *Free Radic. Biol. Med.* **19**, 805-812.
- He, Q.B., et Singh, B.R., 1994.** Crop uptake of cadmium from phosphorus fertiliser: I. Field and cadmium content. *W.A.S.P.* **74**, 251-258.
- Herbet, A., Guilhermino, L., Assis, H.C.S., & Hansen, P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift Angewandte Zoologie.* **3**, 1-5.
- Hopkins, 1921. In Zaidi, N. 2005.** Effets secondaires d'un insecticide sélectif (Dimilin) sur un organisme non ciblé, *Gambusia affinis*: croissance, activités enzymatiques et analyse par CLHP des résidus. *Mémoire de Magister. Université d'Annaba.* 66 pages.
- Hopkin, S. P., 1989.** Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. *Elsevier Applied Science, NY, USA*, 366 pages.
- Hopkin, S.P., 1993.** In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In: Calow P (Ed). *Handbook of ecotoxicology.* Blackwell, Oxford, p. 397-427.
- Irland, M.P., 1982.** Sites of water, zinc and calcium uptake and distribution of these metals after cadmium administration in *Arion ater* (Gastropoda: Pulmonata). *Comparative Biochemistry and Physiology.* **73A**, 217-221.
- 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.
- Jägg, A., et Streit, B., 1982.** Toxic effects of soluble copper on *Octolasion cyaneum* Sav. (Lumbricidae). *Revue Suisse Zoologie.* **89**, 881-889.
- Jakanovic, M., 2001.** Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology.* **166**, 139-160.
- Kammenga J.E., Dallinger, R., Donker, M.H., Kohler, H.R., Simonsen, V., Triebkorn, R., and Weeks, J.M., 2000.** Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 164*, 93-147.
- Kassemi, N., 2001.** Contribution à l'étude bioécologique de la faune de *Thymus ciliatus* Desf. (Thym) (Labiées) dans la région de Tlemcen. *Thèse Ingén. Ecolo. et Environ, Institut Sciences de la Nature, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.* 120 p.
- Khelil, M.A., 1984.** Bioécologie de la faune alfatière dans la région steppique de Tlemcen. *Thèse de Magister, Insti. Natio. Agronom. El-Harrach. Alger.* 68p.

- Khessiba, U.N., Hoarau, P., Magnassia, B., Aissa, P., & Roméo, M., 2001.** Repense biochimique de la moule *Mytilus galloprovincialis* de Binzerte (Tunisie) à exposition du polluant chimique. *Eviron. Toxicol. Chem.* **40**, 222-229.
- Kiekens, L., 1990.** Zinc, in: Alloway, B. (Ed.), Heavy metals in soils. *Halsted press/Blackie, Glasgow*, pp. 261-279.
- Knight, B.P., Chaudri, A.M., McGrath, S.P., et Giller, K.E., 1998.** Determination of chemical availability of cadmium and zinc in soils using inert soil moisture samplers. *Env. Pollut.* **99**, 393-298.
- Kooistra, L., Leuven, R.S.E.W., Nienhuis, P.H., Wehrens, R., Buydens, L.M.C., 2001.** A procedure for incorporating spatial variability in ecological risk assessment of Dutch river floodplains. *Environmental Management.* **28**, 359-373.
- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., and Ramade, F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Paris, Masson. pp. 21-99.
- Landis, W.G. et M.H., YU., 1995.** *Introduction to Environmental Toxicology: Impacts of Chemicals upon Ecological Systems.*
- Laskowski, R., Hopkin, S.P., 1996b.** Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail *Helix aspersa*: implication for predators. *Environmental pollution.* **91**, 289-297.
- Lazli, A., 2003.** Contribution à l'étude de deux populations de mésange bleue (*Pauscaemleis ultramarines*) nichant dans deux habitats du Nord-EST algérien: structure du régime alimentaire et effet de la manipulation des niches sur les paramètres morphologiques et hématologiques des poussins. *Mémoire de Magister. Université d'Annaba.* pp.2-80.
- LE BRAS, G.J., 2007.** Ecotoxicologie & Methodes d'investigation, Les bioindicateurs *Version 2.0-2000-2007, pp.53 - 61, Enseignement M1 – ISA & Université catholique de Lille.*
- Lionetto, A., 2003.** Acetylcholinesterase as biomarkes in environmental biomonitoring caricato, M.E gioradamo and T. Schettino Italy .p .91-92.
- Little, E.E., Archeski, R.D., & Koslovskay, V.I., 1990.** Behavioural indicators of sublethal toxicity in the aquatic environment. *Arch, Environ, Contam, Toxicol.* **19**, 380-385.
- Lock, K., et Janssen, C.R., 2001.** Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*. *Chemosphere.* **44**, 1669-1672.
- Lock, K., et Janssen, C.R., de Coen, W.M., 2000.** Multivariate test designs to assess the influence of zinc and cadmium bioavailability in soils on the toxicity to *Enchytraeus albidus*. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **19**, 2666-2671.
- Ma, W.C., 1982.** The influence of soil proprieties and Worm-related factors on the concentration of heavy metals in earthworms. *Pedobiologia.* **24**, 109-119.

- Ma, W.C., Edelman, T., Van Beersum, L., et Jans, T., 1983.** Uptake of cadmium, zinc, lead and copper by earthworms near a zinc-smelter complex: influence of soil pH and organic matter content. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **30**, 424-427.
- Mandoz-Escande, C., Bréchignac, F., Colle, C., Dubois, E., Hugon, J., Jouglet, H., Moutier, M., Rongier, P.A., Schu, E.H., Zanon, R., 2005.** Experimental installation for radioecologie research on defined ecosystems subjected to contamination in controlled condition, **133**, 178-191.
- Manzl, C., Krumschnabel, G., Schwarzbaum, P.J., Dallinger, R., 2004.** Acute toxicity of cadmium and copper in hepatopancreas cells from the Roman snail (*Helix pomatia*). *Comp. Biochem. Physiol.* **138 C**, 45-52.
- Marrinussen, M.P.J.C., et Van der Zee, S.E.A.T.M., 1997.** Cu accumulation by *Lumbricus rubellus* as affected by total amount of Cu in soil, soil moisture and soil heterogeneity. *Soil Biol. Biochem.* **29**, 641-647.
- Martin, M.H. and Coughtrey, P.J., 1982.** Biological monitoring of heavy metal pollution: land and air. *Applied Science Publishers, London/New York*. pp. 58-96.
- Martin, A.W., et Deyrup-Olsen, I., 1986.** Function of the epithelial channel cells of the body walls of a terrestrial slug, *Ariolimax columbianus*. *Journal of Experimental Biology.* **121**, 301-314.
- Martje, J.M.Notten., 2005.** Origin, transfert and effects of heavy metals in a soil-plant-snail food chain in polluted ecosystems of Biesboch National Park. Amsterdam, Pays-Bas. 10-53 pp.
- Mc Loughlin, N., Yin, D., Maltby, L., Wood, R.M., & Yu, H., 2000.** Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **19**, 2085-2092.
- Menta, C., et Parisi, V., 2001.** Metal concentration in *Helix pomatia*, *Helix aspersa* and *Arion rufus*: a comparative study. *Environmental Pollution.* **115**, 205-208.
- Merian, E., Anke, M., Ihnat, M., Stoepler, M., (Eds), 2004.** Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. 2nd Edition, VCH Publishers, Weinheim, New York, USA, 1806 p.
- Michelet, F., Gueguen, R., Leroy, P., Wellman, M., Nicdas, A., & Sies, G. (1995).** Blood and plasma glutathione measured in reality subjects by HPLC: Relation to sex aging, Biological variables and lif habits. *Clin. Chem.* **41(10)**, 1509-1517.
- Morel, R., 1986.** Les sols cultivés. Lavoisier. 1^{ère} édition. Paris. pp. 21-64.
- Morel, R., 1989.** Les sols cultivés. Lavoisier. 2^{ème} édition. Paris. pp. 51-74.
- Morel, J.L., 1997.** Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In *Soil Ecotoxicology* (Eds J.Tarradellas G. Bitton, et D. Rossel), CRC Press-Lwis Publishers, Boca Raton. pp. 141-176.

- Oste, L.A., Dolfing, J., Ma, W.C., et Lexmond, T.M., 2001a.** Effect of beringite on cadmium and zinc uptake by plants and earthworms: more than a liming effect? *Environ.Toxicol.Chem.* **20**, 1339-1345.
- Oueldjaoui, A., 1996.** Le rôle du système enzymatique et glucose-6-phosphate-hydrogénase dans la détoxification de quelques métabolites et pesticides. *Mémoire de magister Université d'Annaba.* pp. 10-24.
- 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.
- Payne, J.F., Mathieu, A., Melvin, W., & Fancey, LL. (1996).** Acetylcholinesterase, an old biomarker with new future? Fields trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Mar Pollut Bull.* **32**,225-231.
- Peijnenburg, W.J.G.M., 2002.** Bioavailability of metals to soil invertebrates. In: Allen, H.E. (Ed.). Bioavailability of metal in terrestrial ecosystems: importance of partitioning for bioavailability to invertebrates, microbes and plants. Pensacola FL: *Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)*, p. 89-112.
- Peijnenburg, W.J.G.M. et Jager, T., 2003.** Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **56**, 63-77.
- Peijnenburg, W.J.G.M., Posthuma, L., Eijsackers, H.J.P., Allen, H.E., 1997.** A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **37**, 163-172.
- Pelletier, E., 2004.** Contribution au développement de sondes bioanalytiques pour évaluer la toxicité sous-létale des contaminants en milieu marin. Rapport soumis à la direction de l'environnement, *Env. Canada, INRS-Océanologie.* **36**, 169-182.
- Pelseneer, P., 1935.** 'Essai d'Ethologie Zoologique d'après l'Etude des Mollusques', Ed. Palais des Académies, Bruxelles, 662 p., 1935.
- Phillips, DJH., 1977.** The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments. A review. *Environmental pollution.* **13**, 281-317.
- Phillips, DJH., et Rainbow, P.S., 1993.** Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants. *Elsevier, London.* **37**, 2-26.
- Portail, A., 2005.** Ecotoxicologie des sols pollués. Enjeux, outils, retours d'expérience d'un laboratoire. *INTERSOL, Paris.* pp.1-33.
- Prescott, Harley, Klein., 1995 :** Microbiologie. ED Masson. p. 15-64.
- Rainbow, P.S., 2007.** Trace metal bioaccumulation : Models, metabolic availability and toxicity. *Environment International.* **33**,576-582.

- Rainbow, P.S. et Dallinger, R., 1993.** Metal uptake, regulation and excretion in freshwater invertebrates. In *Ecotoxicology of Metals in Invertebrates*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, p. 119-132.
- Ramade, F., 1984.** *Elément d'écologie fondamentale*. Ed MC Grow-hill. Paris. pp. 70-171.
- Reed, D.J., 1990.** Glutathione: toxicological implication. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **30**, 603-631.
- 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.
- Regoli, F., Gorbi, S., Machella, N., Tedesco, S., Benedetti, M., Bocchetti, R. 2005.** Prooxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EM) in the land snail *Helix aspersa*. *Free Radic Biol & Med.* **39**:1620-1628.
- Regoli, F., Principato, G., 1995.** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals in different field and laboratory conditions: implications for a proper use of biochemical biomarkers. *Aquat Toxicol.* **31**, 143-164.
- Reidy, G.F., Rose, H.A., Viseton, S., & Murray, M., 1990.** Increased glutathione S-transferase activity and glutathione content in an insecticide resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pesct. Biochem. And Physiol.* **36**, 269-276.
- Ricou, G., 1964.** 'Relations entre l'activité des limaces grises et la température', Overdr. Mededel de Landbou Whogeschool Opzoekings, staat Gent., 29, pp. 1071 - 1080.
- Ringwood, A.H., Connors, D.E., Keppler, C.J., & Dinovo, A.A., 1999.** Biomarkers studies with juvenile oysters (*Crassostrea virginica*) deployed in situ. *Biomarkers.* **4**, 400-414.
- Rivière, J.L., 1998.** Evaluation du risque écologique des sols pollués. *Association RECORD.* Paris. pp. 2-123.
- Römbke, J., et Moltmann, J.F., 1996.** *Applied ecotoxicology*. Lewis publishers, Boca Raton. pp. 1-126.
- Römken, P., et Salomon, W., 1998.** Cd, Cu and Zn solubility in arable and forest soils: consequences of land use changes for metal mobility and risk assessment. *Soil Sci.* **163**, 859-871.
- Sacchi, C.F., 1971.** 'Ecologie Comparée des Gastéropodes Pulmonés des Dunes Méditerranéennes et Atlantiques', *Nature. Soc. It. Sc. Nat. Musco, Civ. St, nat. e Acquario Cio.*, Milano, Vol. 62, N°3, pp. 277 - 358.
- Saglio, P., Trijasse, S., & Azam, D., 1996.** Behavioural effects of water-born carbofuron in goldfish. *arch. Environ, Toxicol, Chem.* **33**, 524-328.

- Saint-Denis, M., Labrot, F., Narbonna, J.F., & Rebera, D., 1998.** Glutathione, glutathione-related enzymes, and catalase activity in earthworm *Eisenia fetida* Andrei. *Arch, Environ. Contam. Toxicol.* **35**, 602-614.
- Salama, A.K., Osman, K.A., Saber, N.A., & 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.
- Sandifier, R.D., et Hopkin, S.P. 1996.** Effects of pH on the toxicity of cadmium, copper, lead and zinc to *Folsomia candida*. Willem, 1902 (Collembola) in a standard laboratory test system *Chemosphere.* **33**, 2475-2486.
- Sauvé, S., Hendershot, W., Allen, H.E., 2000.** Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burdens and organic matter. *Environmental Science and Technology.* **34**, 1125-1131.
- Scheifler, R., 2002.** Evaluation de la biodisponibilité et des transferts de polluants métalliques et organiques des réseaux trophiques "sols-plantes-invertébrés". *Thèse de doctorat N° 916. Université de Franche-Comté.* pp : 23-190.
- Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, A., Badot, P.M., 2002b.** Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **53**, 148-153.
- Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, 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.
- Semraoui, B., 1993.** Afrotropical libellids in the lake district of El Kala, North east Algerian with a rediscovery of *urothemis edwardsi* (Selys) and *Acisoma panarpoidesascalaploe* (Rambur). *Odonatologica.* pp.36-65.
- Shukla, G.S., Shukla, A., Potts, R.J., Osier, M., Hart, B.A., and Chiu, J.F., 2000.** Cadmium mediated oxidative stress in alveolar epithelial cells induces the expression of gammaglutamylcysteine synthetase catalytic subunit and glutathione S-transferase alpha and pi isoforms: potential role of activator protein-1. *Cell biology and toxicology.* **16**, 347-362.
- Siegfried, B.D., & Scharf, M.E., 2001.** Mechanisms of organophosphate resistance in insects. Department of entomology, 202 Plant industry Bldg, *University of Nebraska. Lincoln NE, USA.* pp. 269-291.
- Sies, H., 1999.** Glutathione and its role in cellular functions. *Free Rad. Biol. Med.* **27**, 916-921.
- Simkiss, K. et Taylor, M.G., 1989.** Metal fluxes across the membrane of aquatic organisms. *Reviews in Aquatic Sciences.* **1**, 173-188.

- Souissi, M., Ouali, K., Hadj Moussa, W., Rouachdia, R., Djabourabi, A., & Bensouilah, M., 2008.** Proportioning of Biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) Indicator of pollution at *Gambusia affinis* (Teleostei Fish) Exposed to Cadmium. *Mar. Ecobiol. Lit. Envi.*
- Spellerberg, I.F., 2005.** Monitoring ecological change. Second Edition, Cambridge University Press, Cambridge, England, 410 pages.
- Spurgeon, D.J., Hopkin, S.P., 1998.** Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Institute of Terrestrial Ecology, School of Animal and Microbial Sciences, University of Reading, Ecotoxicology.*
- Steadman, B.L., Farag, A., & Bergman, H.L., 1991.** Exposure-related patterns of biochemical indicators in rainbow trout exposed to NO.2 fuel oil. *Environ.Toxicol.Chem.* **10**, 365-374.
- Sturn, A., Worgam, J., Segner, H., & 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.
- Suter II, G.W., 1993.** Exposure In: Suter II (Ed.). Ecological Risk Assessment. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, p. 153-172.
- Sverdrup, L.E., de Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S.B., Loibner, A.P., Jensen, J., 2006.** Effects and uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). *Environmenta 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.
- Telailia, S. 1990.** Bioécologie de la faune des différents milieux de la zone du lac Tonga (PNEK). *Thèse ing. agr. inst. nati. Agro. El-Harach.* 111 pages.
- Thomas, P., et Chevallier, H., 1994.** Croisements expérimentaux chez l'escargot Petit-gris de l'Europe Oceanique *Helix aspersa aspersa*. Centre Hélicicole « La Bertrande ». 32400 FUSTEROUAU. pp. 2-177.
- Thomas, D.J., & Juedes, M.J., 1992.** Influence of lead on the glutathione status of the Atlantic croaker tissues; *Aquatic, Toxicology.* **23**:11-30.
- Tomita, T., Hidoh, O., & Kono, Y., 2001.** Absence of protein polymorphism attributable to insecticide-sensitivity of acetylcholinesterase in the green rice lefhopper, *Nephotellix cinticeps*. *Insect Biochemistry and Molucular Biology.* **30**, 325-333.
- Toutant, J.P, 1989.** Insect acetylcholinesterase : Catalytic properties, tissue distribution and molecular forms. *Prog.Neurobiol.* **32**, 719-734.

- Truhaut, R., 1977.** « Ecotoxicology: Objectives, principles and perspectives », *Ecotoxicology and Environmental Safety*. p. 151-173. uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? Use of land snail as bioindicator of pollution. In: Abstract proceedings, "From basic science to decision-making: *The environmental odyssey*", 11th SETAC European Meeting, Madrid.
- USSL, 1954.** Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *US Department of Agriculture*. pp. 65-95.
- Vallardi, F., 1971.** La grande encyclopédie du monde animal (poissons, invertébrés). Tome III: 455-459.
- Van der Oost, R., Opperhuizen, A., Satumalay, K., Hcida, H., Vermeulon, N.P.E., 1996.** Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). I. Bioaccumulation: biota sediment ration of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquat. Toxicol.* **35**, 21-46.
- Van Gestel, C.A.M., et Van Diepen, A.M.F., 1996.** The influence of soil moisture content on the bioavailability and toxicity of cadmium for *Folsomia candida* Willem (Collembola: Isotomidae). *Ecotox. Environ. Saf.* **36**, 123-132.
- Van Straalen, N.M., Donker, M.H., Vijver, M.G., Van Gestel, C.A.M., 2005.** Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environmental Pollution*. **136**, 409-417.
- Van Straalen, N.M., Schobben, J.H.M., de Goede, R.G.M., 1989.** Population consequences of cadmium toxicity in soil microarthropods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **17**, 190-204.
- Van Straalen, N.M., Van Gestel, C.A.M., 1998.** Soil invertebrates and micro-organisms. In : Calow, P. (Ed). *Handbook of Ecotoxicology*. Blackwell Science, Oxfor. pp. 251-277.
- Viard-La Rocca, B., 2004.** Mise au point et validation, sur sites contaminés (ETM-HAP), d'un test de biosurveillance en microcosme : croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa aspersa* .Thèse de doctorat, Université de Metz, France, 222 pages.
- Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C., 2004a.** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. **6**, 103-107.
- Viard, B., Pihan, F., Promeyrat, S., Pihan, J.C., 2004b.** Integrated assessment of heavy metal (Pb, Zn, Cd) highway pollution : Bioaccumulation in soil, Graminaceae and land snails. *Chemosphere*. **55**, 1349-1359.
- Viarengo, A., 1994.** Heavy metal cytotoxicity in marine organisms: effects on Ca2 homeostasis and possible alteration of signal transduction pathways. *Adv. Comp. Environ. Physiol.* **20**, 85-110.

- Viarengo, A., Nott, J., 1993.** Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol. Toxicol.* **104**, 355-372.
- Weckberker, G., & Cory, G., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters.* **40**, 257-264.
- Weltje, L., 1998.** Mixture toxicity and tissue interactions of Cd, Cu, Pb and Zn in earthworms (Oligochaeta) in laboratory and field soil: a critical evaluation of data. *Chemosphere.* **36**, 2643-2660.
- WHO: World Health Organization, 1993.** Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *Environmental Health Criteria*, Vol 155, International Program on Chemical Safety (IPCS), Geneva.
- Williamson, P., 1979.** Comparison of metal levels in invertebrate detritivores and their natural diets: concentration factors reassessed. *Oecologia.* **44**, 75-79.
- Williamson, P., 1980.** Variables affecting body burdens of lead, zinc and cadmium in a roadside population of the snail *Cepaea hortensis* Müller. *Oecologia.* **44**, 213-220.
- Woods, J.S., & Ellis, M.P., 1995.** Up-regulation of glutathione synthesis in rat kidney by methyl mercury: relation ship to mercury-induced oxidative stress. *Biochem. Pharmacol.* **5**, 1719-1724.
- Wright, D.A., & Welborn., P., 2002.** Environmental Toxicology, Cambridge, UK, Cambridge University Press. pp. 1-15.
- Yo, C.L., Liu, C.L., Tsai, C.Y., Sun, K.H., Liano, T.S., Lin, W.M., Chen, H.L., & Yo, H.S., 1993.** Prostaglandin E2 suppresses phytohem agglutinin-induced immune responses of normal human monocular cells by decreasing intracellular glutathione generation, but not due increased DNA strand breaks or apoptosis. *Agent Action.* **40**, 191-199.
- Zinkl, J.G., Lockhart, W.L., Kenny, S.A., & Ward, F.J., 1991.** The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In " Chemicals in Agriculture" (P. Mineau, Ed), Vol. 2, 233-253.

www.wiki/escargot.fr

www.Animals Bases.fr