الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة باجي مختار–عنابة- **Université Badji -Mokhtar Annaba**

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Animale Appliquée

THESE

en vue de l'obtention du diplôme de Docteur es sciences

Spécialité : Biologie animale

THEME

Biodiversité des Gastéropodes Pulmonés à l'Est du pays et rapport avec la pollution des sols. Réponse aux insecticides en laboratoire

Présentée par : M^me^ Amina Nawel HAMDI-OURFELLA

Directeur de thèse : M. Noureddine SOLTANI Pr. Université Badji Mokhtar, Annaba.

Les membres du jury :

Présidente :	**M^lle^ Nadia ARIBI**	Pr. Université Badji Mokhtar, Annaba
Examinateur :	**M. Moussa HOUHAMDI**	Pr. Université 8 Mai 1945, Guelma
Examinatrice :	**M^me^ Wyllia KHATI**	Dr. Université Chadli Bendjedid, El Tarf
Examinatrice :	**M^lle^ Karima SIFI**	Dr. Université Badji Mokhtar, Annaba
Examinatrice :	**M^me^ Nedjoua ZAIDI**	Dr. Université 20 Août 1955, Skikda

Année universitaire 2016/2017

Sommaire

P.

Sommaire II
Remerciements V
Liste des abréviations VI
Liste des figures VIII
Liste des tableaux XI
1. Introduction 1
2. Matériel et méthodes 6
2.1. Présentation des sites d'études : 6
2.2. Analyses physico-chimiques des sols : 10
2.2.1. Texture : 10
2.2.2. Matière organique : 11
2.2.3. pH eau : 12
2.2.4. Conductivité électrique : 13
2.2.5. Calcaire : 13
2.2.6. Porosité : 14
2.3. Inventaire et biométrie des Gastéropodes Terrestres : 15
2.3.1. Echantillonnage : 16
2.3.2. Identification : 17
2.3.3. Biométrie : 19
2.4. Indices écologiques : 19
2.4.1 Abondance (ni) : 19
2.4.2 Richesse totale (S) : 19
2.4.3 Richesse moyenne (s) : 19
2.4.4 La fréquence relative (f) : 19
2.4.5. La fréquence d'occurrence ou centésimale (F) : 20
2.4.6 La diversité (H') : 20
2.4.7. L'équitabilité ou équipartition (E) : 20
2.5. Modèle biologique *Helix aperta* : 21
2.5.1. Taxonomie : 21
2.5.2. Habitat : 22
2.5.3. Distribution géographique : 22

2.5.4. Morphologie : 22
2.5.5. Anatomie : 22
2.5.6. Reproduction : 24
2.5.7. Biologie de l'espèce : 26
2.5.8. Rythme d'activité : 26
2.5.9. Estivation et hibernation : 27
2.6. Prélèvement des organes : 28
2.7. Compartimentation et mesure des biomarqueurs : 29
2.7.1. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase : 29
2.7.2. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase : 31
2.7.3. Dosage des métallothionéines : 32
2.7.4. Dosage des protéines : 34
2.8. Présentation des insecticides : 35
2.8.1. Actara : 35
2.8.2. Dimilin : 36
2.9. Traitement insecticide et restauration: 36
2.10. Traitement statistique des données : 38
3. Résultats 39
3.1. Analyse physicochimiques des sols : 39
3.2. Identification des Gastéropodes Terrestres et présentation: 40
3.3. Biométrie des Gastéropodes Terrestres : 41
3.4. Indices écologiques : 45
3.5. Mesure *in situ* des biomarqueurs : 53
3.5.1. Activité de l'acétylcholinestérase : 53
3.5.2. Activité de la glutathion S- transférase : 55
3.5.3. Taux de métallothioneine : 57
3.6. Effet en laboratoire de l'Actara sur les biomarqueurs : 58
3.6.1. Evaluation des biomarqueurs après toxicité aigue (96h) : 58
3.6.2. Effet de l'Actara sur les biomarqueurs durant la restauration : 63
3.7. Effet en laboratoire du Dimilin sur les biomarqueurs : 67
3.7.1. Evaluation des biomarqueurs après toxicité aigue (96h) : 67
3.7.2. Effet du Dimilin sur les biomarqueurs durant la restauration : 70
4. Discussion 75
4.1. Inventaire des Gastéropodes Terrestres : 75
4.2. Indices écologiques : 79
4.3. Biométrie des Gastéropodes Terrestres : 81

4.4. Activité de l'Acétylcholinestérase et de la Glutathion S-transférase *in situ* : 84
4.5. Dosage des Métallothionéines : 86
4.6. Effets des insecticides sur les biomarqueurs durant l'exposition et la restauration : 90
5. Conclusion et perspectives 95
6. Résumés 97
6.1. Résumé 97
6.2. Abstract 98
6.3 ملخص 99
7. Références bibliographiques i
8. Annexes xxiv

Remerciements

Le travail de thèse que j'ai le plaisir de soumettre à votre appréciation à été mené au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée de l'Université Badji- Mokhtar Annaba.
Je remercie en premier lieu Pr Nadia ARIBI de l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui me fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de thèse.

Je remercie profondément M. Noureddine SOLTANI, Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour son accompagnement combien instructif depuis mon Magister. Il m'a permis de mener à bien ce travail, pour sa patience, ses corrections concises et son aide scientifique. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de ma profonde considération.

Mes remerciements vont également au Pr Moussa HOUHAMDI de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie Dr Wyllia KHATI de l'Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf, qui m'a fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.

Je remercie Dr Karima SIFI de l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui a bien voulu prendre part à ce jury, et examiner mon travail.

Mes remerciements vont au Dr Nedjoua ZAIDI de l'Université 20 Août 1955 de Skikda, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens également à remercier tout les membres du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée. J'aimerai remercier tout particulièrement Rabah LARBA, Nadjoua Louiza DOUAFER et Isma MERAD pour la patience dont ils ont fait preuve pour toutes les questions que je leur ai posées. Je viens remercier Zineb BESSAKLIA et Marwa FERDENACHE pour leur sérieux, je remercie aussi Yousra BAIRI pour son dynamisme à toute épreuve.

Mes remerciments les plus sincères vont au Professeur Catherine MOUNEYRAC pour m'avoir accueilli au sein du Pôle Scientifique de l'Université Catholique de l'Ouest à Angers, France. Je remercie également très chaleureusement les membres du laboratoire : Mlle Mélanie BRUNEAU, Mme Isabelle METAIS et Mme Mirsada DJULBIC pour l'accueil et la disponibilité qu'elles m'ont offerte lors de mon stage parmi elles.

Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius
µl :	Microlitre
µM :	Micromole
AChE :	Acétylcholinestérase
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AFC :	Analyse factorielle des correspondances
AFNOR :	Association francaise de normalisation
Ag :	Argent
AgCl :	Chlorure d'argent
ANOVA :	Analysis of variance
ASCh :	Acéthylthiocholine
BBC :	Bleu brilliant de coomassie
BSA :	Bovine serum albumin
Be :	Beryllium
Ca :	Calcium
CAB :	Conserverie amor benamor
$CaCO_3$:	Carbonate de calcium
Cd :	Cadmium
CDNB :	1-chloro 2,4- dinitrobenzene
CL_{50} :	Concentration léthale mediane
CMEO :	Concentration minimale avec effet observé
Co :	Cobalte
$Co(NH_3)_6Cl_3$:	Hexaminecoblte chloride
CO_2 :	Dioxyde de carbone
CPE :	Chlorpyriphos ethyl
Cr :	Chrome
Cu :	Cuivre
CYCMA :	Complexe de fabrication de cycle et de cyclomoteurs algerie
Da :	Densité aparrente
DDL :	Degré de liberté
DL_{50} :	Dose léthale mediane
DPV :	Differential pules voltammetry
Dr :	Densité réelle
DT_{50} :	Temps de dissipation médian
DTNB :	Acide 5-5'dithio-bis -2 nitrobenzoique
E :	Est
EC_{50} :	Concentration efficace mediane
ECVE :	Entreprise de ceramique et de vaisselle
EGTA :	Acide ethylène glycol-bis, β aminoéthyléthere NNN'N tetra acétique
ETM :	Elements traces métalliques
F :	Valeur statistique
GSH :	Glutathion
GST :	Glutathion S-Transférase
H :	Hydrogène
INRA :	Institut national de la recherche agronomique
IRAC :	Insecticide resistance action committee
KCl :	Chlorure de potassium
km :	Kilomètre

m :	Mètre
M :	Mole
MC :	Moyenne des carrés
mg :	Milligramme
ml :	Millilitre
mm :	Millimètres
Mn :	Manganèse
Mt :	Methomyl
MT(s) :	Métallothioneine(s)
N :	Nord
NH_4Cl :	Chlorure d'ammonium
NH_4OH :	Ammoniaque
OC :	Organochlorés
OP :	Organophosphorés
P :	Valeur statistique
Pb :	Plomb
pH :	Potentiel d'hydrogène
PNEK :	Parc National d'El Kala
s :	Seconde
SC :	Somme des carrés
SCh :	Thiocholine
SD :	Standard deviation
SH :	Sulfhydryle
UNESCO :	United nations educational scientific and cultural organization
V :	Volt
VA :	Voltampérométrie
WG :	Water dispercible granules
Zn :	Zinc

Liste des figures

P.

Figure 1. Localisation géographique des sites d'étude (www.rome2rio.com). 8
Figure 2. Climagramme d'Emberger : position des sites d'étude. 9
Figure 3. Echantillon de Gastéropodes Terrestres (Photo personnelle). 16
Figure 4. Critères d'identification des Gastéropodes Terrestres. 17
Figure 5. Clés d'identification de Gastéropode Terrestres (Perez et Cordeiro, 2008). 18
Figure 6. Sens d'enroulement de la coquille. 18
Figure 7. Les paramètres de biométrie chez les Gastéropodes Terrestres. 19
Figure 8. *Helix aperta* adulte (Photo personnelle). 21
Figure 9. Schéma *H. aperta.* 23
Figure 10. Anatomie interne d'un Gastéropode Terrestre. 23
Figure 11. Organe reproducteur, le dard. 24
Figure 12. Le dard d'*H. aperta* (Photo personnelle). 24
Figure 13. Accouplement d'*H. aperta* (Photo personnelle). 25
Figure 14. Œufs pondus dans le sol à quelques centimètres de la surface. 25
Figure 15. Les escargots éclos remontent à la surface de la terre. 25
Figure 16. Sécrétion de bave (Photo personnelle). 26
Figure 17. Epiphragme obstruant l'ouverture de la coquille. 27
Figure 18. Epiphragme de l'escargot en plusieurs feuillets (Photo personnelle). 28
Figure 19. Prélèvement d'organe pour le dosage des biomarqueurs (Photo personnelle). 28
Figure 20. Dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961). 30
Figure 21. Dosage de la Glutathion S-transférase (Habig *et al.*, 1974). 31
Figure 22. Dosage des MTs. 33
Figure 23. Structure chimique du thiaméthoxame. 35
Figure 24. Structure chimique du diflubenzuron. 36
Figure 25. Cristallisoirs contenant les escargots traités (Photo personnelle). 37
Figure 26. Juveniles d'*H. aperta* sur une feuille de laitue (Photo personnelle). 38
Figure 27. Présentation des différentes espèces de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien. 40
Figure 28. Famille des Hygromiidés. 41
Figure 29. Structure de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien. 45
Figure 30. Analyse multivariée (AFC) des différentes espèces répertoriées dans le Nord-Est algérien. 50

Figure 31. Analyse factorielle des correspondances des 5 sites d'études. 51

Figure 32. Analyse factorielle des correspondances à deux variables : sites et espèces. 51

Figure 33. Dendrogramme des espèces de Gastéropodes Terrestres* recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien. 52

Figure 34. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* mesurée *in situ* durant les différentes saisons. 53

Figure 35. Activité de la glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* mesurée *in situ* durant les différentes saisons. 55

Figure 36. Taux de métallothionéines (mg/g tissu frais) dans l'hépatopancréas d'*H. aperta* en fonction du site et de la saison durant l'année 2015. 57

Figure 37. Activité de spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 59

Figure 38. Activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 61

Figure 39. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 1 d'Actara (2500 mg m.a./l). 63

Figure 40. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µMol/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 2 d'Actara (3000 mg m.a./l). 63

Figure 41. Restauration (7 jours) de l'activié spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l). 64

Figure 42. Restauration (7jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 1 d'Actara (2500 mg m.a./l). 65

Figure 43. Restauration (7 jours) de l'activité Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 2 d'Actara (3000 mg m.a./l). 65

Figure 44. Activité de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez H. aperta juvéniles après traitement avec Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose2 = 3000 mg m.a./l). 67

Figure 45. Activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 68

Figure 46. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose1 de Dimilin (2500 mg m.a./l). 70

Figure 47. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose2 de Dimilin (3000 mg m.a./l). 71

Figure 48. Restauration (7 jours) de l'activié spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l). 71

Figure 49. Restauration (7 jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose1 de Dimilin (2500 mg m.a./l). 72

Figure 50. Restauration (7 jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose2 de Dimilin (3000 mg m.a./l). 73
Figure 51. Restauration (7 jours) de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin dose 1 et 2 (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l). 73

Liste des tableaux

P.

Tableau 1 : Paramètres climatiques relevés des sites d'études de 1982-2012 (www.climate-data.org)..... 9

Tableau 2 : Echelle de la texture selon Gaucher (1968)..... 11

Tableau 3 : Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Soltner, 1981). 12

Tableau 4 : La gamme de pH des sols (Gaucher et Soltser, 1981)..... 12

Tableau 5 : Echelle de salinité du sol (Delaunois, 1976). 13

Tableau 6 : Classification des sols d'après leurs teneurs en calcaire (Duchauffour, 1970). 14

Tableau 7 : La gamme d'étalonnage des protéines. 35

Tableau 8 : Classification des insecticides établie par l'Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). 36

Tableau 9 : Paramètres physicochimiques des sols des sites d'études. 39

Tableau 10 : Morphologie et biométrie des Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien. .. 44

Tableau 11 : Abondance du peuplement des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'étude..... 46

Tableau 12 : Abondance du peuplement des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'étude..... 47

Tableau 13 : Fréquence d'occurrence (%) des espèces de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien. 48

Tableau 14 : La diversité du peuplement des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'études. 49

Tableau 15 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD, n=5) chez *H. aperta* juvéniles récoltés dans différents sites. 54

Tableau 16 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; n = 5) chez *H. aperta* récoltés dans différents sites. 54

Tableau 17 : L'activité de la glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H.aperta* juvéniles récoltés dans les différents sites. 56

Tableau 18 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines ; n = 5) chez *H. aperta* récoltés dans différents sites. 56

Tableau 19 : Taux de métallothionéines (mg/g tissu frais ; m ± SD ; n = 4) chez *H. aperta* adultes en fonction du site et de la saison durant l'année 2015. 57

Tableau 20 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs des métallothionéines (mg/g de tissus frais ; n = 4) chez *Helix aperta* adultes récoltés dans différents sites. 58

Tableau 21 : Toxicité de l'Actara (mg m.a./l) des individus juvéniles d'*H. aperta* recoltés à El Kala et El Hadjar après une exposition de 96 h, analyse des probits (IC = intervalle de confiance). 58

Tableau 22 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 59

Tableau 23 : Pourcentage d'inhibition de l'activité AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 60

Tableau 24 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'AChE (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 60

Tableau 25 : L'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 61

Tableau 26: Pourcentage d'induction de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 62

Tableau 27 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 62

Tableau 28 : Restauration de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 64

Tableau 29 : Restauration de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 66

Tableau 30 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST restaurées (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* après traitement d'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose2 = 3000 mg m.a./l). 66

Tableau 31 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 67

Tableau 32 : Pourcentage d'inhibition de l'activité AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 =3000 mg m.a./l). 68

Tableau 33 : L'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 69

Tableau 34 : Pourcentage d'induction de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 69

Tableau 35 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juveniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 70

Tableau 36 : Restauration de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l). 72

Tableau 37 : Restauration de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l)..... 74

Tableau 38 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après restauration du Dimilin dose 1 et 2 (2500 et 3000 mg m.a./l) 74

1. Introduction

L'industrie, l'agriculture, l'urbanisation et la culture de consommation actuelle sont porteuses de catastrophes écologiques. Depuis des décennies, au cœur du débat politique, social et humanitaire mondial, un certain nombre de questionnement est abordé. Les marés noires ; les pollutions des cours d'eau, des nappes phréatiques, des sols ; les catastrophes nucléaires avec les retombées radioactives tel que la catastrophe de Fukushima au Japon en 2011 ; la déforestation massive ; l'élevage intensif ; l'émission des gaz à effet de serre, entre autres, sont les nombreux méfaits du développement.

Le principal danger qui menace la planète est le réchauffement climatique ; cela engendre une perte de biodiversité. Les gouvernements mettent en place des sommets et des conférences pour essayer de parer à ces dangers. Les Sommets de la Terre sont des rencontres décennales des dirigeants mondiaux sous l'égide de l'Organisation des Nations Unies pour définir les moyens de stimuler le développement durable. Des Conférences des Organismes des Parties (COP) sont annuellement faites, et qui analysent les avancées de la Convention-Cadre des Nation unies sur les Changements Climatiques et prennent des décisions pour atteindre les objectifs de lutte contre les changements climatiques.

A notre époque où l'environnement est en constante mutation, il nous semble fondamental de poursuivre notre mission scientifique par des publications illustrant des états à des instants déterminés (Medard-Blondel, 2007).

Dernièrement à Marrakech (Maroc) s'est tenue la 22ème COP. 195 pays plus l'Union Européenne ont du s'entendre sur un accord contraignant et universel pour limiter les émissions de gaz à effet de serre, ce protocole devra rentrer en vigueur en 2020 et remplacer le Protocole de Kyoto de 2005. Les états se sont engagé à limiter le réchauffement à 2°C par rapport à l'ère préindustrielle du 19ème siècle (aujourd'hui on est à une hausse des températures mondiale de 0,85°C, sans aucune politique climatique on atteindra 4,6°C d'ici la fin du siècle). 30% de la biodiversité qui pourrait être détruite d'ici à la fin du siècle si le rythme actuel d'émission de gaz à effet de serre se poursuit. Le pH des mers pourrait atteindre les 7,8 en 2100 si on ne diminue pas les émissions de CO_2. L'élévation des océans sera de 1 mètre à l'horizon de 2100 si le réchauffement se poursuit au rythme actuel, et 400 million de personnes vivent à moins d'un mètre au dessus des mers, de nombreuses grandes villes de la planète sont portuaires (la Nouvelle Orléans, New York, Miami, Amsterdam, Abidjan,

Alexandrie, Bombay, Bangkok, Tokyo, Shanghai...). L'objectif de la communauté internationale d'ici à la fin du siècle est d'arriver à une économie mondiale neutre en carbone (émet autant de carbone qu'elle en absorbe). (Le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat-GIEC, 2014 ; Le Protocole de Kyoto, 2005).

La biodiversité est une préoccupation majeure pour le développement durable et est une menace permanente, lorsque les activités humaines font peser des risques majeurs sur plusieurs espèces animales. (Douafer & Soltani, 2014). La perte de la biodiversité est essentiellement due aux activités d'origine anthropique, comme la pollution de l'eau et du sol. On distingue deux types de molécules polluantes : les micropolluants et les macropolluants (De Alencastro *et al*., 2004).

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

Le sol est certainement la composante de l'environnement la plus mal connue alors qu'il constitue le support direct de la plupart des activités humaines. En effet il joue un rôle essentiel comme interface de l'environnement vis-à-vis des principales pollutions provoquées par l'homme (Calvet, 2003). Carson (1962) dénonça pour la première fois la toxicité liée aux organochlorés (OC). Par ailleurs, dans les années 70, des premiers travaux ont montré que les produits phytosanitaires peuvent aussi être transférés vers les eaux de surface et les eaux de profondeur (Schiavon & Jacquin, 1972; Schiavon & Jacquin, 1973). Une prise de conscience des pouvoirs publics dans le monde a entraîné en 1972 une interdiction des organochlorés aux Etats-Unis et en Europe (Merhi, 2008). En france les pouvoirs publics s'attaquent aux insecticides de la famille des néonicotinoides. Ces derniers seront bani à partir de septembre 2018 (Garric & Le Hir, 2016).

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

Certains experts estiment que l'augmentation des rendements des terres agricoles a permis de limiter la déforestation et donc de préserver 50 % de la surface de la forêt actuelle en 50 ans (International Workshop on Crop Protection Chemistry, 2005). Cependant, aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement. En effet, de nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne des pesticides ont été rapportés chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (Merhi, 2008).

Les métaux lourds, tel que le zinc, le cuivre et le cadmium sont tous des éléments naturels de la biosphère. Ils proviennent essentiellement de l'érosion, aussi bien mécanique que chimique des roches, du lessivage des sols et des activités volcaniques (Bryan, 1984 ; Laws, 1993 ; Nisbet & Fowler, 1995). Il ne faut pas oublier la composante anthropique qui, depuis le début du 19ème siècle, a considérablement accentué la concentration de certains métaux lourds dans l'environnement. Pour la plupart, les différents métaux lourds convergent vers les océans et ce, essentiellement via les cours d'eau. Une fois en milieu marin, la plupart des métaux lourds précipitent suite à l'augmentation de la salinité (Laws, 1993 ; Abel, 1991) et se retrouvent principalement dans les sédiments.

Les metaux causent plusieurs altérations biologiques à partir du niveau moléculaire jusqu'au niveau du tissu en fonction de leurs concentrations et le temps d'exposition (Banni *et al.,* 2007; Ben Khedher *et al.,* 2014). Par conséquent, ils peuvent être aussi, accumulé dans divers tissus des organismes vivants (Ghedira *et al.,* 2011 ; Jebali *et al.,* 2014 ; Bouraoui *et al.,* 2016).

L'écotoxicologie est une discipline relativement récente, qui a pour objet l'étude du comportement et du devenir des polluants dans les écosystèmes, ainsi que leurs effets sur la structure et le fonctionnement des communautés et des écosystèmes (Forbes & Forbes, 1997; Walker *et al.,* 2006 ; Ramade, 2007 ; Boyd, 2010). De nouvelles lois, disciplines et de nouveaux organismes ont vu le jour afin de mieux réguler et comprendre l'impact des métaux lourds. Parmi ces derniers, l'écotoxicologie qui se base sur l'étude des organismes vivants pour déterminer si un biotope est perturbé et si oui de quelle façon (Jacques, 2002).

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

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

Cette contamination provoque un stress chez des organismes bioindicateurs de pollution en altérant leurs capacités physiologiques et biochimiques à différents degrés. Ceci a permis la mise au point d'outils de biosurveillance écotoxicologique appelés biomarqueurs qui rendent compte des niveaux de pollution auxquels sont soumis ces bioindicateurs (Lavado *et al.*, 2006). L'approche des biomarqueurs est largement utilisée à la fois chez les vertébrés et les invertébrés pour la biosurveillance de l'environnement, car elle peut fournir une réponse intégrée de contamination multi-xénobiotiques (Binelli *et al.*, 2006).

Les hépatopancréas des invertébrés sont analogues au foie et au pancréas exocrine des vertébrés (Chabicovsky *et al.*, 2003). La glutathion-S-transférase a un rôle important dans la détoxication des substances xénobiotique exogènes ou endogènes en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogènes (Jakoby & Habig, 1980). Toutes les formes vivantes contaminées présentent des altérations du système nerveux dues à la neurotoxicité de ces molécules liée à l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Ecobichon, 1996). L'acétylcholinestérase (AChE) est le site cible d'inhibition essentiellement par les organophosphorés et les carbamates (Lam, 2009), mais également les métaux lourds (Amiard-

Triquet *et al.*, 1998). La plupart des études sont focalisées sur l'utilisation de métallothioneines comme marqueurs d'exposition aux métaux (Elliott & Scheuhammer, 1997; Barjaktarovic *et al.*, 2002; Damek-Poprawa, 2002; Kojadinovic *et al.*, 2007; Rogival *et al.*, 2007a ; Swiergosz-Kowalewska *et al.*, 2007; Marques *et al.*, 2008; Vanparys *et al.*, 2008). La réponse sub-cellulaire, actuellement beaucoup utilisée en écotoxicologie pour évaluer l'effet des métaux lourds, est l'induction des métallothionéines (MTs), petites protéines complexant les métaux avec une grande affinité (Jaques, 2002). En 1957, Margoshes & Vallee ont isolé du cortex rénal du cheval, une protéine inhabituelle complexant le cadmium. Cette dernière, purifiée, fut nommée métallothionéine (MT) en fonction de son haut contenu en métal et en soufre (Kägi *et al.* 1974). Sa séquence protéique fut déterminée quelques années plus tard (Kojima *et al.* 1976). Les métaux lourds ont été étudiés par Amiard-Triquet *et al.* (1998).

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

1/ réaliser un inventaire spatio-temporel saisonnier (hiver, printemps, été et automne) des Gastéropodes Pulmonés dans plusieurs biotopes de l'Est algérien (Annaba, El Tarf, El Kala, El Hadjar et Guelma) et un diagnostique du risque de pollution environnementale lié à l'utilisation des pesticides dans les agrosystèmes.

2/ Evaluer la toxicité de deux insecticides (Actara et Dimilin) homologués en Algérie, en laboratoire sur une espèce commune *Helix aperta.* Leurs effets sont évalués sur l'acétylcholinestérase (AChE), et les enzymes de détoxification et antioxydantes (GST). Enfin, la restauration des réponses est également abordée après alimentation avec une nourriture non contaminée.

3/ Déterminer le niveau de pollution des sols du Nord-Est algérien, par un dosage des métallothionéines dans l'espèce *H. aperta.*

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation des sites d'études :

Les sites d'études sont localisés dans le Nord-Est algérien. Suivant deux transects. Un premier du Nord-Sud, avec Annaba, El Hadjar et Guelma ; le deuxième Ouest-Est, avec El-Tarf et El Kala (Fig. 1). Les cinq sites sont définis comme suit :

Annaba :

Position géographique : 36°86'60.70" N ; 7°76'36.70" E ; Altitude 3 mètres. C'est une ville côtière, la quatrième grande ville d'Algérie et est un pôle touristique et industriel important avec notamment les complexes ArcelorMittal, Fertial et Ferovial entre autres. Son relief est constitué principalement de montagnes à vocation forestière : 52,16 %, collines et piémonts : 25,82 % et plaines : 18,08 %. La région est richement arrosée (650 à 1000 mm/an), sa température moyenne est de 18°C; la biomasse est estimée à quelque 30.000 tonnes. Le potentiel agro-pédologique représente près de 58 600 ha avec 58 % des terres cultivables situées dans les zones de piémont. Elle s'étend sur une superficie de 50 km^2 pour la ville et 1393,12 km^2 pour toute la wilaya (DPSB, 2012).

El Hadjar :

C'est une daïra de la wilaya d'Annaba, située à 10 Km au Sud-Est de la ville d'Annaba. Elle a une superficie de 63 km^2. Elle bénéficie d'un climat humide. La pluviométrie annuelle dans cette région est de 450 à 600 mm/an. La daïra d'El-Hadjar est frontalière avec les Daïras d'El-Bouni au Nord, Ben M'hidi à l'Est, Ain Berda au Sud et Sidi Amar à l'Ouest. Elle comprend plusieurs complexes industriels dont ArcelorMittal qui est considéré comme une source principale de la pollution métallique (Larbaa & Soltani, 2014). Sa position géographique est la suivante : 36°80'35.00" N ; 7°74'26.40" E; Altitude 1 mètre. C'est une daïra située à la périphérie de la ville d'Annaba qui a un grand complexe de sidérurgie, ArcelorMittal.

Guelma :

Guelma (36°53'55.40" N ; 7°46'68.20" E ; Altitude 307 mètres) est une ville urbaine et agricole. Elle se situe au cœur d'une grande région agricole, entourée de montagnes (Maouna, Dbegh, Houara) ce qui lui donne le nom de ville assiette, sa région bénéficie d'une grande fertilité grâce notamment à l'Oued Seybouse et d'un grand barrage qui assure un vaste périmètre d'irrigation. Elle occupe aussi une position géographique stratégique en sa qualité

de carrefour reliant le littoral des Wilaya de Annaba, El Tarf et Skikda, aux régions intérieures telles que les Wilaya de Constantine, Oum El Bouaghi et Souk-Ahras ; elle une pluviométrie de 450-600 mm/an et dispose d'un important pôle industriel avec : CYCMA (Complexe de fabrication cycles et cyclomoteurs), une raffinerie de sucre, une unité de céramique et vaisselle (ECVE), une conserverie Amor Benamor (CAB) et une semoulerie (Les Moulins Benamor).

El Tarf :

C'est une daïra de la wilaya d'El-Tarf, située à 60 Km à l'Est de la ville d'El-Hadjar. Elle a une superficie de 111,4 km^2. Elle bénéficie d'un climat humide. La pluviométrie annuelle dans cette région est de 420 à 620 mm/an. Elle est frontalière avec les Daïras d'ElChatt au Nord, El-Kala à l'Est, Zrizer au Sud et Bouteldja à l'Ouest. C'est une zone agricole (Larbaa, 2014). El Tarf (36°77'69.20" N ; 8°22'18.50" E ; Altitude 13 mètres) est une ville urbaine. Elle abrite un lac de 15 ha appelé Lac Des Oiseaux qui constitue une zone d'hivernage pour les oiseaux migrateurs.

El Kala :

Position géographique : 36°85'49.00" N ; 8°33'26.20" E ; Altitude 8 m. Commune adhérante au parc national d'El-Kala (PNEK). Le PNEK a une superficie de 76 438 ha a été crée par le décret 83/462 du 13.07.83 et érigé en zone protégée en 1991 par l'UNESCO dans le but d'une conservation du patrimoine naturel Algérien. Il est situé à l'extrême Nord-Est Algérien (70 Km à l'Est de Annaba et 80 Km à la ville d'El-Hadjar), il est limité à l'Est par la frontière algéro-tunisienne, au Nord par la Mer Méditerranéen, à l'Ouest par l'extrémité de la plaine alluviale d'Annaba et, enfin, au Sud par le contrefort des monts de la Medjerda. Il est servi par un ensemble de conditions naturelles éminemment favorable à une richesse biologique peu commune (Benyacoub & Chabi, 2000), et est 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 (Samraoui *et al.*, 1993). Il borde la Mer Méditerranéen et comprend une belle mosaïque d'habitats qui implique une grande diversité biologique notamment au niveau de la faune: Zones humides (trois lacs), forêts de pins et de chênes (dont une rare forêt littorale de Pins d'Alep), zones montagneuses et écosystèmes marins (Larbaa, 2014).

Figure 1. Localisation géographique des sites d'étude (www.rome2rio.com).

Le Nord-Est algérien bénéficie d'un climat méditerranéen (Fig. 2). Les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. L'indice climatique d'Emberger permet de classer les différents sites d'étude selon leur type de climat. La méthode consiste à calculer le coefficient d'EMBERGER simplifié par STEWART dont la formule est adaptée sous la forme suivante (formule de Stewart, 1968) :

$$Q2 = 3{,}43 \times \frac{p}{M - m}$$

avec

Q2 : quotient pluviométrique d'Emberger

M : la moyenne des températures du mois le plus chaud en °C.

m : la moyenne des températures du mois le plus frais en °C.

P : pluviométrie annuelle en mm

Tableau 1 : Paramètres climatiques relevés des sites d'études de 1982-2012 (www.climate-data.org).

Paramètres / Sites	T °C max (M)	T°C min (m)	Pluviométrie annuelle (mm)	Q2
Annaba	30,3	8,2	712	110,5
El Hadjar	30,4	7,6	701	105,5
Guelma	34,5	3,6	557	61,8
El Tarf	32,9	7,1	694	92,3
El Kala	31,9	7,9	723	103

Les valeurs de Q2 et les températures minimales nous permettent de déterminer l'étage bioclimatique des sites d'étude. Les sites Annaba, El Hadjar El Tarf et El Kala font partie de l'étage climatique sub-humide. Le site de Guelma fait partit de l'étage climatique semi-aride.

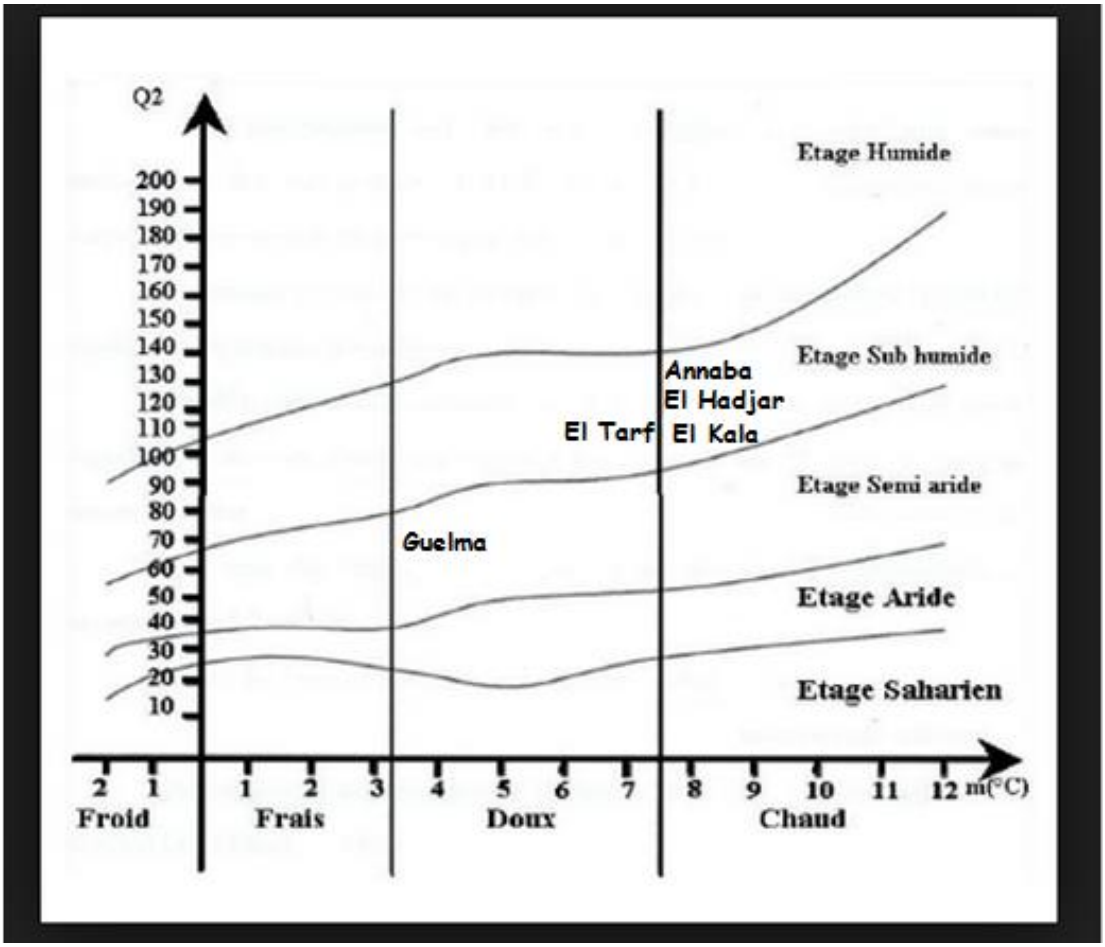

Figure 2. Climagramme d'Emberger : position des sites d'étude.

2.2. Analyses physico-chimiques des sols :

Les propriétés du sol (porosité, hygrométrie, température, teneur en oxygène et en dioxyde de carbone, quantité de matière organique) varient selon le type de sol (sol calcaire ou acide, argileux, sableux ou limoneux, ces propriétés étant liées aux facteurs climatiques et à la nature de la roche mère) mais aussi avec la profondeur (Deprince, 2003).

Préparation du sol:

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

2.2.1. Texture :

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

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

X1 = P2-P3 (poids de l'humidité).
X2 = P3-P1 (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)

Pour calculer le pourcentage d'humidité :

X1 ⟶ X2 g de sol sec
Y ⟶ 100 g de sol sec

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

Tableau 2 : Echelle de la texture selon Gaucher (1968).

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

2.2.2. Matière organique :

Elle est déterminée selon les étapes suivantes :

On met 0,5 g de sol dans un Erlenmeyer, on ajoute 10 ml de bichromate de potassium (8 %) avec 15 ml d'acide sulfurique concentré (95 %). On laisse bouillir pendant 5 mn sur une plaque chauffante, après refroidissement on transverse le contenu dans une fiole de 100ml et on ajoute de l'eau jusqu'au trait de jauge. On prend 20 ml de la solution, on ajoute 100 ml d'eau distillée ainsi que 2 à 3 gouttes de diphénylamine et une pincée de Naf. On titre la solution avec le sel de Mohr (0,2 N) jusqu'à ce que la solution vire de la couleur violette à la couleur verte, la quantité de sel de Mohr utilisée est **X**.

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

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

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

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

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

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

P : poids du sol sec (1 g).

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

1,72 : coefficient de proportion moyenne de carbone dans la matière organique.

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

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

2.2.3. pH eau :

C'est la mesure de l'acidité d'une suspension de terre dans de l'eau, avec un rapport terre /eau normalisée (1 /5). Il indique aussi la concentration en ions H^+ présents dans l'eau (Morel, 1968). Le mélange est agité deux heures dans un agitateur mécanique. La lecture du pH se fait sur un pH mètre. On compare les valeurs du pH selon l'échelle de Gaucher (Tableau 4).

Tableau 4 : La gamme de pH des sols (Gaucher 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

2.2.4. Conductivité électrique :

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

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

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

2.2.5. Calcaire :

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

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

$$\% \, CaCO_3 = \frac{50 \text{ ml (HCl)} \times 0{,}5 \text{ N} - X \text{ ml (NaOH)} \times 0{,}25}{5 \text{ g (Poids du sol)}} \times 5$$

Calcaire actif : On met 10 g de sol dans un flacon avec 250 ml d'oxalate d'ammonium (0,2N), qu'on agite pendant 2 heures à l'aide d'un agitateur mécanique. On filtre la solution et on prélève 9 ml du filtrat, on complète par 1ml d'acide sulfurique pur et on titre le mélange

par le permanganate de potassium ($KMnO_4$) (1N) sur un agitateur magnétique chauffant réglée à 60°C jusqu'à l'obtention d'une coloration en rose.

Le calcaire actif est calculé selon la formule suivante :

Teneur de calcaire actif (%) = (N-n) x 12,5

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

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

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

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

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

2.2.6. Porosité :

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

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

La densité apparente **(Da)** est calculée selon la formule suivante :

$$\textbf{Densité apparente } (\textbf{g/cm3}) = \frac{\textbf{Masse de l'échantillon}}{\textbf{Volume de l'échantillon}}$$

Densité réelle (Dr): Elle exprime la densité des éléments constituant la phase solide du sol ; la Dr représente la masse du solide / le volume du solide et est généralement comprise entre 2,5-2,6 g/cm^3 (Morel, 1989).

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

$$\textbf{Densité réelle } (\textbf{g/cm3}) = \frac{\textbf{Masse du sol}}{\textbf{Volume du sol}}$$

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

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

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

-Texture sableuse : porosité > 30 %.

-Texture sablo – limoneuse : porosité assez forte 20 - 30 %.

-Texture sablo – argileuse: porosité assez faible 10 - 20%.

-Texture Argileuse: porosité faible < 10%.

2.3. Inventaire et biométrie des Gastéropodes Terrestres :

La chasse à vue est largement utilisée en malacologie. Elle consiste à observer directement les individus présents dans leur habitat, sur les troncs d'arbres, sous des chablis, sous des pierres, sur des vieux murs, etc… (Bouaziz-Yahiatene *et al.,* 2014). Les espèces visibles à l'œil nu sont recherchées dans tous les milieux favorables et sont ramassées à la main ("hand-picking") (Paul, 1975 ; Bishop, 1977b ; Paul, 1978a ; Bishop, 1980 ; Cameron, *et al.,* 1980 ; Dillon, 1980 ; Brönmark, 1985 ; Pip, 1986 ; Jokinen, 1987 ; Tattersfield, 1990 ; Nyilas & Sümegi, 1991 ; Dussart *et al.,* 1995 ; Wardhaugh, 1995 ; Gosteli, 1996 ; Wardhaugh, 1997 ; Barker & Mayhill, 1999 ; Emberton *et al.,* 1999 ; Lewis & Magnuson,

2000 ; Micharlik-Kucharz *et al.*, 2000 ; Falkner *et al.*, 2001 ; Labaune & Magnin, 2001 ; Bonham *et al.*, 2002 ; Darby *et al.*, 2002 ; Kiss & Magnin, 2002 ; Labaune & Magnin, 2002 ; Kiss & Magnin, 2003 ; Cameron & Pokryszko, 2004 ; Kiss *et al.*, 2004 ; Pokryszko & Cameron, 2005 ; Pokryszko *et al.*, 2006 ; Boschi & Baur, 2007a ; 2007b). Dans l'optique d'une "standardisation" de l'effort d'observation, de nombreux auteurs (la plupart de ceux précédemment cités) ont recours à une chasse limitée par une durée de temps fixée, allant de 15 minutes à 1 heure. L'alternative est de ne pas fixer de durée et de considérer que le prélèvement est terminé quand le milieu a été suffisamment visité et qu'aucune nouvelle espèce n'a été observée. Les Gastéropodes Terrestres sont à rechercher de préférence par temps doux et humide. Par temps sec, on pourra rechercher escargots et limaces dans tous les micromilieux humides pouvant servir d'abri pendant la journée : pierres, branches mortes, litière, base des plantes… Une bonne partie des espèces les plus grandes pourront être localisées de cette manière, mais la discrétion des espèces rendent ardue l'échantillonnage. Les escargots les plus petits devront être recherchés plus méthodiquement, par tamisage de la litière du sol par exemple (Karas, 2009).

2.3.1. Echantillonnage :

L'échantillonnage s'est fait par la collecte de Gastéropodes Terrestres dans différents écosystèmes terrestres (Annexe 1, Végétation). Durant la période allant de janvier 2014 jusqu'à janvier 2015. Un relevé mensuel a été établi dans les différents sites d'étude précédemment cités. Les Gastéropodes Terrestres sont ramenés au laboratoire pour les trier, les compter et déterminer les espèces.

Figure 3. Echantillon de Gastéropodes Terrestres (Photo personnelle).

2.3.2. Identification :

Les Gastéropodes forment la plus importante classe des Mollusques avec 90 000 espèces connues (Leveau, 2001). La plupart des espèces peuvent être identifiées à partir de leur coquille (Karas, 2009). Les méthodes d'identification décrites par Bonnet *et al.* (1990) et Chevalier (1992) se basent sur le nombre de bandes spirales au niveau des coquilles ainsi que la couleur et la forme des coquilles.Les Gastéropodes Terrestres sont de plus en plus facile à identifier, à mesure qu'on les côtoie. On reconnait les escargots adultes car ils ont la coquille bordée (elle possède un petit retroussement). Généralement, les Gastéropodes Terrestres juveniles ont un pied de couleur plus claire que celui des Gastéropodes terrestres adultes. Les jeunes éclosent avec une coquille incomplète, qui sera le sommet de la coquille adulte : au fur et à mesure de la croissance, la coquille grandit vers le bas, en ajoutant des tours. Pour cette raison, les jeunes peuvent avoir une coquille de forme différente de celle des adultes, en particulier dans la région de l'ouverture, où les ornementations (épaississement du bord, lamelles) n'apparaissent parfois que lorsque l'animal est adulte. De plus, les coquilles anciennes sont souvent blanches (même parfois si l'animal est vivant) (Association Noé Conservation, 2009). Il convient donc d'observer plutôt la silhouette générale de la coquille, la forme de l'ombilic, la taille de la coquille (mais attention aux juvéniles), la présence d'ornementations dans l'ouverture (dents, épaississements), de sculptures sur la coquille (lamelles, stries radiales ou spirales), ou encore d'une carène (périphérie anguleuse de la coquille) (Association Noé Conservation, 2009). Les figures 4 et 5 montrent les critères permettant l'identification des Gastéropodes Terrestres.

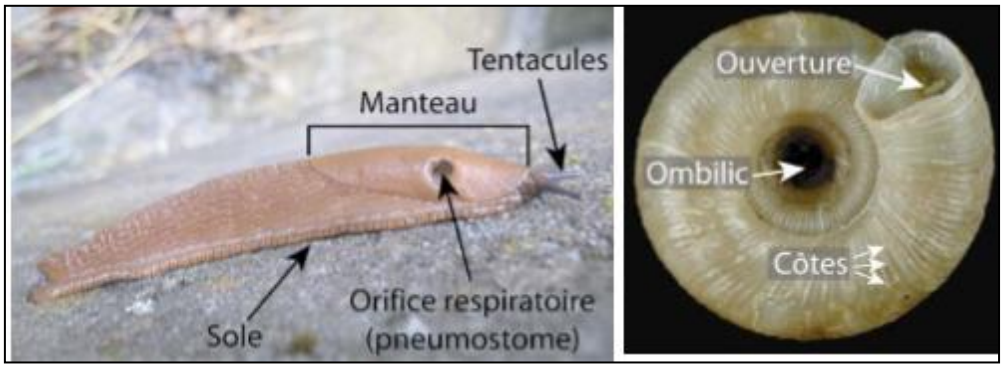

Figure 4. Critères d'identification des Gastéropodes Terrestres.

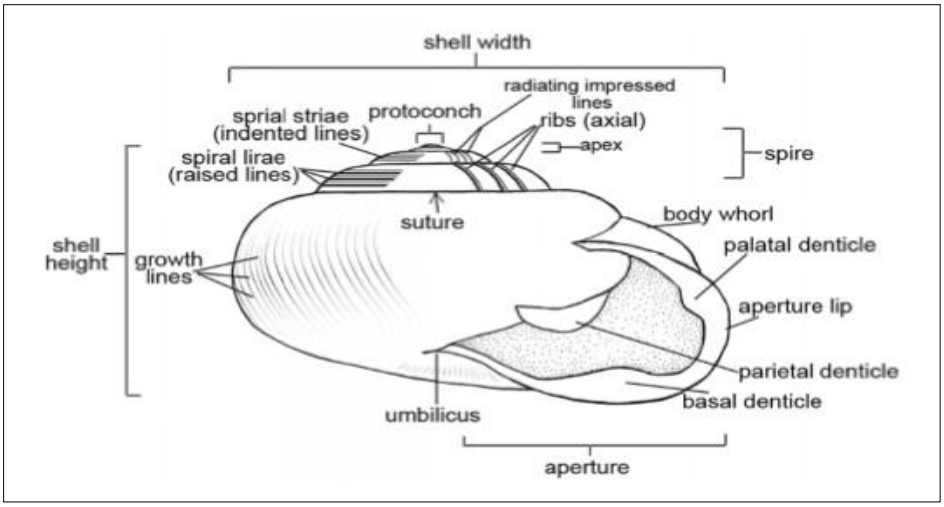

Figure 5. Clés d'identification de Gastéropode Terrestres (Perez et Cordeiro, 2008).

Shell whidth : Largeur de la coquille
Protoconch : Protoconque
Radialing impressed lines : Radialisation des lignes imprimées
Ribs (axial) : Côtes (axiales)
Apex : Apex ou sommet
Spire : Spire
Body whorl : Corps verticille
Palatal denticle : Denticule palatal
Aperture lip : Lèvre d'ouverture
Parietal denticle : Denticule pariétale
Basal denticle : Denticule de base
Aperture : Ouverture
Umbilicus : Ombilic
Growth lines : Lignes de croissance
Shell height : Hauteur de coquille
Spiral lirae (raised lines) : Lignes spirales (lignes surélevées)
Spire striae (indented lines) : Spires stries (lignes en retrait)

Le sens d'enroulement de la coquille (Fig. 6) est parfois un critère d'identification important. Lorsqu'on tient la coquille face à soi, ouverture vers le bas, on peut avoir l'ouverture à gauche (coquille SENESTRE, à gauche ci-dessous) ou à droite (coquille DEXTRE, à droite) (Association Noé Conservation, 2009).

Figure 6. Sens d'enroulement de la coquille.

2.3.3. Biométrie :

Les escargots récoltés sont pesés à l'aide d'une balance de précision Sartorius H110 (précision 0,1 mg), la hauteur (**H**) et le diamètre (**D**) des coquilles est relevé à l'aide d'un pied à coulisse au 1/10 mm. Les espèces présentent différentes grandeurs (Annexe 1, Coquilles).

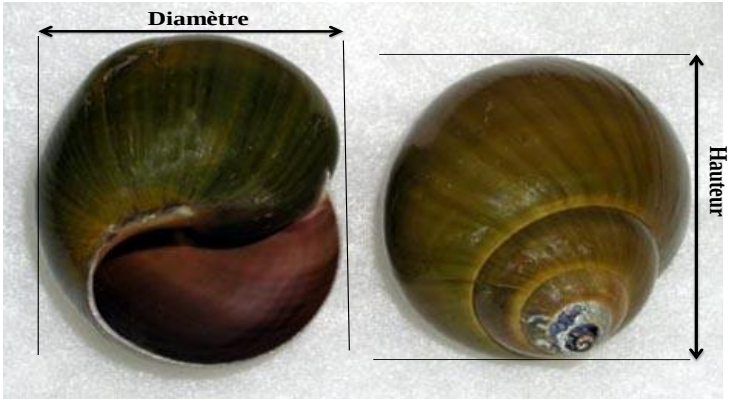

Figure 7. Les paramètres de biométrie chez les Gastéropodes Terrestres.

2.4. Indices écologiques :

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

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

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

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

2.4.4 La fréquence relative (f) : c'est le nombre d'individus d'une espèce sur le nombre total d'espèces.

$$f = ni/N$$ où :

ni : abondance spécifique de l'espèce i.

N : abondance du peuplement.

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

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

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

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

$$H' = -\sum_{i=1}^{i=n} Pi \, Log_2 Pi \quad \text{où} \quad Pi = n_i/N \quad Log_2 Pi = Log\, Pi \times 3{,}322$$

n_i : effectif de l'espèce i.
N : effectif total du peuplement.
H' est exprimé en Bit (Binary digit).

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

2.4.7. L'équitabilité ou équipartition (E) :

Répartition égale d'une substance, d'une propriété, d'une force à l'intérieur d'un tout (www.Larousse.fr).

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

$$E = H'/H'\ max \quad \text{où} \quad H'\ max = Log_2\ S$$

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

2.5. Modèle biologique *Helix aperta* :

2.5.1. Taxonomie :

Helix aperta (Born, 1778) synonyme *Cantareus apertus* (Fig. 8).

Règne : Animalia

Embranchement : Mollusca

Classe : Gasteropoda

Ordre : Stylomatophora

Famille : Helicidea

Genre : *Helix*

Espèce : *aperta* (Born, 1778)

Figure 8. *Helix aperta* adulte (Photo personnelle).

2.5.2. Habitat :

Cette espèce existe dans tous les types d'habitats méditerranéens à influence maritime, c'est une espèce de synanthropes (à savoir qu'elle vit près des humains et bénéficie donc d'une association avec eux) (Neubert, 2013).

2.5.3. Distribution géographique :

H. aperta est une espèce méditerranéenne centrale qui est enregistrée en France (zones à influences maritimes), à l'ouest de l'estuaire du Rhône, et en Corse. Très répandus en Italie : Sardaigne, Sicile, Malte. En Croatie, Monténégro (côte seulement), et les zones côtières de la Grèce, y compris toutes les grandes îles. En dehors de l'Europe, elle est également connue de l'Algérie, la Tunisie et la Libye occidentale, et la côte méditerranéenne de la Turquie. (Neubert, 2013). Cette espèce se retrouve également dans les îles de la mer Tyrrhénienne, péninsule italienne en Ligurie et de la Romagne, les îles Ioniennes, Grèce centrale, îles de la mer Égée, Chypre (une seule localité) (Welter-Schultes, 2012). *H. aperta* est comestible et recherché à ce titre, c'est donc une espèce à surveiller (Neubert, 2013) (Annexe 1, Liste rouge).

2.5.4. Morphologie :

Le periostracum (la fine enveloppe qui constitue la partie la plus externe de la coquille) d'*H. aperta* est de couleur vert olive. Le dernier tour de la coquille est beaucoup plus grand que les autres. Un epiphragme blanc convexe est construit pour l'estivation. La couleur du pied de l'animal est très variable tout au long de sa vie, de jaunâtre à presque noir, les jeunes sont souvent jaune verdâtre avec des tentacules gris (Welter-Schultes, 2012). *H. aperta* est un escargot terrestre de grosseur moyenne de 13,46 mm de hauteur pour un diamètre de 22,37 mm, avec un poids moyen de 4,28 g. Les jeunes ont une coquille jaune-vert et le corps beige-jaune, qui vont s'assombrir à l'âge adulte, où la coquille devient uniformément brune et le corps sera presque noir. Le corps d'*H. aperta* est constitué de 3 grandes parties : la tête, le pied, et les viscères sous la coquille. La tête est munie le plus souvent de deux paires de tentacules. La première paire de tentacules porte les yeux tandis que la seconde située en dessous est munie d'un organe olfactif et tactile.

2.5.5. Anatomie :

Le tube digestif débute par le bulbe buccal, au plancher duquel se situe l'appareil radulaire dont la partie active, la radula, est animée par une forte masse musculaire. L'œsophage reçoit les conduits de deux glandes salivaires. Quant aux canaux de

l'hépatopancréas (qui est une volumineuse glande digestive) ils de déversent dans l'estomac (Gaillard, 1991) (Fig. 9).

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

Concernant leur appareil circulatoire, les Gastéropodes possèdent un cœur. Celui-ci se trouve dans le tiers posterieur du corps et commande la circulation du liquide sanguin (appelé hémolymphe, car il correspond à la fois au sang et à la lymphe des Vertébrés). Il n'existe pas de vaisseaux sanguins proprement dits, par conséquent l'hémolymphe circule dans les interstices des organes de la cavité viscérale (Grzimek & Fontaine, 1973).

L'escargot se fie peu à sa vue pour se déplacer. Il utilise le plus souvent ses cornes inférieures pour tâter le terrain, flairer sa nourriture et détecter les dangers. Pour se déplacer, l'escargot utilise son pied élargi en un disque reptateur. Ce pied qui est en fait un énorme muscle capable de se contracter et de s'allonger n'autorise qu'un déplacement vers l'avant.

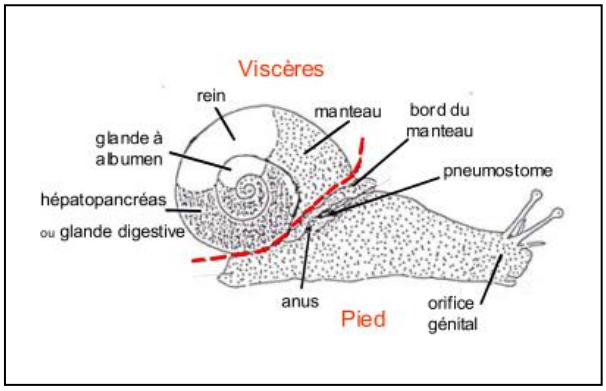

Figure 9. Schéma *H. aperta*.

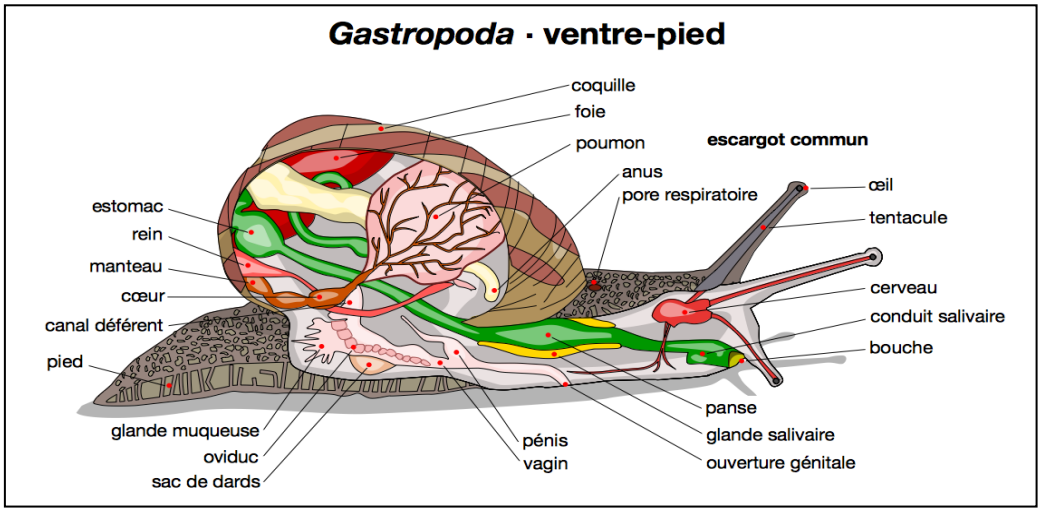

Figure 10. Anatomie interne d'un Gastéropode Terrestre.

2.5.6. Reproduction :

La reproduction des Gastéropodes est toujours sexuée (Fig. 13). La fécondation est interne dans le corps maternel et la transmission des spermatozoïdes assurée par des organes copulateurs (Zhao *et al.,* 1994) (Fig. 11, 12). La ponte s'effectue sous terre (Fig. 14). Les œufs ovoïdes (4-5 x 3 mm) sont fixés dans les embrayages et déposés dans des trous modérément profonds dans le sol. (Welter-Schultes, 2012). Dès les premiers jours d'incubation, l'embryon élabore une coquille protéique qui se calcifie au cours de son développement. En condition naturelle l'incubation varie de 15 à 30 jours, il se libère par rupture de la membrane externe de l'œuf qu'il consomme. Le nouveau né à une coquille transparente, il attend qu'elle jaunisse et se solidifie dans le nid de ponte (6 à 10 jours) (Bertrand-Renault, 2004) (Fig. 15). Les jeunes escargots ont une rapide croissance. Ils atteignent la maturité sexuelle au bout d'une année de vie (Annexe 1, Croissance).

Figure 11. Organe reproducteur, le dard.

Figure 12. Le dard d'*H. aperta* (Photo personnelle).

Figure 13. Accouplement d'*H. aperta* (Photo personnelle).

Figure 14. Œufs pondus dans le sol à quelques centimètres de la surface.

Figure 15. Les escargots éclos remontent à la surface de la terre.

2.5.7. Biologie de l'espèce :

Les Gastéropodes Terrestres possèdent un épiderme constamment humide qui produit du mucus permettant un lent déplacement de l'individu. Ils possèdent un élément caractéristique de leur morphologie : la coquille, dure et enroulée en spirale dans laquelle l'animal peut se rétracter pour échapper aux prédateurs ou pour se protéger de conditions atmosphériques difficiles (sécheresse notamment). L'ouverture de la coquille peut être alors obturée par la sécrétion d'un opercule corné ou calcifié (Karas, 2009).

Pour aider à son déplacement, l'escargot sécrète différents types de mucus. Cette bave est composée de nombreux éléments chimiques comme de l'allantoïne, du collagène, de l'élastine. La bave permet à l'escargot de mieux glisser sur des surfaces accidentées et de mieux s'accrocher sur des surfaces planes ou verticales (www.aujardin.info).

Quand il se sent en danger il a alors un moyen surprenant pour se défendre, il produit un bruit aigue et inhabituel pour un animal comme lui, il « pompe » de l'air qu'il expulse en sécrétant aussi une grande quantité de mucus (Fig. 16). La production de bruit inhabituel et puissant, est une stratégie plus efficace que de se réfugier dans sa coquille qui a une large ouverture qui laisse apparaître une grande partie de son pied.

Figure 16. Sécrétion de bave (Photo personnelle).

2.5.8. Rythme d'activité :

La vie des escargots et limaces est rythmée par la nécessité d'échapper à la dessiccation. Ils sont donc plus actifs la nuit ou par temps humide. La survie pendant les périodes les plus sèches est assurée par la coquille dans laquelle l'individu est protégé de l'évaporation. Les limaces, dépourvues de coquilles, peuvent s'enfoncer profondément dans le sol pour échapper à la chaleur. Certaines espèces estivent. Le régime alimentaire de ces

espèces est phytophage. La prise de nourriture s'opère par le frottement de la langue chitineuse (appelée radula) sur les végétaux (Karas, 2009). L'activité des escargots est préférentiellement nocturne. Elle se synchronise avec la photopériode naturelle et débute au coucher du soleil avec un maximum six heures après celui-ci (Chevallier, 1992). Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse (Chevallier, 1982). Les escargots sont actifs si l'humidité relative de l'air est supérieure à 80 % et si la température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9°C.

2.5.9. Estivation et hibernation :

Chez les limaces, la coquille peut être très réduite, interne, ou avoir complètement disparu. La croissance de cette coquille, spiralée, ne nécessite pas de mue, contrairement à de nombreux insectes. La forme, le sens de l'enroulement (dextre ou senestre) et de manière générale les caractéristiques de la coquille (taille, forme, épaisseur, stries, présence de poils ou de dents….) font partie des critères importants pour l'identification des espèces (Karas, 2009). En hiver quand les températures sont basses il se terre à quelques centimètres de la surface ou bien il ferme sa coquille à l'aide d'un mucus calcaire que sécrète le foie et qui se durcit à l'air; cet opercule s'appelle l'épiphragme (Fig. 17). En été aussi, quand les températures augmentent il se terre à plusieurs dizaine de centimètres et il obstrue son ouverture pour estiver et évité la dessiccation rendant ainsi très difficile la récolte. Il estive enterré relativement profondément dans le sol (Welter-Schultes, 2012).

Figure 17. Epiphragme obstruant l'ouverture de la coquille.

Plusieurs feuillets se superposent en emprisonnant de l'air entre chaque feuillet pour pouvoir en consommer durant la longue période d'estivation (Fig. 18).

Figure 18. Epiphragme de l'escargot en plusieurs feuillets (Photo personnelle).

2.6. Prélèvement des organes :

Les escargots juvéniles sont collectés dans le Nord-Est algérien durant quatre saisons (de mars 2014 à février 2015). Les individus sont de poids moyen de 3,91 ± 2,31 g, et de 14,29 ± 3,24 mm et 19,05 ± 2,99 mm respectivement pour la hauteur et le diamètre de la coquille. On à utilisé cette classe de taille, car c'est celle qui est la plus abondante. Sachant que le poids d'*H. aperta* durant sa vie varie de 0,514g à 17,27g pour une longévité de 4 a 5 années et que la maturité sexuelle est atteinte après une année (Charrier *et al.,* 2013). Les dosages ont été effectués sur des individus vivants récoltés. Après dissection, la tête et hépatopancréas sont prélevés. Le dosage des biomarqueurs GST et AChE est effectué respectivement au niveau des tissus de l'hépatopancréas et de la tête (Fig.19). Les résultats sont exprimés par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon Bradford (1976). *H. aperta* est un bioindicateur utile pour évaluer les métaux lourds. La glande digestive est un bon outil pour l'étude de la pollution par les métaux (Scheifler *et al.,* 2006 ; Hopkin, 1989 ; Berger *et al.,* 1993).

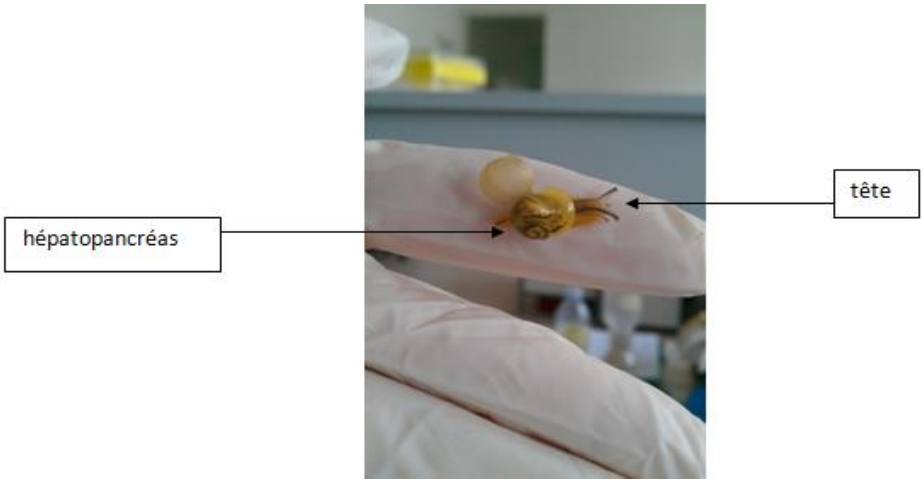

Figure 19. Prélèvement d'organe pour le dosage des biomarqueurs (Photo personnelle).

2.7. Compartimentation et mesure des biomarqueurs :

L'utilisation de biomarqueurs nécessite l'identification de toutes les variations possibles qui peuvent influencer la réponse biochimique, parce que les écosystèmes sont généralement soumis à un mélange de polluants, ce qui peut créer des effets additifs, opposés ou concurrents (Binelli *et al.,* 2006).

2.7.1. Dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase :

Le dosage de l'AChE a été réalisé selon Ellman *et al*. (1961) décrite précédemment (Sifi *et al.,* 2007). Les fragments de tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N' tétra acétique), 1ml Triton X 100 %, 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)] à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrason, puis centrifugés à 9000 trs /min pendant 15 minutes ; le surnageant récupéré servira pour la mesure de l'activité de l'AChE. L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est déterminée comme suit. Une fraction aliquote de 100 µl de surnageant sont additionnées à 100 µl de DTNB (acide 5-5' dithiobis-2-nitrobenzoïque) (0,1 M, pH 8) et 1 ml 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 (118 mg d'acétylthiocholine dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue toutes les 4 minutes pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm, contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente. Les résultats obtenus ont été exprimés en µM/mn/mg de protéines (Fig. 20).

Le principe de la réaction est décrit ci-après :

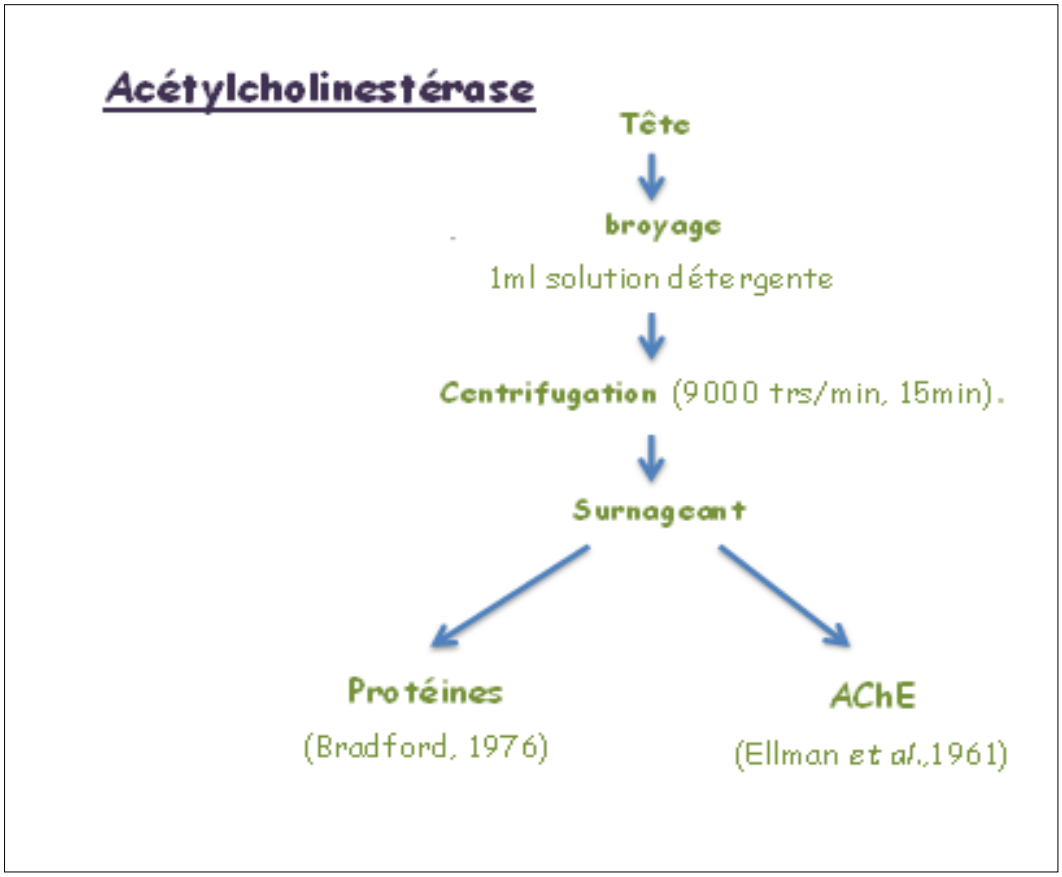

Figure 20. Dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961).

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

$$X = \frac{\Delta DO/mn}{1{,}36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} \Big/ \text{mg de protéines}$$

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

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

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

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

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

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

2.7.2. Dosage de l'activité de la glutathion S-transférase :

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974) décrite précédemment dans (Zaidi & Soltani, 2011). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur, le glutathion (GSH). Les hépatopancréas sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 0,2 ml du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1ml tampon phosphate de sodium (0,1M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 min pendant 5 min à une longueur d'onde de 340nm dans un spectrophotomètre, contre un blanc contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant (Fig.21).

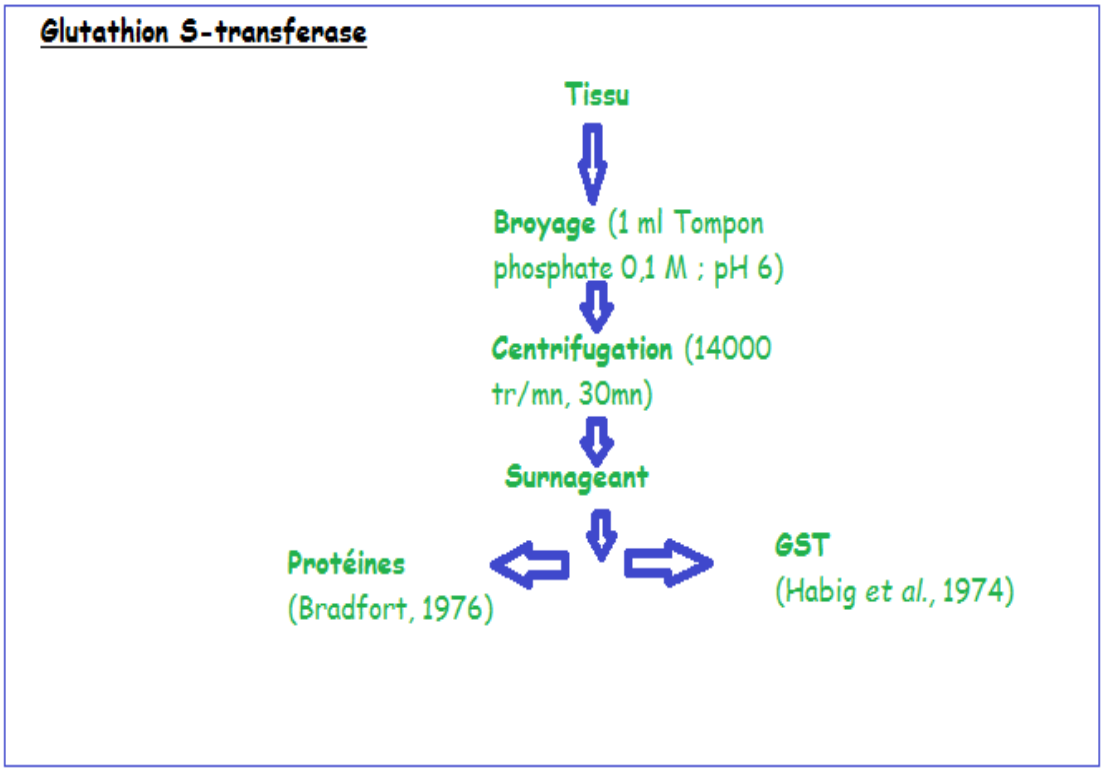

Figure 21. Dosage de la Glutathion S-transférase (Habig *et al.*, 1974).

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

$$\mathbf{GST\ (\mu M/min/mg\ de\ prot\acute{e}ines)} = \frac{\mathbf{\Delta\ D0/mn\ x\ Vt}}{\mathbf{9{,}6\ x\ Vs}}\ \mathbf{/mg\ de\ prot\acute{e}ines}$$

Δ **D0 :** pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB.

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

2.7.3. Dosage des métallothionéines :

Un échantillonnage a été réalisé durant le printemps et l'automne 2015. La biométrie de l'escargot est faite. Les individus sont des adultes de poids moyen de 10,28 ± 1,9 g, d'une hauteur de 25,29 ± 2,9 mm et d'un diamètre de 32 ± 2,6 mm. L'hépathopancréas est broyer dans une solution Tris : 4V Tris /1V hépatopancréas (Tris 20 mM, pH 8,6) [0,6 g Tris, 2,2 g NaCl, dissous dans 200 ml d'eau ultra pure, le pH est ajusté à 8,6, on ajoute 175 µl ß-mercaptoethanol, le tout est ajusté à 250 ml]. L'homogénat est centifuger à 14000 trs/min pendant 55 min à 4 °C. On mesurer les volumes des surnageants puis on prélever 200 µl de surnageant qu'on place dans un micro-tube de 1,5 ml (le surnageant et le culot restant sont congelés). On chauffe les micro-tubes avec 200 µl d'extrait pendant 15 min à 75°C. Les tubes sont mis 10 min dans de la glace. On centrifuge 10 min à 13000 trs/min à 4°C. Le surnageant est prelevé dans un nouveau micro-tube et il est congelé jusqu'au passage à la polarographie (VA Computrace 797, Metrohm). Les lectures des échantillons se font par polarographie (pour les résidus sulfhydryles) (Brdicka *et al.*, 1933). (Fig. 22).

L'extraction doit être réalisée en un minimum d'étapes pour éviter les pertes. Le tampon tris contient des anti-oxydants (ß- mercaptoethanol) pour protéger les groupes sulfhydryles (groupes –SH provenant des cystéines). Ensuite on se base sur la stabilité thermique des MTs pour purifier les extraits (chauffer les extraits quelques minutes à 75°C, provoque la précipitation de beaucoup de protéines mais pas des MTs) (Jacques, 2002).

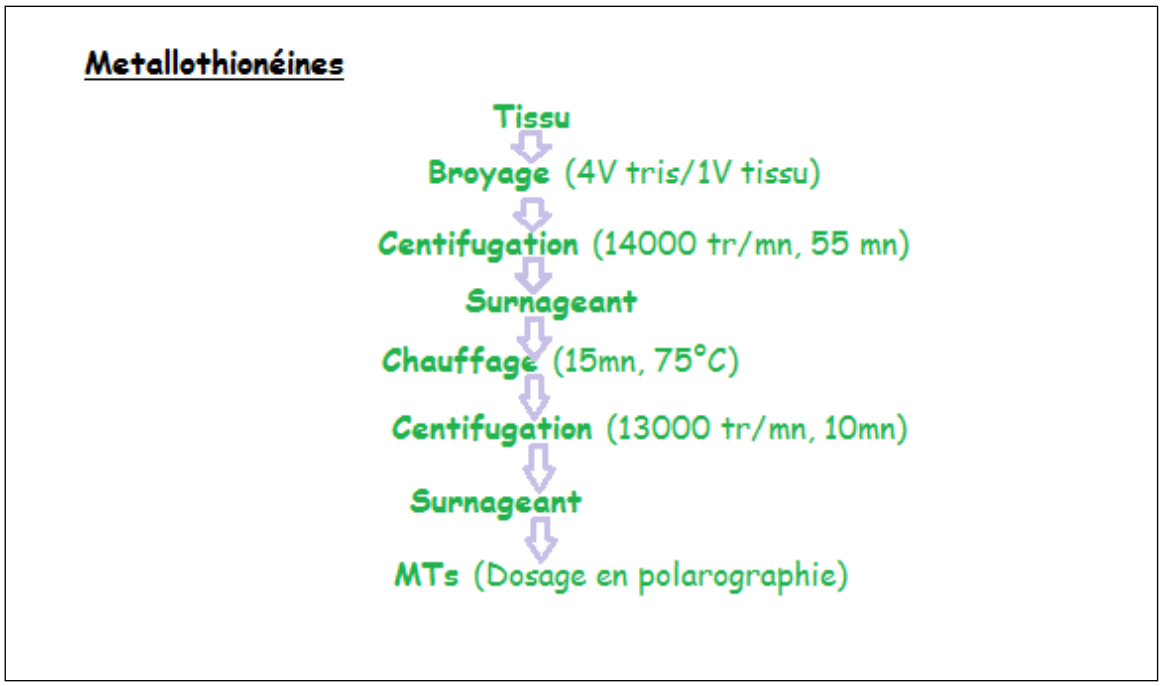

Figure 22. Dosage des MTs.

La concentration des MTs a été déterminée par polarographie, une technique basée sur la détermination des radicaux -SH et décrit par Thompson & Cosson (1984). L'étalonnage des appareils utilisés est effectué par la méthode des additions standards en utilisant la norme Metalothioneine (foie de lapin, Sigma).

La détermination de la teneur MT est basée sur la procédure Brdicka modifiée (Raspor, 2001; Raspor *et al.*, 2001) en utilisant une voltamétrie d'impulsion différentielle (DPV). C'est une méthode électrochimique pour la quantification des MTs, dans lequel un signal électrochimique répond à un groupe thiol (groupes SH-) de résidus cystéine. La quantification de MT est basée sur la relation linéaire entre la hauteur du pic d'hydrogène catalytique (recorde au potentiel - 1,46 V), et la concentration en résidus cystéine. Dans le cas de notre étude, nous doserons les métallothionéines par le biais des groupements thiol (SH) présents dans la cystéine qu'elles contiennent. En utilisant un électrolyte avec du Cobalt (Brdicka), il se formera des complexes SH-Co qui se fixeront sur la goutte de mercure, créant ainsi un courant électrique mesurable.

Les mesures ont été réalisées à l'aide de la polarographie 797 VA Computrace (Metrohm, suisse) avec l'électrode à goutte pendante de mercure comme une électrode de travail, une électrode de référence Ag /AgCl / saturée KCl et une électrode auxiliaire de platine. L'analyse a été réalisée dans 10 ml de désaérée Brdicka qui est un électrolyte de support (1M NH_4OH + 1M NH_4Cl et 0,6 mM $Co(NH_3)_6Cl_3$) à laquelle 50 µl d'échantillon ont été ajoutés. Les

conditions de travail instrumentales étaient un scan potentiel négatif de - 0,9 à - 1,65 V, amplitude d'impulsion 0,02505 V, temps d'impulsion de tension de l'étape de 0,057 0,002594 V, tension temps de l'étape 0,2 s, balayer le taux 0,0130 V/s. Le pic utilisé pour la quantification MT a été enregistré au potentiel - 1,46 ± 0,05 V. Toutes les mesures ont été réalisées à température constante 20,0 ± 0,5 °C. Les concentrations de MTs dans les échantillons ont été obtenues à partir de la courbe d'étalonnage.

La quantification des métallothionéines se fait selon la formule suivante :

$$\boldsymbol{Quantité\ de\ MTs\ (mg/g\ tissu)} = \frac{-\bar{\mathbf{X}}\ \mathbf{éch}}{\mathbf{pente}} \times \frac{\mathbf{Vt\ surnageant}}{\mathbf{Vp\ surnageant}} \times \frac{\mathbf{1}}{\mathbf{masse\ éch}}$$

$\bar{X}$ éch : moyenne des 3 répetitions de lectures de l'échantillon sans standards.

Pente : pente de la droite de régression obtenue à partir de la gamme étalon (3 points de lecture en fonction du standard ajouté : Sans standard, + 50 µl de standard MT, + 50 µl de standard MT).

Vt surnageant : volume total du surnageant (µl).

Vp surnageant : volume de surnageant pris pour la lecture (100 µl).

Masse éch : masse de l'hépathopancréas (g).

2.7.4. Dosage des protéines :

Les données relatives aux biomarqueurs étant exprimées par rapport aux protéines. Ces dernières 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 Coomassie (BBC) (G250, Sigma) comme réactif (100 mg de BBC, 50 ml d'éthanol (95 %), 100 ml d'acide orthophosphorique (85 %) et complété à 1000 ml par l'eau distillée). L'albumine sérum de bœuf (BSA), (Sigma, France) a été utilisée comme standard. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm dans un spectrophotomètre et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de bœuf (1 mg/ml) (Tableau. 7).

Tableau 7 : La gamme d'étalonnage des protéines.

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

2.8. Présentation des insecticides :

2.8.1. Actara :

L'Actara est un insecticide découvert par la société Ciba (maintenant Syngenta AG) en 1991 (Senn *et al.*, 1998). Il fait partie de la classe des néonicotinoïdes ; ces derniers fonctionnent comme l'acétylcholine un neurotransmetteur, et se fixent sur son récepteur au sein des synapses des cellules nerveuses modifiant ainsi l'influx nerveux. L'Actara a un large spectre d'action sur de nombreuses cultures. Au niveau mondial, les ventes de substances néonicotinoïdes représentent un quart des ventes totales d'insecticides. Ces tonnages sont principalement dédiés à la protection des cultures de maïs (INERIS, 2015). L'Actara est utilisé pour éliminer les pucerons. Il a une formulation granulée avec 25 % de thiaméthoxame (l'ingrédient actif : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4-imine) (Fig. 23). Une fois les insectes se nourrissent sur la plante ou entrent en contact avec le thiaméthoxame, l'alimentation est irréversiblement arrêtée. L'Actara est un insecticide du groupe 4. Ce produit est un antiparasitaire. L'insecticide Actara® 25WG supprime (par ingestion et par contact) les insectes suceurs et broyeurs. (Fiche technique Actara, 2012).

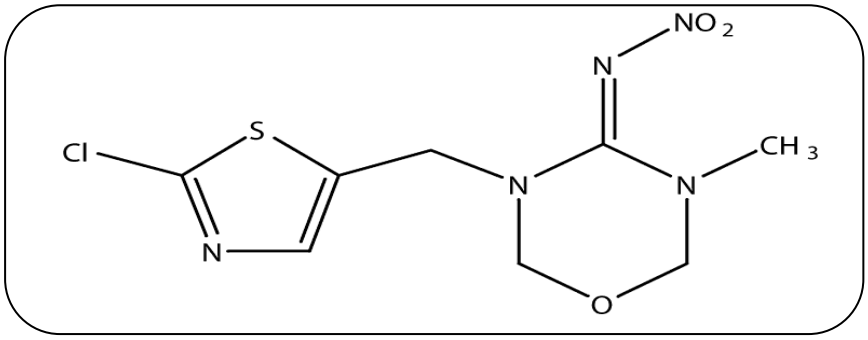

Figure 23. Structure chimique du thiaméthoxame.

2.8.2. Dimilin :

La matière active du Dimilin est le diflubenzuron ($C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$) (Fig. 24). C'est un pesticide couramment utilisé en agriculture, il appartient à la famille chimique des benzoylurées.

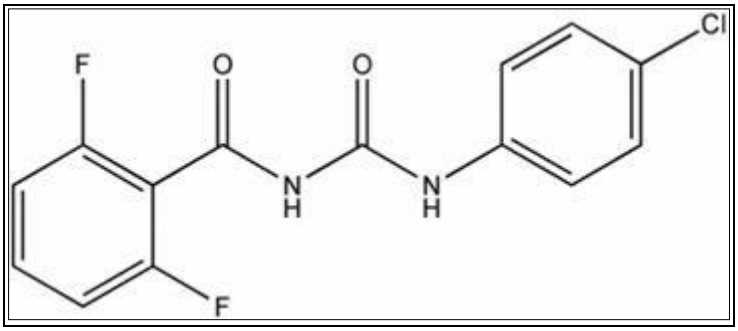

Figure 24. Structure chimique du diflubenzuron.

La classification IRAC des insecticides est un système de classification des substances actives insecticides (ou acaricides) établie par l'Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). Le groupe 4 renferme les insecticides antagonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, et le groupe 15 renferme les insecticides inhibiteurs de la biosynthèse de la chitine (Tableau 8).

Tableau 8 : Classification des insecticides établie par l'Insecticide Resistance Action Committee (IRAC).

Groupes	**Modes d'action**	**Familles chimiques**	**Substances actives**	**Exemples de produits commerciaux**
4A	Antagonistes des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	Néonicotinoïde	**Thiaméthoxame**	Cruiser
15	Inhibiteurs de la biosynthèse de la chitine	Benzoylurée	**Diflubenzuron**	Dimilin

2.9. Traitement insecticide et restauration:

La toxicité visée dans nos tests est une toxicité aigüe (durée d'exposition 96 heures). La durée de la restauration des individus est de 07 jours. Des individus d'*H. aperta* ont été récoltés des différents sites d'études, puis ramené au laboratoire. Une analyse biométrique nous a permis de classer les individus par corpulence. Des lots de 10 escargots, de taille

similaire sont placés dans différentes boites. Pour chaque traitement insecticide, des cristallisoirs en verres (de 2000 ml de capacité chacun) ont été placés au niveau du laboratoire. L'ouverture de chaque cristallisoir a été bien couverte avec un tissu filet fixé avec une bande d'élastique (Fig. 25). Les individus juvéniles ont 14,29 ± 3,24 mm de hauteur de coquille pour un diamètre de la coquille de 19,05 ± 2,99 mm, avec un poids moyen de 3,91 ± 2,31 g. Depuis la collecte jusqu'au traitement, un temps de latence d'une semaine est laissé aux escargots pour induire un bon niveau d'appétit lors du traitement. Après, ils sont nourris tous les jours avec de la laitue achetée du commerce (Fig. 26).

Des essais préliminaires ont été réalisés et deux doses : 2500 mg et 3000 mg de matière active par litre d'eau distillée ont été retenues dans nos essais (Annexe 1, Tests de toxicité). Le traitement est réalisé par application topique de l'insecticide dissout dans l'eau (200 µl/individu/jour) (les temoins recevant le solvant seul). Le traitement est répété chaque jour pendant 96 heures. L'essai est conduit avec trois répétitions. Les analyses biochimiques (biomarqueurs, protéines) sont faites après 96 heures de traitement. Les animaux morts ont été enregistrés chaque 24 heures après le traitement durant 96 heures, par la perte de réponse à une aiguille fine en acier inoxydable selon la procédure de l'WHO (Anonymous, 1965). Les données obtenues ont été exploitées selon la procédure conventionnelle de toxicologie : correction de la mortalité (Abbott, 1925), analyse des probits (Finney, 1971) et estimation des intervales de confiances des doses létales (Swaroop *et al.*, 1966).

Les traitements se résument ainsi :

Traitement Actara des juvéniles avec 2500 et 3000 mg m.a./l (96 h)

Restauration après traitement Actara des juvéniles avec 2500 et 3000 mg m.a./l (07 jours)

Traitement Dimilin des juvéniles avec 2500 et 3000 mg m.a./l (96h)

Restauration après traitement Dimilin des juvéniles avec 2500 et 3000 mg m.a./l (07 jours)

Figure 25. Cristallisoirs contenant les escargots traités (Photo personnelle).

Figure 26. Juveniles d'*H. aperta* sur une feuille de laitue (Photo personnelle).

2.10. Traitement statistique des données :

Les données sont représentées par la moyenne et l'écart type (m ± SD). Elles ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification suivie par le test de Tukey. Une analyse factorielle des correspondances et un dendrogramme sont également utilisés. Les différents tests statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB (Version 16.1.1, Penn State College, PA, USA) avec un niveau de signification : $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Analyse physicochimiques des sols :

Les résultats montrent que les sols des différents sites ont une texture argilo-limoneuse. La matière organique dans les sols est en moyenne bien présente. Le taux enregistré varie de 2,7 à 18,88 % ; à El-Kala le taux est très élevé avec 18,88 %, à El-Hadjar le taux est moyen avec 2,7 %. Le pH est alcalin pour les sols d'El Hadjar, Annaba, El Tarf, et très alcalin à El Kala ; à Guelma le pH est faiblement acide. La conductivité électrique est pour tous les sols inferieur à 0,6 µS. Les différents sites ont des sols calcaires pour ce qui est du calcaire total mais aussi pour le calcaire actif ; le calcaire actif du sol de Guelma est très calcaire avec 33,75 %. La porosité est faible pour El Tarf avec 8,07 % ; en revanche, elle est assez faible pour le reste des sites (Tableau 9).

Tableau 9 : Paramètres physicochimiques des sols des sites d'études.

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

3.2. Identification des Gastéropodes Terrestres et présentation:

Notre étude vise la collecte et l'identification des différentes espèces de Gastéropodes Terrestres dans le Nord-Est algérien (Annaba, El Hadjar, Guelma, El Tarf, El Kala). Les prospections ont été menées de descembre 2012 à octobre 2015. La totalité des espèces est identifié à partir de leur coquille selon les clés de Perez et Cordeiro (2008) (Fig. 27).

Figure 27. Présentation des différentes espèces de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien.

A) *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778) ; **B)** *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758) ; **C)** *Theba pisana* (Muller, 1774) ; **D)** *Helix constantinae* (Bourguignat, 1864) ; **E)** *Helix aperta* (Born, 1778) ; **F)** *Helix aspersa* (Müller, 1774) ; **G)** *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) ; **H)** *Milax nigricans* (Philippi, 1836) ; **I)** *Otala lactea* (Müller, 1774) ; **J)** *Poiretia cornea* (Brumati, 1838) ; **K)** *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) ; **L)** *Zebrina detrita* (Müller, 1774) ; **M)** *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791) ; **N)** *Cernuella sp.*

3.3. Biométrie des Gastéropodes Terrestres :

L'inventaire des Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien a été complété par une étude biométrique (hauteurs et diamètres des coquilles et poids des individus) et morphologique (couleur des coquilles, le nombre de bandes sur les coquilles et couleur du pied).

Cernuella virgata **et** ***Cernuella sp,*** **Famille des Hygromiidés** (petites espèces des milieux secs) (Fig. 28)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 3-19 x 5-25 mm

Identification : Petites coquilles blanches, globuleuses à aplaties. Ornementations sombres souvent présentes (bandes spirales, taches régulières). Ombilic bien ouvert. Souvent des stries d'accroissement. Milieux secs. Nombreuses espèces de forme similaire mais présentant des colorations et des tailles variées.

Figure 28. Famille des Hygromiidés.

Cochlicella barbara, **Cornet méditerranéen** (Fig. 27 B)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 7 x 5 mm

Identification : Coquille en cône blanchâtre, grisâtre ou jaunâtre avec des taches brunes ou des bandes, 7-8 verticilles, ombilic très étroit mais rarement fermé. L'animal est timide et facilement irrité, la coquille est portée position presque verticale.

Theba pisana, **Caragouille rosée** (Fig. 27 C)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 15 x 19 mm

Identification : Coquille globuleuse de taille moyenne. Ouverture elliptique. Coquille à coloration très variable, blanche ou rousse, unie ou présentant des dessins variés. Ombilic très petit, partiellement obturé. Souvent nombreux sur les herbes et plantes basses, en particulier sur le littoral.

Helix constantinae (Fig. 27 D)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 20 x 30 mm

Identification : Cette espèce est caractérisée par 5 bandes brunes sur une coquille blanche.

***Helix aperta,* Petit-gris** (Fig. 27 E)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 22-28 x 22-28 mm

Identification : Coquille de couleur vert olive, dernière spire beaucoup plus grande que les autres.

***Helix aspersa,* Gros-gris** (Fig. 27 F)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 30-35 et 32-40 mm.

Identification : Coquille brun doré portant des bandes brunes interrompues de façon caractéristique.

***Milax gagates,* Limace** (Fig.27 G)

Limace couleur beige, longueur : <10 cm

***Milax nigricans,* Limace** (Fig.27 H)

Limace couleur noir, longueur : <10 cm

Otala lactea (Fig.27 I)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 20 - 24 x 33 - 39 mm

Identification : Coquille de couleur variable mais habituellement avec de nombreux points lumineux soit gris soit bruns. Reconnue par son rebord fortement ouvert et étendu ressemblant à une spatule. À l'intérieur et à la lèvre l'ouverture de l'escargot est fortement colorée, chocolat brun foncé jusqu'à presque noir.

Poiretia cornea (Fig. 27 J)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 32-47 x 10-17 mm

Identification : Coquille légèrement brun jaunâtre, avec des taches brunes, mince, finement striée, peu convexe, suture avec marge semblable à une sonde, ouverture étroite, columelle peu courbée.

Rumina decollata, **Bulime tronqué** (Fig.27 K)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 30 x 12 mm

Identification : Coquille de grande taille, allongée, présentant la caractéristique unique d'avoir le sommet cassé chez les adultes (mais l'ouverture en résultant est bouchée). Vit dans les habitats secs et ensoleillés (Association Noé Conservation, 2009).

Zebrina detrita, **Bulime zébré** (Fig. 27 L)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 12-30 x 8-12 mm

Identification : Coquille blanc crémeux avec des stries radiales irrégulières et floues de couleur brun, apex émoussé (non pointu), ouverture brune claire, ombilic ouvert et partiellement recouvert.

Trochoidea elegans**, Troque élégante** (Fig. 27 M)

Taille de la coquille (hauteur x diamètre) : 7 x 9 mm

Identification : Coquille conique petite à moyenne, plate dessous. Enroulement serré, souvent avec une bande spirale sombre. Ouverture aplatie, avec une encoche à la périphérie. Vit en milieu ouvert et sec.

Le tableau 10 résume les caractéristiques morphologiques et biométriques des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites du Nord-Est algérien. La biometrie est donnée à titre indicatif, et concerne des individus adultes.

Tableau 10 : Morphologie et biométrie des Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien.

Caract. / Espèce	Couleur coquille	Couleur du pied	Nombre de bandes	Hauteur (mm)	Diamètre (mm)	Poids (g)
C. virgata	**beige**	**gris**	**1 bande par spire**	**10**	**18**	**1,730**
C. barbara	**beige**	**beige**	**1 bande par spire**	**8**	**3**	**0,065**
T. pisana	**beige**	**beige**	**stries verticales**	**9**	**12**	**2,000**
H. constantinae	**blanche**	**gris**	**5 bandes**	**20**	**30**	**4,940**
H. aperta	**marron**	**gris**	**/**	**23**	**32**	**9,950**
H. aspersa	**marron**	**beige**	**5 bandes**	**33**	**34**	**12,740**
M. gagates	**/**	**marron/beige**	**/**	**/**	**/**	**4,050**
M. nigricans	**/**	**noir**	**/**	**/**	**/**	**3,780**
O. lactea	**grise/ beige**	**gris/ beige**	**rayée à crible blanc**	**21**	**27**	**6,080**
P. cornea	**marron**	**orange**	**Taches brunes**	**34**	**18**	**3,030**
R. decollata	**marron**	**gris**	**/**	**33**	**12**	**4,230**
Z. detrita	**beige**	**beige**	**stries verticales**	**8**	**4**	**0,600**
T. elegance	**grise**	**gris**	**stries verticales**	**7**	**5**	**0,450**
Cernuella sp	**beige**	**beige**	**1 bande par spire et striée**	**11**	**19**	**1,800**

3.4. Indices écologiques :

Les indices écologiques sont le moyen le plus efficace pour étudier un peuplement donné. La figure suivante montre la structure des Gastéropodes Terrestres récoltés de janvier 2014 à janvier 2015, à partir des différents sites d'étude (Annaba, El-Hadjar, Guelma, El Tarf, El-Kala) (Fig. 29).

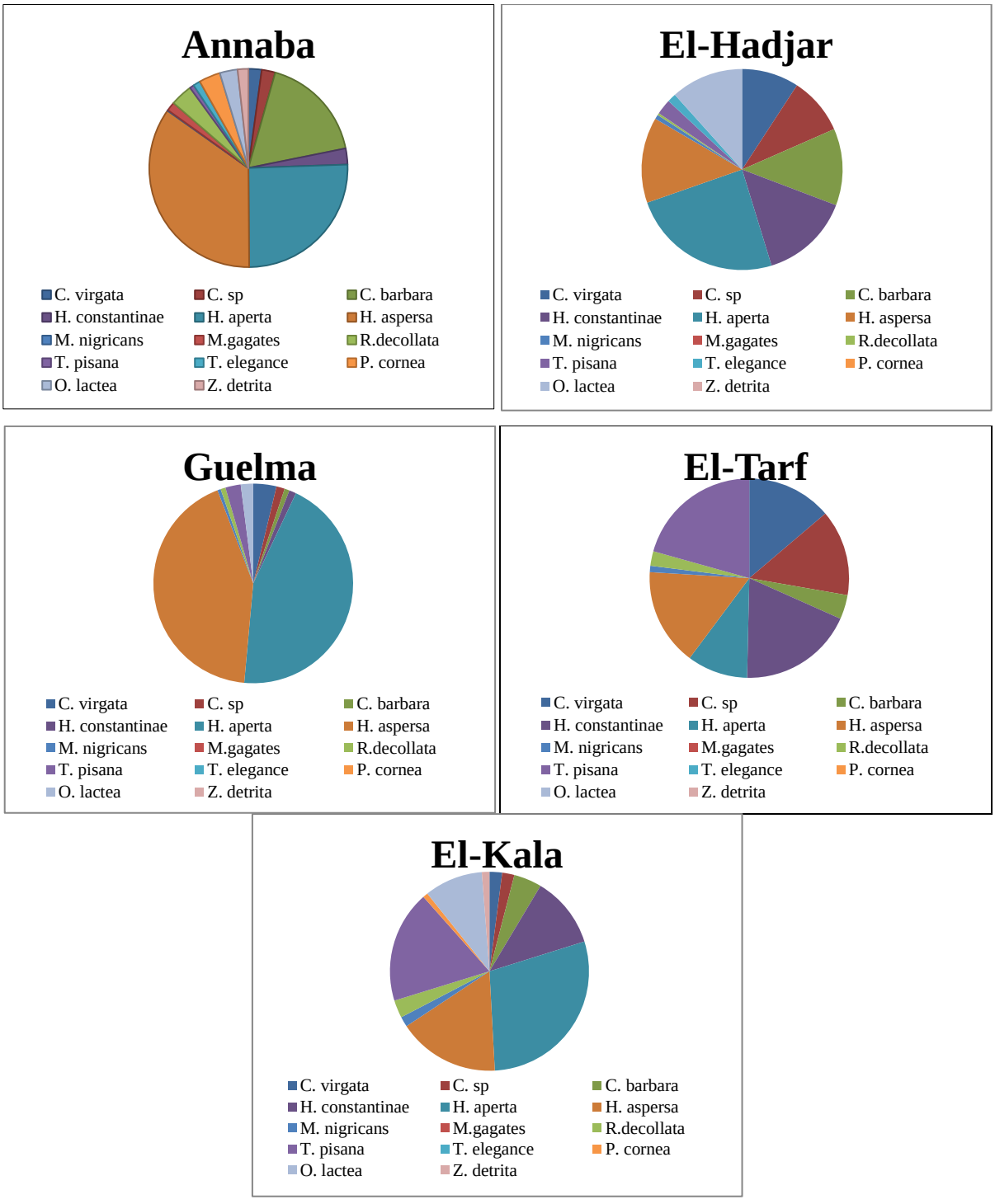

Figure 29. Structure de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien.

Les indices écologiques étudiés sont les indices de composition et les indices de structures suivants: l'abondance (Tableau 11), la fréquence relative (Tableau 12), la fréquence d'occurrence (Tableau 13). La richesse totale, la richesse moyenne, la diversité et l'équitabilité. (Tableau 14).

L'abondance des espèces de Gastéropodes Terrestres montre des nombres élevés pour les espèces *Helix aspersa* et *Helix aperta*, mais aussi *Cochlicella barbara* ou encore *Otala lactea.*

Une absence de certaines espèces de Gastéropodes Terrestres de certains sites d'étude est notée. *Milax gagates* n'est retrouvée que dans le site d'Annaba (Tableau 11).

Tableau 11 : Abondance du peuplement des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'étude.

Sites / Espèces	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El-Kala
C. virgata	**37**	**325**	**56**	**175**	**62**
C. barbara	**300**	**437**	**12**	**50**	**137**
T. pisana	**12**	**87**	**37**	**262**	**550**
H. constantinae	**45**	**512**	**17**	**237**	**350**
H. aperta	**437**	**862**	**662**	**125**	**875**
H. aspersa	**600**	**487**	**637**	**200**	**500**
M.gagates	**25**	**0**	**0**	**0**	**0**
M. nigricans	**2**	**25**	**8**	**13**	**50**
O. lactea	**50**	**412**	**30**	**0**	**287**
P. cornea	**60**	**0**	**0**	**0**	**25**
R. decollata	**62**	**12**	**12**	**30**	**87**
Z. detrita	**30**	**0**	**0**	**0**	**37**
T. elegance	**20**	**50**	**0**	**0**	**0**
Cernuella sp	**38**	**326**	**20**	**177**	**60**

La fréquence relative, qui est le nombre d'individus d'une espèce sur le nombre total d'espèces, est calculée. Le nombre total des espèces du site d'Annaba est 1718. Le nombre total des espèces du site d'El Hadjar est 3535. Le nombre total des espèces du site de Guelma est 1491. Le nombre total des espèces du site d'El Tarf est 1269. Le nombre total des espèces du site d'El Kala est 3020.

Tableau 12 : Fréquence relative des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'étude.

Sites / Espèces	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El-Kala
C. virgata	**0,021**	**0,091**	**0,037**	**0,137**	**0,020**
C. barbara	**0,174**	**0,123**	**0,008**	**0,039**	**0,045**
T. pisana	**0,006**	**0,024**	**0,024**	**0,206**	**0,182**
H. constantinae	**0,026**	**0,144**	**0,011**	**0,186**	**0,115**
H. aperta	**0,254**	**0,243**	**0,443**	**0,098**	**0,289**
H. aspersa	**0,349**	**0,137**	**0,427**	**0,157**	**0,394**
M. gagates	**0,014**	**0**	**0**	**0**	**0**
M. nigricans	**0,001**	**0,007**	**0,005**	**0,010**	**0,016**
O. lactea	**0,029**	**0,116**	**0,020**	**0**	**0,095**
P. cornea	**0,034**	**0**	**0**	**0**	**0,008**
R. decollata	**0,036**	**0,003**	**0,008**	**0,023**	**0,028**
Z. detrita	**0,017**	**0**	**0**	**0**	**0,012**
T. elegance	**0,011**	**0,014**	**0**	**0**	**0**
C.ernuella sp	**0,022**	**0,092**	**0,013**	**0,139**	**0,019**

Les fréquences d'occurrence des espèces sont très variées, on a *H. aspersa* et *C. barbara* qui sont des espèces constantes à régulières dans les sites d'étude. *H. apreta* est constante dans tous les sites d'étude. *C. virgata* et *C. sp* sont accidentelles dans tous les sites d'étude. A noter que *H. constantinae* est constante à El Hadjar et à El Kala, régulière à Guelma et El Tarf, et elle est accessoire à Annaba (Tableau 13).

Tableau 13 : Fréquence d'occurrence (%) des espèces de Gastéropodes Terrestres recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien.

Sites / Espèces	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El-Kala
C. virgata	**11,11 Accidentelle**	**12,96 Accidentelle**	**7,40 Accidentelle**	**11,11 Accidentelle**	**22,22 accidentelle**
C. barbara	**83,33 Constante**	**92,59 Constante**	**90,74 Constante**	**72,22 Régulière**	**96,29 Constante**
T. pisana	**18,51 Accidentelle**	**22,22 Accidentelle**	**16,66 Accidentelle**	**46,29 Accessoire**	**27,77 Accessoire**
H. constantinae	**24,07 Accidentelle**	**98,14 Constante**	**68,51 Régulière**	**53,70 Régulière**	**75,92 Constante**
H. aperta	**72,22 Régulière**	**64,81 Régulière**	**70,37 Régulière**	**72,22 Régulière**	**62,96 Régulière**
H. aspersa	**90,74 Constante**	**92,59 Constante**	**77,77 Régulière**	**94,44 Constante**	**64,81 Régulière**
M. gagates	**33,33 Accessoire**	**0**	**0**	**0**	**0**
M. nigricans	**3,70 Accidentelle**	**18,51 Accidentelle**	**9,25 Accidentelle**	**9,25 Accidentelle**	**27,77 Accessoire**
O. lactea	**37,03 Accessoire**	**38,88 Accessoire**	**22,22 Accidentelle**	**0**	**40,74 Accessoire**
P. cornea	**16,66 Accidentelle**	**0**	**0**	**0**	**9,25 Accidentelle**
R. decollata	**55,55 Régulière**	**27,77 Accessoire**	**27,77 Accessoire**	**27,77 Accessoire**	**46,29 Accessoire**
Z. detrita	**22,22 Accidentelle**	**0**	**0**	**0**	**22,22 Accidentelle**
T. elegance	**14,81 Accidentelle**	**16,66 Accidentelle**	**0**	**0**	**0**
Cernella sp	**12,96 Accidentelle**	**11,11 Accidentelle**	**16,66 Accidentelle**	**9,259 Accidentelle**	**24,07 Accidentelle**

Les résultats montrent que la richesse totale n'est pas homogène dans les différents sites, elle varie de 9 à 14 espèces.

La diversité du peuplement des Gastéropodes Terrestres (H') dans le Nord-Est algérien varie de 1,777 Bit à Guelma, à 2,988 Bit à El Kala. Elle est de 2,668 Bit à Annaba, de 2,841 et 2,958 Bit respectivement à El Tarf et à El Hadjar. L'équipartition est élevée pour tous les sites, elle est de 0,535 à Guelma, de 0,700 à Annaba, de 0,855 à El Hadjar, de 0,833 à El Kala, et de 0,896 à El Tarf (Tableau 14).

Tableau 14 : La diversité du peuplement des Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'études.

Sites / Paramètres	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El-Kala
Richesse totale S	**14**	**11**	**10**	**9**	**12**
Richesse moyenne s	**5**	**4,33**	**3**	**5**	**8,33**
Diversité H' (Bit)	**2,668**	**2,958**	**1,777**	**2,841**	**2,988**
Equitabilité E	**0,7**	**0,855**	**0,535**	**0,896**	**0,833**

En complément des indices écologiques étudiés, une analyse factorielle des correspondances (AFC) est faite. D'après les résultats obtenus par cette AFC (Fig. 30), la comparaison de la distribution des espèces dans les différentes régions est comme suit : les espèces *T. pisana* et *M. nigricance* sont présentes dans tous les sites avec une même fréquence. Par contre, les espèces : *M. gagates*, *T. elegance*, et *C. barbara* ont une distribution aléatoire dans les sites.

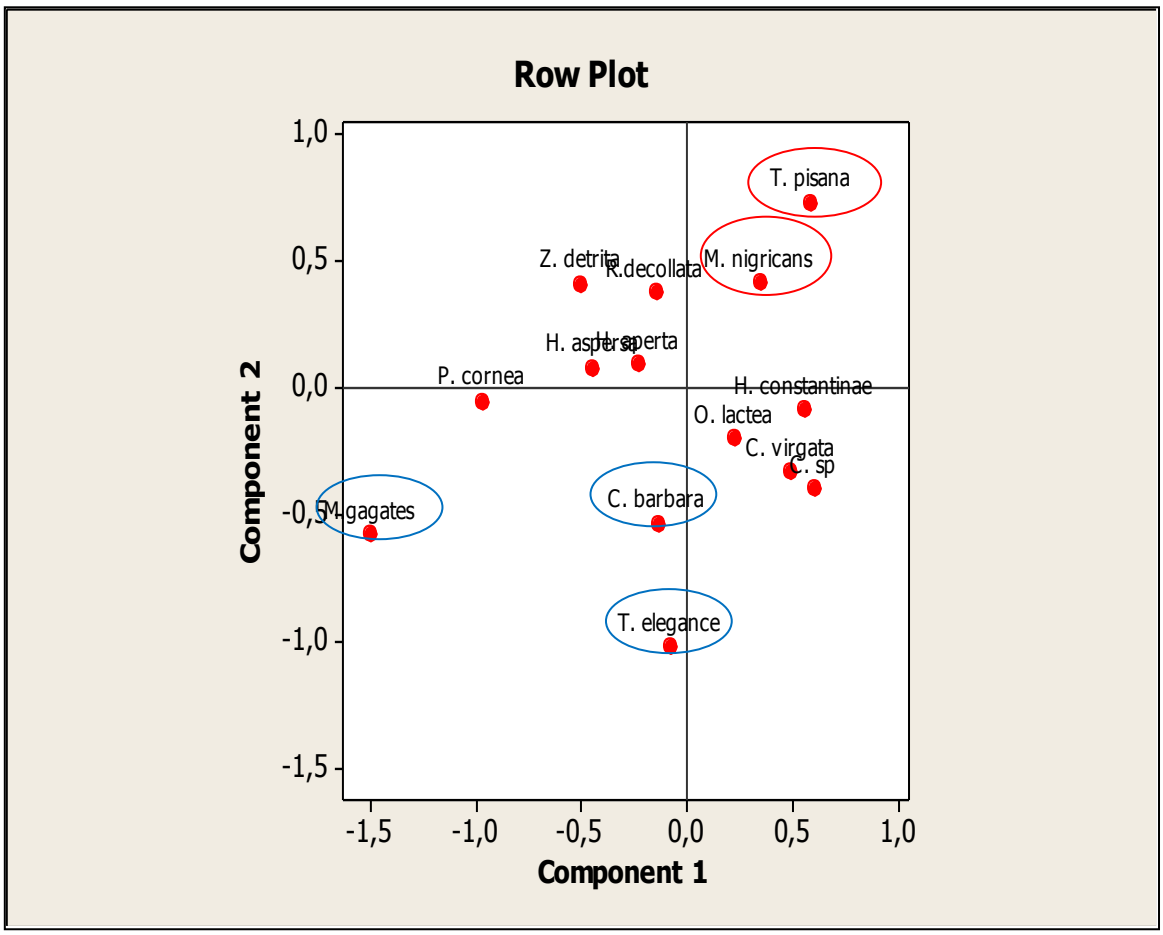

Figure 30. Analyse multivariée (AFC) des différentes espèces répertoriées dans le Nord-Est algérien.

L'AFC représente la répartition des valeurs et des variables des données. Les figures 31 et 32 montrent des cartes représentant graphiquement les similarités entre les sites d'étude d'une part, et la proximité des sites d'études et des espèces d'autre part.

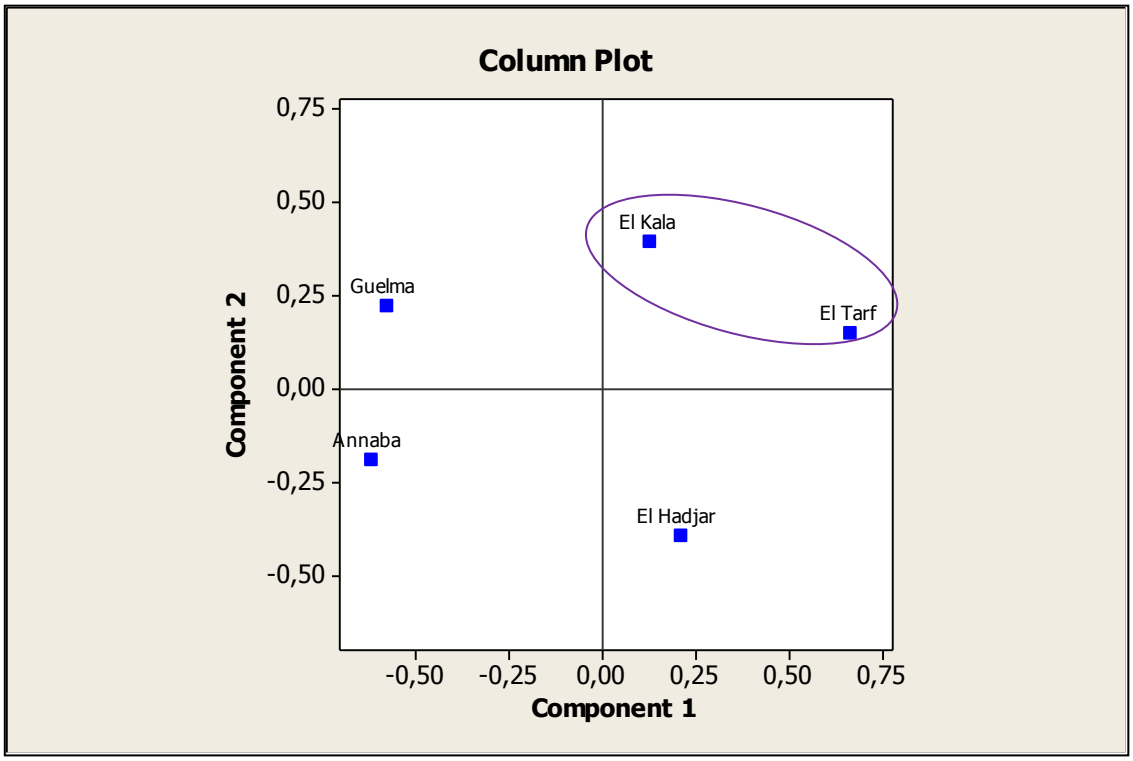

Figure 31. Analyse factorielle des correspondances des 5 sites d'études.

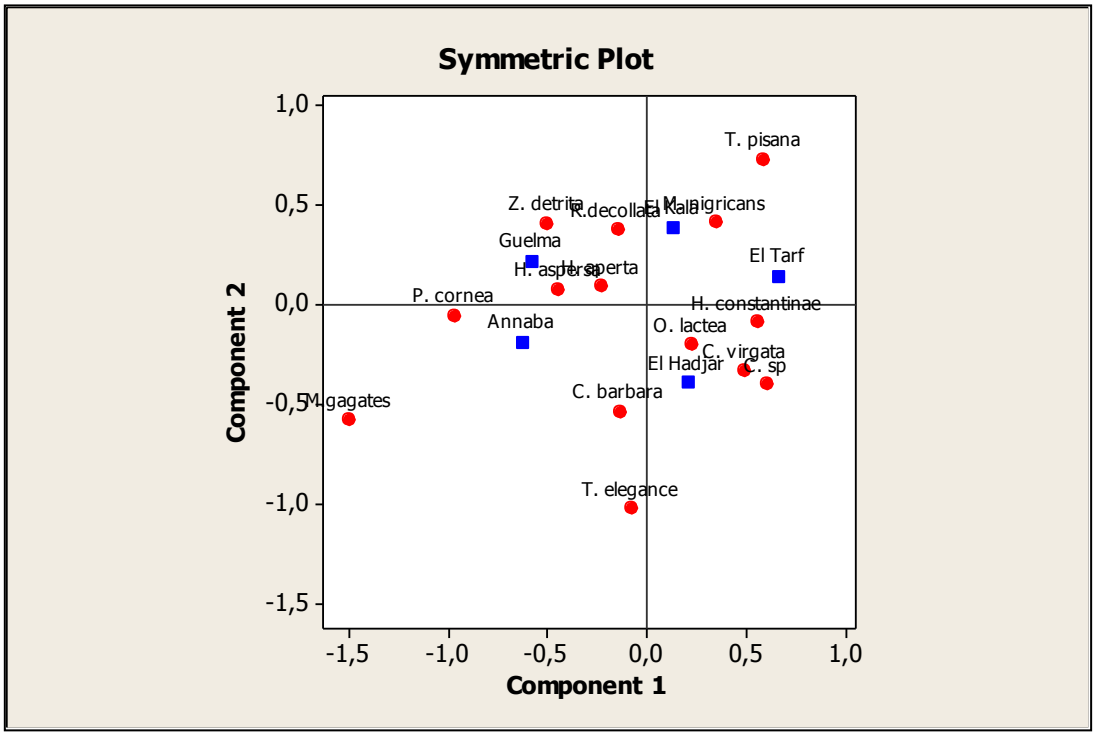

Figure 32. Analyse factorielle des correspondances à deux variables : sites et espèces.

Le dendrogramme suivant montre les similarités des espèces du peuplement entre elles. Les espèces *M. nigricans, M.gagates, R.decollata, T. elegance, , P. cornea, Z. detrita* n'ont pas une très forte similarité du point de vue de leur distribution. Par contre *H. aspersa* et *H. aperta* sont mis en ressemblance (Fig. 33).

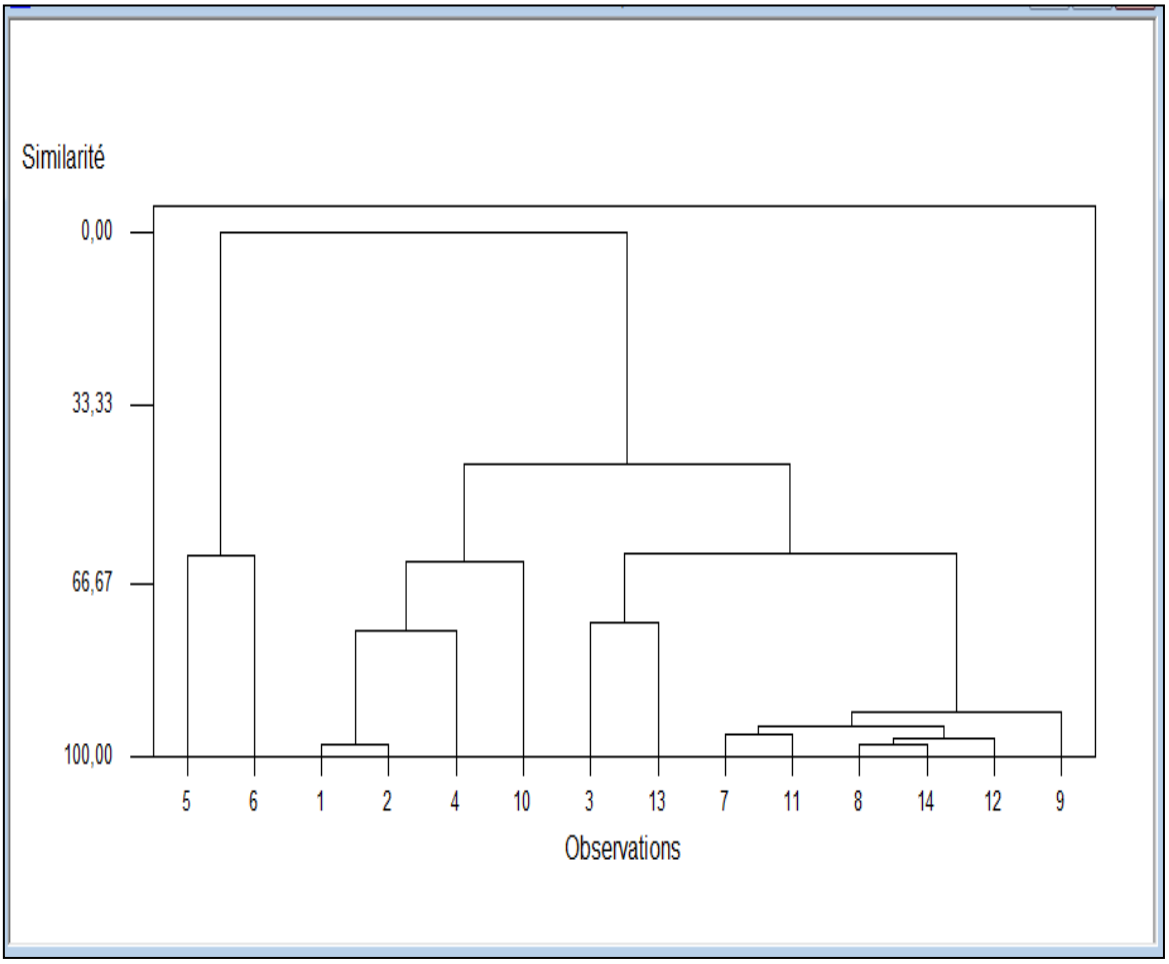

Figure 33. Dendrogramme des espèces de Gastéropodes Terrestres* recensées dans les sites d'étude du Nord-Est algérien.

*L'axe des abscisses représente : (1) *C. virgata*, (2) *Cernuella sp*, (3), *C. barbara*, (4) *H. constantinae*, (5) *H. aperta*, (6) *H. aspersa*, (7) *M. nigricans*, (8) *M.gagates*, (9) *R.decollata*, (10) *T. pisana*, (11) *T. elegance*, (12) *P. cornea*, (13) *O. lactea*, (14) *Z. detrita.*

3.5. Mesure *in situ* des biomarqueurs :

3.5.1. Activité de l'acétylcholinestérase :

La figure 34 montre les différentes valeurs de l'activité de l'acétylcholinestérase. Ces activités ont été mesurées durant les différentes saisons de mars 2014 à fevrier 2015. On remarque que l'activité de l'AChE au printemps est de 45,65 µM/min/mg de protéines à El Kala, de 43,05 µM/min/mg de protéines à El Tarf. L'activité AChE est plus faible en hiver où elle est de 24,86 µM/min/mg de protéines à El Hadjar et 25,38 µM/min/mg de protéines à Annaba.

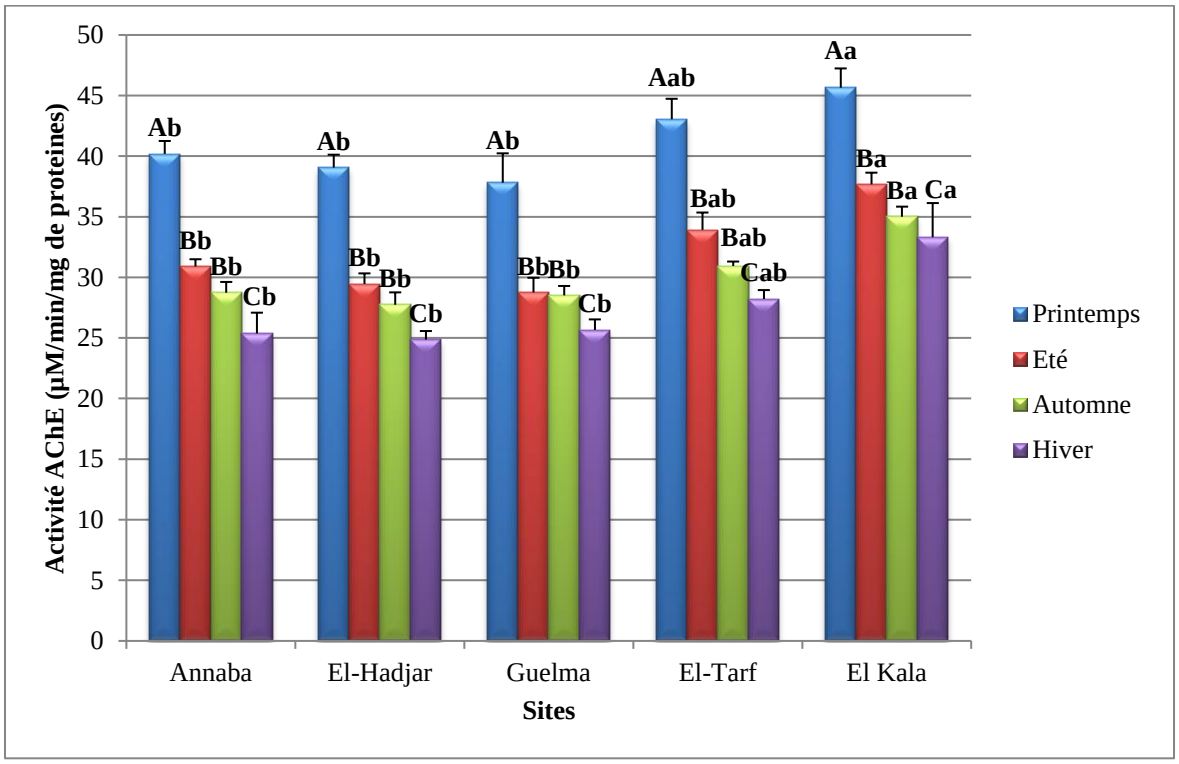

Figure 34. Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* mesurée *in situ* durant les différentes saisons.

Tableau 15 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD, n=5) chez *H. aperta* juvéniles récoltés dans différents sites.

Sites / Saisons	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Printemps	40,188±1,064 **b A**	39,06±1,061 **b A**	37,812±2,421 **b A**	43,050±1,685 **ab A**	45,652± 1,589 **a A**
Eté	30,898±0,596 **b B**	29,456± 0,871 **b B**	28,764±1,202 **b B**	33,920±1,430 a**b B**	37,676±0,962 **a B**
Automne	28,736±0,884 **b B**	27,738±1,022 **b B**	28,518±0,770 **b B**	30,940±0,365 **ab B**	35,004±0,832 **a B**
Hiver	25,380±1,704 **b C**	24,868±0,702 **b C**	25,662±0,869 **b C**	28,216±0,734 **ab C**	33,318±2,812 **a C**

**Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les différents sites, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site pendant les 4 saisons. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes P> 0,05.*

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet site et un effet saison très hautement significatif avec P< 0,001 (Tableau 16).

Tableau 16 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; n = 5) chez *H. aperta* récoltés dans différents sites.

Sources	DDL	SC	MC	F	P
Sites	4	861,03	215,258	123,50	<0,001
Saisons	3	2630,42	876,808	503,04	<0,001
Interaction	12	29,44	2,453	1,41	0,180
Erreur	80	139,44	1,743		
Totale	99	3660,33			

3.5.2. Activité de la glutathion S- transférase :

Les inividus *H. aperta* sont collectés de mars 2014 à fevrier 2015. La glutathion S-transférase est extraite de l'hépatopancréas des individus juvéniles de l'espèce *H. aperta*. La figure 35 montre l'activité de la glutathion S-transférase. La GST est relevée à des taux faible à El Kala durant les saisons printemps et hiver avec respectivement 1,22 et 1,25 µM/min/mg de protéines. On remarque aussi que l'activité de la GST est plus élevée en été pour les sites de Guelma et d'El Hadjar les va1eures sont respectivement de 1,47 et 1,44 µM/min/mg de protéines.

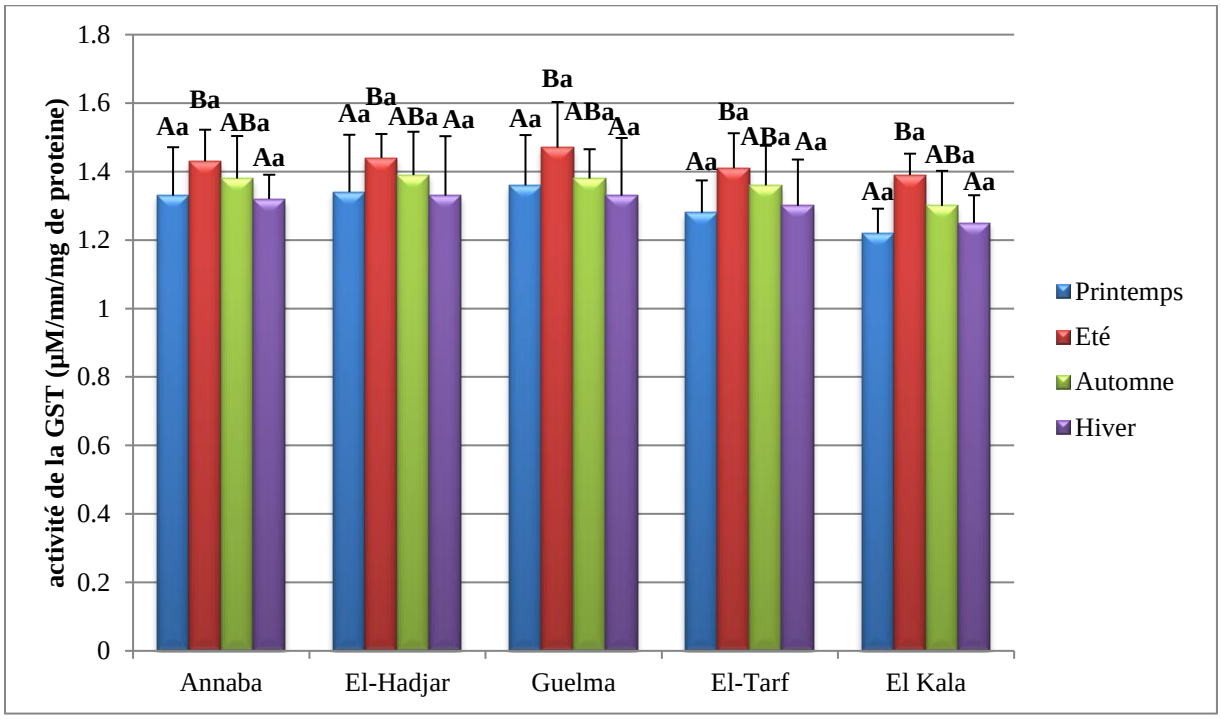

Figure 35. Activité de la glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* mesurée *in situ* durant les différentes saisons.

Tableau 17 : L'activité de la glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H.aperta* juvéniles récoltés dans les différents sites.

Sites / Saisons	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Printemps	1,334±0,141**a** **A**	1,346±0,168 **a** **A**	1,364 ±0,147**a** **A**	1,286± 0,094**a** **A**	1,224±0,072 **a** **A**
Eté	1,438±0,092 **a** **B**	1,444 ±0,070 **a** **B**	1,476 ±0,133**a** **B**	1,410 ±0,102**a** **B**	1,394±0,062**a** **B**
Automne	1,380±0,124 **a** **AB**	1,396±0,127 **a** **AB**	1,384±0,085 **a** **AB**	1,360 ±0,116 **a** **AB**	1,306 ±0,102 **a** **AB**
Hiver	1,328±0,071 **a** **A**	1,336±0,173 **a** **A**	1,338±0,168 **a** **A**	1,304±0,135 **a** **A**	1,250±0,081 **a** **A**

**Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les différents sites, tandis que les lettres en majuscule comparent les moyennes d'un même site pendant les 4 saisons. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes P> 0,05.*

L'ANOVA à deux critère de classification révèle seulement un effet saison significatif ($P \leq 0,001$) (Tableau 18).

Tableau 18 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines ; n = 5) chez *H. aperta* récoltés dans différents sites.

Sources	DDL	SC	MC	F	P
Sites	4	0,12285	0,0307135	2,20	0,077
Saisons	3	0,24917	0,0830570	5,94	0,001
Interaction	12	0,01347	0,0011228	0,08	1,000
Erreur	80	1,11820	0,0139775		
Total	99	1,50369			

3.5.3. Taux de métallothioneine :

La figure 36 montre les différentes valeure du taux de métallothioneine chez les individus adultes d'*H. aperta* ont été utilisés. Les résultats sont exprimés en (mg/g de tissu frais).

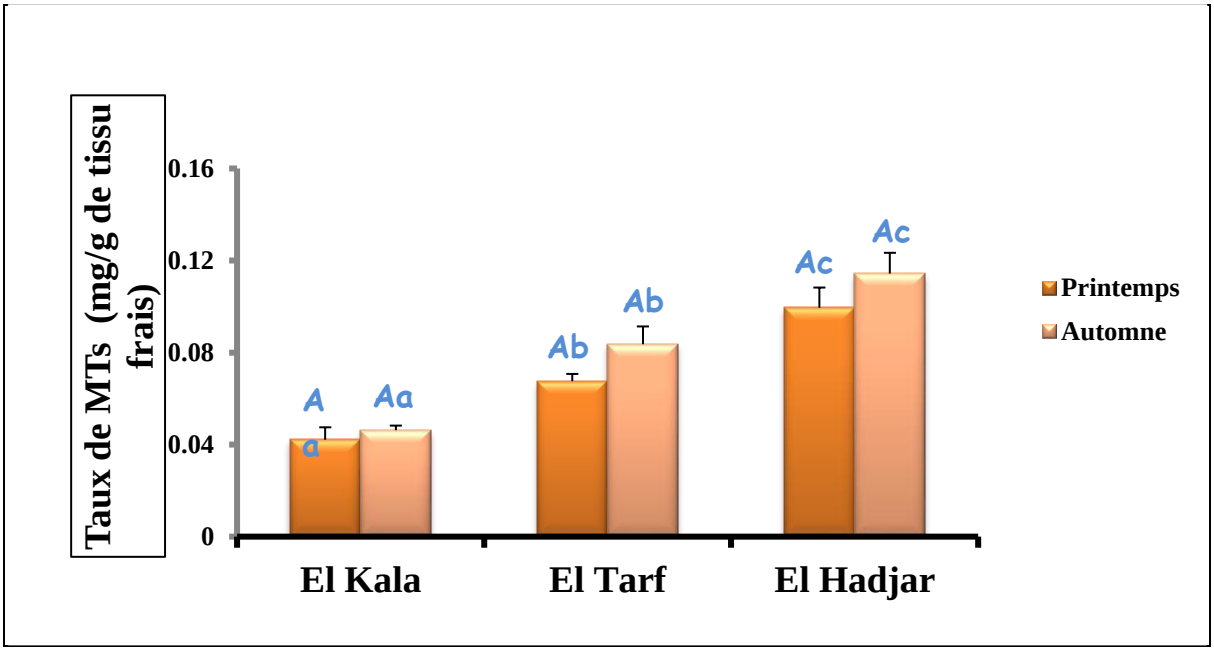

Figure 36. Taux de métallothionéines (mg/g tissu frais) dans l'hépatopancréas d'*H. aperta* en fonction du site et de la saison durant l'année 2015.

Les taux de métallothioneine sont mesurés dans l'hépathopancréas chez *H. aperta* récoltés durant le printemps et l'automne de l'année 2015. Les résultats obtenues sont regroupé dans le Tableau 19. Ils montrent que le taux de métallothioneine est élevé dans le site d'El Hadjar avec 0,099 et 0,114 mg/g tissu frais, respectivement pour le printemps et l'automne. L'ANOVA à un critère de classification du taux de MTs révèle un effet significatif entre les sites.

Tableau 19 : Taux de métallothionéines (mg/g tissu frais ; m ± SD ; n = 4) chez *H. aperta* adultes en fonction du site et de la saison durant l'année 2015.

Site / Saison	El Kala	El Tarf	El Hadjar
Printemps	0,042 ± 0,005 **a** **A**	0,068 ± 0,003 **b** **A**	0,099 ± 0,009 **c** **A**
Automne	0,046 ± 0,002 **a** **A**	0,084 ± 0,008 **b** **A**	0,114 ± 0,009 **c** **A**

**Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les différents sites, tandis que les lettres en majuscule comparent les moyennes d'un même site durant le deux saisons. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes P> 0,05.*

L'analyse de la variance à deux critère de classification montre qu'il y a un effet saisons et un effet sites significatif (P≤0,001) (Tableau 20).

Tableau 20 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs des métallothionéines (mg/g de tissus frais ; n = 4) chez *Helix aperta* adultes récoltés dans différents sites.

Sources	DDL	SC	MC	F	P
Saisons	1	0,0010028	0,0010028	15,71	0,001
Sites	2	0,0166314	0,0083157	130,25	<0,001
Interaction	2	0,0000399	0,0000200	0,31	0,735
Erreur	18	0,0011492	0,0000638		
Totale	23	0,0188233			

3.6. Effet en laboratoire de l'Actara sur les biomarqueurs :

3.6.1. Evaluation des biomarqueurs après toxicité aigue (96h) :

Le traitement insecticide est fait sur des séries de 10 individus juveniles d'*H. aperta*. Les différences de la mortalité sont observées après 96 h pour les deux sites d'études (El Kala et El Hadjar). Les mortalités sont significativement plus élevées dans le site d'El Kala avec une mortalité corrigée 36,36 % pour la dose 2500 mg m.a./l, 38,09 % pour la dose 3000 mg m.a./l, 41,66 % pour dose 3500 mg m.a./l et 62,5 % pour la dose 4000 mg m.a./l. Les mortalités corrigée du site d'El Hadjar sont 12,5 % pour la dose 2500 mg m.a./l, 25 % pour la dose 3000 mg m.a./l, 30 % pour la dose 3500 mg m.a./l et 45 % pour la dose 4000 mg m.a./l. Si on compare les reponses des juvéniles des deux sites on conclut que les individus d'El Kala sont plus sensibles à l'Actara. Les doses retenues pour le traitement sont 2500 et 3000 mg de matière active par litre d'eau distillée (Tableau 21). D'autres symptômes que la mortalité sont obsérvés chez *H. aperta* lors de l'intoxication topique par l'Actara. Ces symptômes sont : une secretion abondante de mucus et un refus de nourriture.

Tableau 21 : Toxicité de l'Actara (mg m.a./l) des individus juvéniles d'*H. aperta* recoltés à El Kala et El Hadjar après une exposition de 96 h, analyse des probits (IC = intervalle de confiance).

Traitement Actara	Droite de régression	Slope	DL50 (I.C)
El-Kala	Y = - 5,43 + 2,94 X	2,121	3565 (2444,5201)
El-Hadjar	Y = - 12,2 + 4,74 X	3,459	4298 (3641, 5073)

L'évaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase est à partir d'une comparaison entre les lots d'individus sains (témoins) et des lots d'individus traités par deux doses différentes d'insecticide Actara (2500 et 3000 mg m.a./l). La figure suivante révèle l'inhibition de l'activité enzymatique.

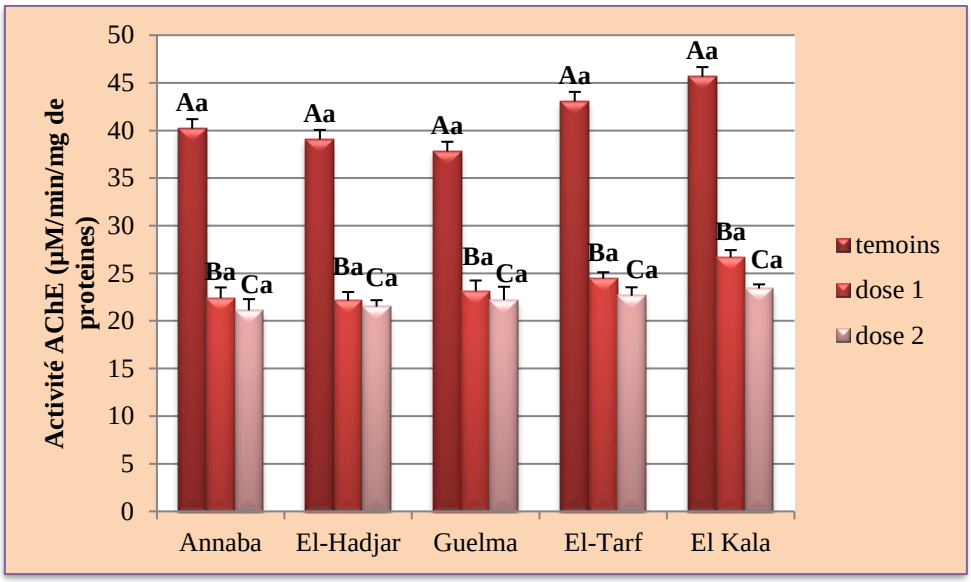

Figure 37. Activité de spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Les résultats rassemblés dans le Tableau 22 montrent que l'activité spécifique de l'AChE diminue significativement après le traitement avec un effet dose et ceci pour tous les sites de récolte. La plus forte diminution de valeurs est observée pour les individus d'El Kala avec 45,65 µM/min/mg de protéines pour les individus témoins à 23,40 µM/min/mg de protéines pour les individus traités par la deuxième dose d'Actara.

Tableau 22 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Traitement	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	40,188±1,064 **a A**	39,060±1,061 **a A**	37,812±2,421 **a A**	43,050±1,684 **a A**	45,652±1,589 **a A**
dose 1	22,398±1,115 **a B**	22,128±0,905 **a B**	23,136±1,107 **a B**	24,450±0,659 **a B**	26,684± 0,751**a B**
dose 2	21,116±1,171 **a C**	21,504± 0,675 **a C**	22,196± 1,391 **a C**	22,640±0,891 **a C**	23,402±0,434 **a C**

**Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même traitement pour les différents sites, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site pour les différents traitements. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

L'inhibition de l'activité AChE après traitement Actara avec la dose 1 est relativement élevée, le site de Guelma represente le taux le plus faible avec 38,81%. Le taux d'inhibition pour l'activité AChE après traitement avec la dose 2 est plus importante à El Kala avec 48,74 %, et le site qui represente le faible taux d'inhibition est Guelma avec 41,30 % (Tableau 23).

Tableau 23 : Pourcentage d'inhibition de l'activité AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Inhibition dose 1 (%)	Inhibition dose 2 (%)
Annaba	44,27	47,46
El-Hadjar	43,35	44,95
Guelma	38,81	41,30
El-Tarf	43,20	47,41
El Kala	41,55	48,74

L'ANOVA à deux critères de classification (Tableau 24) montre des différences très hautement significatives entre les sites, et les doses et aussi pour l'interaction sites doses, avec $p < 0,001$.

Tableau 24 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'AChE (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sources	**DDL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Sites	4	217,47	54,37	36,22	<0,001
doses	2	5544,29	2772,14	1847,06	<0,001
Interaction	8	70,24	8,78	5,85	<0,001
Erreur	60	90,05	1,50		
Totale	74	5922,05			

L'activité de la GST a été mesurée chez *H. aperta* après traitement avec l'insecticide Actara. Deux doses ont été utilisées 2500 et 3000 mg m.a./l. Les résultats sont exposés dans la Figure 38. Pour chaque site les résultats sont comparés avec un lot de témoins.

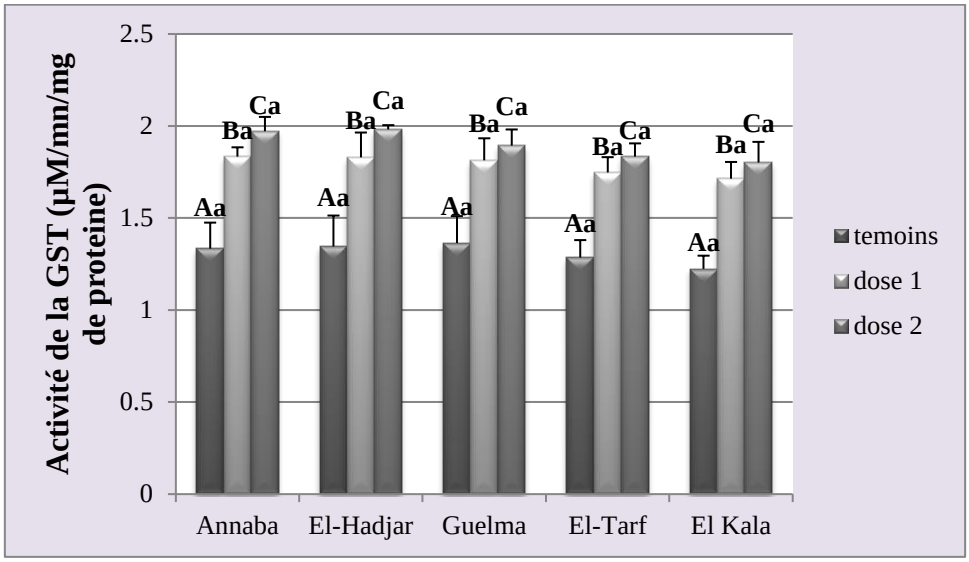

Figure 38. Activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

L'activité de la GST des individus témoins juvéniles varie de 1,22 µM/min/mg de protéines à El Kala à 1,36 µM/min/mg de protéines à Guelma. Une induction de l'activité de la GST après traitement avec la première dose d'Actara est notée pour tous les sites avec une variation de 1,71 µM/min/mg de protéines à El Kala, à 1,83 µM/min/mg de protéines à Annaba. La dose 2 de traitement Actara induit l'activité de la GST dans tous les sites, cependant l'activité de la GST la plus élevé est notée à El Hadjar avec 1,98 µM/min/mg de protéines (Tableau 25).

Tableau 25 : L'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Traitement	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	1,334±0,141 **a A**	1,346±0,168 **a A**	1,364±0,147 **a A**	1,286±0,094 **a A**	1,224±0,072 **a A**
dose 1	1,834±0,050 **a B**	1,830±0,135 **a B**	1,814±0,119 **a B**	1,748±0,083 **a B**	1,714±0,091 **a B**
dose 2	1,972±0,078 **a C**	1,982±0,023 **a C**	1,894±0,087 **a C**	1,834±0,072 **a C**	1,802±0,112 **a C**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même traitement pour les différents sites, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site pour les différents traitements. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

Le pourcentage d'induction de l'activité de la GST est élevé pour le site d'El Kala et ce pour les deux doses de traitement. Cependant le site de Guelma représente le taux le plus faible avec 32,99 % pour la dose 1, et 38,86 % pour la dose 2 (Tableau 26).

Tableau 26: Pourcentage d'induction de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Induction dose 1 (%)	Induction dose 2 (%)
Annaba	37,48	47,83
El-Hadjar	35,96	47,25
Guelma	32,99	38,86
El-Tarf	35,92	42,61
El Kala	40,03	47,22

L'analyse des variances à deux critères de classification (Tableau 27) montre un effet sites et un effet doses très hautement significatif ($p \leq 0,001$).

Tableau 27 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec l'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sources	**DDL**	**SC**	**MC**	**F**	**P**
Sites	4	0,22446	0,05611	5,09	0,001
Doses	2	4,85794	2,42897	220,31	<0,001
Interaction	8	0,02675	0,00334	0,30	0,962
Erreur	60	0,66152	0,01103		
Totale	74	5,77067			

3.6.2. Effet de l'Actara sur les biomarqueurs durant la restauration :

La figure 39 et la figure 40 montrent les différentes valeurs de l'activité de l'acétylcholinestérase durant la période de restauration (7 jours).

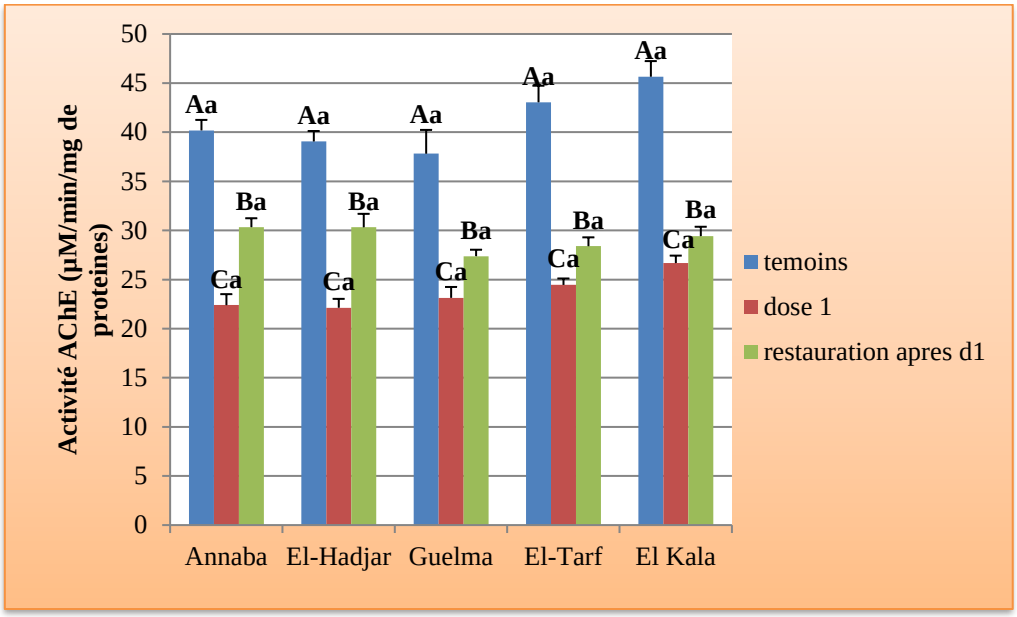

Figure 39. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 1 d'Actara (2500 mg m.a./l).

L'activité spécifique de l'AChE est réduite après exposition à la dose d'Actara de 3000 mg m.a./l. La restauration, après 7 jours, de l'activité spécifique de l'AChE des individus d'Annaba et d'El Hadjar est plus importante, on enregistre peu ou pas de restauration chez les individus d'El Kala et d'El Tarf.

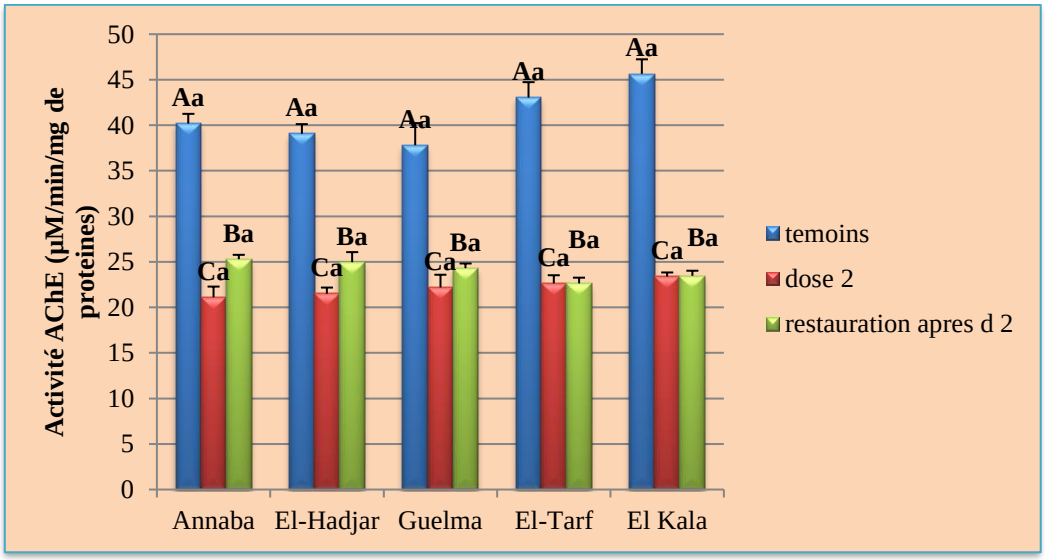

Figure 40. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µMol/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 2 d'Actara (3000 mg m.a./l).

La figure 41 montre l'activité spécifique de l'AChE. Après une restauration de 7 jours des individus traités avec la dose 2 (3000 mg m.a./l) d'Actara, les individus d'Annaba montrent une activité spécifique de l'AChE de 30,33 µM/min/mg de protéines comparativement avec les individus d'El Tarf qui ont une activité spécifique de l'AChE de 22,64 µM/min/mg de protéines.

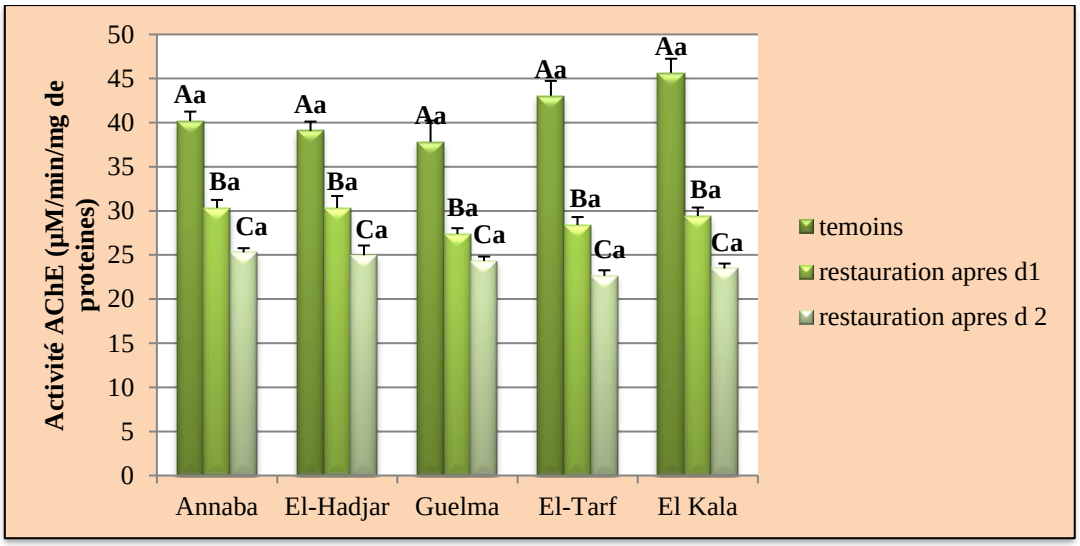

Figure 41. Restauration (7 jours) de l'activié spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l).

La restauration de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase des individus d'*H. aperta* traités avec l'Actara est représentée dans le Tableau 28. Les sites d'El Hadjar et d'Annaba montrent une restauration plus importante par rapport aux autres sites, avec respectivement 30,32 µM/min/mg de protéine et 30,33 µM/min/mg de protéine pour le premier traitement et 24,97 µM/min/mg de protéine et 25,30 µM/min/mg de protéine pour la dose 2 de traitement.

Tableau 28 : Restauration de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites / Restauration	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	40,188±1,064 **a A**	39,060±1,061 **a A**	37,812±2,421 **a A**	43,050±1,685 **a A**	45,652±1,589 **a A**
Restauration après dose 1	30,336±0,905 **a B**	30,324±1,364 **a B**	27,380±0,657 **a B**	28,400±0,896 **a B**	29,424±0,951 **a B**
Restauration après dose 2	25,298±0,473 **a C**	24,968±1,104 **a C**	24,316±0,506 **a C**	22,640±0,623 **a C**	23,468±0,557 **a C**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes après un même temps de restauration, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

Concernant la restauration l'activité de la GST des individus d'*H. aperta* juvéniles après traitement de l'Actara, la valeur la plus basse est pour le site d'El Tarf avec 1,62 µM/min/mg de protéine. En seconde position on trouve le site d'El Kala avec 1,69 µM/min/mg de protéine. La valeur maximale est marquée au niveau du site de Guelma avec 1,79 µM/min/mg de protéine (Fig. 42). El Kala et El Tarf representent la plus faible restauration de l'activité GST.

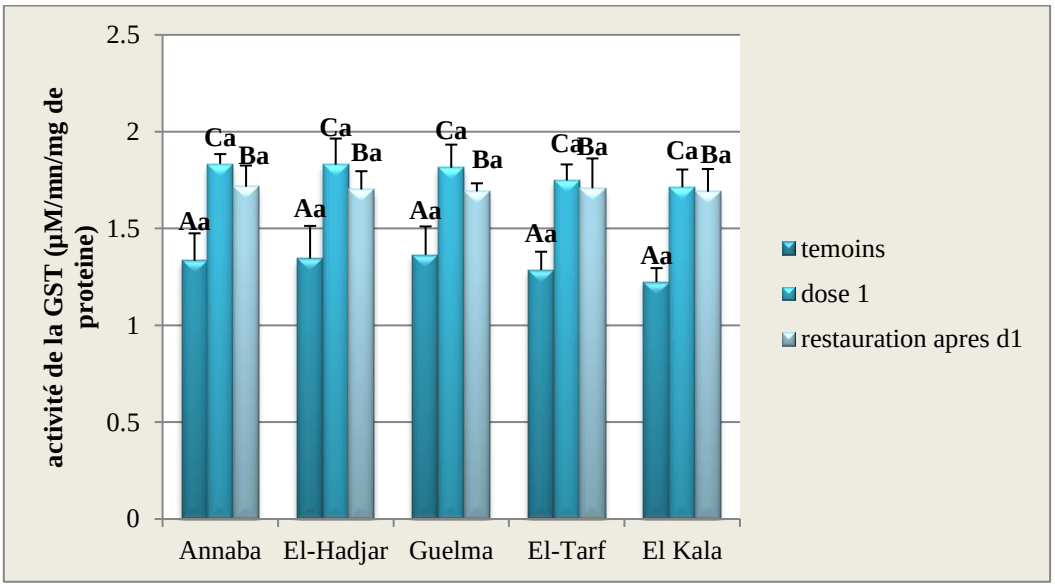

Figure 42. Restauration (7jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 1 d'Actara (2500 mg m.a./l).

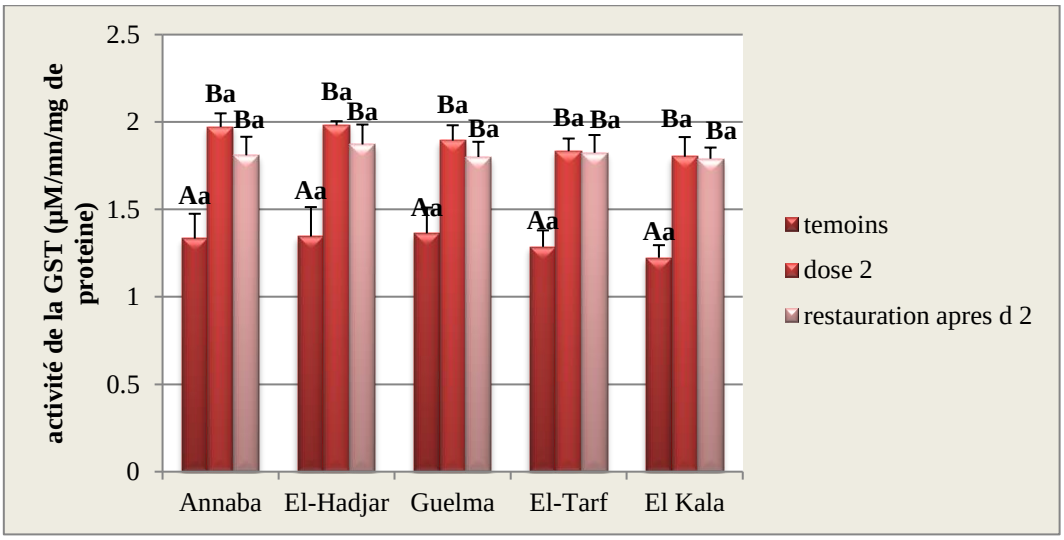

Figure 43. Restauration (7 jours) de l'activité Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose 2 d'Actara (3000 mg m.a./l).

La restauration de l'activité de la GST des individus d'*H. aperta* traités avec l'Actara est représentée dans le Tableau 29. La valeur de restauration après le traitement avec la dose 1 d'Actara (2500 mg m.a./l) est plus importante pour le site d'El Tarf, avec 1,62 µM/min/mg de protéine. Une nette diminution de l'activité de la GST après 7 jours de restauration après traitement avec la dose 2 d'Actara (3000 mg m.a./l) est notée pour le site de Guelma avec 1,80 µM/min/mg de protéine.

Tableau 29 : Restauration de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Restauration	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	1,334±0,141 **a A**	1,346±0,168 **a A**	1,364±0,147 **a A**	1,286±0,094 **a A**	1,224±0,072 **a A**
Restauration après dose 1	1,716±0,109 **a B**	1,702±0,094 **a B**	1,792±0,041 **a B**	1,616±0,154 **a B**	1,690±0,117 **a B**
Restauration après dose 2	1,810±0,106 **a C**	1,872±0,114 **a C**	1,800±0,087 **a C**	1,824±0,102 **a C**	1,790±0,064 **a C**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes après un même temps de restauration, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

L'analyse des variances à deux critères de classification (Tableau 30) montre un effet sites hautement significatif (p<0,01), et un effet restauration très hautement significatif (p<0,001). (Annexe 1, Restauration /Actara)

Tableau 30 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST restaurées (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* après traitement d'Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose2 = 3000 mg m.a./l).

Sources	DDL	SC	MC	F	P
Sites	4	0,19075	0,04769	4,08	0,005
Restauration après traitement	2	4,45712	2,22856	190,67	<0,001
Interaction	8	0,08144	0,01018	0,87	0,546
Erreur	60	0,70128	0,01169		
Totale	74	5,43059			

3.7. Effet en laboratoire du Dimilin sur les biomarqueurs :

3.7.1. Evaluation des biomarqueurs après toxicité aigue (96h) :

L'évaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase est à partir d'une comparaison entre les lots d'individus sains et des lots d'individus traité par deux doses différentes d'insecticide Dimilin (2500 et 3000 mg m.a./ l). La figure 44 révèle l'inhibition de l'activité enzymatique AChE.

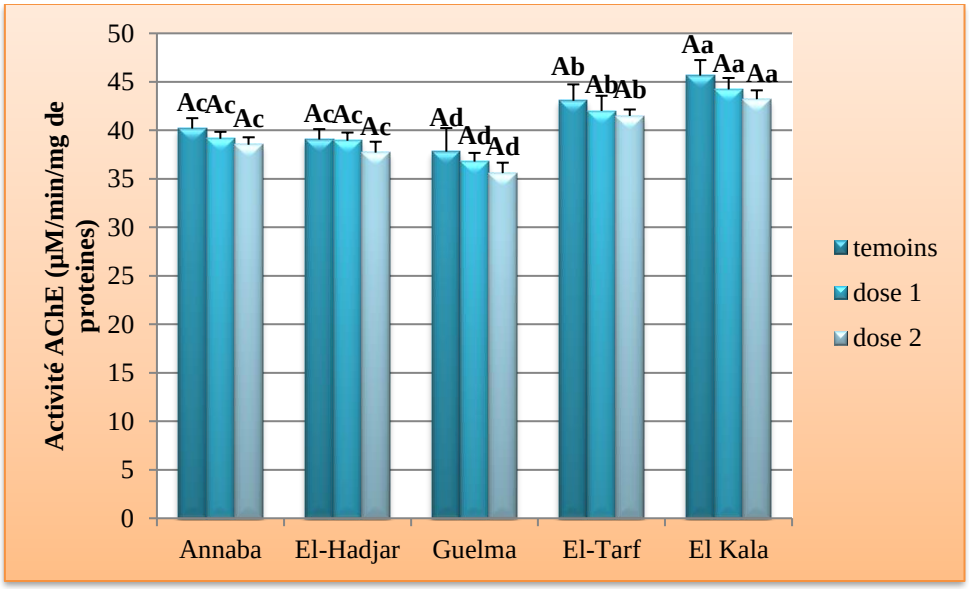

Figure 44. Activité de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose2 = 3000 mg m.a./l).

Les résultats rassemblés dans le Tableau 31 montrent que l'activité spécifique de l'AChE ne diminue pas significativement après le traitement. La comparaison des valeurs moyennes montre une différence significative entre les sites pour une même dose de traitement.

Tableau 31 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Traitement	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	40,188±1,064 **c A**	39,060±1,061 **c A**	37,812±2,421 **d A**	43,050±1,685 **b A**	45,652±1,589 **a A**
dose 1	39,136±0,709 **c A**	38,924±0,639 **c A**	36,780±0,497 **d A**	42,000±0,416 **b A**	44,224±1,033 **a A**
dose 2	38,516±0,765 **c A**	37,704±1,119 **c A**	35,596±1,067 **d A**	41,484±0,662 **b A**	43,216±0,906 **a A**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même traitement pour les différents sites, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site pour les différents traitements. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

Une faible inhibition de l'activité spécifique de l'AChE après traitement Dimilin avec les doses 1 et 2. Le site de Guelma represente la plus forte inhibition lors du traitement avec la dose 2, avec 5,86 % d'inhibition (Tableau 32).

Tableau 32 : Pourcentage d'inhibition de l'activité AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 =3000 mg m.a./l).

Sites	Inhibition dose 1 (%)	Inhibition dose 2 (%)
Annaba	2,62	4,16
El-Hadjar	0,35	3,47
Guelma	2,73	5,86
El-Tarf	2,44	3,64
El Kala	3,13	5,34

L'activité de la GST a été mesurée chez *H. aperta* après traitement avec l'insecticide Dimilin. Deux doses ont été utilisées 2500 mg m.a./l et 3000 mg m.a./l. Les résultats sont exposés dans la Figure 45. Pour chaque site les résultats sont comparés avec un lot de témoins.

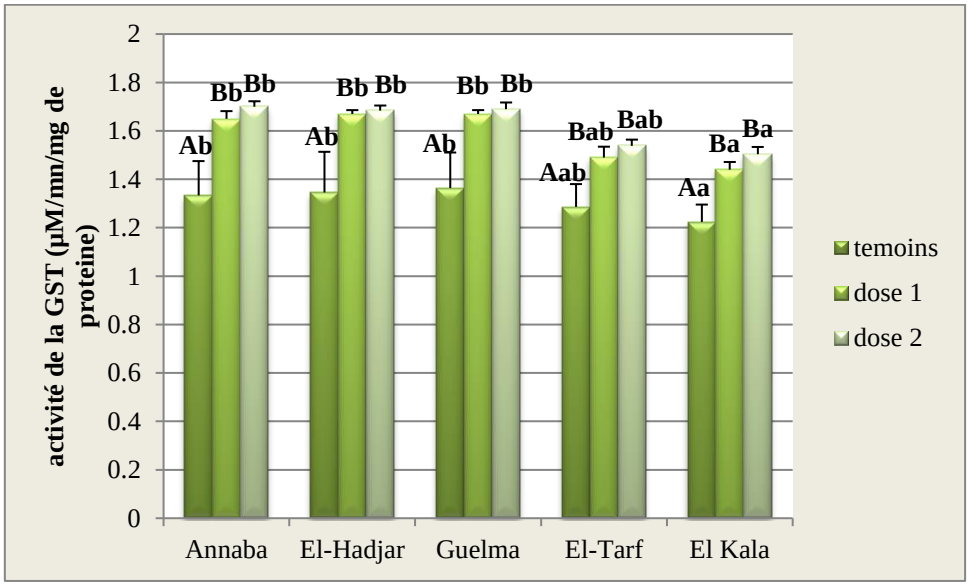

Figure 45. Activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

L'activité de la GST des individus témoins juvéniles varie de 1,22 µM/min/mg de protéines à El Kala à 1,36 µM/min/mg de protéines à Guelma. Une induction significative de l'activité de GST après traitement avec les deux doses de Dimilin est notée pour tous les sites avec une

variation de 1,44 µM/min/mg de protéines à El Kala à 1,67 µM/min/mg de protéines à Guelma et El Hadjar ceci pour la dose 1 de traitement. La dose 2 de traitement Dimilin induit l'activité de la GST à 1,70 µM/min/mg de protéines pour les individus d'Annaba (Tableau 33). L'ANOVA à un critère de classification de l'activité de la GST des individus *H. aperta* après traitement Dimilin, ne révèle pas d'effet significatif entre les deux doses, mais un effet significatif entre les sites.

Tableau 33 : L'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Traitement	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	1,334±0,141 **b A**	1,346±0,168 **b A**	1,364±0,147 **b A**	1,286±0,094 **ab A**	1,224±0,072 **a A**
Dose 1	1,650±0,032 **b B**	1,670±0,016 **b B**	1,670±0,016 **b B**	1,490±0,045 **ab B**	1,440±0,032 **a B**
Dose 2	1,700±0,022 **b B**	1,684±0,021 **b B**	1,690±0,027 **b B**	1,538±0,026 **ab B**	1,504±0,030 **a B**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même traitement pour les différents sites, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site pour les différents traitements. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

Tableau 34 : Pourcentage d'induction de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Induction (%) après traitement Dimilin (dose 1)	Induction (%) après traitement Dimilin (dose 2)
Annaba	23,69	27,44
El-Hadjar	24,07	25,11
Guelma	22,43	23,90
El-Tarf	15,86	19,60
El Kala	17,65	22,88

L'induction de l'activité de la GST pour la dose 1 de traitement Dimilin varie de 15,86 % à El Tarf jusqu'à 24,07 % à El Hadjar. L'induction de l'activité GST pour la dose 2 de traitement Dimilin varie de 19,60 % à El Tarf jusqu'à 27,44 % à Annaba. L'analyse des variances à deux critères de classification (Tableau 35) montre un effet sites et un effet doses très hautement significatif ($p<0,001$).

Tableau 35 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juveniles après traitement avec le Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sources	DDL	SC	MC	F	P
Sites	4	0,44539	0,111347	18,30	<0,001
Doses	2	1,44807	0,724036	118,98	<0,001
Interaction	8	0,03962	0,004953	0,81	0,593
Error	60	0,36512	0,006085		
Totale	74	2,29820			

3.7.2. Effet du Dimilin sur les biomarqueurs durant la restauration :

L'évaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase s'est faite en comparent les valeurs des individus témoins, les individus traité avec la première dose de 2500 mg m.a./l de Dimilin, et enfin avec les individus après la restauration de 7 jours. La figure suivante montre les différentes valeurs de l'activité de l'acétylcholinestérase durant la période de restauration.

La restauration de l'activité spécifique de l'AChE après 7 jours du traitement avec dose 1 de Dimilin est enregistrée. Les valeures sont de 36,88 et 38,94 µM/min/mg de protéine respectivemment à Guelma et El Hadjar.

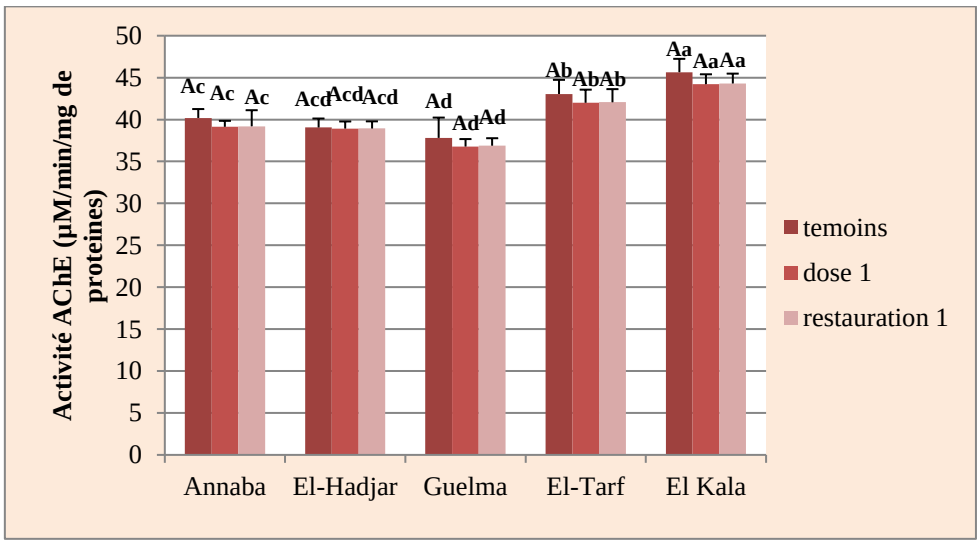

Figure 46. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose1 de Dimilin (2500 mg m.a./l).

L'activité spécifique de l'AChE extraite à partir des têtes d'*H. aperta* est réduite après exposition à la dose d'Actara de 3000 mg m.a./l. La restauration, 7 jours, de l'activité AChE

des individus d'El Hadjar est plus importante avec 37,86 µM/min/mg de protéines, tandis que la restauration des individus d'El Tarf et d'El Kala, sont respectivement 41,64 µM/min/mg de protéines et 43,40 µM/min/mg de protéines (Figure 47). L'ANOVA à un critère de classification de l'activité AChE des individus *H. aperta* après restauration du Dimilin, révèle un effet significatif entre les sites.

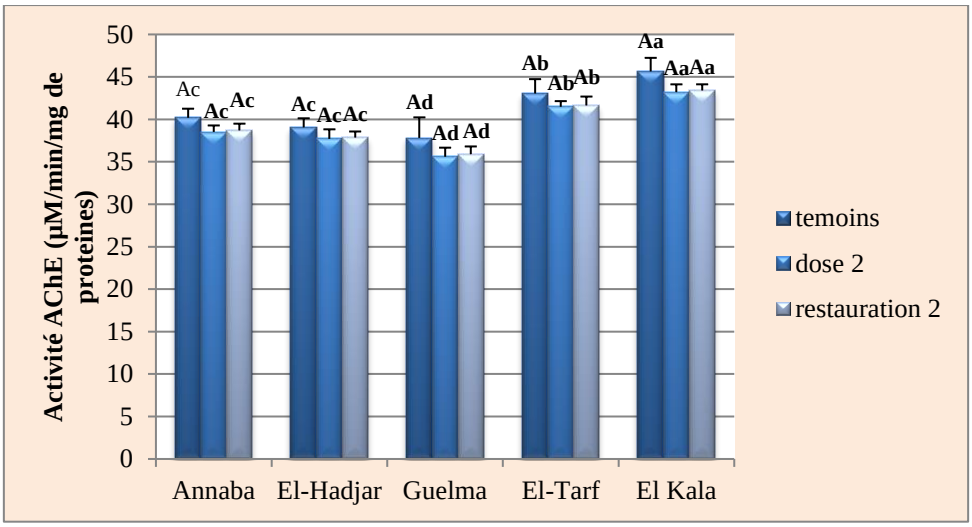

Figure 47. Restauration (7 jours) de l'activité spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose2 de Dimilin (3000 mg m.a./l).

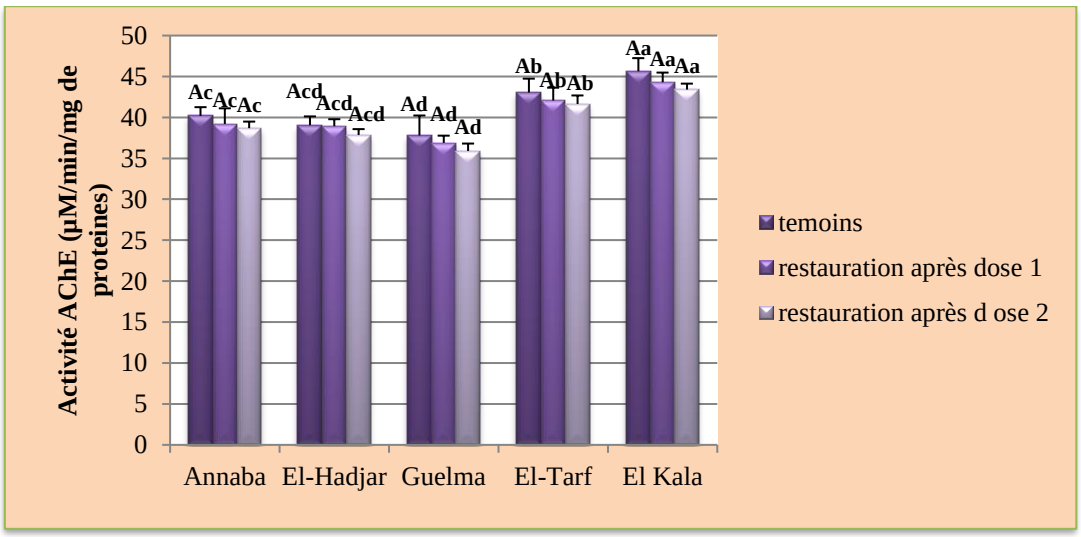

Figure 48. Restauration (7 jours) de l'activié spécifique de l'AChE (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l).

Les résultats de l'activité spécifique de l'AChE après une restauration de 7 jours des individus *H. aperta* juvéniles traités avec les deux doses de Dimilin sont groupés dans le Tableau 36. Les individus de Guelma montrent une activité de l'AChE après les deux restaurations respectivement de 36,88 µM/min/mg de protéines et 35,90 µM/min/mg de protéines

comparativement avec les individus d'El Kala qui ont une activité un peu plus élevée d'AChE respectivement après les deux restauration de 44,30 µM/min/mg de protéines et 43,40 µM/min/mg de protéines.

Tableau 36 : Restauration de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (µM/min/mg de protéines ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Site / Restauration	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	40,188±1,064 **c A**	39,060±1,061 **cd A**	37,812±2,421 **d A**	43,050±1,685 **b A**	45,652±1,589 **a A**
Restauration 1	39,199±1,914 **c A**	38,936±0,639 **cd A**	36,882±0,497 **d A**	42,065±0,416 **b A**	44,304±1,033 **a A**
Restauration 2	38,698±0,791 **c A**	37,858±0,713 **cd A**	35,900±0,906 **d A**	41,640±1,043 **b A**	43,402±0,724 **a A**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes après un même temps de restauration, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

Concernant la restauration de l'activité de la GST des individus *H. aperta* après traitement avec dose 1 de Dimilin, la valeur la plus basse est pour le site d'El Kala avec 1,32 µM/min/mg de protéine. La Figure 49 représente l'activité de la GST, l'ANOVA à un critère de classification montre un effet restauration significatif pour la dose 1 du Dimilin, un effet site significatif est aussi enregisté.

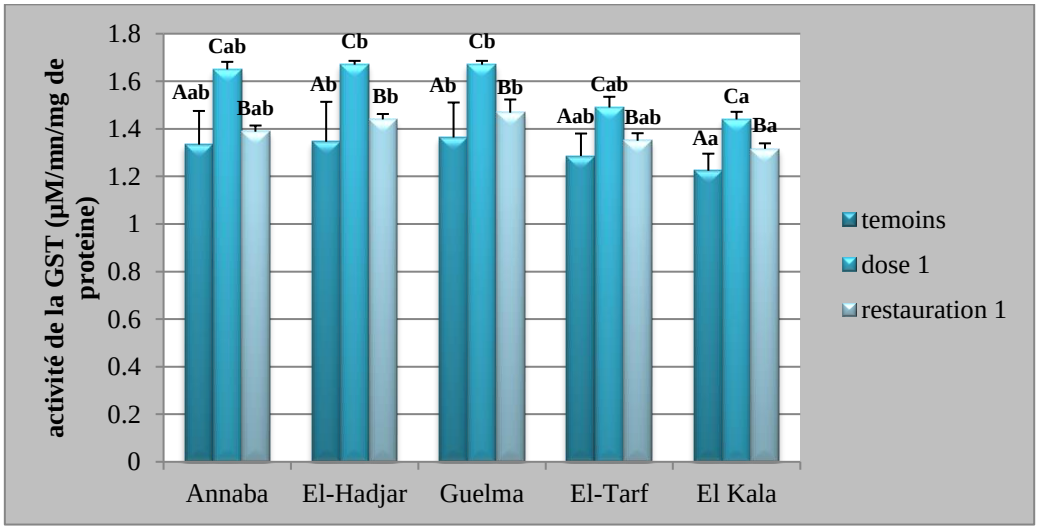

Figure 49. Restauration (7 jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose1 de Dimilin (2500 mg m.a./l).

L'activité de la GST chez *H. aperta* est induite après exposition à la dose 2 de Dimilin 3000 mg m.a./l. La restauration, après 7 jours, de l'activité de la GST des individus d'Annaba, d'El Tarf et d'El Kala est quasi totale avec respectivement 1,38 µM/min/mg de protéines, 1,32 µM/min/mg de protéines, et 1,28 µM/min/mg de protéines (Figure 50).

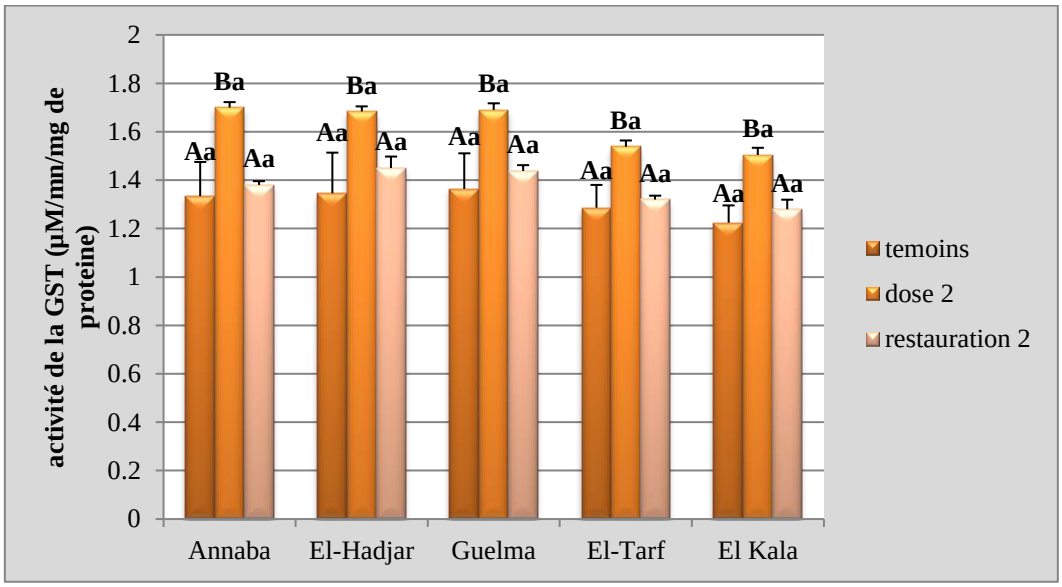

Figure 50. Restauration (7 jours) de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement avec la dose2 de Dimilin (3000 mg m.a./l).

La figure 51 montre les valeurs de l'activité de la GST après une restauration de 7 jours des individus traités avec les doses 1 et 2 de Dimilin. La restauration de l'activité de la GST est meilleure après le traitement avec la dose 2 de Dimilin. L'ANOVA à un critère de classification confirme la bonne restauration de l'activité de la GST des individus traités par la dose 2 de Dimilin.

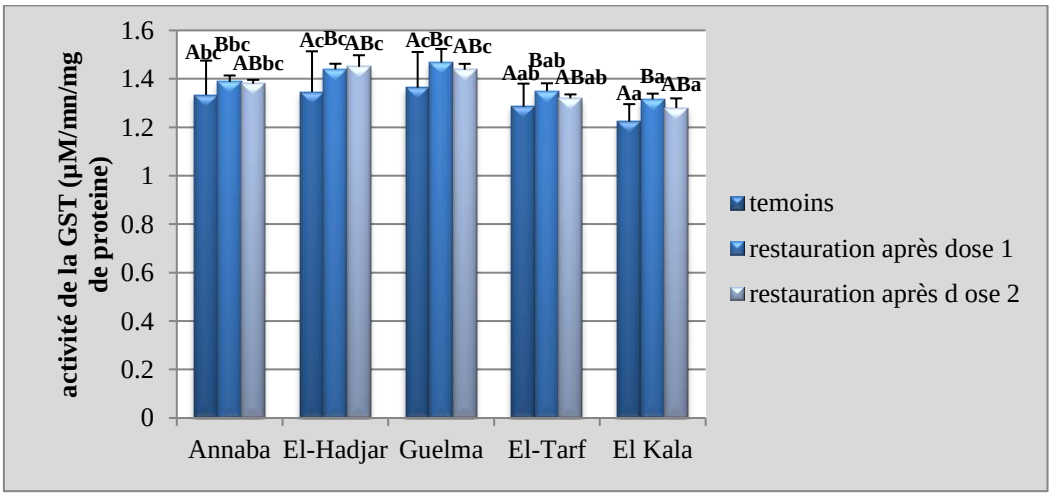

Figure 51. Restauration (7 jours) de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéine) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin dose 1 et 2 (2500 mg m.a./l ; 3000 mg m.a./l).

Les valeures de l'activité de la GST restaurée après traitement Dimilin sont représentées dans le Tableau 37.

Tableau 37 : Restauration de l'activité de la Glutathion S-transférase (µM/min/mg de protéine ; m ± SD ; n = 5) chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l ; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

GST	Annaba	El-Hadjar	Guelma	El-Tarf	El Kala
Témoins	1,334±0,141 **bc A**	1,346±0,168 **c A**	1,364±0,147 **c A**	1,286±0,094 **ab A**	1,224±0,072 **a A**
restauration 1	1,388±0,026 **bc B**	1,440±0,022 **c B**	1,468±0,055 **c B**	1,350±0,032 **ab B**	1,316±0,023 **a B**
restauration 2	1,380±0,016 **bc AB**	1,450±0,047 **c AB**	1,438±0,024 **c AB**	1,320±0,016 **ab AB**	1,280±0,039 **a AB**

** Les lettres en minuscules comparent les moyennes après un même temps de restauration, tandis que les lettres en majuscules comparent les moyennes d'un même site. Les moyennes suivies de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes p> 0,05.*

L'analyse des variances à deux critères de classification (Tableau 38) montre un effet sites et un effet restauration très hautement significatif ($p \leq 0,001$) (Annexe 1, Restauration /Dimilin).

Tableau 38 : Analyse de la variance à deux critères de classification appliquée aux valeurs de l'activité de la GST (µM/min/mg de protéines) chez *H. aperta* juvéniles après restauration du Dimilin dose 1 et 2 (2500 et 3000 mg m.a./l)

Sources	DDL	SC	MC	F	P
sites	4	0,239741	0,0599353	9,54	<0,001
restauration	2	0,091299	0,0456493	7,27	0,001
Interaction	8	0,010515	0,0013143	0,21	0,988
Erreur	60	0,376760	0,0062793		
Totale	74	0,718315			

4. Discussion

La mise en œuvre d'études spécifiques sur un groupe donné dans une région donnée requiert la connaissance de plusieurs éléments fondamentaux. Dans un premier temps, il est indispensable d'avoir à connaissance une liste de référence des espèces sur le territoire étudié. Puis, dans un second temps, il est également nécessaire de connaître les méthodes statistiques (stratégie d'échantillonnage) permettant une approche rigoureuse (plans d'échantillonnage) par rapport à la problématique soulevée, ainsi que les méthodes de prélèvement ou de récolte spécifiques au groupe étudié sur lesquelles s'appuyer (Falkner *et al.*, 2002).

4.1. Inventaire des Gastéropodes Terrestres :

Notre étude est d'inventorier tout les Gastéropodes Terrestres dans les différents sites d'étude du Nord-Est algérien (Annaba, El Hadjar, Guelma, El Tarf et El Kala). La téchnique d'échantillonnage est la "recherche à vue" des Gastéropodes Terretres. Pour une standardisation des relevés, la chasse est limitée par une durée de temps fixée, qui est 1 heure/ par site/ mois. Cette étude s'est faite de janvier 2014 à janvier 2015. Notre échantillonnage est exhaustif, car les individus extraits des populations de Gastéropodes ne sont pas remis dans cette population après relevé de leurs caractéristiques.

Dans cette étude 14 espèces ont été trouvées : *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778) ; *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758) ; *Theba pisana* (Muller, 1774) ; *Helix constantinae* (Bourguignat, 1864) ; *Helix aperta* (Born, 1778) ; *Helix aspersa* (Müller, 1774) ; *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) ; *Milax nigricans* (Philippi, 1836) ; *Otala lactea* (Müller, 1774) ; *Poiretia cornea* (Brumati, 1838) ; *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) ; *Zebrina detrita* (Müller, 1774) ; *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791) ; *Cernuella sp*. Un inventaire des Gastéropodes Terrestres réalisé pendant l'année 2007 au niveau de la zone d'El-Kala montre qu'il existe 13 espèces malacologiques (Boudchiche, 2007) : *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix aperta* (Born, 1778), *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758), *Dupotetia A zonata* (Pallary, 1926), *Cepaea vendobonensis* (Ferussac, 1821), *Otala lactea* (Müller, 1774), *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791), *Helicella virgata* (Da Costa, 1780), *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758), *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758), *Zebrina detrita* (Müller, 1774), *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) et *Milax nigricans* (Phillipi, 1836). Au niveau la région de Tlemcen, 8 espèces malacologiques sont identifiés (Damerdji, 2008) : *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix aperta* (Born, 1778), *Otala lactea* (Müller, 1774), *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758),

Helicella virgata (Da Costa, 1780), *Zebrina detrita* (Müller, 1774), *Dupotetia A zonata* (Pallary, 1926), *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758). Douafer & Soltani (2014) signalent 11 espèces des Gastéropodes Terrestres à El-Kala réparties en 6 familles *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix aperta* (Born, 1778), *Dupotetia A zonata* (Pallary, 1926), *Otala lactea* (Müller, 1774), *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791), *Helicella virgata* (Da Costa, 1780), *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758), *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758), *Zebrina detrita* (Müller, 1774), *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) et *Milax nigricans* (Phillipi, 1836). En Australie, Blacket *et al.* (2016) montrent qu'il existe un grand nombre d'escargots terrestres Helicidae originaux du Paléarctique occidental, dont beaucoup sont devenus des espèces envahissantes dans d'autres parties du monde. Dans le passé, plusieurs espèces d'hélicidés ont été introduites en Australie, où elles peuvent maintenant être de grands ravageurs agricoles et horticoles. La détermination des espèces qui sont devenues établies est essentielle à la biosécurité et à la lutte antiparasitaire. Dans leurs travaux, ils ont montré que trois espèces d'hélicidés se trouvent actuellement en Australie: Brun (*H. aspersa* Müller), vert (*H. aperta* Born) et blanc (*Theba pisana* Müller) escargots de jardin. Une quatrième espèce présente auparavant, l'escargot (*Eobania vermiculata* Müller) semble actuellement absente localement. Ces quatre espèces sont connues pour être très envahissantes dans le monde entier. Ils ont également examiné les caractères morphologiques de diagnostic (juvénile et adulte) qui peuvent être utilisés pour identifier ces espèces (y compris une clé illustrée), et résument les changements systématiques pertinents.

Dans cette partie nous parlerons de la distribution des Gastéropodes Terrestres en Algérie et dans le monde. Nous aborderons aussi les préférences végétales des Gastéropodes Terrestres. Ce travail est rapporté à partir de nombreux travaux et publications. Il est important de définir les écosystèmes abritant les Gastéropodes et dont ils dépendent. Pour ce qui est de la distribution par strate végétale des Gastéropodes, Damerdji (2009) trouve la majorité des espèces inventoriées font partie de la litière. Damerdji & Tahar 2010 ont montré que *Leucochroa candidissima*, avec sa nouvelle appellation *Sphincterochila candidissima* se plaît dans les zones maritimes où elle ne dépasse qu'exceptionnellement les limites de la végétation de l'Olivier. C'est une espèce extrêmement répandue dans la région méditerranéenne. *L. candidissima* est commune au Maroc, en Tunisie et en Algérie (Llabador, 1970). Elle n'est pas très répandue sur le littoral algérois, pénétrant jusqu'à l'intérieur des hauts- plateaux. Elle est retrouvée dans les massifs isolés de l'Algérie Nord-orientale (Sacchi, 1958). *L. candidissima* est commune à Tlemcen (Terver, 1839 ; Dagnelie, 1980). En 1990, Damerdji a donné la

répartition de cette espèce dans la région de Tlemcen. Sacchi (1958) note que *S. candidissima* est assez fréquente en France, surtout en Provence, en Sardaigne méridionale, en Sicile Sud-occidentale et en Espagne.

Les préférences ou exigences écologiques des Gastéropodes Terrestres sont très différentes d'une espèce à l'autre. Les forêts constituent généralement des habitats très riches abritant de nombreuses espèces pouvant également se rencontrer dans les jardins, haies ou friches. Les zones humides abritent également de nombreuses espèces généralement spécialisées. Les zones pelousaires ou rocailleuses accueillent également des espèces bien particulières et caractéristiques du milieu. La faible mobilité des Gastéropodes et leur grande dépendance aux conditions du microclimat en font de bons indicateurs de l'histoire d'un milieu et de son évolution (Karas, 2009). Les escargots sont retrouvés dans des zones sur les bords des routes ; en général sur/près des plantes rudérales (étymologiquement, l'adjectif « rudéral » dérive du latin *rudus, ruderis*, décombres) sont des plantes qui poussent spontanément dans les friches, les décombres le long des chemins, souvent à proximité des lieux habités par l'homme (www.Larousse.fr). On estime parfois que certaines de ces espèces se comportent comme des commensales de l'homme. Damerdji (2009) dénombre un effectif variant de 125 individus au mois de mai et seulement 29 individus au mois de juillet dans la garrigue de Sidi-Safi (Wilaya d'Aïn-Témouchent). Damerdji, *et al.* (2005) avaient trouvé des fluctuations entre 125 individus en avril et 31 en décembre. Dans l'étude effectuée sur le palmier nain *Chamaerops humilis* par Bouhellou (1998) montre que les Gastéropodes occupent la seconde position du point de vue effectif avec 112 individus. La même constatation est faite par Adjlani (1998) sur la plante *Ampelodesma mauritanicum* avec 98 individus. Il est à souligner que les Gastéropodes sont présents dans les quatre stations à romarin pendant tous les mois y compris ceux qui sont les plus chauds (Damerdji, *et al.*, 2005). Bigot (1967) décrit un phénomène écoéthologique spectaculaire : des centaines d'individus appartenant à une espèce précise de Gastéropode Terrestre, *Euparypha pisana* (aussi appelée *Theba pisana*), forment en se groupant sur diverses plantes des « réunions en hauteur », véritables « grappes » assemblant entre 0,30 m et 1,5 m, de 15 à 1500 sujets. La Grande Ortie : *Urtica dioica* (*Urticaceae*), la Lavatère de Crète : *Lavatera cretica* (*Malvaceae*), les feuilles du Citronnier : *Citrus limon* (*Rutaceae*) sont aussi une préférence alimentaire pour les espèces phyllophages et frugivores (Iglesias & Castillejo, 1998).

Les différentes saisons influent aussi sur les Gastéropodes Terrestres. Bouaziz-Yahiatene *et al.* (2014) trouvent que le printemps est la saison la plus prolifique en récolte avec un taux de

729 individus ramassés, tandis qu'en période hivernale la récolte est moindre avec 437 individus. Les Gastéropodes Terrestres sont évidemment sensibles au gel, aussi que les populations introduites dans les pays au Nord des Alpes ne survivent pas à la période hivernale (Neubert, 2013). L'étude bioécologique de la faune malacologique dans la zone de Béni-Saf (Wilaya d'Aïn-Témouchent) faite par Damerdji, (2009) dans 2 stations a permis d'inventorier 14 espèces lors des 20 prélèvements effectués d'avril 2004 à janvier 2005. Au printemps et en automne, il est à constater une richesse spécifique élevée en rapport avec l'humidité de la saison. Les Gastéropodes sont retrouvés partout même pendant les mois les plus chauds. Cobbinah *et al.* (2008) trouvent qu'*H. aspersa* avec ses deux sous espèces est présente durant les six mois d'échantillonnage. Avec une nette prédominance du gros gris durant le mois de mai, suite à la présence des conditions climatiques adéquates à sa prolifération.

H. aperta habite les zones arbustives méditerranéennes, les champs cultivés, les près, les jardins. Dans le Gavdos (Grèce) l'espèce est retrouvée également dans les bois épandage sur les champs cultivés récemment abandonnés, plus rarement dans les habitats naturels. En Crète (Grèce) l'espèce est active après les premières pluies en octobre et l'est pour 3-4 mois (Welter-Schultes, 2012). *H. aperta* est une espèce qui est enregistrée en France (zones influencées maritimes), Corse, Italie, Sardaigne, Sicile, Malte, Croatie, Monténégro (seulement côte), et les zones côtières de la Grèce, y compris toutes les grandes îles. En dehors de l'Europe, elle est également connue de l'Algérie, la Tunisie et la Libye occidentale, et la côte méditerranéenne de la Turquie. Cette espèce se retrouve également dans les îles de la mer Tyrrhénienne, péninsule italienne en Ligurie et de la Romagne, les îles Ioniennes, Grèce centrale, îles de la mer Égée, Chypre (une seule localité) (Welter-Schultes, 2012). La taille et les tendances dans les sous-populations d'*H. aperta* sont stables (Neubert, 2013). Cette espèce est facilement distribuée par les activités humaines, son aire d'origine est presque impossible à évaluer. Cette espèce a été introduite en Australie et en Nouvelle-Zélande, où il est un escargot ravageur (Neubert, 2013). Cette espèce est déjà établie aux Etats-Unis, et est considéré comme représentant une menace potentiellement grave comme un ravageur, une espèce envahissante qui pourrait nuire à l'agriculture, les écosystèmes naturels, la santé humaine ou le commerce. Par conséquent, il a été suggéré que cette espèce soit donnée top importance nationale de quarantaine aux Etats-Unis (Cowie *et al.,* 2009).

Mais aussi il y a un grand nombre d'escargot Helicidés en Europe centrale. L'escargot romain d'Europe centrale (*Helix pomatia*) peut être la seule espèce effectivement originaire d'Europe

centrale, en revanche, d'autres espèces ont été introduites, comme l'escargot brun de jardin (*Helix aspersa*) et l'escargot turc (*Helix lucorum*). Ceux-là, par exemple peuvent être trouvés dans le sud de Vienne. L'escargot brun du jardin est aussi rencontré à Schleswig-Holstein, dans le Nord de l'Allemagne, et partout ailleurs où ces espèces méditerranéennes et océaniques peuvent survivre à l'hiver (Robert Nordsieck, 2011). La zone avec le plus grand nombre d'espèces est l'Europe du Sud et le pourtour méditerranéen. (Robert Nordsieck, 2011). En Slovaquie, les spécialistes ont identifié 175 espèces de Gastéropodes Terrestres, beaucoup plus qu'aux Pays-Bas où 117 espèces ont été identifiées En France 500 espèces sont recensées. Il est fréquent de trouver des espèces endémiques sur les îles ou sur des milieux très isolés depuis longtemps (Horsák *et al.,* 2010). *Helix ceratina* espèce très proche d'*helix aperta* est retrouvé en Corse à Ajaccio. La végétation du cordon végétal est composée de *Scrophularia ramosissima, Crucianella maritima, Genista salzmannii* (Bouchet *et al.,* 1997). *H. ceratina* estive sous *Genista salzmanni.* Lecoq (1851), qui dit l'espèce « assez répandue dans les localités restreintes où on la rencontre», ne cite cependant aucune localité autre qu'Ajaccio, « dans les sables maritimes, et toujours sous une plante particulière à la Corse, sous le *Genista Salzmanni* ». D'après cet auteur, l'escargot, qui estive enterré dans le sable jusqu'à 50-60 cm de profondeur, est actif en hiver et au printemps par temps de pluie, et 1'accouplement a lieu entre animaux enfouis superficiellement (Bouchet *et al.,* 1997).

4.2. Indices écologiques :

Nos résultats font ressortir l'hétérogénéité du peuplement de Gastéropodes Terrestre du Nord-Est algérien récoltées de janvier 2014 à janvier 2015. En considérant la richesse totale du peuplement de Gastéropodes Terrestres dans le Nord-Est algérien, nous notons une différence d'effectif. Le nombre total des espèces du site d'Annaba est 1718. A El Hadjar, le nombre total des espèces est de 3535. A Guelma, le nombre total des espèces est de 1491. A El Tarf, le nombre total des espèces est de 1269. A El Kala, le nombre total des espèces est de 3020. A El Hadjar l'abondance, des espèces suivantes, est élevée : *C. virgata* (325 individus), *C. barbara* (437 individus), *H. constantinae* (512 individus), *O. lactea* (412 individus), *T. elegans* (50 individus), *Cernuella sp.* (326 individus). Le site d'El Kala, quant à lui, regroupe un grand nombre d'effectifs des espèces suivantes : *T. pisana* (550 individus), *H. aperta* (875 individus), *M. nigricans* (50 individus), *R. decollata* (87 individus), *Z. detrita* (37 individus).
La fréquence relative, des espèces de Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien, à partir des relevés d'échantillonnage effectués. On note une fréquence relative basse pour les espèces suivantes : *C. barbara* dans le site de Guelma avec 0,008, *T. pisana* dans le site d'Annaba

avec 0,006, *M. nigricans* dans la majorité des sites (Annaba, El Hadjar et Guelma, avec respectivement 0,001 ; 0,007 ; 0,005), *P. cornea* et *R. decollata* ont aussi une fréquence relative basse. Evidament, l'intérêt du calcul d'une fréquence relative est de permettre des comparaisons entre des séries d'observations portant sur des populations inégalement nombreuses (Reuchlin, 1991).

La fréquence d'occurrence représente le pourcentage d'apparition, dans le temps, d'une espèce donnée. Suivant ces pourcentages, on note que les espèces *C. virgata* et *Cernuella sp.*, sont accidentelles dans tous les sites du Nord-Est algérien avec $F \leq 25\%$. Contrairement à l'espèce *H. aperta*, qui est régulière dans les sites d'études, avec $50\ \% \leq F \leq 75\ \%$. *H. aperta* (Born 1778) Mollusque, Gastéropode est le modèle biologique utilisé lors de nos manipulations). Douafer (2010, 2015), Larbaa (2014), Douafer & Soltani, (2014), Larbaa & Soltani (2014) ont noté une omniprésence de cette espèce dans le Nord-Est algérien.

La richesse totale des Gastéropodes Terrestres varie de 9 à 14 espèces. Le site d'Annaba regroupe le plus d'espèces avec S = 14. Le site d'El Tarf et le moins diversifié avec S = 9. Guelma, El Hadjar et El Kala ont respectivement une richesse totale de 10, 11, et 12 espèces de Gastéropodes Terrestres. La richesse moyenne des Gastéropodes Terrestres dans les sites d'études met plus en valeur la diversité du peuplement. Dans le site d'El Kala la richesse moyenne est la plus élevée, avec 8,33 espèces par relevé. Dans le site de Guelma on trouve une richesse moyenne de 3 espèces par relevé. Suivie par El Hadjar avec une richesse moyenne de 4,33 ; et Annaba et El Tarf avec une richesse moyenne de 5 espèces par relevé. Enfin, si un certain nombre de résultats ont été dégagés au cours de cette étude, lors de l'étude menée en 2010 dans les sites de El-Hadjar, Ben M'hidi, Sidi Kaçi, Bouteldja, El-Tarf et El-Kala, Larbaa (2014) a trouvé 14 espèces de Gastéropodes Terrestres, 12 espèces d'escargots et 2 espèces de limaces. Douafer & Soltani (2014) signalent 11 espèces de Gastéropodes Terrestres à Guelma, Neuchmaya, Sidi Amar, El Bouni et El-Kala. Parallèlement, Zaafour *et al.* (2014) trouvent une densité moyenne de population d'*H.aspersa* au lieu de récolte et a été évaluée à 18 spécimens/m^2 à Sidi Amar et à 26 spécimens/m^2 à Dréan et ce, pour une surface prospectée égale à 100 m^2 dans les 2 sites (Sidi Amar, Dréan).

L'indice de Shannon et Weaver (H') le plus élevé est noté au niveau du site d'El Kala avec 2,988 Bit. Cet indice reflète la complexité du peuplement de Gastéropodes Terrestres dans ce site. A Guelma l'indice (H') est le plus faible avec 1,777 Bit. Le peuplement est riche en espèces, mais cette distribution est déséquilibrée. Un grand nombre d'individus est enregistré

pour les espèces *H. aperta* et *H.aspersa.* L'indice (H') est un indice permettant de mesurer la diversité spécifique (Marcon, 2015). Cet indice donne une idée de la diversité spécifique d'un milieu. C'est à dire du nombre d'espèces de ce milieu (richesse spécifique) et de la répartition des individus au sein de ces espèces (équitabilité spécifique). L'indice est une mesure de l'entropie. Elle est représentée par un nombre réel positif souvent compris entre 0 et 5, mais n'ayant en théorie pas de maximum. Ce nombre est calculé à l'aide d'une fonction d'information inversement proportionnelle à la probabilité d'occurrence d'une observation.

L'équitabilité tend vers 1 pour les sites d'El Hadjar et d'El Kala, avec respectivement 0,855 et 0,833. Dans le site de Guelma l'équitabilité est de 0,535. Ce qui renseigne que le peuplement est concentré sur deux espèces.

Sur les 14 espèces malacologiques analysées à Tlemcen par Damerdji (2009), 4 espèces sont constantes, 3 sont accessoires et 7 autres sont accidentelles, et les calculs de l'abondance et de la densité font ressortir que *Euparypha pisana* (autrement appelée *T. pisana*) reste la plus abondante parmi toutes les espèces analysées. Damerdji (2009) note aussi que le peuplement malacologique est en équilibre dans la région de Tlemcen, l'indice de diversité de Shannon-Weaver et l'équitabilité le confirment, (H') varie entre 0,76 et 0,71 bits. L'équirépartition indique un équilibre entre les effectifs des différentes espèces présentes.

4.3. Biométrie des Gastéropodes Terrestres :

Dans notre étude, l'aspect morphologique des Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien est abordé. On retrouve différentes classes de poids. Ce dernier est calculé en moyenne pour des individus adultes (reconnaissables par le bordement du peristome). Il convient de remarquer que l'adoption du poids comme critère de l'âge ne peut constituer qu'une approximation assez grossière. Un troque ou une littorine atteignant en quelques mois une taille proche de leur maximum et vivant une vingtaine d'années (Franc, 1968). L'espèce la plus petite retrouvée est *C. barbara* avec un poids de 0,065 g, suivie de *T. elegans* avec 0,45 g, *Z. detrita* avec 0,6 g, les espèces *C. virgata, C.sp* et *T. pisana* ont un poids similaires avec respectivement 1,73 g, 1,8 g et 2 g. *P. cornea* a un poids de 3,03 g. Les limaces, quant à elles, ont un poids de 3,78 g et 4,05 g pour *M. nigricans* et *M. gagates. R. decollata* a un poids de 4,23 g suivie d'*H. constantinae* et d'*O. lactea* avec respectivement 4,94 g et 6,08 g. *H. aperta* et *H. aspersa* ont un poids élevé avec respectivement 9,95 g et 12,74 g. Douafer (2015), qui a travaillé dans des sites differents des notres (Sidi Amar, El Bouni, Néchmaya, Guelma et El Kala) a trouvé des résultats similaires au notres. A Nechmaya par exemple, elle a trouvé *C.*

barbara avec un poids de 0,07 g. *C. virgata* a été trouvée avec un poids moyen de 1,42 g. Les limaces quand à elles, leurs poids est aux environs de 2 g. Douafer (2015) retrouve *H. aperta* et *H. aspersa* avec des poids moyens de 6,93 g et 9,63 g respectivement. Larbaa (2014) a collecté dans les sites de Bouteldja, Sidi Kaci, Ben M'hidi, El Tarf, El Hadjar et El Kala et il a trouvé les espèces *H. aperta* et *H. aspersa* avec des poids moyen de 9,95 et 12,14 g respectivement. On aboutit à une première conclusion qui est la similarité des poids des Gastéropodes Terrestres dans le Nord-Est algérien.

L'étude statistique des populations naturelles permet d'apporter quelques précisions sur l'étendue et les modalités du polymorphisme d'une espèce (Altes, 1956). L'examen des coquilles adultes montre des zones où les stries d'accroissements, très serrées, correspondent probablement aux périodes d'estivation et/ou d'hibernation (Bouchet *et al.,* 1997). Lors de notre étude, on note une grande différence de forme des coquilles pour les différents Gastéropodes Terrestres du Nord-Est algérien. La forme de la coquille est extrêmement variable. Elle peut être très allongée comme chez les Spiraxidae ou, à l'opposé, très globuleuse, presque sphérique, comme chez les Hellicidae (les espèces consommées *H. aperta* et *H. aspersa*). Les espèces les plus grandes, telles que *C. virgata, C.sp, O. lactea, H. aperta* et *H. aspersa*, ont des coquilles arrondies comme des cailloux (elles sont plus larges que hautes). Généralement, ces espèces sont collées aux rochers ou aux grosses pierres pour éviter le soleil et donc la dissécation. Les petites espèces, telles que *C. barbara,* et *Z. detrita,* ont des coquilles en cône (plus hautes que larges). Généralement, ces espèces sont retrouvées coller aux revers des feuilles des herbacés. Ne perdons pas de vue que tous les intermédiaires de formes de coquille sont possibles. Mais quelle que soit son allure, la coquille est en effet toujours hélicoïdale. C'est sans doute en fin de compte ce qui fait la différence avec les limaces à coquille résiduelle.

L'aspect malacologique dans le Nord-Est algérien est différent. On remarque des tailles de coquilles différentes. La taille de la coquille d'*H. aspersa* est de 33 mm de hauteur et 34 mm de diamètre ; la taille d'*H. aperta* est de 23 mm de hauteur et 32 mm de diamètre ; la taille de la coquille d'*H. constantinae* est de 20 mm de hauteur et 30 mm de diamètre ; la taille de la coquille d'*O. lactea* est de 21 mm de hauteur et 27 de diamètre ; et enfin pour finir avec la famille des Helicidae, la taille de la coquille de *T. pisana* est de 9 mm de hauteur et 12 mm de diamètre. La famille des Hygromiidae regroupe des escargots plus petits, *C. virgata* a une hauteur de coquille de 10 mm et un diamètre de 18 mm ; *T. elegans* a une hauteur de coquille de 7 mm et un diamètre de 5 mm ; *C. Sp* a une hauteur de coquille de 11 mm et un diamètre

de 19 mm. *C. barbara* qui fait partie de la famille des Cochlicellidae, a une hauteur de coquille de 8 mm et un diametre de 3 mm. *R. decollata* qui fait partie de la famille des Subulinidae, a une hauteur de coquille de 33 mm et un diamètre de coquille de 12 mm. *Z. detrita* qui fait partie de la famille des Enidae, a une hauteure de coquille de 8 mm et 4 mm de diamètre. *P. cornea* qui fait partie de la famille des Spiraxidae, a une hauteur de coquille de 34 mm et un diamètre de 18 mm. Les limaces, depourvues de coquille, ont une longueur du pied, qui ne depasse pas les 10 cm. Larbaa (2014), a noté *R. decollata* présente la hauteur minimale de coquille, et que *H. aspersa* présente la hauteur maximale ; et en ce qui concerne le diamètre des coquilles, Larbaa (2014) note que *C. barbara* présente le diamètre minimal et *H. aspersa* présente le diamètre maximal. Douafer (2015) trouve que génénalement, les populations de Gastéropodes Terrestres d'El Kala se caractérisent par une taille maximale comparativement avec celles des autres sites. Damerdji (2010) a trouvé que le diamètre, la hauteur et le diamètre de l'ouverture des coquilles de *S. candidissima* sont fortement corrélés entre elles alors que le nombre de tours de spire leur est moyennement corrélé.

La variation des caractéristiques morphologiques des coquilles d'escargot terrestre (par exemple, diamètre, hauteur, épaisseur, couleur) est souvent liée à la variation environnementale. Il n'existe pas de schémas généraux de corrélation entre la morphologie de la coquille et l'environnement - différents modèles sont observés dans différentes espèces. Cependant, une corrélation qui est habituellement observée est entre la taille de la coque et les précipitations. Dans de nombreuses espèces, les coquilles ont tendance à être plus importantes dans les régions où les précipitations sont plus élevées, mais le schéma opposé est souvent observé sous des gradients d'élévation, où les coquilles ont tendance à diminuer avec une augmentation des précipitations (et une diminution de la température) à des élévations plus élevées. La variation de taille résulte de la variation du nombre et / ou de la largeur des spires de l'enveloppe. Un autre motif commun observé est que ces coquilles ont tendance à être plus épaisses dans les zones où le carbonate de calcium est présent; Mais ce n'est pas un modèle général. Parce qu'il n'y a pas de schémas généraux de corrélation, il est nécessaire d'étudier la variation dans les populations modernes de chaque espèce d'intérêt afin d'établir une base pour l'interprétation de leur morphologie (Goodfriend, 1986b, Goodfriend, 1992). De nombreuses espèces de Gastéropodes présentent des variations considérables dans les traits de coquille. La dynamique spatio-temporelle des fréquences des caractères de coquille discerne divers facteurs agissent sur le polymorphisme, y compris la sélection visuelle par les prédateurs (Jones *et al.*, 1977 ; Cook & Pettitt, 1998 ; Bellido *et al.*, 2002). Un facteur qui a

suscité une certaine variation des morphologies des couleurs dans les populations des Gastéropodes est la prédation par les oiseaux et les souris. Ces prédateurs se nourrissent d'escargots en creusant les coquilles (par exemple, enclumes de grive) ou par écrasement de coquilles par leurs dents (par exemple, des souris) (Graveland *et al.,* 1994). Par conséquent, on peut s'attendre à ce que les escargots développent des adaptations antiprédateurs (Quensen & Woodruff, 1997). L'épaississement de la coquille, qui empêche l'écrasement de la carcasse ou qui peut augmenter le temps de l'ingestion, de sorte que les escargots avec des coquilles plus épaisses deviennent des proies moins énergiques (Osenberg & Mittelbach, 1989). La résistance à l'écrasement peut donc être un facteur important dans la sélection des proies de l'escargot pour les prédateurs. Les coquilles de Gastéropode Terrestres sont composées de plusieurs couches - une mince couche organique externe ou periostracum consistant en conchioline recouvrant des cristaux plus épais carbonate de calcium ($CaCO_3$). Par conséquent, le calcium est un composant important de la coquille et peut être un facteur déterminant la résistance de la coquille (Jordaens *et al.,* 2006). En effet, Brodersen et Madsen (2003) ont trouvé une relation forte entre le poids de la coquille, la concentration en Ca et la résistance à l'écrasement chez l'escargot planorbis *Biomphalaria sudanica.*

4.4. Activité de l'Acétylcholinestérase et de la Glutathion S-transférase *in situ* :

Le présent travail vise à préciser la variation annuelle de l'activité spécifique de deux biomarqueurs, l'acétylcholinestérase (AChE), site cible d'inhibition essentiellement par les organophosphorés et les carbamates (Rao, 2006) ; et la glutathion S-transférase (GST), l'une des enzymes la plus sollicitée lors d'un processus de détoxification chez un organisme soumis à une pollution (Quiniou *et al.,* 2007). L'inhibition ou l'induction de ces biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme (Varo *et al.,* 2002). La capacité d'un organisme à s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endogènes et exogènes (Jokanovic, 2001).

L'acétylcholinestérase est une famille d'enzymes qui convertissent l'acétylcholine, un neurotransmetteur en choline et acétate, réaction nécessaire pour permettre à un neurone cholinergique de revenir à son état de repos après l'activation. L'acétylcholinestérase joue un rôle clé dans la régulation de la transmission nerveuse cholinergique. En effet, l'acétylcholinestérase est responsable de la dégradation hydrolytique de l'acétylcholine, qui est le principal neurotransmetteur dans le système sensoriel et neuromusculaire dans la plupart

des espèces animales. Inhibition de l'AChE conduit à une surstimulation des systèmes nerveux central et périphérique, résultant des effets neurotoxiques délétères dans les organismes, ce qui peut conduire à la mort (Xuereb *et al.*, 2009). Au cours de nos travaux de recherche, portant sur la mesure de l'activité spécifique de l'AChE au niveau de la tête chez des individus d'*H. aperta* juvéniles récoltés dans le Nord-Est algérien durant quatre saisons (de mars 2014 à février 2015), les valeures les plus hautes sont enregistrées au printemps, puis, suivant un gradient de pollution décroissant, les valeurs de l'activité de l'AChE diminuent : printemps > été/automne > hiver. Au printemps cette activité varie de 37,81 µM/min/mg de protéines à Guelma jusqu'à 45,65 µM/min/mg de protéines à El Kala. Les pluies sont abondantes en hiver, et un phénomène de lessivage des sols est important par conséquent la majorité de la pollution anthropique est éliminée de la surface du sol. En été, la hausse des températures amène les individus d'*H. aperta* au phénomène d'estivation. Les valeurs varient de 28,76 µM/min/mg de protéines à Guelma, à 37,68 µM/min/mg de protéines à El Kala. En automne, dès les premières pluies, les Gastéropodes sortent de l'estivation et rentrent en contacte avec les contaminants du milieu. L'activité spécifique de l'AChE est plus basse, elle varie de 27,74 µM/min/mg de protéines à El Hadjar jusqu'à 35 µM/min/mg de protéines à El Kala. En début d'hiver, c'est la période d'activité des individus d'*H. aperta.* Les apports alimentaires sont augmentés et, avec cela, les différents polluants interférant dans l'activité de l'AChE sont également augmentés. Le site d'El Kala est le site de références, avec des valeures de l'activité de l'AChE qui varient de 45,65 µM/ min/ mg de proteines à 33,32 µM/ min/ mg de proteines. L'analyse de la variance à un critère de classification ne montre pas de signification entre les individus d'Annaba, El Hadjar et Guelma. Ces sites ont déjà fait l'objet de nombreuses études comme été sites pollués (Douafer, 2010 ; Douafer & Soltani 2014 ; Larbaa & Soltani, 2014; Larbaa 2014). Halimi, 2010, rapporte que la région d'Annaba (Nord-Est de l'Algérie) abrite diverses sources polluantes incluant les complexes sidérurgique d'El-Hadjar, phosphatier de Fertial-Asmidal et métallurgique d'El Allelik ainsi que 260 petites et moyennes entreprises de l'industrie agro-alimentaire.

Notre recherche se porte sur l'activité spécifique de la glutathion S-transférase de l'hépatopancréas des individus d'*H. aperta* juvéniles récoltés durant les quatre saisons (de mars 2014 à février 2015), dans le Nord-Est algérien. Les valeurs varient de 1,22 µM/min/mg de protéines à El Kala à 1,48 µM/min/mg de protéines à Guelma. Une comparaison des moyennes révèle une induction significative de la GST, avec trois groupes : le premier groupe englobe l'été, le deuxième groupe englobe l'automne, et le troisième groupe englobe l'hiver et

le printemps. Ces résultats laissent à penser que le système de détoxification des Gastéropodes *H. aperta* est réactif aux conditions environnementales et anthropiques. Les résultats montrent qu'il n'y a pas d'effet sites. L'analyse de la variance à deux critères de classifications montre qu'il n'y a pas d'interaction significative entre les sites et entre les saisons ($p>0,05$), mais qu'il ya une très haute significativité pour l'interaction sites/saisons ($p\leq0,001$). Glutathion S-transférases sont largement distribués dans tissus hépatiques et extra-hépatiques (James *et al.,* 1979). Larbaa (2014) a évalué l'activité de la glutathion S-transférase au niveau de l'hépatopancréas d'escargot *H. aspersa* adultes selon la méthode de Habig *et al.* (1974) dans six sites d'études pendant la période de février 2010 à janvier 2011; le taux de GST (μM/mn/mg de protéines) dans les hépatopancréas d'*H. aspersa* est variable dans chaque site entre les saisons. Le taux de la GST passe de 39,49 μM/min/mg de protéines chez la population d'El-Kala en période hivernale à 14,18 μM/min/mg de protéines chez la population d'El-Hadjar en période estivale. Abdel-Halim *et al.* (2013) notent que l'activité de la glutathion-S-transférase chez *H. aspersa* prélevé à Kafr El Zayat (Egypte) était significativement plus élevée dans les sites pollués que dans la zone de référence. Larbaa (2014) à mentionné l'ANOVA à deux critère de classification (site, saison) des taux de la GST qui a montré un effet site, un effet saison et une interaction site/saison très hautement significatif ($p<0,001$). La différence des taux peut être expliquée par la rapide mise en place du système de détoxification chez les individus juvéniles comparativement avec les individus adultes. Les résultats des biomarqueurs montrent clairement un phénomène de dépollution mis en évidence dans notre étude par le taux de l'activité de la GST. Le Gastéropode terrestre *H. aperta*, modèle biologique choisi, adopte naturellement un rééquilibre entre le milieu où il vit et le système de détoxification exprimé dans nos testes par le taux de la GST.

4.5. Dosage des Métallothionéines :

Les métallothionéines (MTs) constituent une superfamille de protéines qui se lient spécifiquement à des ions métalliques de coque fermées (Zn^{2+}, Cd^{2+}, Cu^{+}) par l'intermédiaire des atomes de soufre de leurs résidus cystéine riches (Kägi, 1993 ; Blindauer & Leszczyszyn, 2010). Le rôle physiologique spécifique des métallothioneines peut varier selon les espèces animales, les tissus dans lesquels ils sont exprimés et la famille des MT à laquelle ils appartiennent (Dallinger, 1996). Les Gastéropodes Terrestres, possèdent trois isoformes MT, deux d'entre eux ont des caractéristiques sélectives métalliques (Dallinger *et al.,* 1997). Notamment, l'un de ces isoformes est sélectif au cadmium (Cd) et est consacré à la désintoxication de ce métal nocif dans les tissus digestifs (Chabicovsky *et al.,* 2003) ; l'autre

isoforme MT est sélectif au cuivre (Cu) et est impliqué dans la régulation de Cu dans le cadre de la synthèse de l'hémocyanine (Dallinger, 2005) (L'hémocyanine est une protéine oligomérique servant au transport de l'oxygène chez certains invertébrés, notamment les mollusques. Le site actif de la molécule contient deux atomes de cuivre. C'est ce cuivre sous forme oxydée qui donne au sang de ces animaux une couleur bleu-vert). Un troisième isoforme MT est non spécifique (Hispard *et al.,* 2008 ; Höckner *et al.,* 2011). Les métallothionéines (MTs) des escargots offrent l'un des meilleurs matériaux pour étudier la spécificité de liaison des métaux aux protéines, car elles consistent en un système polymorphe qui comprend des membres ayant des préférences métalliques extrêmement distinctes. *H. aspersa* a été le premier escargot, chez qui, trois MT paralogues ont été isolés: les isoformes de cadmium (CaCdMT), de cuivre (CaCuMT) (très spécifiques) et une isoforme non spécifique (Pérez-Rafael *et al.,* 2014). Cependant, ces métaux qui sont essentiels au fonctionnement de la cellule peuvent également être toxiques lorsque leur concentration est considérablement élevée et peut conduire à un stress oxydatif (Viarengo *et al.,* 1990).

Notre travail vise à déterminer le taux des métallothionéines chez des individus d'*H. aperta* adultes (poids moyen de 10,28 ± 1,9 g, d'une hauteur de 25,29 ± 2,9 mm et d'un diamètre de 32 ± 2,6 mm). Ces derniers sont récoltés de différents sites du Nord-Est algérien (El Kala, El Tarf et El Hadjar) durant deux saisons de l'année 2015 (printemps et automne). Le taux de métallothionéine (mg/g de tissu frais) calculé au printemps varie de 0,042 à El Kala à 0,099 à El Hadjar. En automne le taux de métallothioneine varie de 0,046 à El Kala à 0,114 à El Hadjar. Avec des valeurs intermédiaires pour le site d'El Tarf, avec 0,068 et 0,084 respectivement pour le printemps et l'automne. L'ANOVA à un critère de classification révèle un effet site. Ceci nous amène à pensé que le site d'El Hadjar est plus pollué en terme d'ETM. Concernant le Fe, Mn, Pb et le Cd, les sources anthropogéniques majeures sont l'industrie métallurgique, l'industrie manufacturière (Suna *et al*., 2010, Maas *et al*., 2010), les pratiques agricoles (fertilisants, pesticides…), la combustion d'hydrocarbures et autres combustible fossiles et les gaz d'échappement des véhicules notamment pour le Pb (Alloway, 1995). Les sols étudiés contiennent des teneurs en ETM qui varient en fonction de l'éloignement des sites par rapport à la source de pollution (Bretzel & Calderisi, 2006 ; Suna *et al*., 2010 ; Modrzewska & Wyszkowski, 2014).

Certe l'induction de la synthèse de ces protéines (MTs) lors d'une exposition aux métaux lourds a été démontrée par de nombreuses études antérieures. Dans les cas où des liens de cause à effet ont été établis, il n'est pas difficile de voir la valeur des MTs pour évaluer la

santé des individus ou des populations (Jacques, 2002). L'importance de l'étude des MTs est majeure, par exemple, Leomanni *et al.* (2016) trouvent que l'effet d'adversité observé par l'exposition aux métaux lourds sur les cellules hémocytes chez *H. aperta* peut augmenter la susceptibilité des organismes aux maladies et réduire leur capacité de survie, vu le rôle immunologique des hémocytes. Aussi, la saturation des MTs hépatiques chez une espèce de poisson provoque l'inhibition de certains enzymes membranaires essentiels dans le foie, ce qui peut mener à des problèmes digestifs (George, 1989), et chez le polychète *Neanthes arenaceodenata*, l'augmentation du taux de MTs coïncide avec un déclin du potentiel reproductif, ce qui a des répercussions écologiques évidentes (Jenkins & Mason, 1988).

La glande intestinale joue un rôle crucial dans la détoxification du Cd, non seulement dans les escargots (Dallinger *et al.,* 2000) , mais aussi par exemple, dans les crabes (Mouneyrac *et al.,* 2001), les écrevisses (Lyon, 1984) , et les mollusques marin (Engel, 1983). Les Gastéropodes Terrestres sont capables d'accumuler et de détoxifier certains métaux toxiques dans leurs tissus digestifs (Chabicovsky *et al.,* 2003 ; Dallinger & Wieser, 1984 ; Scheifler *et al.,* 2002). Höckner *et al.* (2011) ont étudié la signification physiologique et toxicologique de la régulation transcriptionnelle des trois gènes MT isoformes chez les escargots de jardin adultes, *H. aspersa*, lors d'une exposition au métal à long terme de 29 jours. Le gène de cette isoforme est sélectivement régulée à la hausse lors de l'exposition à ce métal (Höckner *et al.,* 2011 ; Palacios *et al.,* 2011). Des études sur les embryons d'*H. aspersa* (Druart *et al.,* 2010 ; Druart *et al.,* 2012) ont montré qu'une concentration élevée de Cd (8 mg/l) inhibe complètement le processus d'eclosion de cette espèce ; et une EC_{50} d'environ 3,5 mg/l lors de l'exposition continue au Cd pendant 20 jours. Baurand *et al.* (2013) ont montré des effets génotoxiques de Cd sur *H. aspersa* embryons à des concentrations d'exposition de 2 mg/l et une fragmentation de l'ADN génomique après 20 jours d'exposition à 6 mg /l Cd. Baurand *et al.* (2014) trouvent la même concentration de Cd a perturbé le développement d'embryons en provoquant une diminution du rythme cardiaque et de la croissance, et des retards à l'éclosion. Leomanni *et al.* (2016) étudient la réponse d'une série de marqueurs cellulaires et biochimiques chez *H. aperta* exposé au mercure. Aussi, ils notent concomitamment, une forte correspondance entre les concentrations de MTs tissutal et l'inhibition de l'activité AChE. Ils mettent en evidence l'utilité d'*H. aperta* comme organisme bioindicateur de pollution par le mercure. Khati *et al.* (2012) ont travaillé sur le bivalve *P. perna,* notent une induction significative de la synthèse des MTs après 7 jours d'exposition à une contamination métallique directe. En ce qui concerne la pollution par d'autres ETM, Mleiki *et al.,* (2016) ont

déterminé la bioaccumulation et la répartition cellulaire et tissulaire de Pb et de Cd chez *H. aperta*, exposée à différentes concentrations alimentaires nominales de Pb (25, 100 et 2500 mg de Pb / Kg), Cd (5, 10 et 100 mg Cd / kg) et leur association (25 mg Pb + 10 mg Cd / kg et 2500 mg Pb + 100 mg Cd / kg) pour 1 et 8 semaines. Pb et Cd ont été bioaccumulés dans la glande digestive de manière dose-dépendante et le degré d'effets sur la croissance était lié au niveau d'exposition, bien que les interactions métal-métal aient été observées après le traitement avec des mélanges de Pb et de Cd. Plusieurs auteurs ont observé des relations significatives entre les concentrations libres d'ions de cadmium et la MT chez les invertébrés aquatiques (Lecoeur *et al.,* 2004). Les résultats actuels sont absolument comparables à ceux obtenus dans les Gastéropodes Terrestres dans d'autres régions et par conséquent ils supposent absolument que *H. aperta* convient comme biomonitor pour l'évaluation des niveaux de métaux et leurs effets biologiques dans les écosystèmes du sol.

Le métabolisme de nombreux oligo-éléments dans les escargots suit la voie métabolique du Ca (Beeby, 1991; Dallinger *et al.,* 2001). En effet, une série d'oligo-éléments tels que Be, Mn, Pb et Zn, suit les voies du Ca le long d'un processus de biomineralisation dans les vésicules cellulaires qui servent de sites de détoxication (Simkiss *et al.,* 1982). Des éléments trace ou métaux dits « lourds » comme le plomb, même à faible teneur, n'ont aucune fonction biologique essentielle connue à ce jour et sont toxiques pour la communauté biologique (Bourrier & Berthelin, 1998). Le fer et le manganèse sont intéressants pour les plantes et ne posant pas de problèmes pour celles-ci. Le cadmium est inutile voir mauvais pour les plantes et pose problème et est associé aux notions de pollution et de toxicité (Baumont *et al.,* 2004). Le cadmium est le polluant non organique le plus préoccupant. Il est très mobile dans le sol. Il s'accumule dans les plantes à de fortes concentrations engendrant la phytotoxicité (Gupta *et al.,* 2007). Il peut s'accumuler dans l'organisme et provoquer de graves intoxications (Yang *et al.,* 2008). Les concentrations de Pb introduites dans le sol ne subissent que peu de transformation et migrent relativement peu à travers les différents horizons. Etant peu mobile, le Pb reste généralement fixé à la partie supérieure du sol. Il n'est pas entraîné en profondeur par le lessivage (Kadem, 2005).

La quantité de MTs trouvée chez l'espèce *H. aperta* dans les différents sites est en adéquation avec les teneurs d'ETM pour les mêmes sites. Selon Larbaa & Soltani, (2014) les sols du Nord-Est algérien contiennent différentes teneurs d'éléments traces métalliques. La teneur des éléments traces métalliques dans les différents sites est variable. Les concentrations moyennes des ETM est plus élevée à El-Hadjar, car ce site à une forte activité industrielle, fortement

urbanisé et a un trafique routier dense. Les teneurs sont exprimés en mg/kg de sol. La teneur du fer au printemps est de 243,57 à El Kala et de 630,15 à El Hadjar. En automne les valeurs varient de 309,53 à El Kala jusqu'à 698,66 à El Hadjar. Le manganèse varie au printemps de 6,60 à El Kala jusqu'à 14,53 à El Hadjar. En automne les valeurs varient de 9,81 à El Kala jusqu'à 17,83 à El Hadjar. La teneur du plomb au printemps est de 0,54 à El Kala et de 1,31 à El Hadjar. En automne les valeurs varient de 0,74 à El Kala jusqu'à 1,46 à El Hadjar. La teneur du cadmium au printemps est de 0,032 à El Kala et de 0,119 à El Hadjar. En automne les valeurs varient de 0,043 à El Kala jusqu'à 0,132 à El Hadjar (Annexe 1, ETMs). Dans le site d'El Hadjar, Berranem (2012) a relevé les valeurs en ETM (mg/kg) suivantes : Pb : 13,402 ; Cu : 0,754 ; Cd : 0,724 ; Zn : 0,613. Larba & Soltani, 2014, ont trouvé des valeurs de concentration moyenne de chaque métal en deça des normes AFNOR. Les concentrations limites des métaux lourds (mg/Kg) dans le sol selon AFNOR U44-041 sont comme suit : Pb= 100 ; Cd= 2 ; Cr = 150 ; Cu = 100 ; Zn = 300. Il est démontré qu'il y a une forte relation entre la granulométrie de l'échantillon étudié et les teneurs totales en fer et manganèse. Les matériaux et horizons très sableux sont naturellement les plus pauvres en ETM (Courrier de l'environnement de l'INRA N°22). Ce n'est pas le cas des sites où vit *H. aperta*, la texture est argilo-limoneuse.

4.6. Effets des insecticides sur les biomarqueurs durant l'exposition et la restauration :

De nombreuses recherches montrent que les insecticides ont des effets néfastes sur d'autres classes d'animaux. Les Gastéropodes Terrestres sont l'une de ces classes. Dans cette optique, nous avons abordé des recherches sur les réponses en laboratoire d'une espèce de Gastéropodes, *H. aperta* juvéniles aux traitements insecticides (l'Actara et le Dimilin).

Des essais préliminaires de traitement insecticides sur *H. aperta* ont été faits, deux doses ont été retenues : 2500 et 3000 mg m.a./l. Les insecticides Actara et Dimilin respectivement granulé et en poudre ont été dilués dans de l'eau distillée. Puis un traitement par voie topique est appliqué à *H. aperta.* Les individus sont récoltés des cinq sites d'étude: Annaba, El Hadjar, Guelma, El Tarf et El Kala. Une évaluation des biomarqueurs (AChE et GST) est faite, les taux d'inhibitions de ces biomarqueurs, vis à vis des insecticides, sont calculés. Puis une restauration des biomarqueurs est notée.

L'Actara est le nom commercial, du traitement foliaire et du sol. La matière active est le thiaméthoxame. Le devenir environnemental de l'Actara selon Senn, *et al.*, (1998), notament

la dégradation dans le sol et l'environnement et la DT_{50} est 51 jours. Les mesures de l'activité de l'AChE renseignent sur l'exposition à certains groupes de contaminants (pesticides) (Fossi *et al.,* 2001) où une faible concentration de ces contaminants peut inhiber l'AChE (Fulton & Key, 2001).

Nos résultats obtenus chez *H. aperta* juvéniles montrent une toxicité aigue pour l'insecticide Actara. Les individus traités présentent une inhibition de l'activité spécifique AChE, en fonction de l'augmentation de la dose de traitement. Le taux d'inhibition de l'activité de l'AChE, revèle que les indivius de Guelma ont le taux le plus faible, en comparaison avec les individus d'El Kala qui ont une inhibition plus importante de l'activité AChE après le traitement Actara. Les individus d'El Kala étant plus sensibles au traitement car non exposés à la pollution d'origine anthropique. La restauration de l'activité de l'AChE des individus *H. aperta* juveniles, ne s'est pas accomplie. On note augmentation de l'activité de l'AChE mais les individus ne retrouvent pas une activité AChE normale. Cela est dû au temps imparti à la restauration (7 jours). D'autres travaux appuient nos résultats, notamment ceux de Radwan *et al*. (1992), qui ont mis en évidence une inhibition de l'activité (AChE) après exposition du gastéropode terrestre (*Theba pisana)* aux pesticides (carbamates) ou encore de Salama *et al*. (2005) relatifs à une inhibition de l'activité de l'AChE après exposition du gastéropode *Helix aspersa* au carbofurane (pesticide) et aux insecticides (Imidacloprid) (Radwan & Mohamed, 2013). Une étude *in situ* concernant l'activité de l'AChE montre que cette inhibition augmente d'une manière dose–dépendante en présence de poussières métalliques et de cadmium dans les organes *d'Helix aspersa* (Grara, 2011). Les travaux de Brown *et al.* (2004) ; Radenac *et al.* (1998) rapportés par Canty *et al.* (2007) révèlent que le pesticide organothiophosphate (azamethiphos) peut réduire jusqu'à 80 % l'activité acétylcholinestérase après 24 h de traitement chez la moule *M. edulis*.

La glutathion S-transférases comprend une famille d'enzymes impliqués dans le mécanisme de détoxication des xénobiotiques (Jakoby, 1978 ; Chronopoulou & Labrou, 2009 ; Hayes *et al.,* 2005 ; Chronopoulou *et al.,* 2012). En ce qui concerne l'activité de la glutathion S-transférase mesurée durant le traitement insecticide avec les deux doses d'Actara, on enregistre une induction signification de l'activité spécifique. Le taux d'induction de l'activité de la GST est de 32,99 % à Guelma et 40,03 % à El Kala pour le traitement dose 1 d'Actara. La restauration de l'activité de GST chez les individus *H. aperta* juvéniles ne s'est pas finie aubout de 7 jours. Les résultats de Leomanni *et al.,* (2015) ont démontré la sensibilité d'*H. aperta* au stress oxydatif induit par l'exposition au Carbaryl à une concentration réalisable sur

le plan environnemental. Cette espèce active un certain nombre de réponses antioxydantes enzymatiques. L'exposition au pesticide met l'animal face au risque au stress oxydatif et de ses dommages. Les réponses observées peuvent être utilisées comme biomarqueurs sensibles pour la détection et l'évaluation des effets causés par l'exposition au pesticide sur des espèces non cibles dans des environnements terrestres et soulignent également l'utilité de l'escargot terrestre *H. aperta* comme espèce bioindicatrice potentielle pour évaluer le risque de contamination environnementale des pesticides. Par ailleurs, Hai *et al.* (1997) revue par Mohammad *et al.* (2004) ont observés des effets des COP qui induisent un stress oxydatif créant des dommages au niveau cellulaire et tissulaire lorsque les capacités protectrices endogènes de l'organisme sont dépassées.

On note aussi, une difference dans la DL_{50} de l'Actara chez les individus d'El Kala qui est de 3565 mg m.a./l, et la DL_{50} de l'Actara chez les individus d'El Hadjar est de 4298 mg m.a./l. On déduit que les individus d'El Kala sont plus sensibles. Senn *et al.* (1998) trouvent la DL_{50} pour une contamination par voie orale du rat est égale à 1563 mg/kg. La DL_{50} pour une contamination percutanée du rat est 2000 mg/kg. La CL_{50} (4 h) pour les rats elle est de 3720 mg/m^3. La DL_{50} pour une contamination par voie orale des oiseaux : pour le colin de Virginie, elle est de 1552 mg/kg, pour le canard colvert elle est de 576 mg/kg. La CL_{50} pour une contamination alimentaire : pour le colin de Virginie et canard colvert > 5200 mg/kg. En ce qui concerne les poissons : CL_{50} (96 h) pour la truite arc> 100, le crapet arlequin> 114, vairons-de-mouton> 111 mg/l. Pour les abeilles, la CL_{50} pour une contamination par contacte, elle est de 0,024 mg/ abeille. Pour le vers *Eisenia foetida* la CL_{50} (14 jours) > 1000 mg/ kg de sol. La CE_{50} pour le crustacé daphnie est de (48 h) > 100 mg/l. Autres espèces aquatiques : CL_{50} (96 h) pour les crevettes mysidacés 6,9 mg/l ; CE_{50} (96 h) pour les huîtres> 119 mg/l (Senn *et al.*, 1998).

Douafer (2015) a remarqué que les Gastéropodes *H. aspersa* et *H. aperta*, traités à l'Actara par ingestion ont montré une série de symptômes qui sont : Le refus de la nourriture et la sécrétion du mucus. Les escargots témoins montrent des activités habituelles (nourriture, locomotion). Une exposition *in vivo* à l'organophosphaté Chlorpyrifos (CPE) et au carbamate Méthomyl (Mt) ont conduit à une inhibition de l'activité de l'AChE et ont égalment affécté le comportement alimentaire et la locomotion du crustacé *Gammarus fossarum* (Xuereb *et al.*, 2009).

Le Dimilin avec sa matière active le diflubenzuron est un inhibiteur de synthèse de chitine benzamide, utilisé principalement pour le contrôle de la spongieuse et les insectes ravageurs du riz et du coton. Il a été utilisé pour les parasites des crustacés, en particulier par les producteurs de poissons rouges et poissons-appâts (Harms, 1996). Différents pesticides perturbent les processus endocriniens dans les invertébrés à des concentrations nettement inférieures à celles qui sont ouvertement métaboliquement toxiques. Par exemple, Cunningham (1986) a démontré que le diflubenzuron inhibe la mue et le développement dans les crustacés estuariens. Nous avons traité les individus d'*H. aperta* juvéniles avec le diflubenzuron, et vue qu'il n'y avait aucune mortalité enregistrée, les mêmes doses que celles de l'Actara ont été utilisées (2500 mg m.a./l et 3000 mg m.a./l). Les variations des biomarqueurs sont enregistées. Aucun effet significatif sur l'activité AChE n'est enregistré après traitement Dimilin car cette molecule agit sur la synthèse de la chitine. Nos résultats montrent de faible taux d'inhibition de l'activité AChE, et ne dépassent pas les 6 % et ceci pour tous les sites et pour les deux doses de traitement Dimilin. Lors de la réstauration de l'activité spécifique de l'AChE, on ne note pas de restauration complète de l'activité AChE. Zaidi & Soltani (2013) n'enregistrent pas d'effet significatif du Dimilin (25 % WP) sur l'activité de l'AChE chez *Ganbusia affinis* durant (7, 14, 21 et 28 jours d'expostion).

Après le traitement des individus *H. aperta* récoltés dans les 5 sites d'études, on remarque une induction significative de l'activité de la GST. On note aussi, un effet site significatif avec El Kala, site, le moins pollué. Le taux d'inhibition est proche et ce pour les deux doses de traitement Dimilin. Pour le traitement dose 1 du Dimilin les taux d'inhibition de l'activité de la GST varient de 15,86 % à 24,07 % respectivement pour El Tarf et El Hadjar ; et lors du traitement dose 2 du Dimilin les taux d'inhibition varient de 19,60 % à 27,44 % respectivement pour El Tarf et Annaba. La restauration de l'activité de la GST chez *H. aperta* n'est pas intégrale.

Les données de toxicité en laboratoire utilisés pour simuler l'effet de diflubenzuron sur les Gastéropodes d'un écosystème littoral montre une CL_{50} = 450 µg/l pour une durée de 4 jours. Les espèces utilisées sont *Juga plicifera* et *Physa sp.* (Hansen & Garton, 1982). La CL_5 des bivalves d'un écosystème littorale est de 90 jours et une concentration de 200 mg/l. Un affaiblissement déclaré des palourdes (*Anodonta cygnea*), et la surveillance des coquilles comme le seul effet observé après une journée 90 exposition à 200 mg/1 de diflubenzuron. Étant donné que les palourdes étaient apparemment en bonne santé dans tous les autres

aspects, il est supposé que cet effet est équivalent à une perte de 5% de leur biomasse. Cette réponse a été approchée en utilisant un LC_5 90 jours de 200 mg/1. (Machado *et al.*, 1990).

5. Conclusion et perspectives

Le but premier de cette étude doctorale est de dresser l'état de la biodiversité des Gastéropodes Terrestres au Nord-Est algérien en rapport avec la pollution des sols, et tester la réponse aux insecticides en laboratoire sur une espèce bioindicatrice *H. aperta* (Born, 1778).

Notre approche d'établir un inventaire spatio-temporel saisonnier (hiver, printemps, été et automne) des Gastéropodes Pulmonés dans plusieurs biotopes du Nord-Est algérien (Annaba, El Hadjar, Guelma, El Tarf et El Kala) nous à permie de recencer 14 espèces malacologiques : Hellicidae (*H. aspersa, H. aperta, H. constantinae, O. lactea, T. pisana),* Hygromiidae (*C. virgata, T. elegans, C. Sp)* Limacidae (*M. nigricans),* Milacidae (*M. gagates),* Cochlicellidae (*C. barbara),* Subulinidae (*R. decolalta),* Spiraxidae *(P. cornea),* Enidae *(Z. detrita).* Les indices écologiques montrent une plus grande biodiversité dans le site d'Annaba avec 14 espèces de Gastéropodes Terrestres, mais que la richesse moyenne est la plus élevée dans le site d'El Kala (8,33 espèces/ relevé), site référencé le moins pollué.

La rétrospective des résultats sur les propriétés physico-chimiques des différents sols ou vivent les Gastéropodes Terrestres sont similaire. La texture est argilolimoneuse. La matière organique est bien présente, le pH eau est alcalin sauf pour le site de Guelma ou il est faiblement acide. Tous les sols sont calcaires, et une porosité assez faible.

Le diagnostique du risque de pollution environnementale lié à l'utilisation des pesticides dans les agrosystèmes et aux activités industrielles se fait par la mesure de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE), et les enzymes de détoxification et antioxydantes (GST) ainsi que la quantité de métallothionéine *in situ* chez l'espèce *H. aperta*. Les biomarqueurs constituent un outil biologique naturel qui peut signaler la pollution d'un milieu. En réponse à ces questions générales le dosage de l'activité AChE *in situ*, révèle le gradient de pollution croissant suivant : printemps < été/automne < hiver. Avec un "effet site" et un "effet saison" très hautement significatif. En ce qui concerne le dosage de la GST *in situ*, durant les différentes saisons, il révèle un "effet saison" très hautement significatif. Dans notre étude, la quantité de Métallothioneine chez *H. aperta* n'est pas significativement différente entre le printemps et l'automne. Mais un effet "site" très hautement significatif est enregistré. Un gradient de pollution est mis en évidence : El Hadjar > El Tarf > El Kala. Les quantités de MTs démontrent que le site d'El Hadjar subi une contamination métallique affectant

l'équilibre physiologique de l'espèce *H. aperta.* La comparaison du taux de métallothionéine conforte nos hypothèses concernant le site d'El Hadjar, étant plus pollué par les ETMs.

Après les traitements insecticides de l'espèce *H. aperta* par voie topique (96h), on peut affirmer que l'espèce est sensible au thiaméthoxame (matière active de l'Actara), et l'est moins au diflubenzuron (matière active du Dimilin). Certe, les résultats montrent, que lors du traitement Actara, l'activité AChE est significativement inhibée et la GST est significativement induite. On a un "effet site" et un "effet saison" très hautement significatif pour les deux biomarqueurs. Une interaction "site*saison" est enregistrée pour l'AChE. Quant au traitement Dimilin, aucun effet significatif n'est enregistré sur l'AChE. La GST, par contre, est significativement induite. Un effet "site" pour les deux biomarqueur est noté. On a également ciblé le processus d'aide au rétablissement d'*H. aperta* à traves la restauration (7 jours). La restauration des activités AChE et GST chez *H. aperta* après le traitement avec l'Actara est bien mis en place pour les biomarqueurs AChE et GST des individus des sites d'Annaba, El Hadjar et Guelma. La restauration des biomarqueurs après traitement Dimilin montre un taux faible pour l'activité spécifique AChE. Une bonne restauration de l'activité de la GST est enregistrée.

De l'ensemble de ces résultats confrontés aux données disponibles dans la littérature, il ressort que l'espèce *H. aperta* peut être utilisée en tant qu'un multibiomarqueur indiquant la pollution organique et métallique dans les écosystèmes terrestres.

En perspective, il serait important de : 1/ mettre en place une banque de données sur les Gastéropodes Terrestres algériens : regrouper les données des inventaires, d'une saison à une autre, d'une année à une autre, constituera ainsi progressivement une banque de données générales. La collecte des données permettra de produire des bilans sous forme de synthèses, de statistiques. Ces outils sont indispensables pour connaître et assurer la conservation de la richesse malacologique et écologique de la région Est du pays. 2/Faire l'identification génétique des espèces de Gastéropodes Terrestres algérien : certaines espèces peuvent être endémiques à la région, et il est important de le signaler. 3/Voir l'effet des insecticides chez l'espèce *H. aperta* au premier stade de vie, car c'est l'âge où ils sont le plus sensibles.

6. Résumés

6.1. Résumé

Les recherches menées visent **1**/ à réaliser l'inventaire spatio-temporel (hiver, printemps, été et automne) des Gastéropodes Terrestres dans plusieurs biotopes de l'Est algérien (Annaba, El Tarf, El Kala, El Hadjar et Guelma), **2/** à évaluer la qualité des sols des différents sites retenus, et **3/** à examiner la toxicité de deux insecticides homologués en Algérie (Actara un insecticide néonicotinoïde et Dimilin uninhibiteur de la synthèse de la chitine) durant l'exposition par voie topique et la periode de restauration.

Les prospections ont été menées de janvier 2014 à janvier 2015. L'inventaire a été complété par une étude biométrique et morphologique. La richesse spécifique du peuplement dans le Nord-Est Algérien est de 14 espèces de Gastéropodes Terrestres se répartissant comme suit: la famille des Limacidae avec l'espèce de limace *Milax nigricans* (Phillipi, 1836) et la famille des Milacidae avec la limace *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) ; la famille Cochlicellidae avec *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758) ; la famille des Hygromiidae avec *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778), *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791) et C*ernuella sp.* (Schluter, 1838) ; la famille Helicidae avec *Helix aperta* (Born, 1778), *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix constantinae* (Forbes, 1838) et *Theba pisana* (Müller, 1774), *Otala lactea* (Muller, 1774) ; la famille des Subulinidae avec *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) ; la famille des Oleacinidae avec *Poiretia cornea* (Brumati, 1838); la famille des Enidae avec *Zebrina detrita* (Muller, 1774). Les différents indices écologiques du peuplement ont été calculés pour chaque site (abondance, richesse totale, richesse moyenne, fréquence d'occurrence, fréquence relative, diversité et équitabilité). Les espèces les plus abondantes sont: *H. apsersa* et *H. aperta*.

Les activités de l'acétylcholinestérase (AChE) et de la glutathion S-transférase (GST), biomarqueurs de neurotoxicité et du stress oxydatif respectivement, ont été mesurées *in situ* chez des individus d'*Helix aperta*, retenue comme espèce bioindicatrice de la pollution, dans divers sites de l'Est algérien (El-Kala, El-Tarf, Annaba, El-Hadjar et Guelma). Les résultats montrent une induction de l'activité GST et une inhibition de l'activité AChE plus marquées à proximité des sources de pollution. Ainsi, un gradient de pollution décroissant a été mis en évidence: El Hadjar > Annaba > Guelma > El Tarf > El Kala. El Hadjar étant le site le plus pollué. Le dosage de la métallothionéine à été réalisé. Il reflète un taux de contamination des sols par les métaux lourds élevé dans la région d'El Hadjar.

Les risques écotoxicologiques de deux insecticides (Actara et Dimilin) couramment utilisés en agriculture ont été évalués par voie topique en conditions de laboratoire sur les individus juvéniles. Les résultats montrent une réponse des biomarqueurs AChE et GST. La restauration des réponses est également abordée après alimentation avec une nourriture non contaminée pendant 7 jours. Les individus des sites pollués ont une meilleure adaptabilité à la contamination, que les individus du site le moins pollué. Les paramètres de létalités ont été déterminés pour l'Actara (DL_{50}=3565mg m.a./l), c'est donc la molécule la plus toxique comparativement au Dimilin.

Mots clés : Pollution, Sols, Est Algérien, Bioindicateurs, *Helix aperta*, Biomarqueurs, Insecticides, Toxicité, Actara, Dimilin.

6.2. Abstract

The current research aimed **1 /** to determine the spatial and temporal inventory (winter, spring, summer and autumn) of the terrestrial gastropods in several biotopes in eastern Algeria (Annaba, El Tarf, El Kala, El Hadjar and Guelma), **2 /** To evaluate the soil quality of the different sites selected, and **3 /** to examine the toxicity of two insecticides registered in Algeria (Actara a neonicotinoid insecticide and Dimilin an inhibitor of chitin synthesis) during exposure and restoration period.

The surveys were carried out from january 2014 to january 2015. The inventory was supplemented by a biometric and morphological study. The specific wealth of settlement in Northeast Algeria is 14 species of terrestrial gastropods distributed as follows: Limacidae family with specie of slug *Milax nigricans* (Phillipi, 1836) and Milacidae with *Milax gagates* (Draparnaud, 1801); The Cochlicellidae family with *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758); The family Hygromiidae with *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778), *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791) and *Cernuella sp.* (Schluter, 1838); The Helicidae family with *Helix aperta* (Born, 1778), *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix constantinae* (Forbes, 1838) and *Theba pisana* (Müller, 1774), *Otala lactea* (Muller, 1774); The Subulinidae family with *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758); The family of Oleacinidae with *Poiretia cornea* (Brumati, 1838); The Enidae family with *Zebrina detrita* (Muller, 1774). The different ecological indices of settlement were calculated for each site (abundance, total wealth, average richness, frequency of occurrence, relative frequency, diversity and fairness). The most abundant species are: *H. apsersa* and *H. aperta.*

The activities of acetylcholinesterase (AChE) and glutathione S-transferase (GST), biomarkers of neurotoxicity and oxidative stress respectively, were measured *in situ* in individuals of *Helix aperta*, retained as a bioindicating species of pollution, in various sites in eastern Algeria (El-Kala, El-Tarf, Annaba, El-Hadjar and Guelma). The results show an induction of GST activity and a more marked inhibition of AChE activity in the vicinity of pollution sources. Thus, a decreasing pollution gradient has been highlighted: El Hadjar> Annaba> Guelma> El Tarf> El Kala. El Hadjar being the most polluted site. The metallothionein assay was performed. It reflects a high soil contamination rate in the El Hadjar region.

The ecotoxicological risks of two insecticides (Actara and Dimilin) commonly used in agriculture were evaluated topically under laboratory conditions on juvenile individuals. The results show a response of the AChE and GST biomarkers. Restoration of responses is also discussed after feeding with uncontaminated food during 7 days. The individuals of polluted sites have a better adaptability to the contamination, than the individuals of the least polluted site. The parameters of lethality can be determined for Actara (LD50 = 3565mg m.a / l), so it is the most toxic molecule than Dimilin.

Key words: Pollution, Soils, East Algeria, Bioindicators, *Helix aperta*, Biomarkers, Insecticides, Toxicity, Actara, Dimilin.

6.3 ملخص

يهدف هذا البحث **1** / تحقيق المخزون الزمكان (الشتاء، الربيع، الصيف والخريف) الرخويات الأرضية في العديد من الموائل في شرق الجزائر (عنابة، الطارف، القالة، الحجار وقالمة)، **2** / لتقييم جودة التربة في مختلف مواقع مختارة، و **3** / لدراسة سمية اثنين من المبيدات المسجلة في الجزائر (Actara مبيد حشري neonicotinoid و Dimilin مثبط نموقشرة الحشرة) خلال المعرض والترميم.

أجريت المسوحات خلال الفترة من يناير 2014 إلى يناير 2015. وقد تم الانتهاء من الجرد بدراسة البيولوجية والمورفولوجية. ثراء الأنواع المستوطنة في شمال شرق الجزائر هو 14 نوعا من الرخويات الأراضي الموزعة على النحو التالي:
Milax nigricans (Phillipi, 1836) et *Milax gagates* (Draparnaud, 1801) ; *Cochlicella barbara* (Linnaeus, 1758) ; *Cernuella virgata* (Da Costa, 1778), *Trochoidea elegans* (Gmelin, 1791) C*ernuella sp.* (Schluter, 1838) ; *Helix aperta* (Born, 1778), *Helix aspersa* (Müller, 1774), *Helix constantinae* (Forbes, 1838) *Theba pisana* (Müller, 1774), *Otala lactea* (Muller, 1774) ; *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) ; *Poiretia cornea* (Brumati, 1838); avec *Zebrina detrita* (Muller, 1774). تم حساب مؤشرات بيئية مختلفة لكل موقع (وفرة والثروة الإجمالية، ومتوسط ثروة، وتواتر حدوث، التكرار النسبي والتنوع والتوزيع المتساوي). الأنواع الأكثر وفرة هي: *H. apsersa* و *H. aperta*.

أنشطة أستيل (أستيلكولينستراز) والجلوتاثيون **S**-ترانسفيراز (GST) ، المؤشرات الحيوية العصبية والتوتر التأكسدي ، على التوالي، تم قياسهم في الموقع في الأفراد من *H. aperta* ، اختير الأنواع مؤشرات بيولوجية من التلوث، في مواقع مختلفة في شرق الجزائر (القالة، الطارف، عنابة، الحجار وقالمة). أظهرت النتائج تحريض النشاط GST وتثبيط النشاط أستيلكولينستراز أكثر وضوحا بالقرب من مصادر التلوث. وهكذا، تم تسليط الضوء تقليل التدرج التلوث: الحجار> عنابة> قالمة> الطارف> القالة. الحجار كونه الموقع الأكثر تلوثا. وقد أدرك جرعة metallothionein. وهو يعكس مستويات تلوث التربة بالمعادن الثقيلة أعلى في منطقة الحجار.

تم تقييم المخاطر السمية الإيكولوجية اثنين من المبيدات الحشرية (Actara وDimilin) التي يشيع استخدامها في الزراعة, عن طريق معرضي في ظروف المختبر على الأفراد (الأحداث). اظهرت النتائج تدهور المؤشرات الحيوية أستيلكولينستراز وGST ويناقش استعادة الإجابات أيضا بعد اكل مواد غذائية غير ملوثة. أفراد المواقع الملوثة لديها القدرة على التكيف بشكل أفضل للتلوث. يمكن تحديد الجرعة القاتلة50 ل Actara (LD50= 3565 مغ م.ف/ل)، لذلك هذا هو الجزيء الأكثر سمية مقارنة مع Dimilin.

كلمات البحث:

المؤشرات الحيوية، مبيدات حشرية، سمية، *H. aperta* التلوث، التربة، شرق الجزائر، مؤشرات بيولوجية،

Actara, Dimilin.

7. Références bibliographiques

Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Ent*., 18 : 256-267.

Abdel-Halim, K.Y., Abo El-Saad, A.M., Talha, M.M., Hussein, A.A., Bakry, N.M., 2013. Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere,* 93 (6) : 1131-1138.

Abel, P.D., 1991. Approaches to measuring the toxicity of polluants to marine organisms. In: Abel, P.D., Axiak, V., (eds) Ecotoxicology and the Marine Environment. Ellis Horwood Ltd, New York, pp. 19-38.

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 Ingénieur Ecologie, Institut Sciences de la Nature, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen, 117p.

Alloway, B.J., 1995. Heavy Metals in Soils. Chapman & Hall, London. pp. 368.

Altes, J., 1956. Sur le polymorphisme de la coquille de Leucochroa candidissima. Modalités et déterminisme. *Bull. Mus. Hist. Nat. Marseille. TXVI.* pp. 53-67.

Amiard-Triquet, C., Altmann, S., Amiard, J.C., Ballan-Dufrancais, C., Baumard, P., Budzinski, H., Crouzet, C., Garrigues, J.P., His, E., Jeantet, A.Y., Menasria, R., Mora, P., Mouneyrac, C., Narbonne, J.F., Pavillon, J.F., 1998. Fate and effects of micropolluants in the Girond estuary, France: a multidisciplinary approach. *Hydrobiologia*, 373/374 : 259 - 279.

Anonymous., 1965. Molluscicidal screening an evaluation. *WHO. Bull*., 38 : 507-581.

Association Noé Conservation, 2009. Mini-guide d'identification des escargots et des limaces de l'Opération Escargots. Muséum National d'Histoire Naturelle. pp. 29.

Banni, M., Dondero, F., Jebali, J., Guerbej, H., Boussetta, H., Viarengo, A., 2007. Assessment of heavy metal contamination using real time PCR analysis of mussel metallothionein mt10 and mt20 expression: a validation along the Tunisian coasts. *Biomarkers,* 12 (4) : 369-383.

Barjaktarovic, L., Elliott, J.E., Scheuhammer, A.M., 2002. Metal and Metallothionein Concentrations in Scoter (Melanitta spp.) from the Pacific Northwest of Canada, 1989–1994. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43: 0486-0491.

Barker, G.M., 2001. The Biology of Terrestial Molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 567 p.

Barker, G.M., Mayhill, P.C., 1999. Patterns of diversity and habitat relationships in terrestrial mollusc communities of the Pukeamaru Ecological District, northeastern New Zealand. *Journal of Biogeography*, 26 : 215-238.

Baumont, S., Camard, J.P., Lefranc, A., Franconi, A., 2004. Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Observatoire Régional de Santé d'Île-de-France.

Baurand, P.E., Capelli, N., Scheifler, R., de Vaufleury, A., 2014. An assessment of the embryotoxicity of cadmium in the terrestrial mollusk *Cantareus aspersus*: From bioaccumulation to impacts at different levels of biological organization. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 101 : 89–94.

Baurand, P.E., de Vaufleury, A., Scheifler, R., Capelli, N., 2013. Coupling of random amplified polymorphic DNA profiles analysis and high resolution capillary electrophoresis system for the assessment of chemical genotoxicity. *Environ. Sci. Technol.*, 47: 9505–9513.

Beeby, A., 1991. Toxic metal uptake and essential metal regulation in terrestrial invertebrates: a review. In: Newman MC, McIntosh AW, editors. Metal ecotoxicology—concepts and applications. London: Lewis Publishers; pp. 65–89.

Beedy, A., 1985. The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology*, 22 : 267-275.

Bellido, A., Madec, L., Arnaud, J.F., Guiller, A., 2002. Spatial structure of shell polychromatism in populations of *Cepaea nemoralis*: new techniques for an old debate. *Heredity*, 88 : 75–82.

Ben-Khedher, S., Jebali, J., Houas, Z., Nawéli, H., Jrad, A., Banni, M., Boussetta, H., 2014. Metals bioaccumulation and histopathological biomarkers in Carcinus maenas crab

from Bizerta lagoon, Tunisia. *Environmental science and pollution research international,* 21(6) : 4343-4357.

Benyacoub, S., Chabi, Y., 2000. Diagnose écologique de l'avifaune du parc national d'El-Kala. *Revue des Sciences et Technologie. Synthèse,* 7 : 7.

Berger B., Dallinger R., Felder E. & Moser, J., 1993. Budgeting the flow of cadmium and zinc through the terrestrial gastropod *Helix pomatia* L., In *Ecotoxicology of metals in invertebrates,* Ed.

Berger, B., Dallinger, R., 1993. Terrestrial snail as quantitative indicators of environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment,* 25: 65-84.

Berranem, A., 2012. Impact de l'irrigation par les eaux de la moyenne seybouse sur les sols et les rendements des cultures. Memoire de Magister. Option: Pathologies des écosystèmes diagnostic et procédés de traitement. Université Badji Mokhtar –Annaba.

Bertrand-Renault, S., 2004. Je construis mes apprentissages en sciences au premier degré, 1-43.

Bigot, L., 1967. Recherche sur les groupements de Gastéropodes terrestres : la constitution des « grappes ». *Vie et Milieu,* 18 (C) : 1-27.

Binelli A., Ricciardi F., Riva C., Provini A., 2006. New evidences for old biomarkers: effects of several xenobiotics on EROD and AChE activities in Zebra mussel (Dreissena polymorpha). *Chemosphere.* 62 : 510-519.

Bishop, M.J., 1977b. The habitats of mollusca in the central Highland of Scotland. *Journal of Conchology*, 29 (4): 189-197.

Bishop, M.J., 1980. The mollusca of acid woodland in the Italian province of Novara. *Journal of Conchology*, 30 (3): 181-188.

Blacket, MJ., Shea, M., Semeraro, L., Malipatil, M.B., 2016. Introduced Helicidae garden snails in Australia: morphological and molecular diagnostics, species distributions and systematics. *Records of the Australian Museum*, 68(3) : 99-116.

Blindauer, C.A., Leszczyszyn, O.I., 2010. Metallothioneins: unparalleled diversity in structures and func- tions for metal ion homeostasis and more. *Nat. Prod. Rep.,* 27 : 720–741.

Bonham, K.J., Mesibov, R., Bashford, R., 2002. Diversity and abundance of some ground-dwelling invertebrates in plantation vs native forest in Tasmania, Australia. *Forest Ecology and Management*, 158 : 237-247.

Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L., 1990. L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain, *INRA*, 1-5.

Boschi, C., Baur, B., 2007a. The effect of horse, cattle and sheep grazing on the diversity and abundance of land snails in nutrient-poor calcareous grasslands. *Basic and Applied Ecology*, 8 (1) : 55-65.

Boschi, C., Baur, B., 2007b. Effects of management intensity on land snails in Swiss nutrient-poor pastures. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 120 (2-4): 243-249.

Bouaziz-Yahiatene, H., Chougar, S., Medjdoub-Bensaad, F., 2014. Dynamique des populations des *Helix aspersa* (Muller, 1774) dans la région De Tizi-Ouzou (ALGERIE). AFPP – Dixième conference internationale sur les ravageurs en agriculture. Montpellier – 22 ET 23 octobre 2014.

Bouchet, P., Ripken, T., Recorbet, B., 1997. Redécouverte de l'escargot de corse Helix ceratina au bord de l'extinction. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, 52 : 97-111.

Bouhellou, B., 1998. Contribution à l'étude bio-écologique de la faune de Chamaerops humilis (Doum) (Monocotylédones, Palmacées) dans la région de Tlemcen. Thèse Ingénieur Ecologie, Institut Sciences de la Nature, Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen. 93 pp.

Bouraoui, Z., Ghedira, J., Banni, M., Boussetta, H., 2016. Acute Effects of Cadmium and Copper on Cytochemical Responses in the Polychaete Hediste diversicolorInt. *J. Environ. Res.*, 10(1):131-138.

Bourrier, P.H., Berthelin, J., 1998. Contamination des sols par les éléments en trace : les risques et leur gestion. Tec & Doc Lavoisier (Ed.TEC & DOC). Paris.

Boyd, R.S., 2010. Heavy metal pollutants and chemical ecology: exploring new frontiers. *Chem. Ecol.*, 36: 46-58.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principal of protein -dye binding. *Anal biochem*., 72: 248-254.

Brdicka, R., Brezina, M., Kalous, V., 1933. Polarographic studies with the dropping mercury cathode. Part XXXI - A new test for proteins in the presence of cobalt salts in ammoniacal solutions of ammonium chloride. *Collect. Czech. Chem. Commun.,* 5: 112-128.

Bretzel F., Calderisi M., 2006. Metal contamination in urban soils of Coastal Tuscany (Italy). *Environmental Monitoring and Assessment,* 118: 319-335.

Brodersen, J., Madsen, H., 2003. The effect of calcium on the crushing resistance, weight and size of *Biomphalaria sudanica* (Gastropoda: Planorbidae). *Hydrobiologia,* 490 : 181–6.

Brönmark, C., 1985. Freshwater snail diversity: effects of pond area, habitat heterogeneity and isolation. *Oecologia,* 67: 127-131.

Brown, R.J., Galloway, T.S., Lowe, D., Browne, M.A., Dissanayake, A., Jones, M.B., Depledge, M.H., 2004. Differential sensitivity of three biomarkers to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquat. Toxicol.,* 66: 267–278.

Bryan, G.W., 1984. Pollution due to heavy metals and their compounds. In *Marine Ecology* Vol 5, ed. O. Kinne. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 1289-1431

Calvet, R., 2003. Le sol, propriétés et fonctions. Tome 1 : Constitution et structure, phénomènes aux interfaces, Dunod, Paris.

Cameron, R.A.D., Down, K., Pannett, D.J., 1980. Historical and environmental influences on hedgerow snail faunas. *Biological Journal of the Linnean Society,* 13 (1): 75-87.

Cameron, R.A.D., Pokryszko, B.M., 2004. Land mollusc faunas of Bialowieza forest (Poland), and the character and survival of forest faunas in the North european plain. *Journal of Molluscan Studies*, 70: 149-164.

Canty, M.N., Hagger, J.A., Moore, R.T.B., Cooper, L., Galloway, T.S., 2007. Sublethal impact of short term exposure to the organophosphate pesticide azamethiphos in the marine mollusc Mytilus edulis. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 396–402.

Carson, R., 1962. Silent Spring. H. M. Company, Ed., pp. 297. New York.

Chabicovsky, M., Niederstätter, H., Thaler, R., Hödl, E., Parson, W., Rossmanith, W., Dallinger, R., 2003. Localization and quantification of Cd- and Cu-specific metallothionein isoform mRNA in cells and organs of the terrestrial gastropod *Helix pomatia*. *Toxicology and*

Applied Pharmacology, 190(1): 25–36.

Charrier, M., Nicolai, A., Dabard, M.P., Crave, A., 2013. Plan national d'actions 2013-2017 en faveur de l'Hélix de Corse Tyrrhenaria ceratina. Ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie, France.

Chevalier, H., 1992. L'élevage des escargots. Production et préparation du petit- gris. Edit. Du point vétérinaire, Maisons-Alfort, 144 p.

Chevallier, H., 1982. Facteurs de croissance chez des gastéropodes pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Haliotis*, 12 : 29-46.

Chronopoulou, E.G., Labrou, N.E., 2009. *Recent Pat. Biotechnol.*, 3: 211–223.

Chronopoulou, E.G., Papageorgiou, A.C., Markoglou, A., Labroua N.E., 2012. Inhibition of human glutathione transferases by pesticides: Development of a simple analytical assay for the quantification of pesticides in water. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic,* 81: 43– 51.

Cobbinah, J.C., Vink, A., Onwuka, B., 2008. L'élevage d'escargots : production, transformation et commercialisation. Fondation Agromisa, Wageningen. 84p.

Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D., Badot, P.M., 2001. *The garden snail (Helix aspersa) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 1951-1957.

Cook, L.M., Pettitt, C.W.A., 1998. Morph frequencies in the snail *Cepaea nemoralis*: changes with time and their interpretation. *Biol J Linn Soc*, 64 : 137–50.

Cortet, J., Gomot de Vauflery, A., Poinsot- Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., Cluzeau, D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35 (3): 115 – 134.

Courrier de l'environnement de l'INRA N°22. Teneurs totales en métaux lourds dans les sols français ; premiers résultats du programme ASPITET.

Cowie, R.H., Dillon, R.T., Robinson, D.G., Smith J.W., 2009. "Alien non-marine snails and slugs of priority quarantine importance in the United States: A preliminary risk assessment". *American Malacological Bulletin,* 27: 113-132.

Cunningham, P.A., 1986. A Review of Toxicity Testing and Degradation Studies Used to Predict the Effects of Difluubenzuron (Dimilin) on Estuarine Crustaceans. *Environmental Pollution A,* 40: 63-86.

Dagnelie, P., 1980. *« Théorie et méthodes statistiques ». Vol* 2. *Les presses agronomiques de Gembloux. A.S.B.L.*

Dallinger, R., 1996. Metallothionein research in terrestrial invertebrates: synopsis and perspectives. *Comp. Biochem. Physiol.C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.,* 113: 125–133.

Dallinger, R., 2005. Copper in *Helix pomatia* (Gastropoda) is regulated by one single cell type: differently responsive metal pools in rhogocytes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.,* 289: 1185–1195.

Dallinger, R., Berger, B., Gruber, C., Hunziker, P., Sturzenbaum, S., 2000. Metallothioneines in terrestrial invertebrates : structural aspect, biological significance and implication for theire use as biomarkers. *Cell. Mol. Biol.,* 46 : 331-346.

Dallinger, R., Berger, B., Hunziker, P., Kagi, J.H.R., 1997. Metallothionein in snail Cd and Cu metabolism. *Nature,* 388 : 237–238.

Dallinger, R., Berger, B., Triebskorn, R., Köhler, H., 2001. Soil biology and ecotoxicology. In : Barker, G.M. (Ed.). The biology of terrestrial molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 489-525.

Dallinger, R., Wieser, W., 1984. Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. *Comp. Biochem. Physiol.C.,* 79 : 117–124.

Damek-Poprawa, M., 2002. The effect of heavy metal accumulation on metallothionein content in selected tissues of bank voles and yellow-necked mice caught near a steelworks and zinc smelter. *Folia Biologica,* 50: 211-214.

Damerdji, A., 1990. Contribution à l'étude biosystématique des Mollusques Gastéropodes Pulmonés terrestres de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Inst. Biol. Tlemcen. 205p.

Damerdji, A., 2009. Composition et structure de la malacofaune dans l'extrême ouest du littoral algérien. *Afrique science*, 5(3) : 149 - 168.

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*., 23: 11-20.

Damerdji, A., Tahar, A, 2010. Biométrie des coquilles de *Sphincterochila candidissima* (Mollusca - Sphincterochilidae) dans la région de Tlemcen (Algérie) *Rev. Ivoir. Sci. Technol*., 16 : 141 – 151.

Darby, P.C., Bennetts, R.E., Miller, S.J., Percival, H.F., 2002. Movements of florida apple snails in relation to water levels and drying events. *Wetlands*, 22 (3): 489-498.

De Alencastro, L.F., Becker, K.,Slaveykova, V., Tarradellas, J., 2004. Chimie environnementale écotoxicologie. Note de cours, EPFL.

Delaunois, A., 1976. Travaux pratiques de pédologie générale. 2-86.

Deprince, A., 2003. Etude La faune du sol diversité,méthodes d'étude, fonctions et perspectives. *Courrier de l'environnement de l'INRA n°49, juin 2003.*

Dillon, R.T., 1980. Multivariate analysis of desert snail distirbution in a Arizona Canyon. *Malacologia*, 19 (2): 201-207.

Douafer, L., 2010. Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa* (Mollusca, Gasteropoda): inventaire, activité enzymatique et composition physico-chimique des sols. Mémoire de magistère en Biologie Animale, Option: Ecotoxicologie. Département de Biologie, Université d'Annaba. 98p.

Douafer, L., Soltani, N., 2014. Inventory of Land Snails in Some Sites in the Northeast Algeria: Correlation with Soil Characteristics. *Advances in Environmental Biology*, 8(1) : 236-243.

Douafer, L., 2015. Réponse *in situ* et en laboratoire de deux espèces communes de Gastéropodes (*H. aspersa* et *H. aperta*) à une contamination des agrosystèmes par insecticide néonicotinoide (Actara) : activité de l'AChE et stress oxydatif. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.

DPSB, 2012. La Direction de la Programmation et du Suivi budgétaire d'Annaba.

Druart, C., Scheifler, R., de Vaufleury, A., 2010. Towards the development of an embryotoxicity bioassay with terrestrial snails: Screening approach for cadmium and pesticides. *J. Hazard. Mater.* 184: 26–33.

Druart, C., Scheifler, R., Millet, M., de Vaufleury, A., 2012. Landsnail eggs bioassays: A new tool to assess embryotoxicity of contaminants in the solid, liquid or gaseous phase of soil. *Appl. Soil Ecol.,* 53: 56–64.

Duchauffour, P., 1970. Précis de pédologie. Ed. masson et cie, Paris. 33-212.

Dussart, G., Meier-Brook, C., Flood, K. 1995. Spatial autocorrelation of diversity in freshwater molluscan communities. In: Van Bruggen, A.C., Wells, S.M. & Kemperman, T.C.M., Oegstgeest-Leiden. (Backhuys Publishers). *Biodiversity and conservation of the Mollusca.,* 211-216.

Ecobichon, D.J., 1996. Toxic effects of pesticides. In : Klaassen C.D. (Ed), Casarett and Doull's Toxicology, sixth ed. McGraw-Hill, pp. 763-810.

Edward, C.A., Subler, S., Chen, S.K., Bogomolov, D.M., 1996. Essential criteria for selecting bioindicator species, processes, or systems to assess the environemental impact of chemicals on soil ecosystems. In : Van Straalen, N.M., Krivolutsky, D.A., (Eds). *Bioindicator Systems for Soil Pollution*. Kluwer, Amsterdam, The Netherlands, 67-84.

Eijsackers, H., 1983. Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environmental Monitoring and Assessment,* 3: 307-316.

Elliott, J.E., Scheuhammer, A.M. 1997. Heavy metal and metallothionein concentrations in seabirds from the Pacific coast of Canada. *Marine Pollution Bulletin* , 34: 794-801.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Feather-Stone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholesterase activity. *Biochem. Pharmacol*., 7: 88-95.

Emberton, K.C., Pearce, T.A., Randalana, R., 1999. Molluscan diversity in the unconserved Vohimena and the conserved Anosy mountains chains, southeast Madagascar. *Biological Conservation*, 89: 183-188.

Engel, D.W., 1983. Intracellular partitioning of trace metals in marine shellfish. *Sci. Total.*

Environ., 28, 129-140.

Falkner, G., Obrdlik, P., Castella, E., Speight, M.D.C., 2001. Shelled Gastropoda of Western Europe. München. (Friedrich Held Gesellschaft). 267 p.

Falkner, G., Ripken, T.E.J., Falkner, M., 2002. Mollusques continentaux de France. Liste de référence annotée et Bibliographie. Patrimoines naturels, Paris. (Publications Scientifiques du M.N.H.N.). 350 p.

Fiche technique Actara, 2012. PMRA ANNOTATED – MM Sub. No. 2012-0554 30-APRIL-2012 pp.20.

Finney, D.J., 1971. Probits analysis, *Cambridge Univ. Press, UK*. 333p.

Forbes, V.E., Forbes, T.L., 1997. Ecotoxicologie. Théorie et applications. INRA, Paris, France.

Fossi, M.C., Minutoli, R., Guglielmo, L., 2001. Preliminary results of biomarker responses in zooplankton of brackish environments. *Mar. Pollut. Bull*., 42 : 745-748.

Franc, A., 1968. Classe des Gastéropodes, in : Traité de zoologie, édité par P.P. Grassé, Masson, Paris, 5 (3) : l-893.

Fulton, M.H., Key, P.B., 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 : 37-45.

Gaillard, J., 1991. Les mollusques, document polycopié du module de la conférence sur les animaux venimeux au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, juillet 1999. 1-18.

Garric, A., Le Hir, P., 2016. Les pesticides tueurs d'abeilles interdits en 2018... avec des dérogations. press. : *Le Monde.* (La Matinale du 22/06/2016).

Gaucher, G., 1968. Traité de pédologie agricole. Le sol et ses caractéristiques agronomiques. 2-97.

Gauchers, F., Soltser, H., 1981. Base de la production végétale : le sol, Edition Techniques

George, S.G., 1989. Cadmium effects on plaice liver xenobiotic and metal detoxification systems: dose-response. *Aquatic Toxicology*, 15 : 303-310.

Ghedira, J., Jebali, J., Banni, M., Chouba, L., Boussetta, H., López-Barea, J., Alhama, J., 2011. Use of oxidative stress biomarker sin Carcinus maenas to assess littoral zone contamination in Tunisia. *Aquatic Biology*, 14: 87-98.

Gimbert, F., 2006. Cinétiques de transfère de polluants métalliques du sol à l'escargot. Thèse de doctorat. Université de Franche Comté. Sciences de la vie. 5-6.

Goodfriend, G.A, 1986b. Variation in land snail shell form and size and its causes: a review. *Systematic Zoology,* 35 : 204-223.

Goodfriend, G.A., 1992. The use of land snail shells in paleoenvironmental reconstruction. *Quaternary Science Reviews,* 11: 665-685.

Gosteli, M. 1996. Diversities of snail faunas and ecological relationships between snail comunities and vegetation in dry habitats of the northern Swiss Jura. *Malakologische Abhandlungen Staaliches Museum für Tierkunde Dresden,* 18 (10): 105-123.

Grara, N., 2011. Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux. Thèse en science de la vie, Option: Toxicologie cellulaire, Université de Annaba, 120p.

Graveland, J., van der Wal, R., van Balen, J.H., van Noordwijk, A.J., 1994. Poor reproduction in forest passerines from decline of snail abundance on acidified soils. *Nature,* 368 : 446–8.

Grzimek, B., Fontaine, M., 1973. Le monde animal en 13 volumes ; tome III, mollusques et echinodermes, ed. Stauffacher, Zurich, 528p.

Gupta, N., Khan, D.K., Snatra, S.C., 2007. An assessment of heavy metal contamination in vegetables grown in wastewater irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.,* 80 :115-118.

Habig, W.H., Pabst, M. J., Jakoby, W. B., 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation *J. Biol. Chem*., 249 : 7130-7139.

Hai, D.Q., Varga, S.I., Matkovics, B., 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comp. Biochem. Physiol.* C., 117 : 3-88.

Halimi, M., 2010. Rapport interne annuel. Association Nationale pour la Protection de l'Environnement et la lutte contre la Pollution, Wilaya d'Annaba, 30 p.

Hansen, S.R., Garton, R.R., 1982. The ability of toxicity tests to predict the effects of the insecticide diflubenzuron on laboratory stream communities. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.,* 39: 1273-1288.

Harms, C.A., 1996. Treatments for Parasitic Diseases of Aquarium and Ornamental Fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine,* 5(2): 54-63.

Hayes, J.D. Flanagan, J.U. Jowsey, I.R., 2005. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45: 51–88.

Hispard, F., Schuler, D., de Vaufleury, A., Scheifler, R., Badot, P.M., et al., 2008. Metal distribution and metal- lothionein induction after cadmium exposure in the terrestrial snail *Helix aspersa* (Gastropoda, Pulmonata). *Environ. Toxicol. Chem.* 27: 1533–1542.

Höckner, M., Stefanon, K., de Vaufleury, A., Monteiro, F., Pérez-Rafael, S., Palacios O, Capdevila M, Atrian S, Dallinger R., 2011. Physiological relevance and contribution to metal balance of specific and non-specific Metallothionein isoforms in the garden snail, *Cantareus aspersus. Biometals*, 24 (6): 1079–1092.

Hopkin, S. P., 1989. Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science, NY, USA, 366 p.

Hopkin, S.P., 1993. In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In : Calow P (Ed). *Handbook of ecotoxicology*, Blackwell, Oxford, 397-427.

Horsák M., Juřičková L., Beran L., Čejka T., Dvořák L., 2010. "Komentovaný seznam měkkýšů zjištěných ve volné přírodě České a Slovenské republiky. [Annotated list of mollusc species recorded outdoors in the Czech and Slovak Republics]". *Malacologica Bohemoslovaca*, Suppl. 1: 1-37.

Iglesias, J., Castillejo, J., 1998. Field observations on feeding of the land snail *Helix aspersa* Müller. *Journal of Molluscan Studies, Oxford Journals, Life Sciences*, 65 (4), 411- 423.

INERIS, 2015. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Néonicotinoïdes, DRC-15-136881-07690B, p. 43

International Workshop on Crop Protection Chemistry, 2005.

Ismert, M., Oster, T., Bagrel, D., 2002. Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in yhe snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, 46 : 273-280.

Jacques, S., 2002. Induction Expérimentale et Mise au Point d'une Méthode de Dosage des Métallothionéines chez l'Astérie Asterias rubens (Echinodermata). Memoire de licence en sciences zoologiques. Univ. Libre de Bruxelle.

Jakoby, W.B., 1978. The glutathione S-transferases: a group of multi-functional detoxification proteins. *Adv. Enzymol*., 46 : 383-414.

Jakoby, W.B., Habig, W.H., 1980. Glutathione transferases. Enzymatic Basis of detoxification, vol. 2, pp. 63-94. Edited by W.B. Jakoby. New York : Academic Press.

James, M.O., Bowen, E.R., Dansette, P.M., Bend, J.R., 1979. Epoxide hydrase and glutathione S-transferase activities with selected alkene and arene oxides in several marine species. *Chemico-Biol. Interactions*, 25 : 321-344.

Jebali, J., Chicano-Gálvez, E., Fernández-Cisnal, R., Banni, M., Chouba, L., Boussetta, H., Barea, H.L., Alhama, J., 2014. Proteomic analysis in caged Mediterranean crab (Carcinus maenas) and chemical contaminant exposure in Téboulba Harbour, Tunisia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100: 15-26.

Jenkins, K.D., Mason, A.Z., 1988. Relationships between subcellular distributions of cadmium and perturbations in reproduction in the polychaete Neanthes arenaceodenata. *Aquatic Toxicology*, 12 : 229-244.

Jokanovic, M., 2001. Biotransformation of organophosphorus compounds. *Toxicology*, 166 : 139-160.

Jokinen, E.H., 1987. Structure of freshwater snail communities: species-area relationships and incidence categories. *American Malacological Bulletin*, 5 (1): 9-21.

Jones, J.S., Leith, B.H., Rawlings P., 1977. Polymorphism in *Cepaea*: a problem with too many solutions. *Ann. Rev. Ecolog. Syst.*, 61:109–43.

Jordaens, K., De Wolf, H., Vandecasteele, B., Blust, R., Backeljau, T., 2006. Associations between shell strength, shell morphology and heavy metals in the land snail Cepaea nemoralis (Gastropoda, Helicidae). *Science of the Total Environment*, 363 : 285–293.

Kadem, D.D., 2005. Évaluation et comportement des métaux lourds (Cd –Cr –Cu –Ni –Pb –Zn et Mn) dans les sols à vocation agricole et à végétation naturelle soumis à une pollution atmosphérique (El Hadjar –Annaba –Est Algérien).Influence de la végétation sur la dynamique de ces métaux. Thèse de doctorat, option: Ecologie. Université Mentouri – Constantine.

Kägi, J.H.R., 1993. Evolution, structure and chemical activity of class I metallothioneins. An overview. In Suzuki KT, Imura N and Kimura M (Eds.), Metallothionein III—*Biological roles and medical implications.* Birkhäuser Verlag, Basel, pp. 29–55.

Kägi, J.H.R., Himmelhoch, S.R., Whanger, P.D., Bethune, J.L., Vallee, B.L., 1974. Equine hepatic and renal metallothioneins. Purification, molecular weight, amino acid composition, and metal content. *J. Biol. Chem.,* 249 : 3537-3542.

Karas, F., 2009. Invertébrés continentaux des Pays de la Loire - Gretia. 379-387.

Khati, W., Ouali, K., Mouneyrac, C., Banaoui, A., 2012. Metallothioneins in aquatic invertebrates : Their role in metal detoxification and their use in biomonitoring. *Energy Procedia*, 18 : 784 – 794.

Kiss, L., Magnin, F., 2002. The impact of fire on land snail communities in the French mediterranean region: preliminary results. In: Trabaud, L. & Prodon, R., Fire and Biological Processes. 197-213. Leiden. (Backhuys Publishers).

Kiss, L., Magnin, F., 2003. The impact of fire on some mediterranean land snail communities and patterns of post-fire recolonization. *Journal of Molluscan Studies*, 69 : 43-53.

Kiss, L., Magnin, F., Torre, F., 2004. The role of landscape history and persistent biogeographical patterns in shaping the reponses of Mediterranean land snail communities to recent fire disturbances. *Journal of Biogeography*, 31: 145-157.

Kojadinovic, J., Bustamante, P., Le Corre, M., Cosson, R.P., 2007. Trace elements in three marine birds breeding on Reunion Island (Western Indian Ocean): Part 2 - Factors influencing their detoxification. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology,* 52 : 431-440.

Kojima, Y., Berger, C., Vallee, B.L., Kägi, J.H.R., 1976. Amino-acid sequence of equine renal metallothionein-1B. *Proc. natn. Acad. Sci. USA.,* 73: 3413-3417.

Labaune, C., Magnin, F. 2002. Pastoral management vs. lan abandonment in Mediterranean uplands : impact on land snail communities. *Global Ecology and Biogeography*, 11: 237-245.

Labaune, L., Magnin, F., 2001. Land snail communities in mediterranean upland grassland: the relative importance of four sets of environmental and spatial variables. *Journal of Molluscan Studies*, 67: 463-474.

Lam, P.K.S., 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean and Coastal Management*, 52: 348-354.

Larbaa, R., 2014. Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physico-chimiques des sols. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. 83p.

Larbaa, R., Soltani, N., 2014. Use of the land snail Helix aspersa for monitoring heavy metal soil contamination in Northeast Algeria. *Environmental Monitoring and Assessment,* 186 (8): 4987-4995.

Laskowski, R., Hopkin, S.P., 1996b. Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail *Helix aspersa* : implications for predators. *Environmental pollution,* 91: 289-297.

Lavado, R., Urena, R., Martin-Skilton, R., Torreblanca, A., Del Ramo, J., Raldua, D., Porte, C., 2006. The combined use of chemical and biochemical markers to assess water quality along the Ebro River. *Environ. Pollut.,* 139 : 330-339.

Laws, E.A., 1993. Metals. In: Aquatic Pollution: An introductory text, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, pp. 351-415.

Le Groupe d'experts Intergouvernmental sur l'Evolution du Climat-GIEC, 2014. Changements climatiques 2014: Rapport de synthèse. Contribution des Groupes de travail I, II et III au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat [Sous la direction de l'équipe de rédaction principale, R.K. Pachauri et L.A. Meyer]. GIEC, Genève, Suisse, 161 p.

Le Protocole de Kyoto, 2005.

Lecoeur, S., Videman, B., Berny, P., 2004. Evaluation of metallothionein as a biomarker of single and combined Cd/Cu exposure in *Dreissena polymorpha*. *Environ. Res.*, 94:184-191.

Lecoq, M., 1851. Note sur les mœurs de *l'Helix tristis. J. Conchy.*, 2: 146-151.

Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F., Lionetto, MG. 2015. Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail Cantareus apertus exposed to the carbamate pesticide Carbaryl. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.*, 168 : 20–27.

Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Lionetto, MG., 2016. Mercury induced haemocyte alterations in the terrestrial snail Cantareus apertus as novel biomarker. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C.*, 183/184 : 20–27.

Leveau, N., 2001. Encyclopédie de la Plongée – Ed. Vigot.

Lewis, D.B., Magnuson, J.J., 2000. Landscape spatial patterns in freshwater snail assemblages across Northern Highland Catchments. *Freshwater Biology*, 43: 409-420.

Llabador, F., 1970. Sur la variété saharienne de Rumina decollata Linné, 1758 et sa dispersion géographique et altimétrique. *Repr. Journ. Conchyol, Vol.CV III, Fasc.*, 1, 6-15.

Lyon, R., 1984. Metal-protein binding patterns in the hepatopancreas of the crayfish (*Austropotamobius pallipes*) during short term cadmium stress. *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol.*, 78 : 415-418.

Maas, S., Scheifler, R., Benslama, M., Crini, N., Lucot, E., Brahmis, Z., 2010. Spatial distribution of heavy metal concentrations in urban, suburban and agricultural soils in a Mediterranean city of Algeria. *Environmental Pollution*, 158 : 2294–2301.

Machado, J., Coimbra, J., Castilho, F., Sa, C., 1990. Effects of diflubenzuron on shell formation of the freshwater clam, *Anodonta cygnea. Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 35-39.

Marcon, E., 2015. Mesures de la Biodiversité. Master. Kourou, France.

Margoshes, M., Vallee, B., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *Journal of the American Chemical Society.*, 79 : 4813-4814.

Marques, C.C., Gabriel, S.I., Pinheiro, T., Viegas-Crespo, A.M., Mathias, M.d.L., Bebianno, M.J., 2008. Metallothionein levels in Algerian mice (*Mus spretus*) exposed to elemental pollution: An ecophysiological approach. *Chemosphere*, 71, 1340-1347.

Medard-Blondel, A., 2007. Bulletin du Muséum d'histoire naturelle de Marseille. *Mésogée Vol.,* 63.

Merhi, M., 2008. Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse doctorat. Toulouse. Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition.140 p.

Micharlik-Kucharz, A., Strzelec, M., Serafinski, W., 2000. Malacofaune of rivers in Upper Silesia (Southern Poland). *Malakologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden,* 20 (12): 101-109.

Mleiki, A., Irizar, A., Zaldibar, B., El Menif, NT., Marigómez, I.., 2016. Bioaccumulation and tissue distribution of Pb and Cd and growth effects in the green garden snail, Cantareus apertus (Born, 1778), after dietary exposure to the metals alone and in combination. *Science of The Total Environment,* 547 : 148-156.

Modrzewska B., Wyszkowski M., 2014. Trace metals content in soils along the state road 51(northeastern Poland). *Environ. Monit. Assess.,* 186 : 2589–2597.

Mohammad, A., Ranjbar, A., Shahin, S., Nikfar, S., Rezaie, A., 2004. Pesticides and oxidative stress: *a review. Med. Sci. Monit.,* 10 : 141–147.

Morel, R., 1989. *Les sols cultivés*. Lavoisier 2ème édition. Paris, 51-74.

Mouneyrac, C., Amiard triquet, C.,Amiard, J.C., Rainbow, P.S., 2001. Comparison of metallothioneine concentration and tissue distribution of trace metal in crabs (*Pashygrapsus marmoratus*) from a metal-rich estuary, in and out of reproductive season. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol.,* 129: 193-209.

Neubert, E., 2013. *Cantareus apertus*. The IUCN Red List of Threatened Species.

Nisbet, E.G., Fowler, C.M.R., 1995. Is metal disposal toxic to deep oceans, *Nature* 375: 715.

Nyilas, I. F., Sümegi, P., 1991. The mollusc fauna of an original marshland at Batorliget (Hungary). In: Meier-Brook, C., *Proceeding of the tenth International Malacological Congress,* Tübingen., 455-459.

Oerke, E., Dehne, H., 1997. Global crop production and the efficacy of crop productioncurrent situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 203-215.

Osenberg, C.W., Mittelbach, G.G., 1989. Effects of body size on the predator–prey interaction between pumpkinseed sunfish and gastropods. *Ecol. Monogr.*, 59 : 405–32.

Palacios, O., Pagani, A., Pérez-Rafael, S., Egg, M., Höckner, M., et al., 2011. Shaping mechanisms of metal specificity in a family of metazoan metallothioneins: evolutionary differentiation of mollusc metallothioneins. *BMC. Biol.*, 9: 4.

Paul, C.R.C., 1975. The ecology of mollusc in ancient woodland. I The fauna of Haley Wood, Cambridgeshire. *Journal of Conchology*, 28 (5): 301-327.

Paul, C.R.C., 1978a. The ecology of mollusc in ancient woodland. 2 analysis of distribution and experiment in Haley Wood, Cambridgeshire. *Journal of Conchology*, 29 (5) : 281-294.

Perez, K.E., Cordeiro, J.R., 2008. A Guide for Terrestrial Gastropod Identification. *American Malacological Society,* Carbondale, Illinois, pp. 1-72.

Pérez-Rafael, S., Monteiro, F., Dallinger, R., Atrian, S., Palacios, Ò., Capdevila. M., 2014. *Cantareus aspersus* metallothionein metal binding abilities: The unspecific CaCd/CuMT isoform provides hints about the metal preference determinants in metallothioneins.*Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1844 (9): 1694-1707.

Phillips, D.J.H., 1977. The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environements. A review. *Environmental Polution*, 13: 281-317.

Pimentel, D., 1995. Amounts of pesticides reaching target pest: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 8: 17-29.

Pip, E., 1986. A study of pond colonization by freshwater molluscs. *Journal of Molluscan Studies*, 52: 214-224.

Pokryszko, B.M., Cameron, R.A.D., 2005. Geographical variation in the composition and richness of forest snail faunas in northern Europe. *Records of the Western Australian Museum*, 68: 115-132.

Pokryszko, B.M., Cameron, R.A.D., Long, D.C., 2006. Snail faunas in southern English calcareous woodlands: rich and uniform, but geographically differentiated. *Journal of Conchology*, 39 (1): 13-40.

Quensen, J.F., Woodruff, D.S., 1997. Associations between shell morphology and land crab predation in the land snail Cerion. *Func Ecol*, 11 : 464–71.

Quiniou, F., Damiens, G., Gnassia-Barelli, M., Geffard, A., Mouneyrac, C., Budzinski, H., Roméo, M., 2007. Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae. *Environ. Int*., 33 : 27–33.

Radenac, G., Bocquene, G., Fichet, D., Miramand, P., 1998. Contamination of a dredged-material disposal site (La Rochelle Bay, France). The use of the acetylcholinesterase activity of Mytilus edulis (L.) as a biomarker of pesticides, the need for a critical approach. *Biomarkers*, 3: 305–315.

Radwan, M.A., El–Wakil, H.B., Osman K.A., 1992. Toxicity and biochemical impact of certain oxime carbamate pesticides against terrestrial snail, *Theba pisana* (Muller). *J.Environ. Sci. Health*, 27 (6): 759-773.

Radwan, M.A., Mohamed, M.S., 2013. Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95: 91–97.

Ramade, F., 2007. Introduction à l'écotoxicologie. Editions Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

Rao, J.V., 2006. Toxic effects of novel organophosphorus insecticide (RPR-V) on certain biochemical parameters of euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Pest. Biochem. Physiol.*, 86 : 78–84.

Raspor, B., 2001. Elucidation of the mechanism of the Brdicka reaction. *J. Electroanal. Chem.*, 503: 159-162.

Raspor, B., Paic, M., Erk, M., 2001. Analysis of metallothioneins by the modifed Brdicka procedure. *Talanta*, 55: 109-115.

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.

Reuchlin, M., 1991. Précis de statistique, Paris, Presses Universitaires de France (1re éd. 1976).

Robert Nordsieck, 2011. The Living World of Molluscs. (http://www.molluscs.at.)

Rogival, D., Van Campenhout, K., Infante, H.G., Hearn, R., Scheirs, J., Blust, R., 2007a. Induction and metal speciation of metallothionein in wood mice (Apodemus sylvaticus) along a metal pollution gradient. *Environmental Toxicology and Chemistry,* 26: 506-514.

Sacchi, C.F., 1958. Les Mollusques terrestres dans le cadre des relations biogéographiques entre l'Afrique du Nord et l'Italie . *Vie et milieu,* 9: 11-52.

Salama, AK.,Osman, K.A., Saber, N.A., Soliman, S.A., 2005. Oxidative stress induced by different pesticides in the land snails , *Helix aspersa*. *Pakistan journal of biological Science,* 8(1): 92-96.

Samraoui, B., Benyacoub, S., Mecibah, S., Dumont, H.J., 1993. Afrotropical libellulids in the lake district of El Kala, NE Algeria, with a redescrioption of Urothemis e. edwardsi (Selys) and Acisoma panorpoides ascalaphoides (Rambur) (Anisoptera : Libellulidae). - *Odonatologica,* 3: 365-372.

Scheifler, R., de Vaufleury, A., Coeurdassier, M., Crini, N., Badot, P.M., 2006. Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in a soil-plant-invertebrate food chain: a microcosm study. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 815-822.

Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, A., Badot, P.M., 2002. Transfer of cadmium from plant leaves and vege- table flour to the snail *Helix aspersa*: Bioaccumulation and effects. *Ecotoxicol Environ Saf,* 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.

Schiavon, M., Jacquin, F., 1972. Contribution to the technical study of the migration of some organic compounds in soils. *Bullletin de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires,* pp. 221-225

Schiavon, M., Jacquin, F., 1973. Studies on the migration of two triazines as influenced by precipitation. *Symposium on Herbicides and the Soil*, 80-90.

Senn, R., Hofer, D., Hoppe, T., Angst,M., Wyss, P., Brandl, F., Mainfish, P., Zang, L., White, S., 1998. *Proc. Br. Crop Prot. Conf. - Pests Dis.*, 1: 27-36.

Shannon, C.E., Weaver, W., 1963. The mathematical theory of communication. Urbana Univ. Press Illinois : 117-127.

Sifi, K., Chouahda, S., Soltani N., 2007. Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba. *Mésogée*, 63 : 11-18.

Simkiss, K., Jenkins, K.G.A., McLellan, J., Wheeler, E., 1982. Methods of metal incorporation into intracellular granules. *Experientia*, 38 : 333–335.

Soltner, D., 1981. Base de la production végétale: Tome 1 : le sol, Edition techniques agricoles. Some organic compounds in soils. *Bullletin de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires*, 221-225.

Spellerberg, I.F., 2005. Monitoring ecological change. Second Edition, Cambridge University *Press,Cambridge*, England, 410 p.

Suna, Y., Zhoua, Q., Xiea, X., Liua, R., 2010. Spatial, sources and risk assessment of heavy metal contamination of urban soils in typical regions of Shenyang, China. *Journal of Hazardous Materials*, 174: 455–462.

Sverdrup, L.E., de Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S.B., Loibner, A.P., Jensen, J., 2006. Effects dans uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 1941-1945.

Swaroop, S., Gilroy, A.B., Uemura, K., 1966. Statistical methods in malaria eradication. Geneva : World Health Organisation.

Swiergosz-Kowalewska, R., Bednarska, A., Callaghan, A., 2007. Expression of metallothionein genes I and II in bank vole Clethrionomys glareolus populations chronically exposed in situ to heavy metals. *Environmental Science and Technology*, 41: 1032-1037.

Tattersfield, P., 1990. Terrestrial mollusc faunas from some South Pennine Woodlands. *Journal of Conchology*, 33 (6): 355-374.

Terver, A.P., 1839. Catalogue des Mollusques terrestres et fluviatiles observés dans les possessions françaises au Nord de l'Afrique . Paris - Lyon, 40 p.

Thompson, J.A.J., Cosson, R.P., 1984. An improved electrochemical method for the quantification of metallothioneins in marine organisms. *Mar. Environ. Res.,* 11: 137-152.

Vanparys, C., Dauwe, T., Van Campenhout, K., Bervoets, L., De Coen, W., Blust, R., Eens, M., 2008. Metallothioneins (MTs) and delta-aminolevulinic acid dehydratase (ALAd) as biomarkers of metal pollution in great tits (*Parus major*) along a pollution gradient. *Science of the Total Environment,* 401: 184-193.

Varo, I., Navarro, J.C., Amat, F., Guilhermino, L., 2002. Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of Chlorpyrifos and Dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*., 48: 563-569.

Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, G., Moore, M.N., Orunesu, M., 1990. Heavy metal effect on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis* (L.). *Comp. Bioch. Physiol.,* 97 : 37- 42.

Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B., 2006. Principles of ecotoxicology, Third ed. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA.

Wardhaugh, A.A., 1995. The terrestrial molluscan fauna of some woodland in North East Yorkshire, England. *Journal of Conchology*, 35 (4): 313-327.

Wardhaugh, A.A., 1997. The terrestrial molluscan fauna of some woodland in North East Yorkshire England : a framework for quality scoring and association with old woodland flora. *Journal of Conchology*, 36 (1): 19-30.

Welter-Schultes, F.W., 2012. European non-marine molluscs, a guide for species identification. (Planet Poster Editions). - pp. A1-A3, 1-679, Q1-Q78. Göttingen.

Xuereb, B., Lefèvre, E., Garric, J., Geffard, O., 2009. Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): Linking AChE inhibition and behavioural alteration. *Aquatic Toxicology,* 94: *114–122.*

Yang, Y., Zhang, F.S., Li, H.F., Jiang, R.F., 2008. Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils. *J. Environ. Management,* 90 : 1117–1122.

Zaafour, M., Meddour, A., Boulakoud, M.S., 2014. Biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* Müller (Gastropoda ; Helicidae) en zones agricole et urbaine polluée dans la région d ' El -Hadjar (Annaba , Algérie). *Rev. Sci. Technol., Synthèse,* 28 : 96-105.

Zaidi, N., Soltani, N., 2011. Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on Gambusia affinis: chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control*, 59 (4): 106-113.

Zaidi, N., Soltani, N., 2013. Laboratory evaluation of environmental risk assessment of pesticides for mosquito control: toxicity of Dimilin on a larvivorous fish, *Gambusia affinis. Advances in Environmental Biology*, 7(4): 605-613.

Zhao, Q., Smith, M.L, Stesto, B.K., 1994. The ω-conotoxin SNX 111, a N-type Ca^{2+} channel blocker dramatically ameliorates brain damage due to transient focal ischemia. *Acta. Physiol. Scand.,* 150: 459-461.

Webographie

www.aujardin.info

www.climate-data.org

www.Larousse.fr

www.rome2rio.com

8. Annexes

Annexe 1

Drimia maritima

Plantago major

Silybum marianum

Sonchus asper

Lampsana communis

Galactites tomentosa

Urtica dioica

Senecio vulgaris

Conyza canadensis

Calicotome spinosa

Olea europea

Asphodelus microcarpus

Figure. Végétations abritant les espèces de Gastéropodes Terrestres.

Figure. Coquilles grandeurs nature (Association noé consérvation, 2009).

Figure. Zone où *H. aperta* est sur liste rouge (Neubert, 2013).

Croissance *H. aperta* (Born, 1778)

Au mois de février les oeufs d'*Helix aperta* commencent à éclore. Après l'éclosion *Helix aperta* a fait l'objet d'un suivi de croissance. Un groupe a été rapporté au laboratoire, pour un suivi en étuve avec les conditions de température et d'humidité contrôlées (étuve 25°C/ humidité relative 75%). Un deuxième groupe d'escargot a été laissé en milieu naturel (une parcelle de 100 cm^2 dans le milieu naturel recouverte de moustiquaire). La croissance est évaluée par des pesées régulières chaque semaine. Les résultats rapportés dans le tableau ont été comparés avec les références bibliographiques (de Vaufleury & Gimbert 2009).

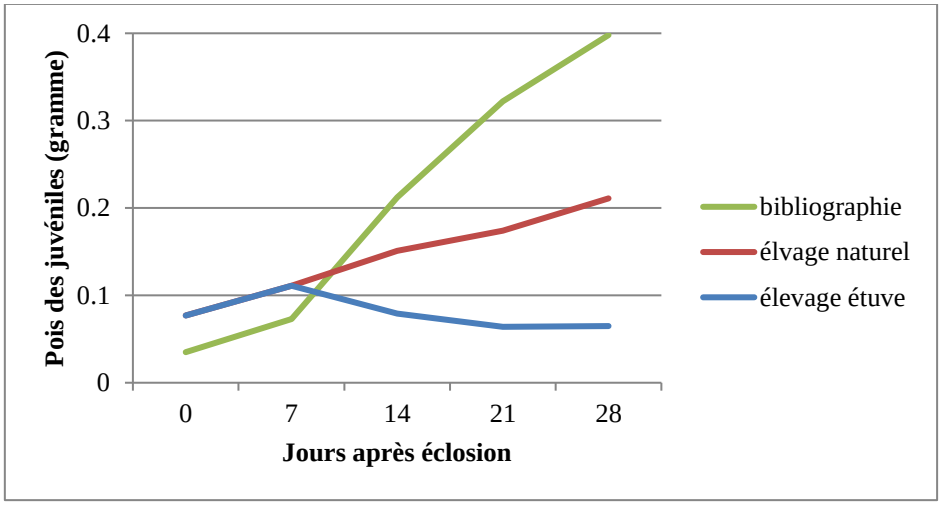

Figure. Croissance (g) des juvéniles d'*H. aperta*

Tests de Toxicité

Tableau : Toxicité de l'Actara (mg m.a./L) à l'égard des individus juvéniles d'*H. aperta* après une exposition de 96 h ((%), n=3 répétitions comportant chacune 10 individus). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P >0,05).

Dose / Sites	Témoin	2500	3000	3500	4000
El-Kala	**0**	**36,36±4,28 a**	**38,09±5,57 a**	**41,66±3,83 a**	**62,50±2,50 a**
El-Hadjar	**0**	**12,50±0,00 b**	**25,00±2,00 b**	**30,00±6,52 b**	**45,00±4,85 b**

Tableau : Transformation des concentrations en logarithmes décimaux.

Concentrations	2500 mg m.a/L	3000 mg m.a/L	3500 mg m.a/L	4000 mg m.a/L
Log concentrations	3,397	3,477	3,544	3,602

Tableau : Doses létales (DL) en fonction des concentrations Actara.

Concentrations / Sites	2500 mg m.a/L	3000 mg m.a/L	3500 mg m.a/L	4000 mg m.a/L
El Kala	45	47	49	51
El Hadjar	34	39	42	46

Restauration /Actara

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité spécifique de l'AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement dose 1 d'Actara
Annaba	44,62
El-Hadjar	48,41
Guelma	28,92
El-Tarf	21,24
El Kala	14,45

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité spécifique de l'AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement dose 2 d'Actara
Annaba	21,93
El-Hadjar	19,73
Guelma	13,58
El-Tarf	-
El Kala	00,30

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 1 = 2500 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement dose 1 d'Actara
Annaba	23,60
El-Hadjar	26,45
Guelma	27,11
El-Tarf	08,66
El Kala	04,90

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Actara (Dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement dose 2 d'Actara
Annaba	25,39
El-Hadjar	17,30
Guelma	17,74
El-Tarf	01,82
El Kala	02,08

Restauration /Dimilin

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité spécifique de l'AChE chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l; dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement dose 1 Dimilin	Restauration (%) après traitement dose 2 Dimilin
Annaba	5,99	10,89
El-Hadjar	8,82	11,36
Guelma	9,88	13,72
El-Tarf	6,19	9,96
El Kala	5,60	7,64

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 1 = 2500 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement Dimilin (dose 1)
Annaba	82,91
El-Hadjar	70,99
Guelma	66,01
El-Tarf	68,63
El Kala	57,41

Tableau : Pourcentage de restauration de l'activité de la GST chez *H. aperta* juvéniles après traitement Dimilin (Dose 2 = 3000 mg m.a./l).

Sites	Restauration (%) après traitement Dimilin (dose 2)
Annaba	87,43
El-Hadjar	69,23
Guelma	77,30
El-Tarf	86,51
El Kala	80,00

Tableau : Teneurs des ETM dans les sites étudiés. Données de Larbaa (2014)

Sites (printemps/ automne) / **ETMs (mg/kg)**	**El Kala**		**El Tarf**		**El Hadjar**	
	printemps	**automne**	**printemps**	**automne**	**printemps**	**automne**
Fe	243,574 ± 24,984	309,526 ± 19,479	332,414 ± 17,694	399,529 ± 15,074	630,147 ± 24,979	698,659 ± 18,503
Mn	6,599 ± 0,992	9,811 ± 1,495	13,563 ± 1,060	15,659 ± 0,657	14,532 ± 1,032	17,826 ± 0,984
Pb	0,540 ± 0,061	0,744 ± 0,052	1,477 ± 0,058	1,742 ± 0,054	1,313 ± 0,081	1,458 ± 0,047
Cd	0,032 ± 0,001	0,043 ± 0,002	0,051 ± 0,003	0,062 ± 0,003	0,119 ± 0,002	0,132 ± 0,008