

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature de la vie
Département : Biologie et Ecologie Végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: البيولوجيا و علم البيئة النباتية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Intitulé :

Toxicité de l'oxyde de zinc et cadmium sur un gastéropode bio accumulateur/ bio indicateur *Hélix aspersa*

Présenté par : BOUACIDA Mohamed El Hachemi

Le 26/06/2022

REBAI Houdeil

Jury d'évaluation :

Encadreur : AFRI-MEHENNAOUI F-Zohra Pr. Université Fr. Mentouri Constantine 1

Co-Encadreur : GOUASMIA Yacine AT Centre de Recherche en Biotechnologie.

Examineur : BAZRI Kamel Eddine MCA Université Frères Mentouri Constantine 1.

Examineur : TOUATI Laid MCA Université Frères Mentouri Constantine 1.

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciements

Nous aimerons commencer par remercier, madame AFRI-MEHENNAOUI Fatima-Zohra qui nous a encadrés tout au long de la réalisation de ce mémoire, nous la remercions pour sa patience, ces précieux conseils et ses encouragements continus. Nous ne saurions terminer ces remerciements sans un mot de gratitude à monsieur GOUASMIA Yassine pour sa disponibilité et ces conseils tout au long la partie pratique, ainsi qu'aux examinateurs monsieur BAZRI Kamel-eddine et monsieur TOUATI Laid qui nous ont fait l'honneur d'accepter de juger ce modeste travail et d'avoir pris sur eux la charge d'examiner et de noter le fruit de nos efforts.

Dédicace

Je dédie ce travail

A **ma mère**, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

A **mon père**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'accordé.

A tous les membres de **ma famille**.

A tous **mes amis**.

BOUACIDA Mohamed El Hachemi

Je dédie ce travail

A mes **chers parents**, pour tous leurs soutiens et leur prières tout long mes études.

A mon cher frère **Mounib** pour son appui et son encouragement.

REBAI Houdeil

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction..... 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I- Généralités sur les métaux lourds.....	5
I.1- Métaux essentiels.....	5
I.2- Métaux toxiques.....	6
I.3- Cadmium	6
I.3.1- Sources du cadmium	6
I.3.2- Effets écotoxicologique du Cd	7
I.4- Zinc	7
I.4.1- Sources du zinc	7
I.4.2- Effets écotoxicologique du Zn	8
I.5- Pollution des sols par les éléments trace métalliques (ETM)	8
I.6- Présentation et classification de l'espèce (<i>Helix aspersa</i>)	9
I.7- Biologie de l'espèce (<i>Helix aspersa</i>)	10
I.7.1- Habitat	10
I.7.2- Alimentation	10
I.7.3- Croissance	10
I.7.4- Hibernation et l'estivation	10
I.7.5- Reproduction	11
I.8- Anatomie générale de l'escargot	11
I.9- Utilisation des escargots (<i>Helix aspersa</i>) en écotoxicologie	11

I.10- Voies d'assimilation transmembranaire des ETM dans les escargots	12
I.11- Sites d'accumulations des éléments traces métalliques dans l'organisme	13
I.12- Voies d'expositions et d'absorptions des ETM par les escargots	13

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1- Caractérisation physico-chimique des sols	16
II.1.1- Texture	16
II.1.2- Potentiel hydrogène	17
II.1.3- Calcaire total	17
II.1.4- Conductivité électrique	17
II.1.5- Matière organique	17
II.1.6- Préparation du sol contaminé	18
II.2- Méthodes de préparation de l'essai d'écotoxicité	19
II.3- Comportement des escargots et pourcentage d'alimentation	20
II.4- Préparation des tampons	21
II.4.1- Pour le dosage des protéines	21
II.4.2- Pour la mesure de l'activité Catalase	21
II.5- Dissection des gastéropodes	21
II.6- Paramètres évalués	22
II.6.1- Paramètres biochimiques	22
II.6.1.1- Dosage des protéines totales	22
II.6.1.2- Dosage de l'activité Catalase (CAT)	23

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1- Caractérisation physico-chimiques du sol	25
III.1.1- Texture du sol.....	25
III.1.2- Potentiel d'hydrogène	25
III.1.3- Calcaire totale	26
III.1.4- Conductivité électrique	26

III.1.5- Matière organique	27
III.2- Paramètres du test d'écotoxicité	28
III.2.1 Effet du ZnO et Cd sur l'évolution du poids d' <i>Helix aspersa</i>	28
III.2.2- Effet du ZnO et Cd sur l'évolution du diamètre de la coquille	28
III.2.3- Comportement des escargots et pourcentage d'alimentation	29
III.2.4- Taux de mortalité	30
III.2.5- Poids frais (tissus mous, hépatopancréas, reins)	30
III.3- Paramètres biochimiques	32
III.3.1- Dosage de la catalase	32
III.3.2- Dosage des protéines	35

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre du Tableau	Page
Tableau 1	Classification de l'espèce <i>Helix aspersa</i> .	9
Tableau 2	Echelle de la texture.	16
Tableau 3	Préparation du sol contaminé par le cadmium et l'oxyde de zinc.	18
Tableau 4	Données statistiques des paramètres physico-chimiques des sols étudiés.	25
Tableau 5	Grille d'appréciation du calcaire total du sol.	26
Tableau 6	Grille d'appréciation de la salinité des sols en fonction de la CE.	27
Tableau 7	Grille d'appréciation des taux de matière organique dans le sol.	27
Tableau 8	Evolution du poids d' <i>Helix aspersa</i> exposé à ZnO et Cd.	28
Tableau 9	Représente le changement des diamètres des escargots.	29
Tableau 10	Pourcentages de consommation pour chaque concentration.	29
Tableau 11	Taux de mortalité pour chaque lot.	30
Tableau 12	Moyennes et écart types des poids frais des organes des escargots en g.	30

Liste des figures

Figure N°	Titre de la figure	Page
Figure 1	Morphologie de l'espèce <i>Helix aspersa</i> .	10
Figure 2	Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot.	11
Figure 3	Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants.	14
Figure 4	Triangle des textures du sol.	16
Figure 5	Tri et pesée des escargots <i>Helix aspersa</i> .	19
Figure 6	Une boîte qui représente une des concentrations.	21
Figure 7	Dissection des escargots et séparation des organes.	22
Figure 8	La centrifugation par l'ultrason.	22
Figure 9	Le broyage mécanique.	22
Figure 10	Variations des poids frais des organes en fonction des concentrations du ZnO et Cd dans le sol.	31
Figure 11	Effet du ZnO et Cd sur l'activité de la catalase dans l'hépatopancréas d' <i>Hélix aspersa</i> après 28 jours d'exposition.	34
Figure 12	Effet du ZnO et Cd sur l'activité de la catalase dans le rein d' <i>hélix aspersa</i> exposé après 28 jours d'exposition.	34
Figure 13	Teneurs des protéines dans les reins et l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> après 28 jours d'exposition au ZnO et Cd.	35

Liste des abréviations

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

C : Concentration.

CF : Concentrations dans l'hépatopancréas

Cd : Cadmium.

CE : Conductivité Electrique.

CR : Concentrations dans les reins.

CT : Calcaire total

ET : Ecart Type

ETM : Eléments Traces Métalliques.

M.O : Matières Organiques.

SSDS : Soil Science Division Staff.

SCd : Sulfure de Cadmium.

pH : Potentiel Hydrogène.

ZnO : Oxyde de Zinc.

Résumé

Le ZnO et le Cd sont des éléments trace métalliques à large spectre présents en Algérie dans l'industrie et l'agriculture. Le but de cette étude est l'évaluation de l'effet toxique de ces deux métaux sur les paramètres physiologiques et biologiques chez une espèce bioindicatrice et bioaccumulatrice de la pollution des sols *Helix aspersa*.

Notre expérimentation a été réalisée sur 144 escargots réparti en six lots : un lot témoin et les cinq autres lots exposés à des concentrations métalliques du sol, fixes pour le Cd (500mg/kg) et des concentrations croissantes du ZnO (250 ;750 ;1250 ; 6250 ; 20250 mg/kg) respectivement pendant une période de 28 jours.

La somme des résultats obtenus montre un effet toxique sur le poids et le comportement des escargots des lots traités par rapport aux témoins avec un effet dose-réponse, En outre, la contamination par les ETM a augmenté le stress oxydatif qui traduit par une augmentation de l'activité spécifique de la catalase et des protéines. Aussi, les résultats de l'expérimentation ont montré clairement des altérations de structures de l'hépatopancréas et les reins en comparaison avec les témoins.

المخلص

الزنك و الكاديوم هما عنصران معدنيان صغيران موجودان في نطاق واسع في الجزائر في الصناعة و الزراعة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السام لهذين المعدنين على الخصائص الفيسيولوجية و البيولوجية في المؤشرات الحيوية و انواع الكائنات المخزنة هيليكس اسبيريسا لتلوث التربة.

اجريت تجربتنا على 144 حلزون مقسمة الى ست دفعات : دفعة مرجعية غير معرضة للعدوى و خمس دفعات اخرى

عولجت بتركيزات ثابتة من الكاديوم (500مغ/كغ) و تركيزات تدريجية من الزنك

(250,750,1250,6250,20250مغ/كغ) على التوالي لمدة 28 يوم

يظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها تأثير ساما على وزن و سلوك الحلزونات المعالجة مقارنة بالحلزونات السليمة ذات تأثير الاستجابة للجرعة، النشاط النوعي للكاتالاز و البروتينات. كما أظهرت النتائج النسيجية بوضوح تغيرات هيكلية في الكبد و البنكرياس و الكليتين مقارنة بالمجموعة السليمة

Introduction

Depuis la révolution industrielle, notre environnement ne cesse de se détériorer. En effet, les activités industrielles, urbaines, agricoles et routières, sans cesse croissantes, sont à l'origine de nombreuses modifications des écosystèmes. Ce changement de l'état naturel, dû aux différents polluants d'origine anthropique, pose de graves répercussions sur la santé humaine et environnementale, et parmi les constituants importants de l'environnement il existe le sol qui est une entité naturelle qui agit comme un tampon qui fournit un support, un ancrage et des nutriments pour les plantes cultivées et des habitats pour divers organismes vivants et micro-organismes (*Singh et Singh, 2020*) Le sol est complexe, il contient des minéraux et de la matière organique, de l'eau, de l'air et des êtres vivants. Les proportions de ces composants varient en fonction de leur emplacement; par conséquent, le sol joue un rôle clé dans le développement et le maintien des organismes (*Citeau, 2008*).

Les métaux lourds sont l'un des polluants les plus dangereux car ils ne peuvent pas être dégradés et leurs concentrations augmentent régulièrement dans différents compartiments des écosystèmes. Pour évaluer la qualité de ces derniers, les recherches actuelles se sont concentrées sur la détection précoce des signes qui traduisent un changement. De ce point de vue, l'écotoxicologie est la plus importante, elle s'intéresse particulièrement à l'interaction entre les produits chimiques présents dans l'environnement et couvre plusieurs domaines dont l'élaboration d'indicateurs biologiques et de biomarqueurs. L'accumulation des éléments traces métalliques dans les tissus cause des effets toxiques et des dommages irréversibles à ces organismes végétaux et animaux à différents niveaux de la chaîne alimentaire (*Mani et Kumar, 2014 ; Yu et al. 2017*). En premier lieu, ces éléments viennent s'accumuler dans l'horizon de surface des sols. Ils peuvent être stockés, transformés, lessivés vers les cours d'eaux, et repris par les êtres vivants. Leur accumulation dans le sol peut compromettre l'usage de ce dernier et induire des dangers pour les organismes exposés tels les microorganismes, la flore, la faune et in fine l'homme via les chaînes alimentaires (*Chassin et al. 1996*). Ces dangers peuvent se traduire par des changements majeurs dans la structure du compartiment biologique. La contamination engendre ainsi des modifications de la densité et la biodiversité, et influence les différentes activités des communautés vivant dans le sol. Cependant, ces communautés, en contact permanent avec ces éléments dans le sol, peuvent s'adapter à l'augmentation de leurs teneurs en développant différents mécanismes (accumulation, détoxification, ...) pour résister à cette contamination. Elles peuvent être ainsi de bons indicateurs de l'état de ces sols. C'est pourquoi, plusieurs représentants ont été utilisés pour la biosurveillance et la bioremédiation des sols contaminés par ces éléments, tels

que les bactéries, les mollusques, les vers de terre, les plantes, etc. (Hooda, 2010 ; Kabata-Pendias, 2011 ; Alloway, 2013).

La bioindication utilise des organismes animaux ou végétaux, apportant des renseignements sur les caractéristiques écologiques de leur habitat, par la bioaccumulation de micropolluants dans leurs organes (Coughtrey et Martin, 1976). Les capacités de résistance et d'accumulation des métaux ont été constatées chez les escargots (Scheifler et al. 2002). Parmi ces espèces, l'escargot *Helix aspersa* communément ou appelé le petit gris constitue un élément de la chaîne trophique et contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Laskowski et Hopkin, 1996). Il possède, également, une capacité de bioaccumulation importante pour de nombreux polluants métalliques (Dallinger, 1993). Les escargots sont capables d'intégrer des sources multiples de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par diverses voies : digestifs, respiratoire et/ou cutanée. Les capacités de résistance et d'accumulation des métaux ont été démontrées chez ces escargots (Scheifler et al. 2002).

Dans ce contexte, plusieurs études ont été menées en Algérie, et récemment à l'est du pays, dont celle de Belhiouani (2019). Elle a abordé la diversité et l'abondance des gastéropodes terrestre dans les zones avec et sans perturbation anthropique, au nord-est Algérien, et aussi l'étude de Sahraoui (2021) a développé, via des essais d'écotoxicologie, l'utilisation des escargots (*Helix aspersa*) comme bioindicateurs de la contamination de sol par les ETM. Cheriti (2021) s'est intéressée à la biodiversité des gastéropodes dans le bassin versant Kébir-Rhumel et aux réponses de ces derniers à la contamination des sols par les ETM sous l'influence des caractéristiques physico-chimiques du sol, ainsi que sur leur capacité d'absorption et d'accumulation des métaux via des tests écotoxicologiques.

Dans l'environnement, le cadmium est un puissant toxique pour les organismes, n'ayant aucun rôle physiologique. Il est présent avec les autres ETM et particulièrement le zinc, vu qu'ils sont présents simultanément dans le même minéral. Contrairement au cadmium, ce dernier est un oligoélément indispensable à nombreux organismes aussi bien végétaux qu'animaux. Dans notre contribution, notre intérêt a porté sur l'exposition des gastéropodes aux deux éléments à la fois car les interactions entre métaux restent mal cernées. Dans ce sens, nous avons entrepris l'évaluation des effets simultanés du cadmium et du zinc sur les paramètres physiologiques de l'espèce *Helix aspersa*, choisie comme modèle biologique.

La structure retenue dans ce manuscrit est la suivante :

- Dans le premier chapitre, une synthèse bibliographique sur les éléments traces métalliques cadmium et zinc, a été abordée et la présentation de quelques données bibliographiques sur l'escargot appartenant à l'espèce *Helix aspersa*.
- Le deuxième chapitre a été consacré pour le matériel et les méthodes ou nous décrivons les différentes techniques de la réalisation du travail.
- Dans le troisième chapitre sont présentes et illustres les résultats obtenus et leurs discussions.

Le manuscrit est achevé par une conclusion et des perspectives de poursuite de cette contribution.

Chapitre I Synthèse bibliographique

Dans ce chapitre un aperçu général va être développé sur la pollution du sol et ses interactions avec les éléments traces métalliques (ETM), et aussi des notions sur le Zn et le Cd et leurs effets écotoxicologiques. L'espèce de gastéropode *Helix aspersa* est également décrite sur les plans morphologique, biologique et physiologique ainsi que sa classification. Puis sera abordée l'utilisation de l'escargot comme espèce bioindicatrice et bioaccumulatrice.

I- Généralités sur les métaux lourds

Les éléments métalliques sont, sous différentes formes, toujours présents au sein de l'environnement. A l'état de traces, ils sont nécessaires voire indispensables aux êtres vivants. A concentration élevée, en revanche, ils présentent une toxicité plus ou moins forte. Les éléments traces sont les 68 éléments minéraux, constituants de la croûte terrestre, dont la concentration est pour chacun d'entre eux inférieure à 0,1%. La présence de métaux lourds dans l'environnement résulte de causes naturelles et des activités humaines. Elle pose un problème particulier, car les métaux lourds s'accumulent et ils ne sont pas biodégradables dans l'environnement.

Ces métaux lourds ne présentent pas tous les mêmes risques en raison de leurs effets sur les organismes, leurs propriétés chimiques, physico-chimiques et biologiques. Leur toxicité est très variable et leur impact sur l'environnement très différent. Les éléments traces métalliques sont généralement définis comme des métaux lourds. On appelle métaux lourds tout élément métallique naturel dont la masse volumique dépassent 5g/cm^3 Ils englobent l'ensemble des métaux et métalloïdes présentant un caractère toxique pour la santé et l'environnement. Les métaux lourds les plus souvent considérés comme toxique pour les organismes vivants : le plomb, le mercure, l'arsenic et le cadmium. D'autres comme le cuivre, le Zinc, le chrome, pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, peuvent devenir toxiques à doses plus importantes. D'un point de vue biologique, on distingue deux types de métaux lourds en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques :

I.1- Métaux essentiels

Sont des éléments indispensables pour de nombreux processus cellulaires ; ils se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil ; c'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe). Par exemple, le zinc (Zn), à la concentration du milli-molaire, est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases,

protéinase, peptidase) et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (*Kabata-Pendias et Pendias, 2011*).

I.2- Métaux toxiques

Ils ont un caractère polluant avec des effets toxiques pour les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg), du cadmium (Cd) (Les métaux lourds ne posent pas seulement un problème pour la pollution de l'air : ils sont biopersistants, perturbent les écosystèmes, détériorent les sols, les eaux de surface, les forêts et les cultures et s'accumulent dans la chaîne alimentaire. Certains sont cancérigènes pour l'homme.

I.3- Le cadmium

Le cadmium est un élément chimique, de symbole Cd et de numéro atomique 48. Dans l'environnement, il n'est presque jamais trouvé à l'état métallique mais dans son état d'oxydation unique, c'est-à-dire Cd^{2+} . Les principaux composés du cadmium sont l'oxyde de cadmium, le chlorure de cadmium et le sulfure de cadmium (*Amirad, 1998*). Ce métal présente des caractéristiques chimiques proches de celles du calcium, en particulier le rayon ionique, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes.

I.3.1- Sources du cadmium

➤ Sources naturelles

Le cadmium présent dans la croûte terrestre peut être dispersé dans l'air par entraînement de particules provenant du sol et par les éruptions volcaniques. Il est présent dans les minerais de zinc (la teneur en cadmium varie de 0,01 à 0,05 %), de plomb et de cuivre, ainsi que dans les phosphates naturels. (*Amirad, 1998*)

➤ Sources anthropiques

Les sources anthropiques du cadmium dans l'environnement humain sont, entre autres, les accumulateurs nickel-cadmium et batteries, les pigments (encre, émaux, verres, peintures...) les stabilisants (matières plastiques), les revêtements anticorrosion, les fusibles, cellules photoélectriques, les activités minières et raffinage des minerais de Zn de Cu et de Pb, la

combustion du charbon, les cimenteries et aciéries, l'acide phosphorique et les engrais phosphatés.

I.3.2- Effets écotoxicologiques du Cd

Le cadmium est un métal non essentiel à la vie. Une fois absorbé, il se disperse dans l'organisme; les concentrations les plus élevées sont principalement retrouvées dans les reins et les os et les poumons. Le cadmium a une affinité particulière pour le rein, car ce dernier à une synthèse endogène de métallothionéines insuffisante pour tout le capter. Celui-ci s'y accumule alors sous forme d'ions Cd^{2+} et peut causer des dommages aux tubules entraînant, entre autres, une protéinurie (*ATSDR, 2008*) pouvant ultimement mener à une insuffisance rénale. Les premières manifestations de toxicité rénale surviennent lorsque la concentration urinaire de cadmium atteint $10 \mu\text{g/g}$ de créatinine. Du point de vue intracellulaire, le cadmium réduit l'activité de glutathion peroxydases, des dismutases de super oxyde et des catalases qui sont des enzymes reconnues pour leur rôle de régulation du stress oxydatif (*Van Coillie, 2011*). Des dommages causés au système osseux peuvent être la conséquence d'une exposition chronique au cadmium. Ces effets seraient amplifiés par le dysfonctionnement des reins qui causerait une altération de la synthèse rénale de vitamine D ainsi qu'une perte de calcium et de phosphate.

I.4- Zinc

Le zinc est un élément chimique, de symbole Zn et de numéro atomique 30.

Dans la nature, il ne se trouve pas à l'état libre, mais sous forme d'oxyde de zinc (ZnO), de carbonates de zinc ($ZnCO_3$). L'état d'oxydation unique du zinc est +2 (appelé ion zincique), ainsi la géochimie du zinc est relativement peu complexe et l'on note un comportement Chalcophile assez marqué par une association fréquente avec le soufre.

I.4.1- Sources du zinc

➤ Sources naturelles

Le zinc est principalement sous forme de sulfure (sphalérite), il est assez uniformément distribué dans les roches magmatiques (40 à 120 mg/kg). Sa concentration est un peu plus élevée dans les sédiments argileux (80 à 120 mg/kg) et les schistes alors qu'elle est plus faible dans les roches mères sableuses. Il entre naturellement dans l'atmosphère à partir du transport

par le vent de particules du sol, des éruptions volcaniques, des feux de forêts et d'émission d'aérosols marins.

➤ Sources anthropiques

Les apports anthropiques de zinc dans l'environnement résultent des activités minières et industrielles, traitement du minerai (raffinage, galvanisation du fer), transport routier (consommation des carburants et huile moteur, usure des pneumatiques et des freins, abrasion des routes), fabrication de gouttières (piles électriques, pigments, matières plastiques, caoutchouc) et les épandages agricoles.

I.4.2- Effets écotoxicologiques du Zinc

Le zinc soluble dans l'eau qui se trouve dans le sol peut contaminer les eaux souterraines. Il n'est pas seulement une menace pour le bétail, mais aussi pour les plantes. Du fait de l'accumulation de zinc dans le sol, les plantes en absorbent souvent des quantités que leur système ne peut pas gérer. De très hautes concentrations de zinc peuvent endommager le pancréas, perturber le métabolisme des protéines.

I.5- Pollution des sols par les éléments trace métalliques

La pollution du sol est l'introduction de toute matière, espèces ou énergie étrangers qui conduit à une perturbation ou détérioration de la qualité des sols, et qui peut altérer l'utilisation de ce dernier ou constituer une menace pour l'équilibre écologique (*Kumar et al.2013*). Cette pollution affecte plusieurs caractéristiques du sol tel que la fertilité. Elle cause aussi un déséquilibre entre la faune et la flore des sols et peut même atteindre les nappes phréatiques en causant une pollution des eaux souterraines. Elle va donc présenter une réelle menace pour les organismes vivants.

La pollution des sols par les ETM est devenue un vrai problème depuis plusieurs décennies et le sol et ses organismes représentent le récepteur majeur des ETM dans l'environnement. Les activités anthropiques ont augmenté l'utilisation des engrais et les pesticides dans l'agriculture et aussi les déchets urbains sont générés en grande quantité. Les activités industrielles aussi ont un rôle important dans cette pollution à cause des émissions atmosphériques ainsi que minières (*Prasad et al.2005 ; Sharpley, 2007; Sherameti, 2010 ; Hindersmann et Mansfeldt, 2014*). L'évaluation des risques liés à la pollution des sols par les ETM est l'une des approches les plus fréquentes et les plus utilisés dans le domaine de l'environnement (*Jensen et al.2006 ;*

Ashraf et al.2014). C'est une tâche complexe qui comporte de nombreux problèmes relatifs à un processus de collecte, et d'analyse des données qui permet de faire une estimation du danger, des risques et des effets indésirables sur les individus, les communautés ou les populations. Cette approche s'avère importante car elle permet d'évaluer les effets nocifs et la toxicité des polluants sur les différents compartiments environnementaux et permet de déterminer des seuils d'utilisation des divers composés.

I.6- Présentation et classification de l'espèce *Helix aspersa*

L'escargot *Helix aspersa* (Müller, 1774) est un mollusque gastéropode, pulmoné terrestre, aussi nommé *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus* (Barker, 2001). Il appartient à l'embranchement des mollusques, animaux à corps mou, dépourvus de squelettes. Selon Bonnet et Vrillon (1990) sa position systématique est la suivante (tab. 1)

Tableau 1 : Classification de l'espèce *Helix aspersa* (Muller, 1774)

Règne	Animal
Embranchement	Mollusques
Classe	Gastéropodes
Sous -classe	Euthyneurs
Ordre	stylommatophores
Sous-ordre	Helicina
Famille	Helicidae
Genre	Helix
Espèce	Helix aspersa

Helix aspersa fait partie de la classe des gastéropodes, sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certains de ses organes (Bonnet et al, 1990). Il possède un poumon (ou cavité palléale), ce qui le situe dans le super ordre des Pulmonés. Il appartient à l'ordre des stylommatophores, caractérisés par des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. Son corps entier peut se loger à l'intérieur de la coquille enroulée en spires ce qui caractérise la famille des Hélicidés; sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre. Le corps de l'escargot est mou et visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de la tête, le pied, la masse viscérale et la coquille (fig 1).

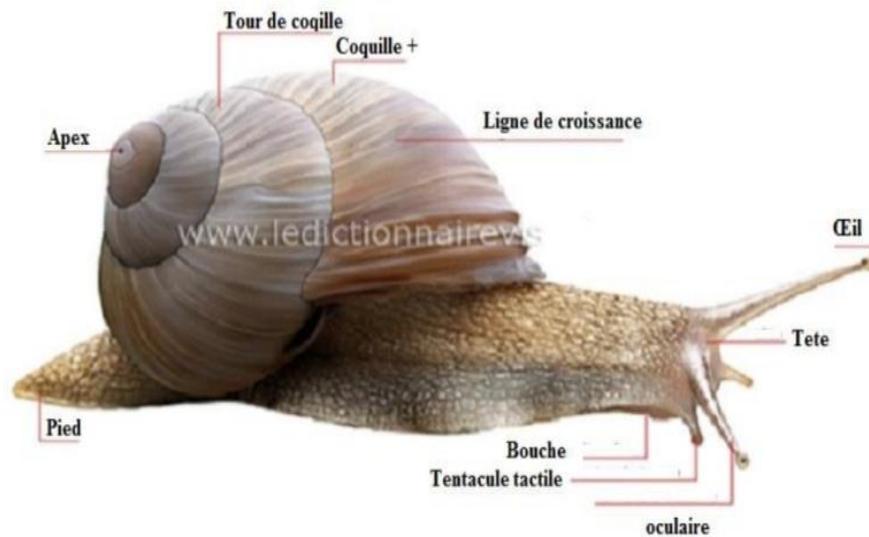


Figure 1 : Morphologie de l'espèce *Helix aspersa* (source internet)

I.7- Biologie de l'espèce *Helix aspersa*

I.7.1- Habitat

Helix aspersa est un escargot ubiquiste, pouvant s'adapter à des biotopes, des sols et des climats variés. Il préfère les milieux ouverts. Il est nocturne, plus en activité pendant la nuit et le matin avec la présence d'humidité, mais peut émerger pendant le jour après la pluie (Gomot et al, 1989).

I.7.2- Alimentation

L'escargot *Helix aspersa* est phytophage (phyllophage et succivore), carpophage (ou frugivore), détritivore et parfois cannibale. Il peut s'attaquer aux plantes cultivées des jardins, causant parfois de gros dégâts aux récoltes (Charrier, 1995).

I.7.3- Croissance

Gomot, (1997) rapporte que la croissance d'*Helix aspersa* se résume en quatre phases bien définies : phase infantile, phase juvénile, phase de maturation sexuelle et la phase adulte. Et sa durée de vie moyenne en milieu naturel est de 6 à 7 ans.

I.7.4- Hibernation et estivation

Les escargots ne peuvent pas survivre lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables ; ils doivent alors adopter une stratégie conservatoire, qui consiste à se murer dans la coquille derrière l'opercule ou l'épiphragme (*Coourdassier, 2002*).

I.7.5- Reproduction

La période de reproduction chez les Helicidae, dans notre région commence au début du mois d'octobre et dure jusqu'à mi-avril. L'accouplement implique une fécondation réciproque par échange de spermatophores entre les deux partenaires. Cette règle n'est cependant pas absolue et certains individus se comportent soit comme mâle soit comme femelle (*Tafoughalt-Benbellil, 2011*).

I.8- Anatomie générale de l'escargot

D'après *Bonnet et al. (1990)* le corps de l'escargot est mou et visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de : la tête, le pied, la masse viscérale et la coquille (fig. 2).

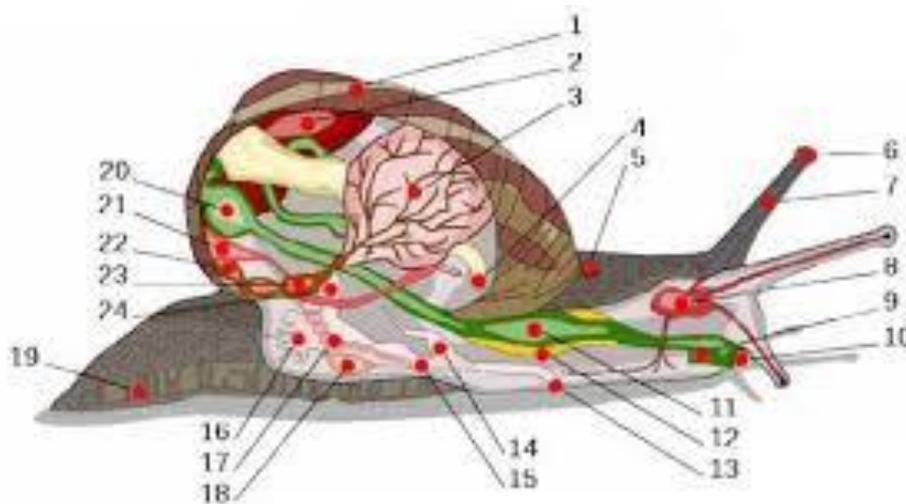


Figure 2 : Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (*Quibik, 2007*)

1-coquille, 2-foie, 3-poumon, 4-anus, 5-pore respiratoire, 6-œil, 7-tentacule, 8-cerveau, 9-conduit salivaire, 10-Bouche, 11-panse, 12-glande salivaire, 13-orifice génital, 14-pénis, 15-vagin, 16-glande muqueuse, 17 -oviducte, 18-sac de dards, 19-pied, 20-estomac, 21-rein, 22-manteau, 23-cœur, 24-canal déférent.

I.9- Utilisation des escargots *Helix aspersa* en écotoxicologie

Le petit-gris est un gastéropode mesurant entre 28 et 35 mm pour un poids adulte de 7 à 15 grammes. Il porte une coquille calcaire à motifs variables mais le plus souvent brune rayée de noir. *Helix aspersa* est sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux nez ou épithéliums olfactifs très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qui l'entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres et près de 99 % de l'activité de l'escargot, y compris ses repas, a lieu de nuit avec un pic deux à trois heures après le coucher de soleil. La fraîcheur nocturne et la rosée facilitent les déplacements et la majorité de sa nourriture dans la nature est les feuilles d'Ortie. Cette espèce vit dans les plaines, les forêts ou dans les jardins. Elle préfère les endroits humides et sombres comme sous les feuilles des plantes ou sur un mur ombragé. Bien qu'on la rencontre aussi bien dans les régions tempérées que chaudes, et elle n'aime pas être exposée au soleil et aux fortes chaleurs. 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 (*Edwards et al, 1996*) :

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

Les mollusques gastéropodes, notamment les escargots *Helix aspersa*, sont connus pour leur grande capacité à accumuler les éléments traces métalliques, à savoir le Cd, Cu, Pb, et Zn. Cette propriété a été mise à profit pour utiliser les escargots comme bioindicateurs de pollution. Ils remplissent les critères précédemment développés et ils sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents car :

- ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (*Dallinger et al, 2001*).
- ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (*Barker, 2001*).
- ils intègrent des sources et voies de contamination multiples (*Menta et Paris, 2001*).
- ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (*Viard et al, 2004*).
- ils constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (*Scheifler et al, 2002*).

I.10- Voies d'assimilation transmembranaire des ETM dans les escargots

Lorsqu'un polluant pénètre dans un organisme, quel que soit sa voie d'entrée, oral, pulmonaire, branchial ou cutané, il parvient dans un premier temps dans la circulation générale (sang ou son équivalent). Puis, à partir de ce liquide interne il se distribue dans les différents tissus et organes. Comme les divers milieux biologiques sont aqueux à plus de 90%, les molécules doivent avoir un certain degré d'hydrosolubilité pour pouvoir se déplacer. Le déplacement dans l'organisme suppose aussi le passage de multiples barrières membranaires. Les transports peuvent être passifs par diffusion simple (les canaux protéiques et les protéines de transports) qui ne concerne que les molécules liposolubles telles que les insecticides organochlorés et organophosphorés. Ils peuvent aussi être actifs nécessitant de l'énergie. Les macromolécules et les particules solides des polluants pénètrent dans la cellule grâce à la pinocytose et la phagocytose.

I.11- Sites d'accumulations des éléments traces métalliques dans l'organisme d'*Helix aspersa*

Le principal organe d'accumulation des ETM est l'hépatopancréas. Lorsque l'organisme est exposé à ces polluants, l'hépatopancréas contient 70% à 90% de la quantité totale d'ETM accumulée (*Dallinger et Wieser, 1984*). Le pied et l'intestin dit « organes secondaires » jouent un rôle important dans le stockage de ces ETM, soit de façon temporaire, ces ETM étant redirigés ensuite vers l'hépatopancréas, soit de façon définitive pour être excrétés. Seul le plomb s'accumule significativement dans la coquille. Le cuivre est stocké de façon plus homogène dans les différents tissus (*Dallinger et Wieser, 1984*).

I.12- Voies d'expositions et d'absorptions des ETM par les escargots

A l'interface sol-plante-atmosphère, l'escargot intègre plusieurs sources de contamination accessible via différentes voies d'exposition (fig. 3) :

- digestive par ingestion de nourriture (plantes et particules du sol) (*Gomot et al, 1989*).
- cutanée, par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (*Coeurdassier et al, 2002*).
- respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques (*Regoli et al, 2006*).

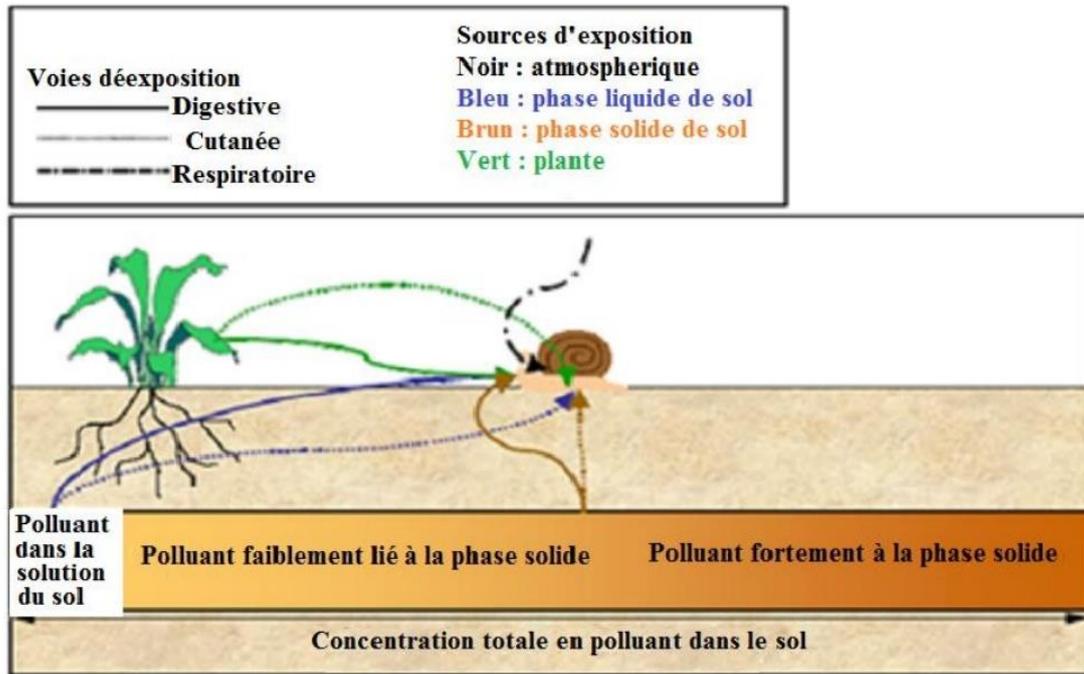


Figure 3 : Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants
 (Scheifler *et al.*, 2002).

Chapitre II Matériel et méthodes

Dans ce chapitre une analyse des paramètres physico-chimiques du sol (texture, pH, calcaire, carbone total et la conductivité électrique) va être abordée, ainsi que les conditions d'élevage des escargots suivies d'une présentation des étapes de la dissection, et faire des tests d'écotoxicité qui s'effectue par l'évaluation des effets des polluants sur les organismes vivants fait classiquement appel à des bioessais en laboratoire, qui permettent de mesurer la toxicité de ces substances dans des conditions contrôlées.

II.1- Caractérisation physico-chimique des sols

II.1.1- Texture

La texture du sol est déterminée en mesurant la granulométrie a pour but d'étudier la taille des particules du sol et leurs répartition, selon la méthode par saturation de Gauchers (1968) qui consiste à mesurer l'humidité du sol. Cette dernière, exprimée en pourcentage, permet de déduire la texture d'après le tableau 2 et la figure 4.

Tableau 2 : Echelle de la texture selon (*Jamagne, 1980*).

Humidité (%)	Texture
<12	Sableuse
12-24	Sablo-limoneuse
24-37,5	Limono-sableuse
37,5-45	Limono-argileuse
45-75	Argilo-limoneuse
>75	Argileuse

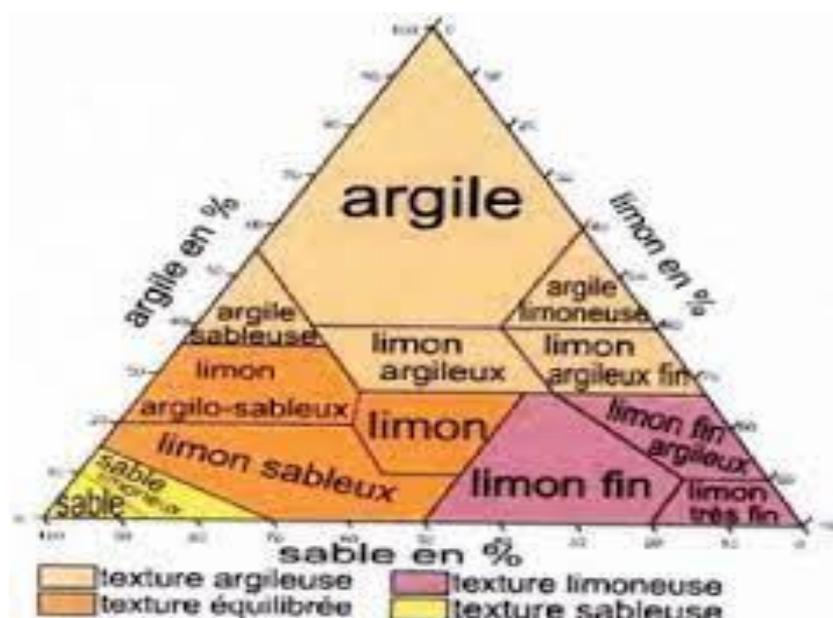


Figure 4 : Triangle des textures du sol.

II.1.2- Potentiel hydrogène

Le pH des sols-tests a été mesuré dans le surnageant d'une solution sol/eau selon le rapport 1/5 selon la méthode AFNORE à l'aide d'un pH-mètre (Thermo scientifictm STARA-CS).

II.1.3- Calcaire total

La teneur du calcaire total dans le sol a été déterminée selon la méthode DROUINEAU à l'aide du calcimètre de Bernard qui permet de mesurer le volume de CO₂ dégagé par action de l'acide chlorhydrique (HCl) sur le carbonate de calcium (CaCO₃) d'un échantillon de sol. Le calcul du pourcentage de calcaire dans le sol se fait par la formule suivante :

$$CaCO_3\% = \frac{V' * 0.3}{V * P} * 100$$

V' : volume de Co₂ produit par 0.3g de CaCo₃ sec et pur en ml

V: volume de Co₂ produit par la quantité de CaCo₃ contenu dans un poids P de sol en ml

P: prise d'essai en g

Les résultats sont exprimés en % de CaCO₃ total

II.1.4- Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) est une mesure qui donne une estimation de la concentration des sels solubles présents dans un échantillon. La conductivité électrique a été déterminée selon la méthode ISO 11265 (1994), dans une suspension sol/eau distillée dans un rapport de 1/5. La mesure de la CE est effectuée sur le surnageant obtenu après centrifugation à l'aide d'un conductimètre (Model WTW/Multi 3420). La CE est exprimée en mS/cm.

II.1.5- Matière organique

La teneur de la matière organique (MO) du sol est déterminée selon la méthode Walkley-Black (*Duchaufour, 1991*) basée sur l'oxydation humide à l'acide chromique. La matière oxydable du sol est oxydée par une solution 1N de K₂Cr₂O₇. La réaction est facilitée par la chaleur générée lorsque deux volumes de H₂SO₄ sont mélangés avec un volume de K₂Cr₂O₇, selon la formule suivante :



Et le calcul du pourcentage de matière organique (% de carbone) dans le sol se fait par la formule suivante en considérant qu' 1ml de dichromate de potassium 1N = 4mg de carbone :

$$C\% = \frac{\text{ml de dichromate potassium 1N en excès} * 0.004 * 100}{\text{Poids du sol (g)}}$$

Les résultats sont exprimés en % de carbone.

L'apport de matière organique permet d'immobiliser les ETM du sol qui ont une grande affinité par rapport à cette dernière, mais la minéralisation ultérieure peut les remettre en solution, il ne s'agit donc qu'une immobilisation temporaire (*Wen et al, 2018*). Dans le cas du Zn et Cd, la formation de complexes organo-métalliques augmente sa mobilité. Donc la MO des sols peut agir de manière différente sur la mobilité, la solubilité et la biodisponibilité des ETM (*Impellitteri et al, 2002*). Il a été démontré que la quantité de la MO a une nette influence sur la capacité à fixer les ETM (*Quenca et al, 2009*).

I.6- Préparation du sol contaminé

Le sol utilisé pour cette expérimentation a été acquis de la forêt d'El Kala, wilaya d'El-Taref. Le choix du site est justifié par son éloignement de toute source de perturbation anthropique. Le sol a été séché à l'air libre pendant 15 jours, puis broyé et tamisé. Il a été ensuite reparti en 5 lots avec 4 répétitions de 200 g pour chacune d'elles (tab 3).

Tableau 3 : Préparation du sol contaminé par le cadmium et l'oxyde de zinc

ETM C	ZnO	Cd
témoin	0 mg/kg	0 mg/kg
C1	250 mg/kg	500mg/kg
C2	750 mg/kg	500mg/kg
C3	2250 mg/kg	500mg/kg
C4	6750 mg/kg	500mg/kg
C5	20250 mg/kg	500mg/kg

La même quantité de sulfure de cadmium (SCd) de la marque FLUCA a été ajoutée à tous les échantillons de sol à raison de 500 mg Cd/kg de sol. L'oxyde de zinc (ZnO) de la marque SIGMA-ADRISH a été apporté en concentration croissante comme le montre le tableau 3. Un lot témoin non supplémenté en métaux complète la série pour le test d'écotoxicité.

II.2- Méthodes de préparation de l'essai d'écotoxicité

Les escargots *Helix aspersa* utilisés dans cette expérimentation ont été collectés dans le parc naturel d'EL Kala wilaya d'El Taref, puis triés et pesés pour avoir des échantillons homogènes d'un poids de 9g et d'une taille de 30 à 40mm (fig 5).



Figure 5 : Tri et pesée des escargots *Helix aspersa*

Pour le test d'écotoxicité, les escargots adultes (entre 5ans et 8ans, avec un diamètre de 40mm et un poids de 9gm) ont été répartis dans des boîtes en plastique transparent (40 x35x15 cm), dont le couvercle est perforé. Les boîtes contiennent 200g du sol contaminé avec une concentration fixe de Cd (500 mg/kg) et 5 concentrations croissantes de ZnO (tab 3) à raison de 4 répliquas par concentration et 6 escargots exposés par boîte (fig. 6). Durant toute la période de l'essai d'écotoxicité, les gastéropodes sont nourris à la farine de blé, distribuée toutes les 24 heures, afin d'assurer leur développement. Le taux d'humidité élevé est maintenu par une pulvérisation journalière d'eau distillée. Afin d'éviter toute contamination surnuméraire, un nettoyage des déchets est effectué tous les 2 jours. Pendant les 28 jours de l'essai, le diamètre et le poids des animaux ont été mesurés, leur comportement observé et le taux de mortalité hebdomadairement notés. Les deux derniers jours du test, l'alimentation a été supprimée pour préparer les escargots à la phase de dissection.



Figure 6 : Une boîte qui représente une des concentrations

III.2.2- Comportement des escargots et pourcentage d'alimentation

Au cours de l'exposition aux différents traitements, nous avons également cherché à caractériser les effets du Cd et ZnO testés sur les comportements plus ou moins perturbés de *Helix aspersa*. Nous avons noté des comportements différents, comme se nourrir normalement ou fuir la nourriture, l'activité des animaux et leur position spatiale dans l'enceinte d'essai : par exemple, actifs ou inactifs en position haute ou sur les supports, ou encore, actifs ou inactifs sur la nourriture. Ces comportements sont enregistrés les jours d'apport de nourriture. L'emplacement dans l'enclos est facilement repérable et les mouvements des animaux sont enregistrés de la manière suivante : après avoir ouvert la boîte, on dit que les escargots ont mouvements au bout d'une minutes sont considérés comme actif et inversement ceux qui restent immobiles sont considérés comme inactifs. À noter que la méthode utilisée est meilleure que l'observation directe sans l'ouverture de la boîte, car étant assez nocturnes, lorsqu'ils sont observés, presque tous les escargots sont inactifs. Ainsi, l'activité observée représente un état réceptif et une capacité à répondre aux stimulations mécaniques comme déplacer et ouvrir les boîtes. Le pourcentage de la consommation est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{Consommation} = \text{QNC} \times 100 / \text{QNF} / \text{QNC} = \text{QNF} - \text{QR}$$

QNC : la somme des quantités de nourriture consommées

QNF : la somme des quantités de nourriture fournies

QR : la somme des quantités résiduelles

II.4- Préparation des tampons

II.4.1- Pour le dosage des protéines

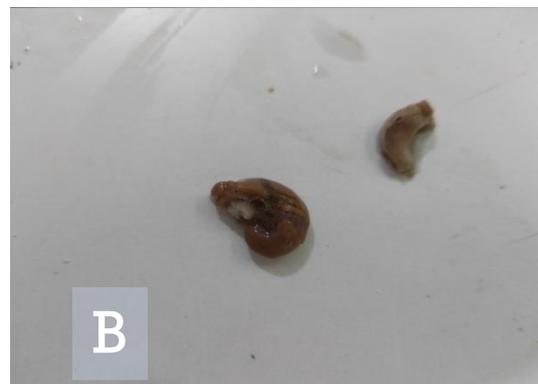
La préparation du tampon TCA (Temps de céphaline activée) consiste en une dilution de 50 g de TCA 20% dans 250 ml d'eau distillée. Après agitation, la solution tampon est conservée au congélateur à -10°C

II.4.2- Pour la mesure de l'activité Catalase

La catalase est une enzyme qui permet la dismutation de peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène. Le tampon phosphate pour le dosage de la catalase se prépare en mélangeant le HKPO_4SO_2 (base) 1.36g dilué dans 200ml d'eau distillé avec 3.66g de $\text{HK}_2\text{PO}_4\text{SO}_2$ (acide) dilué dans 100ml d'eau distillé, et après en ajuste la solution Pour avoir le tampon phosphate en versant l'acide dans la base pour avoir un $\text{pH} = 7.5$ (une solution stable).

II.5- Dissection des gastéropodes

A la fin de la 4ème semaine d'exposition, 6 individus de chaque concentration seront choisis pour avoir un échantillon représentatif. Après la séparation de la tête et du corps de l'escargot, la coquille est incisée pour extraire le pied (fig 7a). Les 2 parties sont pesées ensemble pour avoir le poids total des tissus mous. Le poids frais des deux organes peut être seulement effectué après le sacrifice des escargots à la fin de traitement à l'aide d'une balance de précision « KER N°770 ». Après l'extraction et la pesée du rein et de l'hépatopancréas (fig 7b), ces derniers sont coupés en petit morceaux de 0.04 g (fig 7c) et placés dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml de solution tampon (TCA et catalase) (fig 7d) et congelés à -20°C .



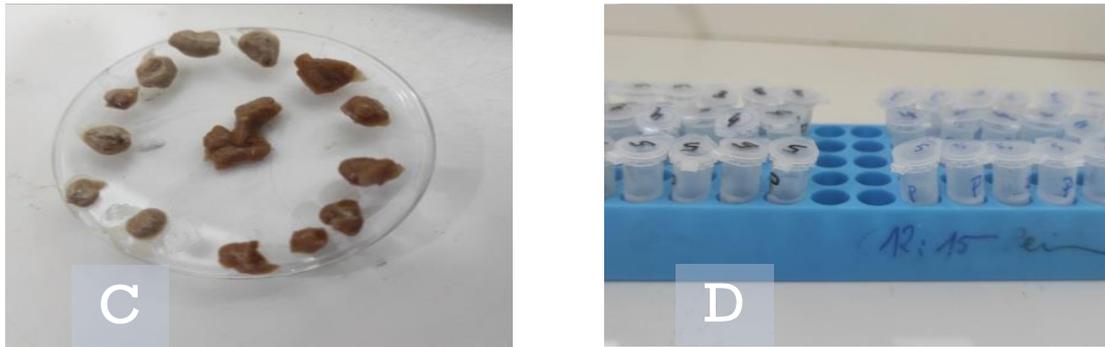


Figure 7 : Dissection des escargots et séparation des organes

A : Incision de la coquille d'escargots ; B : Rein et hépatopancréas.

C : Morceaux de reins et hépatopancréas ; D : Tubes Eppendorf contenant les morceaux d'hépatopancréas et de reins.

II.6- Paramètres évalués

II.6.1- Paramètres biochimiques

II.6.1.1- Dosage des protéines totales

Après le broyage mécanique (fig 8) et la centrifugation par l'ultrason (fig 9) des échantillons d'organes, le dosage des protéines s'effectue selon la méthode de Bradford (1976) qui consiste à additionner à une fraction alicante de 100 μ l de surnageant ou de la gamme étalon, 4 ml du réactif colorant bleu brillant de Coomassie (BBC) G250. La présence des protéines dans l'échantillon se relève par une coloration bleue. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm au spectrophotomètre visible (JENWAY 6300). La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une protéine standard, l'albumine sérum de bœuf (BSA).



Figure 8 : la centrifugation par l'ultrason

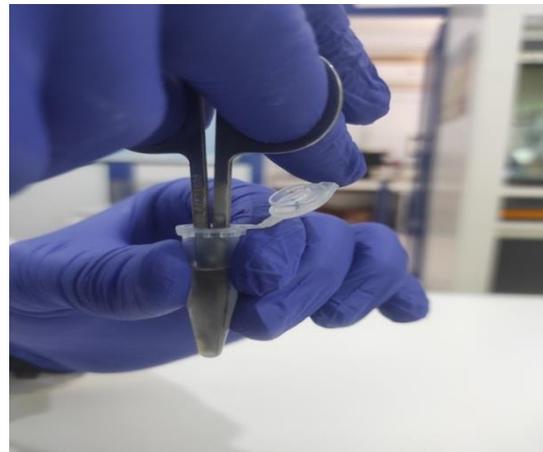


Figure 9 : le broyage mécanique

II.6.1.2- Dosage de l'activité Catalase (CAT)

La Catalase est l'enzyme antioxydante la plus couramment mesurée dans les recherches liées aux radicaux libres. Elle intervient dans la défense de la cellule contre le stress oxydatif en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) toxique, en eau et en oxygène (*Regoli et Pricipato, 1995*). Le protocole le plus couramment utilisé est celui d'Aebi (1984) modifié par Goth (1991).

➤ La mesure de l'activité Catalase (CAT)

L'activité enzymatique catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive la dismutation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en faisant réagir 2340 μ l de tampon phosphate pendant une minute à pH = 7,5 dans 600 μ l de H_2O_2 (50mM) et 60 μ l de surnagent (des organes conservés) à une température d'incubation de 25°C. La réaction est déclenchée par l'addition de l'eau oxygénée. Le dosage s'effectue en suivant la cinétique de la réaction toutes les 15 secondes pendant 1 minute à 240 nm dans des cuves UV en quartz au spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés en μ mol d' H_2O_2 par minute et par mg de protéines.

Chapitre III Résultats et discussion

Dans ce chapitre les résultats des paramètres physico-chimiques seront évalués et les changements morphologique (poids et diamètre) et comportementaux des escargots seront présentés, ainsi que les résultats du dosage des protéines et de la catalase, puis discutés.

III.1- Caractérisation physico-chimiques du sol

Les sols sont caractérisés par leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques. Interrelation Entre ces différentes propriétés déterminer la capacité et les contraintes du sol à assurer les fonctions de support de la biomasse, et plus généralement les conditions d'utilisation des sols. Les paramètres qui définissent les propriétés physico-chimiques des sols étudiés sont résumés dans le tableau 4, signifie : valeur minimale, valeur maximale, valeur moyenne et écart type des cinq répétitions.

Tableau 4 : données statistiques des paramètres physico-chimiques du sol étudié.

	pH	Conductivité électrique mS/cm	Calcaire total (%)	M.O (%)
min	7.67	1.00	9.95	5.45
max	7.76	1.20	12.03	7.15
Moyenne	7.73	1.10	11.22	6.27
ET	0.06	0.1	1.03	0.88

III.1.1- La texture du sol

Les pourcentages de granulométrie sont les suivants :

Argile : 49.27%

Limon : 47.06%

Sable : 3.65%

D'après le triangle de texture le sol est limono-argileux.

III.1.2- Potentiel d'hydrogène

La mesure du pH est faite car ses variations sont le facteur essentiel qui affecte la mobilité des ETM, parce que lors de son abaissement la mobilité augmente (acidité élevée) et son augmentation (base élevée) provoque une immobilisation par la formation des composés insoluble ou accroissement de la capacité d'échange cationique (*Perronno, 1999*). Par

définition, les sols à un pH inférieur à 7.0 sont considérés comme étant acides, on dit qu'ils sont alcalins lorsque le pH est supérieur à 7.0, et neutre lorsque le pH est égal à 7.0, L'examen des données du Tableau4 montre que le pH du sol étudié est neutre car la moyenne est 7.73 ± 0.06 .

III.1.3- Calcaire total

Le carbonate de calcium est l'un des facteur de cimentation qui participe à la liaison des particules du sol entre elles par des mécanismes physico-chimique, donc c'est l'un des agents qui affecte la mobilité du sol à cause de sa capacité de fixation des ETM par l'adsorption (*Zachara et al.2020*). Et le calcul du pourcentage de calcaire dans le sol est le suivant :

$$CaCO_3\% = \frac{13ml * 0.3g}{26.5ml * 0.5g} * 100 = CaCO_3\% = 11.22\%$$

Si nous prenons en considération les normes données par GEPPA in (*Baize, 1988*), nous constatons que le sol-test ($11.22 \pm 1.03\%$ CaCO₃ total) est modérément calcaire (Tab 5). Un tel résultat confirme la nature géologique de la zone d'étude présente à prédominance de formations calcaro-marneuses (*Mebarki, 1984*).

Tableau 5 : Grille d'appréciation du calcaire total du sol (*GEPPA in Baize, 1988*)

Classe	% CT
Non calcaire	≤1
Peu calcaire	1% - 5
Modérément calcaire	5% - 25
Fortement calcaire	25% - 50
Très fortement calcaire	50 % - 80

III.1.4- Conductivité électrique

La conductivité électrique définie la quantité totale en sels solubles correspondant à la salinité globale du sol. Elle dépend de la teneur et de la nature des sels solubles présents dans ce sol (*Guessoum, 2001*). La conductivité électrique du sol étudié est de 1.10 ± 0.1 mS/cm Sur la base des critères établis par le (*SSDS, 1993*), on peut conclure que nos sols sont non-salins (tab 6).

Tableau 6 : Grille d'appréciation de la salinité des sols en fonction de la CE (SSDS, 1993)

Classe	CE (mS/cm)
Non-salin	0 - 2
Salinité tres faible	2 – 4
Salinité faible	4 – 8
Salinité moderee	8 – 16
Salinité elevee	≥16

III.1.5- Matière organique

La matière organique du sol est constitués des résidus végétaux et animaux à divers stades de décompositions, L'apport de matière organique permet d'immobiliser les ETM du sol qui ont pour elle une grande affinité, mais la minéralisation ultérieure peut les remettre en solution, il ne s'agit donc que d'une immobilisation temporaire (Perrono, 1999).

En Considérant que 1ml de dichromate de potassium 1N = 4mg de carbone ; le pourcentage de matière organique dans le sol est :

$$C\% = \frac{(20.9\text{ml} - 11.8) * 0.004 * 100}{1\text{g}} = 3.64\%$$

Considérant que la matière organique (M.O) = C*1.724

$$\text{M.O} = 3.64 * 1.724 = 6.27\%$$

Les résultats obtenus dans la présente étude (Tab 4) indiquent que le sol possède un taux très élevé en carbone selon la grille de Hazelton and Murphy (2007) (tab 7). (Duthil, 1970) affirme que le taux de matière organique est normal lorsqu'il est inférieur à 4%, mais dans le cas du sol utilise pour le sol-test, il dépassant le taux de 4 %. Or pour le sol-test, le taux est supérieur a 6% ; il donc de nature humifère

Tableau 7 : Grille d'appréciation des taux de matière organique dans le sol (Hazelton and Murphy, 2007)

Classe	Carbonne %
Taux extrêmement faible	< 0.4
Taux très faible	0.4 – 0.6
Taux faible	0.6 – 1
Taux modéré	1 – 1.8
Taux élevé	1.8 – 3
Taux très élevé	> 3

III.2- Paramètres du test d'écotoxicité

III.2.1 Effet du ZnO et Cd sur l'évolution du poids d'*Helix aspersa*

L'évolution du poids en g a été représenté dans le tableau 8 pendant les 28 jours d'élevage, le changement des poids a été remarquable à partir de la 2eme semaine parce que la masse fraiche des témoins a connu une grande augmentation.

Tableau 8 : Evolution du poids d'*Helix aspersa* exposé à ZnO et Cd

Les lots	l'intervalle des poids
Témoin	[9g-17.8g]
C1	[9g-14g]
C2	[9g-13.8]
C3	[9g-12.4]
C4	[9g-10.1]
C5	[9g-9.8]

Pour toutes les expositions, la teneur en Cd est toujours la même, est .soit 500mg/kg. La croissance du poids a été stimulée aux 15 eme jours de l'élevage jusqu'à le 28eme jour. Pour la concentration 1 (Cd=500mg/kg ; ZnO=250mg/kg) et la concentration 2 (Cd=500mg/kg ; ZnO=750mg/kg), la masse fraiche des escargots a connu une augmentation inférieure à celle des témoins. Cette dernière a été remarquable au début de la 2eme semaine et elle se stabilise pour la 3eme et la 4eme semaine. Ainsi il serait possible que la contamination des escargots soit la cause de cette stagnation du poids. Il faut aussi souligner que le tes étant effectué sur des adultes, leur gain de poids est certainement limité. Pour la 3eme concentration (Cd=500mg/kg ; ZnO=2250mg/kg) et la 4eme concentration (Cd=500mg/kg ; ZnO=6750mg/kg) et la 5eme concentration (Cd=500mg/kg ; ZnO=20250 mg/kg). Au début des 15 eme jours de l'élevage jusqu'aux 28eme jours l'évolution de la matière fraiche a été très faible par rapport aux autres concentrations. Et le taux de mortalité est élevé donc la contamination a affecté le développement des gastéropodes. Ainsi la contamination du sol est le facteur essentiel qui affecte la vie des escargots à cause de leur contact direct avec leur milieu de vie en conséquence ils seront contaminés par voie cutanée.

III.2.2- Effet du ZnO et Cd sur l'évolution du diamètre

L'impact du cadmium (500mg/kg) et des différent concentration du ZnO semble très faible ou nul sur l'évolution du diamètre des coquilles des escargots (tab 9)

Tableau 9 : Représente le changement des diamètres des escargots

concentrations	Le changement de diamètre en (mm)
T	1.5
C1	0.2
C2	0.1
C3	0.05
C4	0
C5	0

III.2.3- Comportements et pourcentage d'alimentations

L'observation du comportement des escargots exposés à toutes les concentrations en ZnO et Cd est hebdomadaire. Pour les concentrations T, C1, C2, C3 les escargots sont plus actifs et leur taux d'alimentation est élevé (tab.10). Leur positionnement dans les boites est distribué en hauts et en bas, contrairement aux concentrations C4 et C5 où les escargots sont moins actifs avec une alimentation minimale (tab 10). Ils se fixent en haut des boites pour éviter le contact avec le sol contaminé.

Tableau 10 : Pourcentages de consommation pour chaque concentration

C	Poids des résidus	Taux de consommation
T	43.2g	78.4%
C1	47.2g	76.4%
C2	39g	70.5%
C3	86.4g	56.8%
C4	100.4g	49.8%
C5	139.6g	30.2%

D'après les résultats obtenus le taux de consommation diminue en parallèle avec l'augmentation des concentrations du ZnO, car le comportement des escargots est perturbé à cause de la contamination du sol donc ces derniers se concentrent seulement à éviter le contact direct avec le sol et ils restent en haut de la boîte.

III.2.4- Taux de mortalité :

Les résultats obtenus lors du comptage de mortalité sont résumés dans le tableau 11 ci-dessous.

Tableau 11 : Taux de mortalité pour chaque lot.

lot	Nombre des individus morts	Taux de mortalité
Témoin	1	0.69%
C1	5	3.46%
C2	6	4.16%
C3	4	2.77%
C4	9	6.25%
C5	12	8.33%
Total	37	25.66%

Durant le bioessai, la mortalité élevée, avec 37 individus sur 144 escargots, ce qui représente 25.66 % de totalité de la population. et la majorité des escargots morts font partie des deux concentrations C4 et C5 à cause du taux de contamination élevé dans le sol.

III.2.5- Poids frais des tissus mous, hépatopancréas, reins

Les poids moyens et les écarts types sont représentés dans le tableau suivant (tab12) :

Tableau 12 : Moyennes et écart types des poids frais des organes des escargots en (g)

Les quantités de ZnO et Cd ajoutés	Tissu mous	Hépatopancréas	reins
T (Cd=0mg/kg ; ZnO=0mg/kg)	9.11±0.60	0.97±0.07	0.52±0.06
C1 (Cd=500mg/kg ; Zn0=250mg/kg)	8.17±0.67	0.8±0.04	0.41±0.04
C2 (Cd=500mg/kg ; Zn0=750mg/kg)	7.68±0.94	0.76±0.06	0.36±0.03
C3 (Cd=500mg/kg ; Zn0=2250mg/kg)	7.24±0.57	0.62±0.5	0.33±0.03
C4 (Cd=500mg/kg ; Zn0=6750mg/kg)	7.03±0.67	0.6±0.03	0.32±0.05
C5 (Cd=500mg/kg ; Zn0=20250mg/kg)	6.14±0.55	0.57±0.45	0.3±0.03

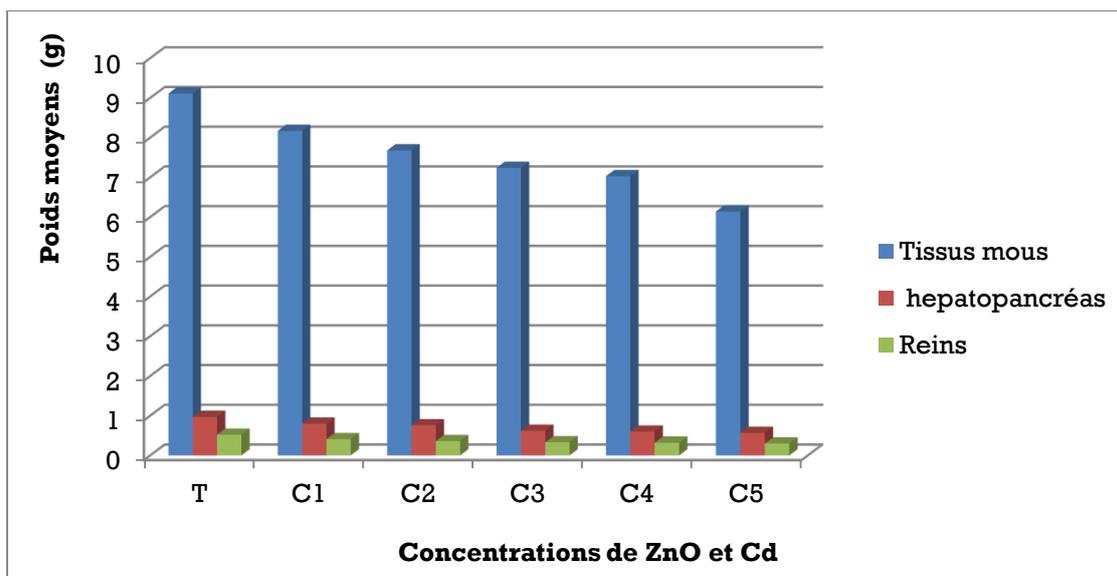


Figure 10 : Variations des poids frais des organes en fonction des concentrations du ZnO et Cd dans le sol

D'après le tableau 12 et la figure 10 nous voyons que la moyenne des poids des tissus mous diminue en fonction de l'augmentation des concentrations du ZnO car les escargots dans le milieu contaminé consomment beaucoup moins de nourriture par rapport au témoin donc leur croissance diminue et ainsi leurs poids. Pour l'hépatopancréas et les reins les poids diminuent aussi en fonction d'augmentation des concentrations du ZnO car ces deux organes sont les plus affectés par la contamination du sol en fonction de leurs capacités d'accumulation du Cd et du ZnO (des organes cibles).

Les mollusques gastéropodes en particulier sont connus par leur capacité d'accumulation des métaux lourds les plus fréquents, à savoir le Cu, le Pb, le Zn et le Cd. Ainsi, toutes les études sur les bioindicateurs, convergent vers l'idée que l'espèce *Helix aspersa* est un excellent modèle biologique pour toutes les études écotoxicologiques, et pour la compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques (Ait Hamlet et al. 2012 ; Grara, 2011).

Cette contribution met en évidence une mortalité égale à 25.66 %, il y a un seul mort pour les témoins ; et elle est de 99% pour les lots traités. En effet, la mortalité des escargots dépend de l'espèce et sa sensibilité vis-à-vis des substances testées. Donc le taux de mortalité élevé dans notre étude revient à l'incapacité du système humanitaire de quelque escargot à faire la détoxification contre les doses du Cd et le ZnO qui atteignent les organes des gastéropodes. La durée du traitement aussi influence la survie sans oublier la concentration du xénobiotique et la voie de pénétration. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Grara et al. 2015) ; en effet, ils ont rapporté les effets de plusieurs doses de ZnO nanométrique (250mg/kg,

750mg/kg, 2250mg/kg, 6750mg/kg, 20250mg/kg) et une concentration fixe du Cd (500mg/kg). D'après le tableau 12 et la figure 14 on peut voir qu'il y a une diminution du poids des organes cibles et même dans les tissus mous en fonction des concentrations des ETM dans le sol. Dans les boîtes témoins les escargots ont connu une croissance relativement élevée alors qu'ils ont montré une diminution en fonction des contaminations des escargots par leur contact direct avec le sol. Cette dernière est observée pour C3 (Cd=500mg/kg ; ZnO=2250mg/kg) C4 (Cd =500mg/kg ; ZnO =6750mg/kg) et C5 (Cd =500mg/kg; ZnO =20250mg/kg). Les ETM ZnO et Cd pénètrent probablement par les pieds, parviennent dans la circulation et atteignent l'hépatopancréas et les reins. Une diminution du poids des organes est notée, alors que ce changement est moins distinct dans les trois premières concentrations et ceci constitue le premier indice d'une toxicité potentielle.

III.3- Paramètres biochimiques

III.3.1- Dosage de la catalase

Le dosage de l'activité spécifique de la catalase est réalisé sur l'hépatopancréas et les reins des escargots *Helix aspersa* après une période d'exposition de 28 jours à une concentration fixe du Cd et 5 concentrations du ZnO qui sont les suivantes : (C1=250mg/kg, C2=750mg/kg, C3=2250mg/kg, C4=6750mg/kg, C5=20250mg/kg).

La figure 11 représente l'activité de la catalase dans l'hépatopancréas (CF) et la figure 12 l'activité de la catalase dans les reins (CR). Elles révèlent une augmentation de l'activité spécifique de la catalase pour les 5 concentrations de ZnO pendant les 28 jours d'exposition par rapport aux témoins. Les valeurs du taux de l'activité catalase est calculé et enregistrées via le logiciel <CARY WIN UV AGI LAND TECHNOLOGY> sont : par rapport aux témoins avec une concentration de catalase égale à TF=0.2 et TR=1.1.

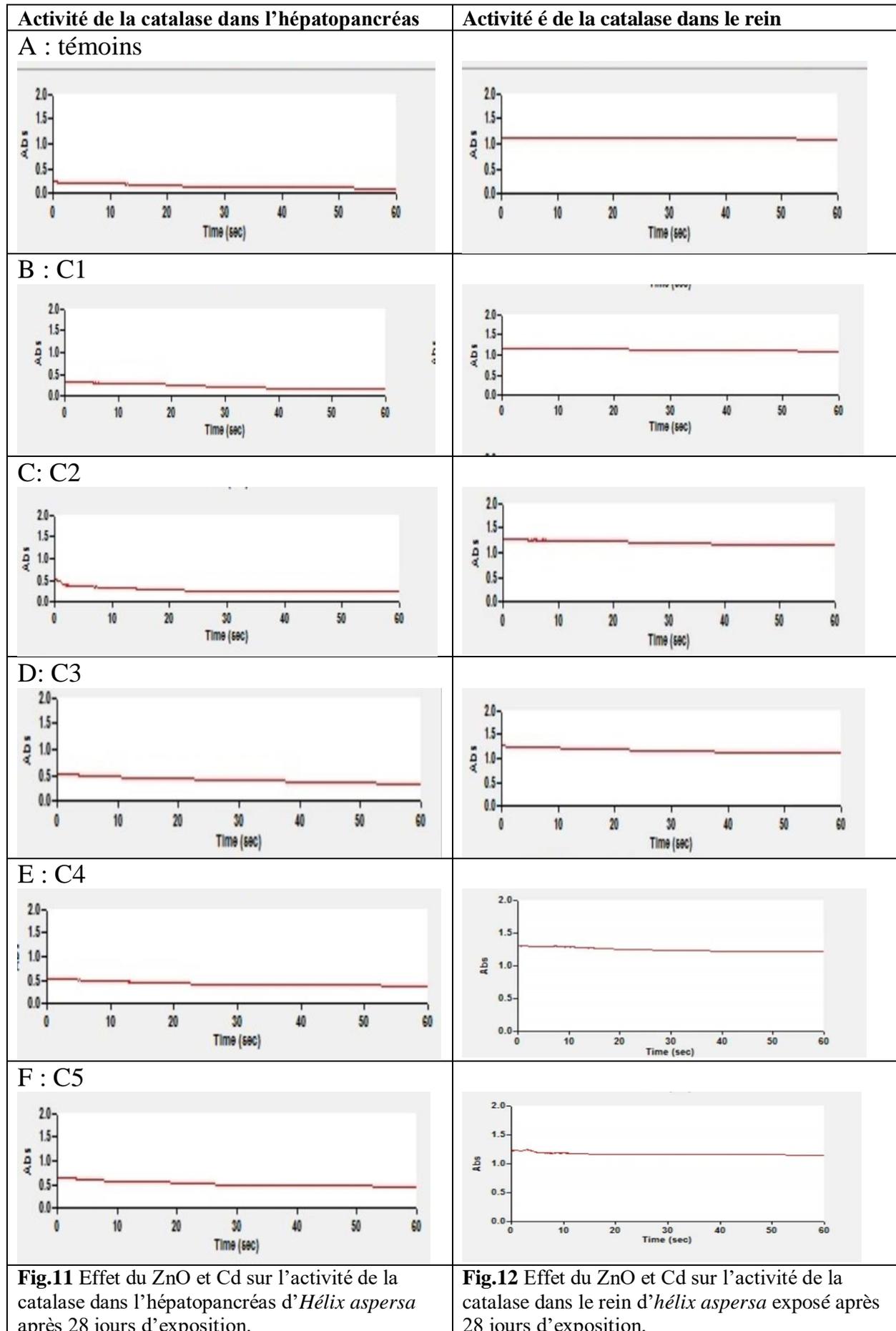
CF1= 0.3, CR1=1.2

CF2=0.5, CR2=1.3

CF3=0.55, CR3=1.4

CF4=1.2, CR4=1.6

CF5=1.3 CR5=1.8

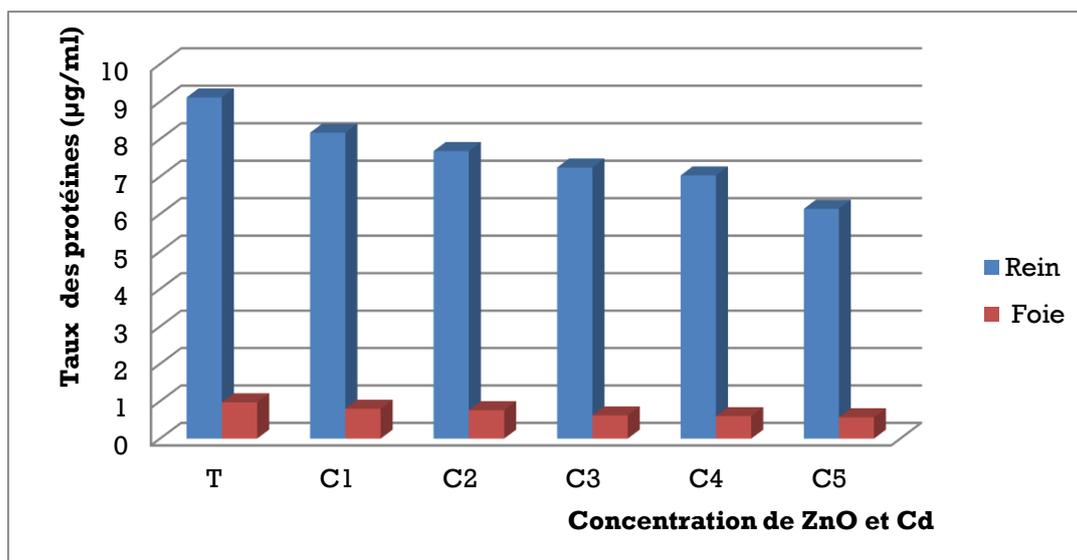


D'après les figures 11 et 12, nous voyons que l'activité de la catalase dans les organes cibles hépatopancréas et les reins croît avec l'augmentation des concentrations du ZnO en comparaison avec les témoins. Dans ce travail, l'activité de la catalase est mesurée au niveau de l'hépatopancréas et des reins. L'exposition à la concentration fixe du Cd (500mg/kg) et aux 5 concentrations de ZnO (500mg/kg ; 750mg/kg ; 2250mg/kg ; 6750mg/kg ; 20250mg/kg) a provoqué une augmentation significative de l'activité de la catalase de façon dose-réponse chez les lots exposés par rapport aux témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux de *Radwan (2008)*, qui a montré une augmentation significative de l'activité de la catalase après une exposition du gastéropode *Eubania vermiculata* à des pesticides Methomyl, Thiodicarb, Metaldehyde. L'augmentation de l'activité CAT a déjà été relevée chez d'autres espèces de gastéropodes comme *Theba pisana* après une exposition aux pesticides à base de cuivre (Oxychlorure de cuivre, hydroxyde de cuivre) par rapport au témoin (*El-Gendy, 2009*). Par contre *Grara et al. (2012)* ont constaté que l'activité enzymatique diminue de façon significative chez les escargots *Helix aspersa* sous l'effet des poussières métalliques au niveau de l'hépatopancréas et du rein.

L'étude histologique rapportée par *Guessoum (2001)* montre que l'exposition des escargots aux Cd et ZnO a causé des altérations cytologiques et ultra structurales des cellules digestives et calciques au niveau de l'hépatopancréas et les reins. Des altérations similaires ont été observées au niveau l'épithélium hépatopancréatique et aussi l'apparition d'infiltrats inflammatoires lympho-plasmocytaires à des faibles concentrations de poussières métalliques. Ceci pourrait être une première réponse biologique due à la présence des ETM (*Grara et al, 2012*). Les résultats de cette étude sont en accord avec les travaux de *Chabicoovsky et al, (2004)*, et de *Russell et al. (1981)* qui montrent des atteintes histologiques au niveau du tissu rénal d'*Helix aspersa* par les poussières métalliques et qui se sont manifestées par une hypertrophie des cellules excrétoires et une déformation des acini suivis de nécroses cellulaires.

III.3.2- Dosage des protéines

La figure 13 illustre les teneurs des protéines déterminées dans les reins et les hépatopancréas des escargots.



La figure 13 : Teneurs des protéines dans les reins et l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* après 28 jours d'exposition au ZnO et Cd.

D'après la figure 13 nous voyons que la concentration des protéines dans les reins et hépatopancréas diminue en fonction de l'augmentation des concentrations du ZnO en comparaison avec les témoins. La diminution du taux des protéines totales plasmatiques aux concentrations C1, C2, C3, C4, C5 par rapport au témoin révèle une diminution du taux des protéines oxydées ; cela nous permet de conclure qu'il y a une attaque des protéines plasmatiques par les radicaux libres produits indirectement par l'hyperhomocystéinémie. La diminution du taux des protéines totales hépatique suggère qu'il y a une dégradation cellulaire des protéines oxydées. Plusieurs études ont montré qu'il existe une relation étroite entre la concentration des protéines oxydées et l'activation du système ubiquitine-protéasome (Koechlin-Ramontxo, 2006).

Conclusion et perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié la contribution d'une voie d'exposition des escargots, écologiquement représentative, dans la détermination de la bioaccumulation et des effets toxiques du ZnO et du Cd dans des conditions contrôlées (température, humidité, alimentation). Cette expérience nous a permis de mettre en évidence les relations entre la bioaccumulation de ZnO et les effets toxiques qu'ils induisent en fonction d'exposition. Ensuite, nous avons complété les connaissances sur les effets des ETM sur l'escargot *Helix aspersa* en recherchant des effets dose-dépendantes sur les paramètres morpho physiologiques (poids, diamètre de la coquille, organes ...) des individus exposés aux molécules de ZnO et du Cd. Au terme de ce Travail, nous pouvons conclure que l'espèce *Helix aspersa* est sensible à la présence des contaminants métalliques à base de ZnO, et Cd cette sensibilité s'est manifestée par une augmentation du pouvoir cumulatif des individus exposés, une perturbation dans le développement des escargots exposés à travers une diminution de la masse corporelle, du poids des tissus mous, ainsi qu'une diminution du diamètre de la coquille.

En définitive, nos expériences montrent que les escargots répondent bien aux critères des bioindicateurs pour participer à la biosurveillance (biomonitoring) de l'environnement par les éléments traces métalliques. De plus, les escargots sont des espèces comestibles par les animaux et même par l'homme et peuvent occasionner une contamination en chaîne par les ETM.

Donc au terme de cette étude, nous pouvons conclure que la contamination des sols par le cadmium et le zinc même à faible concentration, constitue un problème sérieux qu'il faudra prendre en charge du fait de l'effet cumulatif mais aussi toxique de ces éléments notamment le long de la chaîne alimentaire. Les escargots, grâce aux données précédemment acquises constituent des bioindicateurs intéressants pour affiner la compréhension des mécanismes physiologiques et écologiques, nécessaires pour mener à bien et améliorer les procédures d'évaluation des risques écologique.

Enfin, comme perspectives et d'un point de vue fondamental, il serait intéressant

- de tester d'autres espèces de gastéropodes ;
- d'étudier les effets d'autres éléments traces, notamment : As, Cu, Co, Ni, Mg, etc ;
- de tester d'autres polluants du sol tels que les pesticides, les hydrocarbures, etc.

Références bibliographiques

- Alloway B.J. 2013.** Sources of heavy metals and metalloids in soils *in* : Heavy Metals in Soils. Springer, Dordrecht 22. 11-50.
- Aebi, H. (1984).** Catalase in Vitro. *Method Enzyme* 105, 121-126.
- Ait Hemlet, B. S. (2013).** Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Thèse de Doctorat en Biologie Animale, Université Badji Mokhtar – Annaba, 177p.
- Amirad J.C., Métayer C., Baud J.P, Ribeyre F., 1994.** Influence of some ecological and biological factors on metal bio-accumulation in young oysters (*Crassostrea gigas*, thunberg) during their spat rearing. *Water Research*. 28: 219-231.
- Ashraf M. A., Maah M. J., et YUSOFF I. 2014.** Soil contamination, risk assessment and remediation. *Environmental risk assessment of soil contamination*, 1, 3-56.
- ATSDR (1999).** Toxicological profiles for aluminum. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA ; U.S department of Health and human Services Public Health Services. [Http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html](http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html).
- Baize D. 1988.** Guide des analyses courantes en pédologie. Institut national de la recherche agronomique, 165.
- Barker G.M. 2001.** Gastropods on land: phylogeny, diversity and adaptive morphology. The biology of terrestrial mollusks. CABI Publishing Wallingford, UK, 527.
- Benedetti M. ET 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.
- Bioassays.** *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 33, 209-216.
- Bonnet, J.C., et Vrillon, J.L. (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. INRA, Qua, Paris.
- Bouccena, M., Berrabbah, H., Atailia, A. Grara, N., & Djebbar, M.R. (2015).** Effects of metal dust functional markers and histology of gland digestive and kidney of the Land Snails (*Helix aspersa*) in the North East of Algeria, 14(2) ,189-198.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principe of protein-dye binding. *Anal. Biochem* 72, 278-254.
- Charrier, M. (1995).** Particularités du métabolisme digestif d'un gastéropode pulmoné Phytophage. *Helix aspersa Müller*. Recherches histologiques, histochimiques, enzymologiques et microbiologiques. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université de Rennes, Rennes.

- Chassin P., Baize D., Cambier P., Sterckeman T. 1996.** Les éléments traces métalliques et la qualité des sols. Impact a moyen et à long terme. *Ehud. Gestion Sols.* 3,297-306.
- Chevallier H. 1982.** Facteurs de croissance chez des Gastéropodes Pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Halotis*, 12, 29-46.
- Citeau 2008.** Gestion durable des sols. Edition Savoir-faire Qua. 320p.
- Coeurdassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C., Badot, P.M. 2002.** Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 425-431.
- Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de 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. *Environnemental Toxicology and Chemistry*, 20: 1951-1957.
- Coughtrey P.J., Martin M.H. 1976.** The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* muller. *Oecologia*. 23, 315-322.
- Dallinger R. 1993.** Strategies of metal Detoxification in Terrestrial. *Ecotoxicology of metals in invertebrates* .245p.
- Dallinger, R., Berger, B., Triebkorn, R. et Köhler, H. (2001).** Soil Biology and ecotoxicology. In *The biology of terrestrial mollusks* (edited by G.M Barker), pp 489- 525. CAB International, Oxon, Wallingford, UK.
- Dallinger R. et 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. *Comparative Biochemistry and Physiology* 79C, 117-124.
- Duchaufour Ph. 1991.** Pédologie. Sol, végétation, environnement, 3ème éd. 78
- Edwards, C. A., Subler, S., Chen, S. K. ET Bogomolov, D. M. (1996).** Essential criteria for selecting bioindicator species, processes, or systems to assess the environmental impact of chemicals on soil ecosystems. In *Bioindicator Systems for Soil Pollution* (edited by N.M van Straalen. ET D.A Krivolutsky), p 67-84. Kluwer, Amsterdam, The Netherlands.
- Gomot A. 1997.** Dose-dépendent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33:209-216.
- Gomot-de-Vaufleury A., Gomot L., Boukraa, S. et Bruckert S. 1989.** Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the route for the stimulating factors. *Journal of Mollusca Studies* 5, 1-7.
- Goth, L. (1991b).** A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 196, 143-152.

- Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., & Abdemadjid S. (2015).** Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bio-indicateur de pollution de l'environnement. J. Mater. Environ. Sci. 6, 9, 2596-2603p.
- Guessoum A., 2001.** L'effet de l'irrigation sur la salinité du sol dans la région de Saada-Biskra., Thèse ing, Agro, Univ Batna., 50 P.
- Hazelton P. et Murphy B. 2007.** Interpreting soil test results. What do all the numbers mean? CSIRO Publishing, Victoria.
- Hindersmann I., Mansfeldt T. 2014.** Trace Element Solubility in a Multimetal Contaminated Soil as Affected by Redox Conditions. Water Air Soil Pollution. 225,2158.
- Hooda P. 2010.** Assessing bioavailability of soil trace elements. *In* : Trace elements in soils. Blackwell Publishing Ltd, Hoboken, New Jersey, Etats-Unis, 227-265.
- Ismert, M., Oster, T., Bagrel, D. (2002).** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. Chemosphere, 46 : 273-280.
- Jensen J., & Pedersen M. B. 2006.** Ecological risk assessment of contaminated soil. Reviews of environmental contamination and toxicology. 73-74.
- Kerney M., Cameron R. ET Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain.
- Kumar S.R., Arumugam T., Anandakumar C., Balakrishnan S., Rajavel D. 2013.** Use of plant species in controlling environmental pollution. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.2, 52-63.
- Laskowski R., Hopkin S.P. 1996a.** Effects of Zn, Cu, Pb, and Cd on fitness in snails (*Helix aspersa*). Ecotoxicology and Environmental Safety. 34, 59-69.
- Mani D., Kumar C. 2008.** Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contemned ecosystem : an overview with special reference to phytoremediation. International journal of Environmental Science and Technology. 11, 843-872.
- Marasco F. et Murciano C. 2003.** Les escargots. Editions de Vecchi, Paris.
- Masaya M., Yoshinobu H., Ai Y., Maki K., Yasuo O. 2002.** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlations with susceptibility to mercury. *Journal of Phycology*. 38(5):983.
- Mebarki A. 1984.** Ressources en eau et aménagement en Algérie. Le bassin du Kébir-Rhumel. O.P.U., Alger : 302 p.
- Menta, C. et Parisi, V. (2001).** Metal concentration in *Helix pomatia*, *Helix aspersa* and *Arion rufus*: a comparative study. Environmental Pollution, 115, 205-208.
- Müller O.F., 1774.** Vermium terrestrium et fluviatilium seu animalium infusorium, helminthicorum et testaceorum, non marinorum, succinda historia, vol. II. 89

- Pauget B. 2012.** Détermination des facteurs du sol modulant la biodisponibilité et l'accumulation des métaux pour l'escargot (*cantareus aspersus*). Thèse de doctorat à l'université de Franche-Comté, 8 -97.
- Perrono P. 1999.** Les micropolluants métalliques des boues de stations d'épuration urbaine et l'épandage agricole. Mém. D.U.E.S.S., D.E.P., Univ. Picardie, Amiens. *Perspective. Risk Analysis* 1988; 8: 343-355.
- Prasard M.N.V., Sawjan K.S., Naidu R 2005.** Trace Elements in the Environment : Biogeochemistry, Biotechnology, and bioremediation. Taylor and Francis group, USA, New York, CRC Press,717p.
- Radwan M.A., El-Gendy K.S., Gad A.F. 2010.** Oxidative stress biomarkers in the digestive gland of *Theba pisana* exposed to heavy metals. *Environ. Contam. Toxicol.* 58(3):828-835.
- Radwan M.A., Essawy A.E., Abdelmeguid N.E., Hamed S.S., Ahmed A.E. 2008.** Biochemical and histochemical on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pesticides Biochemistry and Physiology.* 90:154-167.
- Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M. et Piva, F. (2006).** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicology effects of urban pollution: An integrated approach. *Environmental Health Perspectives*, 114, 63-69.
- Regoli, F., & Pricipato,G. (1995).** Glutathione-dependant and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metals under field and laboratory conditions: implication for biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31,143-164.
- Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint M.-L.,Badot P.-M.2002.** Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarbus splendens*. *Chemosphere.* 48, 571-579.
- Sheramati I.,et Varma A. (Eds). 2010.** Soil heavy metals (vol.19). Springer, Heidelberg Dordrecht London New York, 479p.
- Sharpley A. 2007.** Soil and Water Contamination: From Molecular to Catchment Scale *Journal of Environmental Quality* 36,607-608.
- Singh et Singh 2020.** Soil Pollution and Human Health, *in* : Singh, P., Singh, S.K., S.M. (Eds), *Plant Responses to Soil Pollution*. Springer, Singapore. 205-220.
- Spellerberg, I.F. (2005).** *Monitoring ecological change*. Cambridge University Press. University of Cambridge, England. 212.
- SSDS- Soil survey Division Staff. 1993.** Examination and description of soils: In: *Soil survey Manual*. Agricultural Handbook University of Cambridge, England. 18.

Tafoughalt-benbellil, S., Sahnoune, M., De Vaufleury, A. et Moali, A. (2011). Influence of sampling date on reproduction in the land snail *Helix aspersa* kept under controlled conditions of temperature and photoperiod. *Ecol. (Terre Vie)*, 66, 43-54.

Van Coillie R., Parent L., 2011. Ecotoxicologie générale et appliquée. Télé-université, Université de Québec a Canada. 521p.

Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C. (2004). Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6, 103-107

Yu R., He L., Cai R., Li B., Li Z., Yang K. 2017. Heavy metal pollution and health risk in China. *Global health journal*. 1,47-55.

Zachra J.M., Cowan C.E., Resch C.T. 2020. Metal Cation/Anion Adsorption on Calcium Carbonate: implication to Metal Ion Concentration in Groundwater, in *Metals in Groundwater*. Taylor and Francis group, CRC Press, New York, USA. 37-71.

Webographies

1. Morphologies de l'espèce *Helix asperse*

https://www.google.com/search?q=Morphologie+de+l%E2%80%99esp%C3%A8ce+Helix+aspersa+&tbm=isch&ved=2ahUKEwjXqZ7V97v4AhUQmhoKHcjsBUQ2-cCegQIABAA&oq=Morphologie+de+l%E2%80%99esp%C3%A8ce+Helix+aspersa+&gs_lcp=CgNpbWcQAzIECCMQJ1DXBFjXBGCzB2gAcAB4AIABmAGIAZwCkgEDMC4ymAE AoAEBqgELZ3dzLXdpei1pbWfAAQE&sclient=img&ei=I1uwYpeME5C0asjZl9gE&bih=625&biw=1366#imgrc=k0eqpTxmvhy6mM

Consulté 19 mai 2022.

2. **Quibik, 2007** Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot.

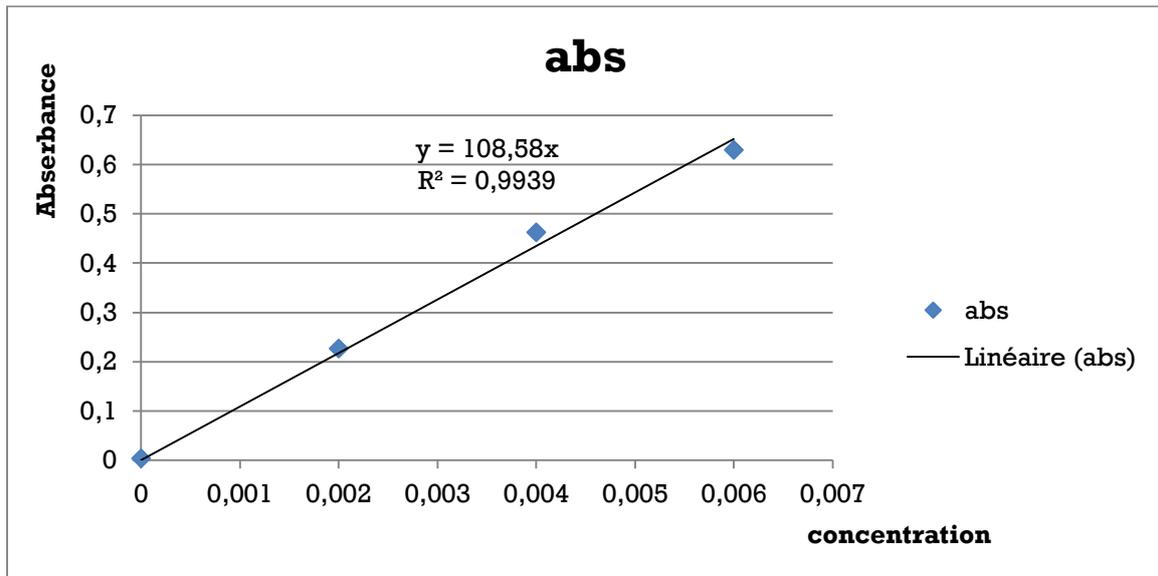
https://www.google.com/search?q=+anatomie+escargots+helix+aspersa&tbm=isch&ved=2ahUKEwjlIP63iqn4AhUCvBoKHezDCr8Q2-cCegQIABAA&oq=+anatomie+escargots+helix+aspersa&gs_lcp=CgNpbWcQAzoFCAAQgARQqAdY7yZgxiloAXAAeACAAZcBiAGpCZIBBDauMTCYAQCgAQGqAQtd3Mtd2l6LWltZ8ABAQ&sclient=img&ei=r3imYqX1DIL4auyHq_gL&bih=625&biw=1366#imgrc=Yn3onHhz6_MYYM

Consulté 25 mai 2022.

Annexes

Annexe 1

Courbe d'étalonnage des protéines



الملخص

الزنك و الكاديوم هما عنصران معدنيان صغيران موجودان في نطاق واسع في الجزائر في الصناعة و الزراعة.الهدف من هذه الدراسة هو تقييم التأثير السام لهذين المعدنين على الخصائص الفيسيولوجية و البيولوجية في المؤشرات الحيوية و انواع الكائنات المخزنة هيليكس اسبيريسا لتلوث التربة.

اجريت تجربتنا على 144 حلزون مقسمة الى ست دفعات : دفعة مرجعية غير معرضة للعدوى و خمس دفعات اخرى عولجت بتركيزات ثابتة من الكاديوم (500مغ/كغ) و تركيزات تدريجية من الزنك (250,750,1250,6250,20250مغ/كغ) على التوالي لمدة 28 يوم

يظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها تأثير ساما على وزن و سلوك الحلزونات المعالجة مقارنة بالحلزونات السليمة ذات تأثير الاستجابة للجرعة، النشاط النوعي للكاتالاز و البروتينات. كما أظهرت النتائج النسيجية بوضوح تغيرات هيكلية في الكبد والبنكرياس و الكليتين مقارنة بالمجموعة السليمة

..

Nom Prénom: BOUACIDA Mohamed El Hachemi Nom Prénom : REBAI Houdeil	Date de soutenance : 26 / 06 / 2022
Thème / Toxicité de l'oxyde de zinc et cadmium sur un gastéropode bio accumulateur/ bio indicateur <i>Helix aspersa</i>	
<p>Résumé</p> <p>Le ZnO et le Cd sont des éléments trace métalliques à large spectre présents en Algérie dans l'industrie et l'agriculture. Le but de cette étude est l'évaluation de l'effet toxique de ces deux métaux sur les paramètres physiologiques et biologiques chez une espèce bioindicatrice et bioaccumulatrice de la pollution des sols <i>Helix aspersa</i>.</p> <p>Notre expérimentation a été réalisée sur 144 escargots réparti en six lots : un lot témoin et les cinq autres lots exposés à des concentrations métalliques du sol, fixes pour le Cd (500mg/kg) et des concentrations croissantes du ZnO (250 ; 750 ; 1250 ; 6250 ; 20250 mg/kg) respectivement pendant une période de 28 jours.</p> <p>La somme des résultats obtenus montre un effet toxique sur le poids et le comportement des escargots des lots traités par rapport aux témoins avec un effet dose-réponse, En outre, la contamination par les ETM a augmenté le stress oxydatif qui traduit par une augmentation de l'activité spécifique de la catalase et des protéines. Aussi, les résultats de l'expérimentation ont montré clairement des altérations de structures de l'hépatopancréas et les reins en comparaison avec les témoins.</p>	
<p>Mots clés : <i>Helix aspersa</i>, espèce bioindicatrice, bioaccumulatrice, ZnO, Cd, protéines, catalase, bioessais</p>	
<p>Laboratoire de recherche : Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt)</p>	
<p>Jury d'évaluation :</p> <p>Encadreur : AFRI-MEHENNAOUI Fatima Zohra, Pr, UFM Constantine 1</p> <p>Co-encadreur : GOUAMIA Yassine, AT, Centre de Recherche en Biotechnologie</p> <p>Examineur : BAZRI Kamel Eddine, MCA, UFM Constantine 1</p> <p>Examineur : TOUATI Laid, MCA, UFM Constantine 1</p>	