



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie et Ecologie Végétale

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 :

Etude des effets écotoxiques du cadmium et du plomb sur *Helix aspersa* en conditions contrôlées

Présenté et soutenu par :

**MEHIMMEDETSI Djihane
BENGUERRA Abir**

Le 22/06/2023

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Touati Laid	Pr.	UFM-Constantine 1
Rapporteur :	SAHLI Leila	Pr.	UFM-Constantine 1
Examineur :	El HadeF El Okki Mohamed	MCB	UFM-Constantine 1

*Année universitaire
2022 - 2023*

Remerciements

Au moment où nous venons de terminer notre mémoire de master, nous tenons à prendre un instant pour exprimer notre gratitude envers Allah. Nous sommes profondément reconnaissantes pour nous avoir accordé cette opportunité d'acquérir des connaissances et d'approfondir nos compréhensions dans notre domaine d'études.

*Nous sommes également honorées d'avoir bénéficié de notre mentorat, **Mme Sahli Leila**, professeur à l'université des Frères Mentouri, qui a joué un rôle essentiel dans notre réussite académique et ces conseils avisés resteront gravées dans notre mémoire. Sa guidance, son expertise ont été des piliers essentiels qui nous ont permis d'accomplir ce travail avec succès.*

Vous avez été bien plus qu'un professeur pour nous; vous avez été une source d'inspiration et un modèle à suivre depuis notre troisième année. Vos connaissances approfondies, votre passion pour votre travail et votre capacité à transmettre vos idées de manière claire et captivante ont élargi nos horizons et nous ont motivé à donner le meilleur de nous-même. Votre encadrement a été un véritable cadeau et nous sommes extrêmement reconnaissantes de vous avoir eu comme guide tout au long de cette aventure.

Aussi, nous exprimons nos remerciements à monsieur Touati Laid et monsieur El Hadeif El Okki Mohamed qui ont accepté de juger ce modeste travail et d'avoir pris sur eux la charge d'examiner le résultat de nos efforts.

Nous exprimons nos respectueux remerciements à Mme Belhiouani Hadjer pour sa gentillesse et son aide durant la partie pratique.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents, mes chères sœurs et mon cher frère. Que cette dédicace soit le témoignage de mon amour éternel pour vous. Vous êtes mes racines, ma source de bonheur et ma force. Je vous aime plus que les mots ne peuvent l'exprimer.

MEHIMMEDETSI DJIHANE

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents, pour tous leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études. A mon cher frère pour son encouragement. Je suis reconnaissante d'avoir une famille aussi merveilleuse.

BENGUERRA ABIR

Résumé :

Le présent travail est la continuité d'une étude entamée en 2019 (plus de détails sont donnés dans les différentes parties de ce document). Ainsi, après exposition d'une population du gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* à des sols contenant des concentrations croissantes en Cd et Pb en conditions contrôlées pendant 28 jours, nous avons procédé à la quantification des teneurs de ces deux éléments dans les tissus mous de l'espèce testée. L'objectif étant de confirmer la capacité de *H. aspersa* à accumuler ces éléments, mais aussi de déterminer la relation dose-réponse et donc l'effet du Cd et Pb accumulés sur la croissance en poids de cette espèce *via* le calcul des concentrations qui inhibent la croissance de 50% de la population testée.

Les résultats obtenus ont révélé une relation entre les concentrations en Cd accumulées par *H. aspersa* et celles contenues dans le sol. En effet, l'accumulation est dose-dépendante ; elle augmente au fur et à mesure que les concentrations du Cd dans le sol augmentent. Ces résultats ont été confirmés par le calcul des facteurs de bioaccumulation pour les deux éléments qui nous ont permis de conclure que *H. aspersa* est un organisme macroconcentreur du Cd, et déconcentreur du Pb.

Par ailleurs, le calcul des CI50 a révélé une relation dose-réponse entre le cadmium accumulé dans les tissus mous de *H. aspersa* et la baisse de la croissance en poids chez cette espèce utilisée comme modèle biologique. La CI50 obtenue pour le cadmium est de 1153.01 µgCd/g de tissus mous. Pour le plomb, nous n'avons pas réussi à déterminer cette valeur écotoxicologique. Il est évident que le seuil de toxicité pour cet élément dépasse largement la plus haute concentration accumulée chez *H. aspersa*.

Globalement, l'espèce testée a montré une capacité d'accumulation relativement importante, notamment pour le cadmium, ce qui confirme son utilité dans les processus de bioindication et d'évaluation des risques liés à la contamination des sols par ces éléments considérés comme potentiellement toxiques.

Mots clés : Cd, Pb, *Helix aspersa*, Bioindication, Test d'écotoxicité.

Abstract

The objective of this study is to confirm the ability of *Helix aspersa* to accumulate trace elements in their tissues, and to determine the dose-response relationship between Cd and Pb concentrations and the weight growth of this species by calculating the concentrations that inhibit 50% of the tested population's growth (IC50). Thus, after exposing a population of *H. aspersa* to soils with increasing concentrations of Cd and Pb under controlled conditions for 28 days, we quantified the levels of these two elements in the soft tissues of the tested species.

The results obtained revealed a relationship between the concentrations of Cd accumulated by *H. aspersa* and those present in the soil. In fact, accumulation is dose-dependent; it increases as the concentrations of Cd in the soil increase. These results were confirmed by calculating the bioaccumulation factors for both elements, which led us to conclude that *H. aspersa* is cadmium macroconcentrator and lead deconcentrator.

Furthermore, the calculation of IC50 revealed a dose-response relationship between the accumulated cadmium in the soft tissues of *H. aspersa* and the decrease in weight growth of this species used as a biological model. The IC50 obtained for cadmium is 1153.01 µgCd/g of soft tissues. For lead, we were unable to determine this ecotoxicological value. It is evident that the toxicity threshold for this element far exceeds the highest concentration accumulated by *H. aspersa*.

Overall, the tested species demonstrated a relatively significant accumulation capacity, especially for cadmium, confirming its utility in processes of bioindication and risk assessment related to soil contamination by trace elements, considered as potentially toxic.

Keywords: Cd, Pb, *Helix aspersa*, Bioindication, Ecotoxicity test.

ملخص

العمل الحالي مكمل لدراسة اجريت سنة 2019 تفاصيلها متاحة في أجزاء هذا المستند. حيث بعد تعريض حلزون *Helix aspersa* إلى تربة تحتوي على تراكيز متزايدة من الكاديوم والرصاص في ظل ظروف مضبوطة لمدة 28 يوماً، قمنا بتقدير مستويات هذين العنصرين في الأنسجة اللينة لهذا الأخير. الهدف من ذلك هو تأكيد قدرة الحلزون المختبر على جمع و تكديس هذين العنصرين، وكذلك تحديد العلاقة بين الجرعة والاستجابة وبالتالي تأثير التراكم المحقق للكاديوم والرصاص على زيادة الوزن لهذا النوع من خلال حساب التراكيز التي تثبط نمو 50% من المجموعة المختبرة (CI50).

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود علاقة بين تراكيز الكاديوم المتراكمة في الأنسجة اللينة و التراكيز الموجودة في التربة، حيث تبين فعلاً أن التراكم يعتمد على الجرعة و يزداد هذا الأخير مع زيادة تراكيز الكاديوم في التربة وهذا ما أكدته نتائج حساب عوامل التراكم الحيوي للعنصرين.

علاوة على ذلك، كشفت نتائج حساب قيمة تركيز الكاديوم التي تثبط نمو 50% من المجموعة المختبرة عن وجود علاقة بين التراكم المحقق للكاديوم في الأنسجة اللينة ل *Helix aspersa* وانخفاض زيادة الوزن في هذا النوع الذي يستخدم كنموذج حيوي وقدرت هذه القيمة بـ: 1153.01 مايكرو غرام/غرام. اما فيما يخص معدن الرصاص فلم يتم التمكن من تحديد هذه القيمة السُمومية له فمن الواضح أن عتبة السمية لهذا العنصر تتجاوز بكثير التركيز الأعلى المتراكم لدى *Helix aspersa*.

بشكل عام، أظهر النوع المختبر قدرة تراكم مهمة نسبياً، وخاصة بالنسبة للكاديوم، مما يؤكد فائدته في عمليات التحليل البيئي وتقييم المخاطر المتعلقة بتلوث التربة بهذه العناصر المعتبرة محتملة السمية.

الكلمات المفتاحية :

تحليل بيئي، اختبار السمية، *Helix aspersa*، الكاديوم، الرصاص.

Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius
µg/g :	Microgramme par gramme
Al :	Aluminium
As :	Arsenic
Ba:	Brome
Ca:	Calcium
Cd :	Cadmium
CdCl₂ :	Chlorures de cadmium
CE :	Concentration efficace
CE50 :	Concentration qui affecte 50% de la population
CI50 :	Concentration qui inhibe 50 % de la population
Co:	Cobalt
Cr :	Chrome
Cu :	Cuivre
ETM :	Eléments traces métalliques
Fe :	Fer
g:	Gramme
g/cm³ :	Gramme par centimètre cube
h :	Heure
Hg :	Mercurure
INERIS:	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
ISO :	International Organization for Standardization
K :	Potassium
LOEC:	Lowest observed effect concentration
Mg :	Magnésium
ml :	Millilitre
mm :	Millimètre
Mn :	Manganèse
Mo :	Molybdène
Na :	Sodium
Ni :	Nickel
NOEC:	No observed effect concentration
OECD:	Organization for Economical and Cooperative Development
P :	Phosphore
Pb :	Plomb
PbCO₃ :	Carbonates de plomb
PbS :	Sulfure de plomb
PbSO₄ :	Sulfates de plomb
ppm :	partie par million
S :	Soufre
SAA :	Spectrophotomètre d'absorption atomique
Se :	Sélénium
Si :	Silicium
Ti :	Titane
V :	Vanadium
Zn :	Zinc

Liste des figures :

Figure 01 : Relation entre la performance (P : croissance, fécondité, survie) et les concentrations des éléments essentiels (Ce) et non essentiels (Cne) dans l'alimentation des animaux (Hopkin et al. 1989)	5
Figure 02 : Les sources naturelles et anthropiques des ETM dans le sol (source : https://2u.pw/xEP9DAf)	8
Figure 03 : Impacts du polluant selon le niveau d'organisation biologique (Forbes et Forbes, 1997)	12
Figure 04 : Courbe théorique dose-réponse (Source : https://www.analyticaltoxicology.com/relation-dose-effet-reponse/)	12
Figure 05 : Anatomie de l'espèce <i>Helix aspersa</i> (source : https://m.21-bal.com/law/9889/index.html?page=4)	15
Figure 06 : Les voies de contamination de <i>Helix aspersa</i> (La Rocca, 2004)	16
Figure 07 : Dissection, séchage et conservation des échantillons d'escargots (a : dissection, b : séchage, c : broyage et conservation)	20
Figure 08 : Extraction du Cd et Pb dans les tissus de <i>H. aspersa</i> (a : calcination sèche, b : digestion humide, c : filtration, d : conservation)	21
Figure 09 : Broyage et tamisage des échantillons de sol	21
Figure 10 : Minéralisation, filtration et conservation des échantillons de sols (a : digestion humide à chaud, b : filtration, c : conservation)	22
Figure 11 : Evolution des concentrations en Cd accumulées dans les tissus mous de <i>H. aspersa</i> en fonction des concentrations en Cd dans le sol ($\mu\text{g/g}$) après 28 jours d'exposition	24
Figure 12 : Facteur de bioaccumulation du cadmium (BAF-Cd) chez <i>H. aspersa</i> après 28 jours d'exposition	26
Figure 13 : Evolution des teneurs en cadmium contenu dans le sol ($\mu\text{g/g}$) au début (Cd_D) et à la fin (Cd_F) du test	26
Figure 14 : Effet du cadmium accumulé dans les tissus mous sur la croissance en poids chez <i>H. aspersa</i> .	27
Figure 15 : relation dose-réponse entre la croissance en poids de <i>H. aspersa</i> et les concentrations en Cd accumulées dans tissus mous après 28 jours d'exposition	28
Figure 16 : Evolution des concentrations en Pb accumulées dans les tissus mous de <i>H. aspersa</i> en fonction des concentrations en Pb dans le sol ($\mu\text{g/g}$) après 28	29

jours d'exposition.

Figure 17 : Facteur de bioaccumulation du plomb (BAF-Pb) chez *H. aspersa* 30
après 28 jours d'exposition

Figure 18 : Evolution des teneurs en plomb contenu dans le sol ($\mu\text{g/g}$) au début 30
(Pb_D) et à la fin (Pb_F) du test.

Figure 19 : Effet du plomb accumulé dans les tissus mous sur la croissance en 31
poids chez *H. aspersa*

Table des matières

Dédicaces

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Page

Introduction

1

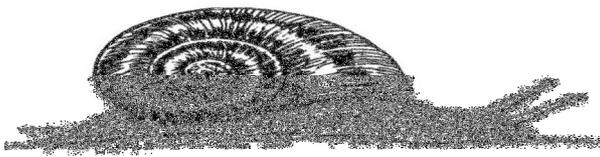
Chapitre I : Synthèse bibliographique

I-1 Contamination des sols par les éléments traces métalliques (ETM)	4
I-1-1 Généralités sur les ETM	4
I-1-2 Origine et sources de la contamination des sols par les ETM : cas du Cd et Pb	5
I-1-2-1 Sources naturelles d'ETM	5
I-1-2-2 Sources anthropiques d'ETM	6
I-1-2-2-1 Le trafic routier	6
I-1-2-2-2 Les sources industrielles	6
I-1-2-2-3 Le traitement des déchets	6
I-1-2-2-4 Les activités agricoles	7
I-1-3 Caractéristiques des ETM : cas du Cd et du Pb	8
I-1-3-1 Le cadmium	8
I-1-3-1-1 Propriétés physico-chimiques	8
I-1-3-1-2 Utilisation du cadmium	8
I-1-3-2 Le plomb	9
I-1-3-2-1 Propriétés physico-chimiques	9
I-1-3-2-2 Utilisations du plomb	9
I-2-Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de la contamination des sols par les ETM: cas de <i>Helix aspersa</i>	10
I-2-1 Généralités sur la bio-indication	10
I-2-2 Types de bio-indication	10
I-2-2-1 La bio-indication active	10
I-2-2-2 La bio-indication passive	11
I-2-3 Utilisation de <i>Helix. Aspersa</i> dans les processus de bio-indication	11
I-2-3-1 Les tests d'écotoxicité	11
I-2-3-1-1 Définition	11
I-2-3-1-2 Les types de tests d'écotoxicité	13
I-2-3-1-2-1 Les tests monospécifiques	13
I-2-3-1-2-1-1 Les tests d'écotoxicité aiguë	13
I-2-3-1-2-1-2 Les tests d'écotoxicité chronique	13
I-2-3-1-2-2 Les tests plurispécifiques	14
I-2-4 Biologie et écologie de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	14
I-2-5 Intérêt de l'utilisation des escargots dans la bio-indication	15
I-2-6 Les voies de contamination des escargots par les ETM	16
I-2-7 Cinétique de transfert des ETM chez les escargots	16

Chapitre II : Matériel et méthodes	
II-1 Aperçu sur le travail effectué auparavant par Belhiouani (2019)	18
II-2 Extraction du Cd et Pb dans les tissus mous de <i>Helix aspersa</i>	19
II-2-1 Préparation des échantillons d'escargots	19
II-2-2 Extraction du Cd et Pb dans les tissus mous de <i>Helix aspersa</i>	20
II-3 Extraction et dosage du Cd et Pb dans les sols	21
II-3-1 Préparation des échantillons des sols	21
II-3-2 Extraction du Cd et Pb dans le sol	22
II-4 Dosage du Cd et Pb dans les extraits de <i>Helix aspersa</i> et de sol	22
II-5 Traitement statistique des résultats	23
Chapitre III : Résultats et discussion	
III-1 Test d'écotoxicité du cadmium	24
III-1-1 Accumulation du cadmium contenu dans le sol par <i>Helix aspersa</i>	24
III-1-2 Facteurs de bioaccumulation du cadmium (BAF-Cd) chez <i>Helix aspersa</i>	25
III-1-3 Relations «dose-réponse» entre les concentrations en cadmium contenu dans le sol et accumulées par <i>Helix aspersa</i>	27
III-2 Test d'écotoxicité du plomb	28
III-2-1 Accumulation du plomb contenu dans le sol par <i>Helix aspersa</i>	28
III-2-2 Facteurs de bioaccumulation du Pb (BAF-Pb) chez <i>Helix aspersa</i>	29
III-2-3 Relations «dose-réponse» entre les concentrations en plomb contenu dans le sol et accumulées par <i>Helix aspersa</i>	31
III-3 Discussion des résultats	32
Conclusion et perspectives	
	35
Références bibliographiques	
	37

Annexes

Introduction



La pollution de l'environnement est devenue un problème mondial préoccupant, avec des conséquences néfastes sur la santé humaine, la biodiversité et les écosystèmes. Parmi les différents types de pollution, celle des sols par les éléments traces métalliques (ETM). Ces derniers sont particulièrement douteux en raison de leur toxicité et persistance dans l'environnement.

Les ETM tels que le cadmium (Cd) et le plomb (Pb) sont des contaminants couramment trouvés dans les sols pollués. Ils proviennent principalement des activités industrielles, minières, agricoles et urbaines, et peuvent être transportés vers les sols par le biais de différentes voies, notamment les déversements accidentels, les rejets industriels et les pratiques agricoles inadéquates (Huynh, 2009 ; Alayat et al. 2014, El Hadeef El Okki et al. 2016, Sahraoui et al. 2021, Sahli et al. 2021).

La présence des ETM dans le sol présente un danger pour l'environnement et la biodiversité et constitue un stress majeur susceptible de perturber les grandes fonctions physiologiques des animaux. Ces éléments peuvent s'accumuler dans les chaînes alimentaires, affectant ainsi les organismes vivants à différents niveaux trophiques. Les plantes absorbent ces métaux à partir du sol, les accumulent dans leurs tissus et les transmettent aux herbivores qui s'en nourrissent. Les prédateurs qui se nourrissent des herbivores contaminés peuvent également être affectés. Ainsi, la pollution par les ETM peut perturber les écosystèmes et entraîner une diminution de la biodiversité (Yu et al.2017). Elle peut aussi influencer les différentes activités des communautés vivant dans le sol. C'est pour cela que durant la dernière décennie, les éléments traces métalliques ont suscité un grand intérêt social, scientifique et même politique, surtout après avoir pris connaissance des sérieux dommages qu'ils peuvent causer à l'ensemble des organismes, et particulièrement pour les sols (Alloway, 1995; Baize and Sterckeman, 2001 ; Sahli et al. 2021; Sahraoui et al. 2021) .

A l'heure actuelle, la préservation des écosystèmes est l'une des principales préoccupations à l'échelle mondiale. Les recherches récentes se concentrent principalement sur la détection précoce de signes indiquant des altérations, plutôt que sur une évaluation tardive de l'état des lieux. Dans cette perspective, l'écotoxicologie joue un rôle crucial en étudiant les interactions entre les produits chimiques présents dans l'environnement et les organismes vivants. Elle englobe divers domaines tels que la toxicologie, l'écologie appliquée, la chimie environnementale, ainsi que le développement de bioindicateurs, comme l'explique Viard-La Rocca (2004). Ces bioindicateurs sont essentiels dans les études de biomonitoring, car ils permettent de

détecter précocement les effets néfastes sur les systèmes biologiques et d'estimer les impacts biologiques des contaminants (Lam et Gray, 2003). Dans le cas de la pollution par des sols par les ETM, les invertébrés, en particulier les gastéropodes pulmonés comme *Helix aspersa*, se sont révélés être des bioindicateurs efficaces par leur grande capacité à accumuler ces éléments dans leurs tissus mous mais aussi au niveau des coquilles (Viard et al. 2004 ; Notten et al. 2005).

Helix aspersa, également connue sous le nom d'escargot de jardin commun, est un gastéropode pulmoné largement réparti. Il est facile à élever en laboratoire et possède une sensibilité accrue aux ETM tels que le cadmium et le plomb. En raison de ces caractéristiques, *H. aspersa* est souvent utilisé comme organisme modèle biologique pour évaluer la toxicité des sols contaminés par ces éléments (Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Viard-La Rocca, 2004; Moumeni et al. 2016 ; Atailia et al. 2016 ; Belhiouani, 2019, Sahraoui et al. 2021, Cheriti 2022).

Le présent travail est la continuité d'une étude effectuée dans le cadre d'une thèse de doctorat troisième cycle, par Dr. Belhiouani H. soutenue en 2019 à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, de l'université Frères Mentouri (Constantine 1). Afin de déterminer les effets écotoxiques des ETM sur la survie et la croissance de l'espèce *H. aspersa* en conditions contrôlées, cet auteur avait lancé des tests d'écotoxicité avec le plomb comme substance toxique accompagné d'un test de contrôle du matériel biologique avec le cadmium comme substance de référence. Après 28 jours d'exposition aux toxiques plusieurs paramètres reflétant la toxicité de ces éléments vis-à-vis de *H. aspersa* ont été mesurés et calculés. Un aperçu sur la démarche expérimentale suivie ainsi que les principaux résultats obtenus par cet auteur sont donnés dans le chapitre 2.

En ce qui nous concerne, nous avons procédé à la quantification des ETM (Cd et Pb) dans le sol et les tissus mous de *H. aspersa* à la fin du test (28 jours d'exposition) dans le but de confirmer d'une part le pouvoir bio-accumulateur d'ETM chez cette espèce, mais aussi d'estimer éventuellement les effets écotoxiques de ces éléments via le calcul des CI50.

Ce manuscrit est organisé en trois chapitres :

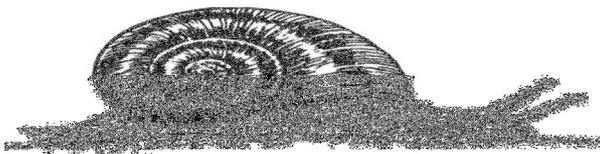
- ✚ Dans le premier chapitre, une synthèse bibliographique sur les ETM (cadmium et plomb) a été abordée, ainsi que la présentation de quelques données

bibliographiques sur le modèle biologique *Helix aspersa* et son utilisation dans les tests d'écotoxicité ;

- ✚ Le deuxième chapitre a été consacré à la présentation du protocole expérimental ;
- ✚ Dans le troisième chapitre sont présentés et discutés les résultats obtenus ;
- ✚ Nous terminerons par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique



I-1 Contamination des sols par les éléments traces métalliques (ETM)

I-1-1 Généralités sur les ETM

Les éléments traces métalliques sont l'un des nombreux polluants qui menacent le sol. Ces composés sont rares dans l'environnement, ne se dégradent pas, et donc s'accumulent dans le milieu, posant ainsi un problème environnemental majeur (Hooda, 2010 ; Sahraoui et al. 2021). Ces éléments sont considérés comme toxiques pour l'homme et l'environnement par la plupart des scientifiques dans le monde et sont désignés par le terme général « éléments traces métalliques » (ETM), ou métaux toxiques ou métaux traces qui sont tous des appellations pour les ETM, mais le plus couramment utilisé est le terme « métaux lourds », qui désigne principalement le groupe d'éléments ayant une densité supérieure à 5 g.cm⁻³. Ceux-ci sont présents le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces, tel est le cas pour : le cadmium, le mercure, le plomb, le cuivre, l'arsenic, le nickel, le zinc, le cobalt, le manganèse, etc. (Hooda, 2010).

On admet généralement pour les sols, que les éléments traces sont ceux dont la concentration moyenne dans la croûte terrestre est inférieure à 0,1%. Ils représentent ensemble 0,6% du total, alors que les 12 éléments majeurs (Si, Al, Fe, Ca, Na, Mg, K, Ti, P, Mn, S et Ba) interviennent pour 99,4% (Kabata-Pendias, 2004; Kabata-Pandias, 2011; Mehri, 2020).

Bien que les ETM soient considérés comme des polluants, il est important de se rappeler qu'il s'agit de substances naturelles. Contrairement aux polluants organiques, les métaux ne sont pas biodégradables car ils ne peuvent pas être décomposés en composés plus simples et moins toxiques et peuvent être classés en fonction de leur caractère essentiel pour les organismes vivants en :

- ✓ éléments essentiels comme : Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Se, Cr, Ni, V, As, etc. qui ont une fenêtre d'essentialité (Figure1), dans laquelle les concentrations dans l'alimentation des animaux ou dans le sol doivent être maintenues pour permettre un développement et une reproduction normale des organismes (Lin et al. 2020). Si les teneurs sont trop élevées, des mécanismes de toxicité peuvent être développés (Kabata-Pendias et Pendias, 2001).
- ✓ éléments non essentiels : Hg, Cd, Pb, qui en plus d'être toxiques pour les êtres vivants, peuvent induire des déficiences en éléments essentiels, au travers de la compétition pour les sites actifs des molécules importantes dans la physiologie des organismes (Behanzin et al. 2015).

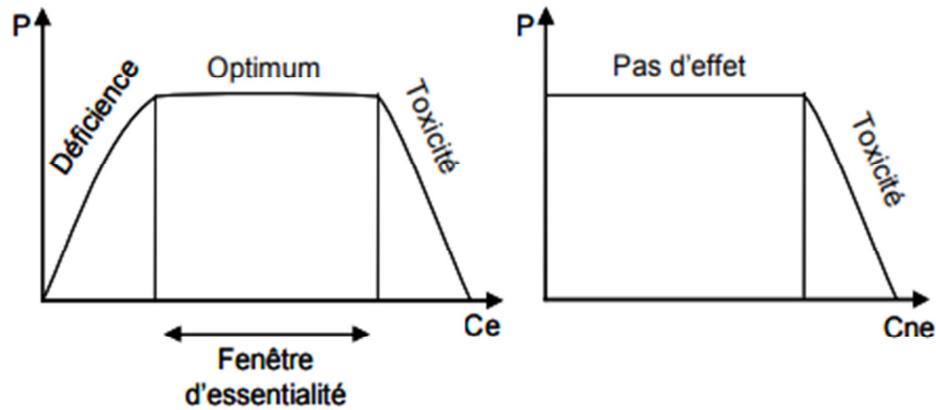


Figure 1 : Relation entre la performance (P : croissance, fécondité, survie) et les concentrations des éléments essentiels (Ce) et non essentiels (Cne) dans l'alimentation des animaux (Hopkin et al.1989).

I-1-2 Origine et sources de la contamination des sols par les ETM : cas du Cd et Pb

Les ETM sont des constituants naturels de la croûte terrestre présents dans l'environnement à des concentrations différentes (Singh et al. 2011 ; Abdurrahman et al. 2017). La source de ces éléments dans l'environnement comprend principalement l'occurrence naturelle dérivée des matériaux d'origine, ainsi que des activités anthropiques (Singh et al. 2011 ; Su et al, 2014 ; Jan et al. 2015 ; Aghoghovwia et al. 2018).

I-1-2-1 Sources naturelles d'ETM

Les ETM sont présents naturellement dans les roches. Ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci. La concentration naturelle de ces éléments dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge (Hu and Cheng, 2016). L'activité volcanique, l'altération des continents, l'activité des sources thermales, l'érosion, l'infiltration et les incendies de forêts sont aussi des sources naturelles d'ETM. La contribution des volcans peut se présenter sous forme d'émissions volumineuses dues à une activité explosive, ou d'émissions continues de faible volume, résultant notamment de l'activité géothermique et du dégazage du magma (Tepanosyanetal, 2017). Les ETM provenant de ces différentes sources naturelles constituent le fond géochimique (Pacyna et al. 2016), qui varie largement selon le matériau parental (Sahraoui, 2022). Ils sont redistribués naturellement dans l'environnement par les processus géologiques et les cycles biologiques. Selon Mench et Baize (2004), les seuils d'investigation au-dessus desquels une première étude un peu détaillée est conseillée, notamment pour bien distinguer une anomalie naturelle et une

contamination d'origine humaine, sont (en mg.kg^{-1} de sol) : Cd = 0,7 ; Cr = 100 ; Cu = 35 ; Ni = 70; Pb = 60; Zn = 150.

I-1-2-2 Sources anthropiques d'ETM

Des études sur la dispersion et la distribution des ETM dans l'environnement ont démontré que ces éléments contribuent à des niveaux importants de contamination des sols provenant de différentes sources. Les plus importantes sont :

I-1-2-2-I Le trafic routier

Les émissions du plomb dans les gaz d'échappement sont une cause évidente de contamination des sols à proximité des axes routiers. En effet, 40% du plomb particulaire émis est dispersé dans l'atmosphère et le reste se dépose sur les routes ou bords de route. Le cadmium est issu des lubrifiants, des pneus, et des plaquettes de frein et de la corrosion des barrières de sécurité galvanisées (Alloway, 2013 ; Jandacka et al. 2017).

1-1-2-2-2 Les sources industrielles

Issues principalement des activités industrielles et des véhicules, ces dépôts ou encore poussières sont la principale source d'ETM en milieu urbain. Les poussières correspondent à des micropolluants rejetés dans l'atmosphère par des sources majeures tels que : les usines d'incinération, les hauts fourneaux, la fabrication de briques, la combustion de charbon et de mazout, etc. (Liang et Mao, 2015). Le cadmium d'origine industrielle, peut provenir des produits en fin de vie comme les batteries et les piles à Cd/Ni. Il peut exister aussi dans des effluents liquides issus des usines, dans les déchets de combustion de produits pétroliers, le raffinage des métaux non ferreux, etc., alors que le plomb provient essentiellement de la métallurgie du plomb, mais aussi de la fabrication de batteries (Liang et Mao, 2015).

I-1-2-2-3 Le traitement des déchets

Les composts d'ordures ménagères et les boues résiduaires de stations d'épuration utilisés comme fertilisants, représentent une source connue d'ETM dans les sols agricoles. L'épandage des déchets industriels et des boues de curage renferme les ETM dans des déchets industriels variés stockés sur d'anciennes friches industrielles, ou de ceux existants dans des effluents liquides issus des industries agro-alimentaires qui font l'objet d'épandage. L'étalement des boues de curage des ports et des cours d'eaux constituent aussi

une source importante d'ETM du fait de l'accumulation sédimentaire des éléments rejetés par les industries et les agglomérations des bassins versants (Lakherwal, 2014). D'après Miquel (2001), 31% de Pb rejetés dans l'environnement proviennent des déchets urbains et agricoles. Pour le cadmium, la contribution des unités d'incinération des déchets industriels est de 38%, alors que celle des déchets agricoles est de 20%.

I-1-2-2-4 Les activités agricoles

Certains types d'engrais obtenus en transformant les produits des gisements minéraux contiennent souvent des niveaux beaucoup plus élevés d'ETM que ceux que l'on trouve dans la plupart des sols. Ainsi les gisements de phosphate sont souvent des lieux d'accumulation des ETM, et beaucoup de ces éléments accompagnent le phosphate dans les traitements de concentration destinés à produire l'engrais commercialisé. C'est le cas du cadmium, dont le taux d'accompagnement du phosphore représente de 70 à 100 % du métal initialement présent dans le minerai (Hashmi et al. 2013). L'utilisation de sels de cuivre, de zinc, de manganèse comme amendements minéraux destinés à lutter contre les déficiences du sol, constitue une voie évidente d'enrichissement de ces derniers par les ETM. De même l'utilisation d'amendements organiques traditionnels comme le fumier de ferme ou les lisiers, va participer à l'accroissement de la teneur en ETM du sol (Razali et al. 2020). Aussi l'utilisation de l'arséniate de plomb comme insecticide (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques-INERIS, 2010), et les processus de déposition dans les sols des engrais et des boues d'épuration qui contiennent du Pb (Bliefert et Perraud, 2004).

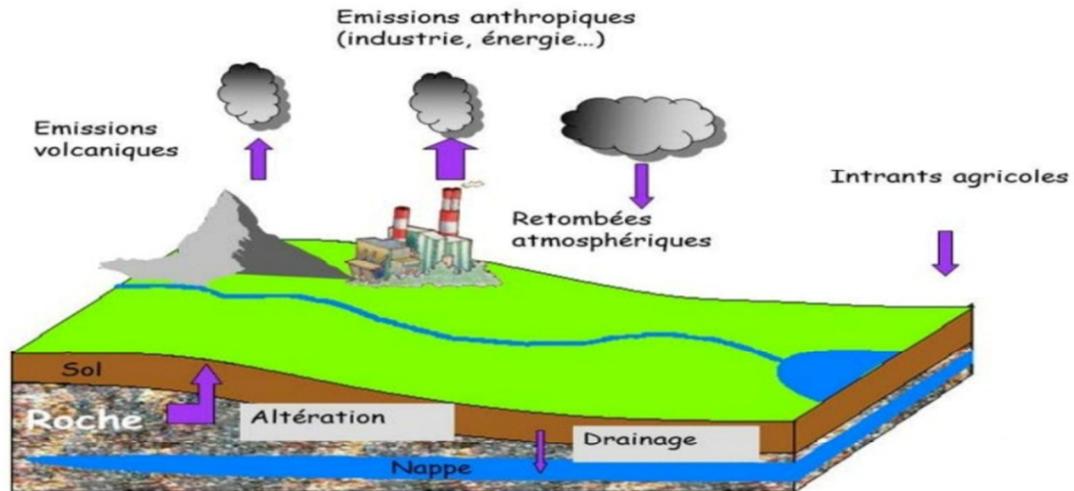


Figure 2 : Les sources naturelles et anthropiques des ETM dans le sol

(Source : <https://2u.pw/xEP9DAf>)

I-1-3 Caractéristiques des ETM : cas du Cd et du Pb

I-1-3-1 Le cadmium

I-1-3-1-1 Propriétés physico-chimiques

Le cadmium est un métal blanc argenté, malléable, ductile et résiste particulièrement à la corrosion. Non essentiel au développement des organismes animaux et ne participe pas au métabolisme cellulaire (Yilmaz et al. 2018). Il appartient au groupe 12 de la classification périodique des éléments, sa masse molaire atomique est de 112,4 g/mol et son numéro atomique est de 48 (Belabed, 2013). Le cadmium a 8 isotopes naturels stables, sa température de fusion est de 321°C, sa masse volumique est 8,7 g.cm⁻³ à 20°C, et sa température d'ébullition est de 767°C. Le cadmium se trouve dans le sol généralement sous forme de cation à l'état d'oxydation + II et à différentes concentrations (Alloway, 2013).

I-1-3-1-2 Utilisation du cadmium

D'après Chagra (2010), le Cd présente de multiples utilisations qui sont les suivantes :

- Le sulfure du cadmium, est utilisé comme pigment, sous le nom de jaune du cadmium, dans le caoutchouc, la peinture, le verre et le papier. Il manifeste une stabilité élevée vis-à-vis de la lumière ;
- Le cadmium est utilisé dans la fabrication des substances luminescentes (intégrées dans les écrans informatiques et de télévision) ;

- Le cadmium est utilisé pour le traitement des surfaces des autres métaux, ce qui donne une bonne résistance à la corrosion ;
- Les matières plastiques additionnées de cadmium deviennent plus stables ; c'est ainsi qu'une amélioration de la longévité des PVC est obtenue par addition de cet élément (cet usage représente 15% de la consommation mondiale de cadmium) ;
- Les composés minéraux de cadmium sont utilisés dans les systèmes photovoltaïques et photosensibles, dans la fabrication des fusibles, des bâtons de soudure et dans les huiles à moteur ;
- Le cadmium est utilisé comme stabilisateur des alliages dans l'industrie automobile. Aussi, dans la fabrication des accumulateurs, des piles rechargeables Ni-Cd, etc.

I-1-3-2 Le plomb

I-1-3-2-1 Propriétés physico-chimiques

Le plomb est un élément non essentiel et n'exerce aucune fonction physiologique connue sur les organismes vivants (Abdurrahman et al. 2017). C'est un métal gris bleuâtre naturel que l'on trouve habituellement en tant que minéral combiné avec d'autres éléments tels que le soufre (PbS , PbSO_4) ou l'oxygène (PbCO_3), (Alloway2013).

Le plomb appartient au groupe 14 du tableau périodique. Son numéro atomique est de 82 et sa masse atomique est de $207,2 \text{ g.mole}^{-1}$. Il est solide dans les conditions ambiantes de pression et de température. Son point de fusion est environ $327,46^\circ\text{C}$. Il est déformable, malléable et résiste bien à la corrosion, il est le plus mou de tous les métaux lourds. Sa densité est de (11,35) et son point d'ébullition est de 1749°C . Sa structure cristalline est cubique. Le plomb a quatre isotopes stables, ses conductivités électrique et thermique sont $4,81.106 \text{ S.m}^{-1}$ et $35,3 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$, respectivement (Benmanssour, 2018).

I-1-3-2-2 Utilisations du plomb

Selon Nadeau (2012), la fabrication des batteries acide-plomb destinées aux véhicules est devenue la principale application du plomb au cours des dernières années. Celui-ci est également utilisé pour produire des munitions et des alliages. Il entre aussi dans la production des éléments suivants :

- Production d'essence au plomb et équipements de véhicules à moteur ;
- Revêtements de toitures, matériaux anti-bruit, équipement électrique et électronique ;
- Peinture anticorrosive : le minium est un produit d'apprêt utilisé pour le fer et l'acier ;

- Matériau de protection contre les rayonnements ionisants grâce à sa densité élevée. Aussi c'est un bon matériau pour la protection contre les rayonnements émis par les écrans des téléviseurs. Il est utilisé également dans la production des conteneurs de stockage des déchets radioactifs et des tabliers pour empêcher l'exposition aux rayons X ;
- Une meilleure transparence et une faible température de fusion peuvent être obtenues en ajoutant du plomb au verre et au cristal ;
- Les propriétés semi-conductrices du sulfure de plomb sont utilisées dans les cellules solaires ;
- Le nitrate de plomb est utilisé dans la pyrotechnie et dans l'industrie des allumettes.

I-2 Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de la contamination des sols par les ETM : cas de *H. aspersa*

I-2-1-Généralités sur la bio-indication

Selon Reyjol et al. (2013), la bio-indication désigne l'évaluation de l'état de santé des milieux naturels et des écosystèmes à l'aide de matériaux vivants et/ou des êtres vivants connus pour leurs capacités sentinelles. Ces êtres vivants sont appelés bio-indicateurs.

Selon Spellerberg (2005), un bio-indicateur est défini comme une espèce qui reflète l'état du milieu dans lequel elle vit, et doit pour cela répondre à un certain nombre de critères :

- Participe activement au fonctionnement de l'écosystème ;
- Sédentaire, largement distribué, et facile à identifier et à échantillonner ;
- Bio-accumulateur ;
- Tolérant aux fortes contaminations de l'environnement ;
- Leur écologie et physiologie doivent être connues.

I-2-2 Types de bio-indication :

Parmi les méthodes de bio-indication, deux types peuvent être distingués :

I-2-2-1 La bio-indication active

Dans cette méthode les bio-indicateurs utilisés sont des organismes élevés aux laboratoires dans des conditions contrôlées et favorables, puis transportés vers un milieu pollué afin d'être exposés à l'ensemble des polluants dans le site d'étude. À la fin de la période d'exposition, les réactions provoquées par les contaminants sont enregistrées ou les xéno-biotiques absorbées par l'organisme sont analysées et/ou quantifiées. Ce type de biosurveillance permet d'éviter les problèmes d'absence de l'espèce dans le

site investigué, d'éviter les problèmes de la mauvaise distribution de l'espèce bio-indicatrice qui ne permettent pas d'effectuer un échantillonnage représentatif dans la zone d'étude, et une bonne connaissance de la biologie des organismes vivants. En effet, ces informations facilitent l'interprétation des résultats à la fin des tests *in situ* (Asif et al. 2018).

I-2-2-2 La bio-indication passive

La biosurveillance passive est l'utilisation directe des organismes déjà présents dans leurs milieux naturels, soit par l'examen direct sur le site (observation, comptage, mesure de taille, etc.), soit par échantillonnage et analyse au laboratoire selon le but de l'étude. Selon Asif et al. (2018), et Swisvlowski et al. (2021), une bonne surveillance passive nécessite :

- Le bon choix de la saison d'échantillonnage selon les objectifs de l'étude ;
- Le bon choix de la méthode d'échantillonnage afin d'avoir les résultats les plus représentatifs possible ;
- Une distribution spatiale et une abondance suffisante du bio-indicateur dans l'écosystème étudié ;

I-2-3 Utilisation de *H. aspersa* dans les processus de bio-indication

I-2-3-1 Les tests d'écotoxicité

I-2-3-1-1 Définition

Un test d'écotoxicité est un essai expérimental déterminant l'effet d'un ou de plusieurs éléments sur un ou groupe d'organismes sélectionnés dans des conditions bien définies (Organisation for Economical and Cooperative Development-OECD, 2003). L'évaluation de l'écotoxicité des sols et des déchets fait appel à l'utilisation de divers bio-essais dont certains font l'objet d'une normalisation au niveau international (Coourdassier et al. 2003 ; Virard-La Rocca, 2004 ; Gimbert et al. 2006 ; Pauget et al. 2013). Les essais servent à évaluer ou à prédire les effets des toxiques sur les systèmes biologiques et à évaluer la toxicité relative des substances à des fins réglementaires. Le test d'écotoxicité met en corrélation la concentration d'un polluant et l'effet induit par celui-ci (principe de dose-réponse). Ces effets qui peuvent être biochimique, physiologique, reproductif, etc. permettent de mesurer la toxicité (Figure 3).

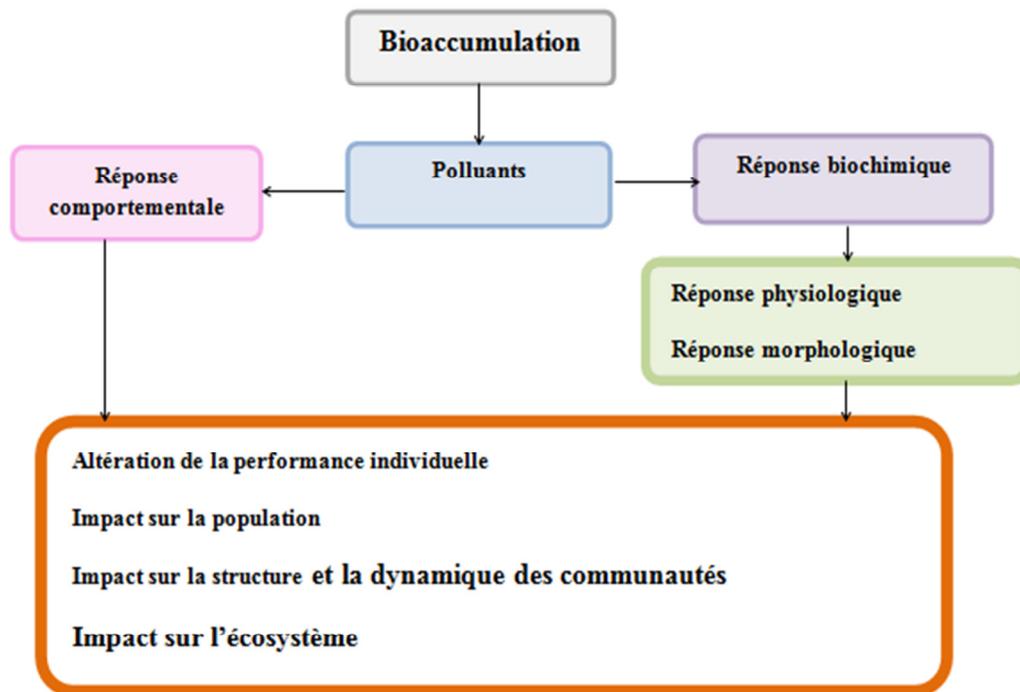


Figure 3 : Impacts du polluant selon le niveau d’organisation biologique (Forbes et Forbes, 1997).

La classique relation dose-effet (Figure 4), est une relation fondamentale dans un test d’écotoxicité. Elle détermine la dose (ou la concentration nominale d’exposition) qui induit un effet spécifique (la mort généralement) après un intervalle de temps déterminé (Forbes et Forbes, 1997).

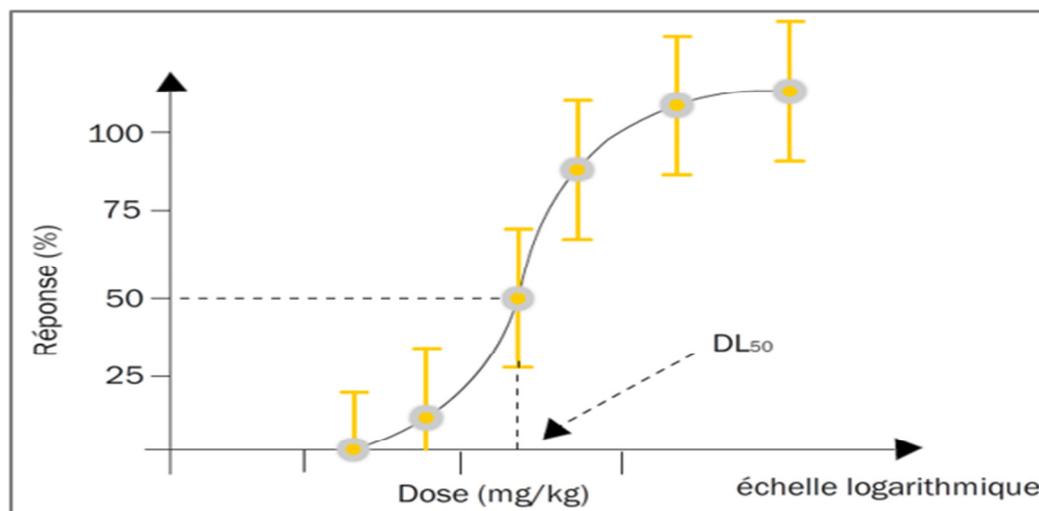


Figure 4 : Courbe théorique dose-réponse

(Source : <https://www.analyticaltoxicology.com/relation-dose-effet-reponse/>)

I-2-3-1-2 Les types de tests d'écotoxicité

I-2-3-1-2-1 Les tests mono spécifiques

La plupart des tests réalisés au niveau du laboratoire sont des tests monospécifiques. Ainsi, l'exposition aux contaminants ne concerne qu'une espèce représentative d'un niveau trophique déterminé.

L'utilisation importante et courante des essais monospécifiques est liée à leurs nombreux avantages. Leur mise en œuvre est en effet simple et rapide pour un coût modéré. La pertinence des informations qu'ils fournissent est également un atout car ils possèdent généralement une sensibilité et une reproductibilité de bonne qualité (Clément, 2006). Il est possible de différencier principalement deux catégories de tests monospécifiques :

I-2-3-1-2-1 Les tests d'écotoxicité aiguë

Ce sont des essais à court terme, au cours desquels les effets doivent se révéler sur une courte durée (de quelques heures à quelques jours en fonction du cycle de vie de l'animal ; moins de 10 % de sa durée de vie) après l'exposition à un toxique. L'écotoxicité aiguë se manifeste donc après exposition à un stimulus suffisamment important pour induire une réponse biologique rapide, généralement la mort des organismes exposés, pour ces tests. Si aucun effet n'est observé, la substance n'a donc pas d'effet écotoxique aigu dans les conditions de l'essai ; ce qui ne veut pas dire pour autant que cette substance ne présente pas d'effets toxiques à long terme. Ces essais permettent d'établir une relation entre la concentration d'exposition et l'intensité de l'effet. Les résultats sont généralement exprimés par une CL50 qui est la concentration pour laquelle des effets létaux sont observés pour 50% des individus testés (Sahli, 2012).

I-2-3-1-2-2 Les tests d'écotoxicité chronique

Ce sont des tests qui permettent de déterminer l'écotoxicité chronique (à moyen ou à long terme) des organismes d'essai. Le temps d'exposition principal correspond en principe à plus de 10 % de la durée de vie probable de l'organisme en dehors du facteur de stress, et doit intégrer plusieurs stades critiques de son cycle de vie (Manusadzianas et al. 2012). L'écotoxicité chronique s'exprime après exposition unique (continu ou répétée) à une substance toxique à faible concentration. En plus de la CE50, les essais à moyen et long terme permettent de déterminer aussi deux concentrations expérimentales ; il s'agit de la NOEC (No Observed Effect Concentration ou la concentration la plus forte pour laquelle aucun effet significatif par rapport aux témoins n'est observé sur l'espèce étudiée dans les

conditions de l'essai), et la LOEC (Loest Observed Effect Concentration ou la concentration la plus basse tester pour laquelle un effet significatif par rapport au témoin est observé dans les conditions de l'essai). L'écotoxicité chronique s'exprime à travers des critères d'effets sub-létaux tels que l'inhibition de la croissance, du métabolisme, de la reproduction, etc.

1-2-3-1-2-2 Les tests plurispécifiques

Ces tests sont effectués dans des mésocosmes et microcosmes qui reproduisent des écosystèmes artificiellement enfermés, constitués par la mise en place de composantes abiotiques et de plusieurs espèces représentatives des niveaux trophiques du milieu simulé (Sahli, 2012). La distinction entre microcosmes et mésocosmes dépend essentiellement des tailles des systèmes réalisés. Leur utilisation permet de se placer à un niveau de la représentativité des écosystèmes (Calow et Forbes, 2003).

I-2-4 Biologie et écologie de l'espèce *Helix aspersa*

L'espèce *Helix aspersa* (syn. *Cantareus aspersus* ou *Cornu aspersum* O.F. Müller, 1774) connu sous le nom commun petit-gris, et aussi appelée escargot de jardin est un mollusque terrestre gastéropode pulmoné de l'ordre de stylommatophores et de la famille des *Helicidae*. Sa coquille est de couleur brun-jaune et de type dextre (qui s'enroule de gauche à droite), son diamètre est de 30 mm en moyenne et sa hauteur est de 25 à 40 mm (Figure 5). Le corps de cet escargot est formé de deux parties :

- Les viscères sont constitués d'organes présents dans le tortillon à l'intérieur de la coquille à savoir : le rein, l'hépatopancréas, le cœur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge jusqu'au pied. Le pied lui donne la possibilité de glisser et permet la sécrétion d'un mucus qui facilite le mouvement sur les surfaces rugueuses. Il englobe le système nerveux, la partie antérieure du tube digestif, et la sole pédieuse.
- Le pied lui donne la possibilité de glisser et permet la sécrétion d'un mucus qui facilite le mouvement sur les surfaces rugueuses. Il englobe le système nerveux, la partie antérieure du tube digestif, et la sole pédieuse (Kerney et Cameron, 2006).

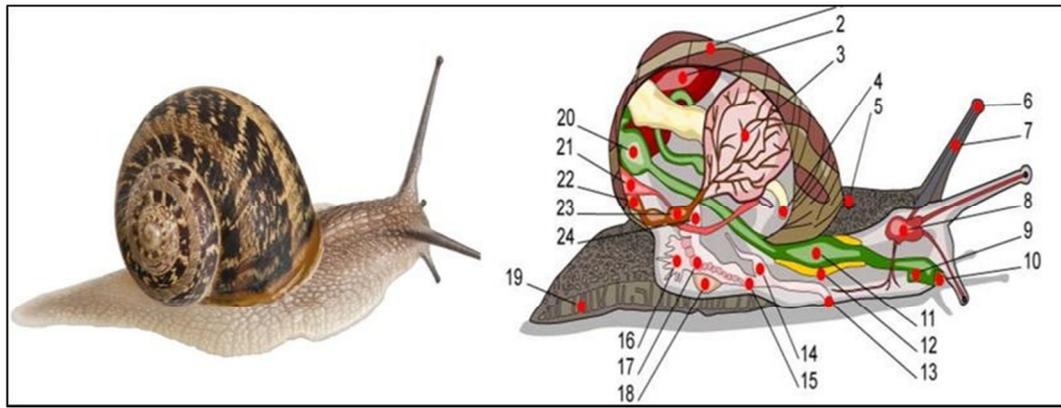


Figure 5 : Anatomie de l'espèce *Helix Aspersa*
(source : <https://m.21-bal.com/law/9889/index.html?page=4>)

1. Coquille	9. Conduit salivaire	17. Oviduc
2. Foie	10. Bouche	18. Sac de dards
3. Poumons	11. Panse	19. Pied
4. Anus	12. Glande salivaire	20. Estomac
5. Pore respiratoire	13. Orifice génital	21. Rein
6. Œil	14. Pénis	22. Manteau
7. Tentacule	15. Vagin	23. Cœur
8. Cerveau	16. Glande muqueuse	24. Canal déférent

I-2-5 Intérêt de l'utilisation des escargots dans la bio-indication

L'espèce *H. aspersa* est très utilisée dans les études relatives aux processus de bioindication pour les raisons suivantes :

- Les escargots du genre *Helix*, élevés dans des conditions standardisées, peuvent être utilisés aussi bien comme organismes tests pour étudier la toxicité des ETM, que comme bio indicateurs de pollutions terrestres (Gimbert et al. 2008) ;
- Il peut accumuler dans sa coquille des minéraux : magnésium par exemple, des métaux toxiques (Beeby et Richmond, 2011), ou des radionucléides qui mémorisent ainsi une partie de son exposition passée à certains contaminants. Il se déplace relativement peu et bio-accumule au cours de sa croissance de nombreux contaminants métalliques (Abdel Halim et al. 2013) ;
- Comme il est saprophage (se nourrit de matière en décomposition) et phytophage, qu'il pond et hiverne dans le sol, il semble pertinent de le considérer comme une espèce sentinelle qui permet de tester ses vertus bio indicatrices (International Organization for Standardization-ISO, 2006).
- En 2006, un test écotoxicologique évaluant les effets des substances chimiques polluantes et des matrices contaminées sur la survie et la croissance de juvéniles appartenant à l'espèce *Cornu aspersum* a été normalisé sur le plan international :

ISO15952 (2006). Différentes espèces d'escargots, comme : *Cornu aspersum*, *Massylaea vermiculata*, *Theba pisana*, *Cepæa nemorali*, ont également été utilisées afin de connaître l'état de santé de différents sols, et de suivre les transferts des différents types de polluants organiques, métalliques, ou radionucléides dans les chaînes trophiques (Mleiki et al. 2015).

I-2-6 Les voies de contamination des escargots par les ETM

Les escargots intègrent plusieurs voies de contamination comme illustré par la Figure 07 :

- ✓ **Voie respiratoire** : par inhalation de gaz et de particules en suspension dans l'atmosphère ;
- ✓ **Voie cutanée** : par contact avec des substances variées tels que le sol, les lixiviats du sol et la litière végétale ;
- ✓ **Voie digestive** : par ingestion de plantes et de sol.

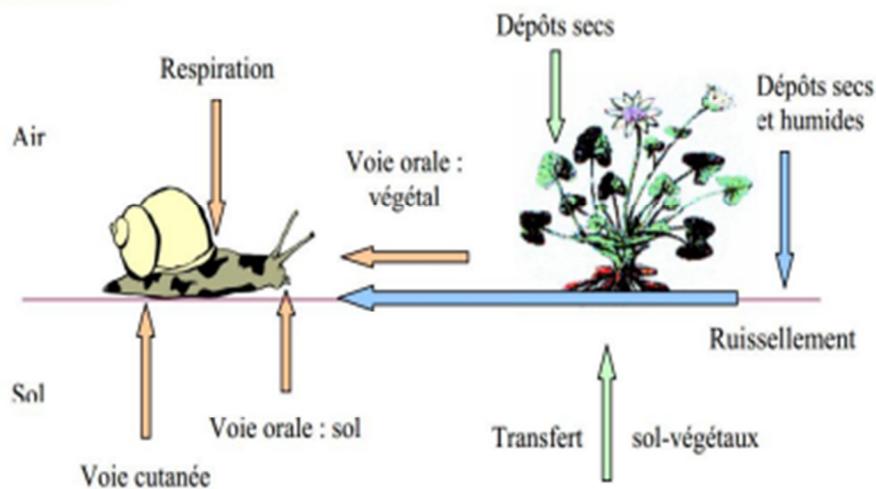


Figure 06 : Les voies de contamination de *Helix aspersa* (La Rocca, 2004)

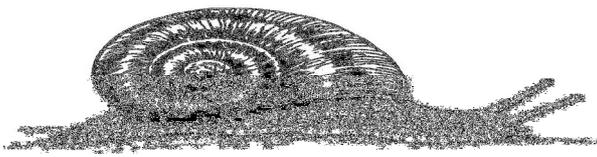
I-2-7 Cinétique de transfert des ETM chez les escargots

L'évaluation de la biodisponibilité environnementale, en tant que fraction réellement prélevée par les organismes, peut-être simplement mesurée en analysant le contenu en ETM d'un organisme après exposition à un environnement contaminé durant une période donnée (Belhiouani, 2019). Le transfert des ETM à l'interface sol-organisme dépend de l'élément métallique considéré, des propriétés du sol, de l'eau interstitielle, ainsi que des caractéristiques spécifiques à chaque organisme notamment les voies d'absorption, les stratégies de détoxification et d'excrétion (Gimbert et al. 2006).

L'accumulation des ETM chez les gastéropodes est la résultante de plusieurs processus comme l'absorption, la distribution, le stockage et l'excrétion (Dallinger, 1993). Il a été démontré que chez toutes les espèces de gastéropodes étudiées, c'est la glande digestive ou hépatopancréas qui contient les teneurs les plus élevées en Cd, en Pb et en Zn (Viard et al. 2004, Belhiouani, 2019 ; Sahraoui et al. 2021 ; Cheriti, 2022). Le manteau ou la coquille est l'organe qui contribue le moins à l'accumulation des ETM, mais peut-être un lieu de stockage temporaire notamment pour le Pb, en attendant que la charge sur les autres organes diminue (Chabicoovsky et al. 2003 ; Belhiouani, 2019).

Chapitre II

Matériel et Méthodes



Comme mentionné dans l'introduction, ce travail est une continuité d'une étude effectuée dans le cadre d'une thèse de doctorat troisième cycle, par Dr. Belhiouani H. soutenue en 2019 à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, de l'université Frères Mentouri (Constantine 1). Ainsi, nous allons dans un premier temps donner un aperçu sur le travail déjà effectué, ensuite nous présenterons la démarche expérimentale suivie dans notre cas pour compléter ce travail.

II-1 Aperçu sur le travail effectué auparavant par Belhiouani (2019)

Afin de déterminer les effets écotoxiques de deux polluants métalliques (Cd et Pb) sur la survie et la croissance d'escargots juvéniles de l'espèce *H. aspersa* en conditions contrôlées, des tests d'écotoxicité avec le plomb comme substance toxique accompagné d'un test de contrôle du matériel biologique avec le cadmium comme substance de référence, ont été effectués.

Les tests ont été réalisés selon les recommandations de la norme ISO15952 (2006). Ils sont préliminaires, sub-chroniques et semi-statiques et ont concerné la contamination du substrat (sol). L'objectif de ces essais était d'une part de tester la sensibilité ou encore la résistance de cette espèce face aux agents polluants, et d'autre part de cerner, au mieux, les concentrations en Cd et Pb susceptibles de provoquer des effets toxiques chez ce gastéropode. Les organismes utilisés au cours de ces tests sont issus d'élevage (2^{ème} génération), et ont donc un passé biologique connu. Les individus géniteurs ont été récoltés au niveau de la zone montagneuse d'Ibn Ziad (Chikh Ezouaoui, Ibn Ziad-Constantine).

Les tests ont été effectués dans des bacs transparents (type boîtes à souris) qui contiennent 100 g de sol, humidifiés à raison de 50 à 60 % de leur capacité de rétention d'eau, avec des solutions contenant des concentrations croissantes en cadmium ou en plomb. Pour le test de référence, l'auteur a utilisé le chlorure de cadmium (CdCl_2) comme substance toxique. Les concentrations en Cd testées sont les suivantes : témoin, 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm et 1000 ppm. Pour le test avec le plomb comme substance toxique, l'auteur a utilisé les nitrates de plomb. Les concentrations testées sont : 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, et 2000 ppm de Pb.

Les effets des deux substances testées sur le comportement, sur l'aspect physique de l'animal, ou encore sur la croissance des individus ont été notés et mesurés tous les 7 jours. Les résultats obtenus, ont montré que les doses croissantes en Cd et Pb ont provoqué des perturbations considérables chez *H. aspersa*. Ces perturbations se sont traduites par une baisse de la croissance en biomasse et en diamètre des coquilles des individus testés.

Des concentrations efficaces (CE50) relatives aux effets induits par le toxique contenu dans le substrat sur la croissance de *H. aspersa* ont été calculées. La CE50 obtenue avec le toxique de référence (CdCl_2) pour la croissance en poids était de l'ordre de 511.30 $\mu\text{g/g}$. Dans le cas du sol contaminé par le plomb, la CE50 était de l'ordre de 1795,17 $\mu\text{g/g}$ pour l'inhibition de la croissance en biomasse.

Globalement, lors de l'analyse de l'évolution de la masse pondérale en fonction du temps et des différentes concentrations en Cd et Pb dans le sol, l'auteur a constaté qu'il y avait une inhibition de la croissance en biomasse par rapport aux témoins et aux concentrations croissantes en Cd mais aussi en Pb dans le substrat. Cette baisse de la biomasse est dose-dépendante et peut être attribuée au fait qu'il y ait une influence directe de ces toxiques sur le développement de *H. aspersa*. En effet, durant son cycle de vie, cette espèce est en perpétuel contact avec le sol. Aussi, les escargots ingèrent les particules du sol. Ainsi, ils peuvent, intégrer plusieurs voies de contamination notamment, orale, cutanée. Plus de détails sont donnés dans la thèse de Belhiouani (2019).

Par ailleurs, Il est connu que l'évolution de l'inhibition de la croissance des escargots testés est directement liée à l'augmentation de la concentration du toxique testé dans les tissus de *H. aspersa*. En effet, plus les concentrations accumulées dans les tissus sont élevées, plus la croissance est faible. C'est pourquoi nous nous sommes fixé comme objectif à travers cette étude de compléter le travail déjà effectué en mesurant les concentrations en Cd et Pb accumulées par *H. aspersa* à la fin du test (donc après 28 jours d'exposition), et de déterminer les concentrations internes de ces deux éléments qui affectent la croissance de 50% de la population testée.

La partie complémentaire du travail déjà effectué par Belhiouani (2019), relative aux processus d'extraction et dosage du Cd et Pb dans les tissus mous de *H. aspersa*, mais aussi dans le sol, ainsi que les méthodes d'estimation des CI50 est décrite ci-dessous.

II-2 Extraction du Cd et Pb dans les tissus mous de *H. aspersa*

II-2-1 Préparation des échantillons d'escargots

A la fin des tests (après 28 jours d'exposition), les escargots appartenant à l'espèce *H. aspersa* sont mis à jeun durant 24 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit évacué. Les animaux sont ensuite sacrifiés par congélation pendant 48 heures puis disséqués, les coquilles sont séparées du tissu mou à l'aide d'une pince (Figure 07a). Les tissus mous ont été séchés à 85°C pendant 48h (Figure 07b), puis broyées à l'aide d'un

mortier en porcelaine et conservés dans des sachets hermétiquement fermés jusqu'à analyse (Figure 07c).

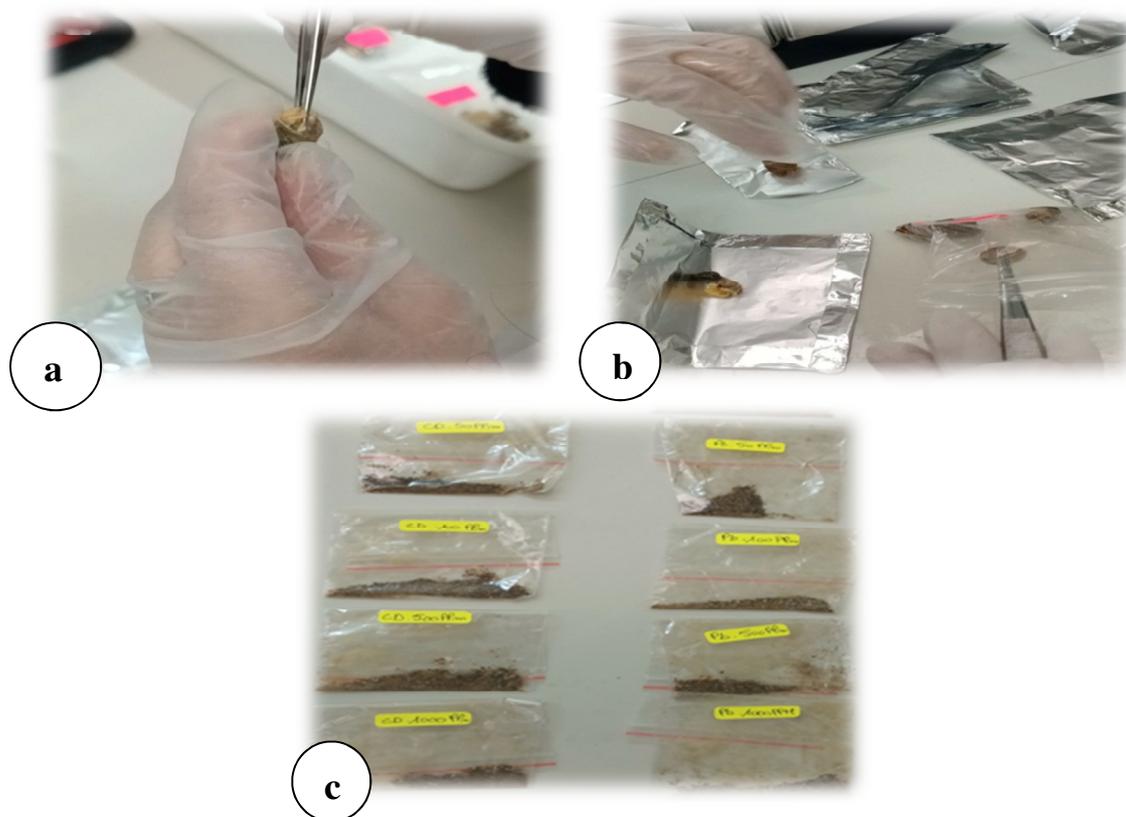


Figure 07 : Dissection, séchage et conservation des échantillons d'escargots
(a : dissection, b : séchage, c : broyage et conservation)

II-2-2 Extraction du Cd et Pb dans les tissus mous de *H. aspersa*

Dans le cadre de cette étude, l'extraction du Cd et Pb dans les tissus mous de *H. aspersa* a été effectuée par calcination sèche dans un four à moufle suivie d'une digestion humide avec de l'acide nitrique (Figure 08a, 08b).

La calcination sèche est une technique analytique de séparation préparatoire visant à extraire des analytes métalliques à partir de leur matrice minérale et/ou organique. Ainsi, les tissus mous sont placés dans des creusets en porcelaine, puis calcinés dans un four à moufle à 450°C par montée progressive de la température pendant 16h. Les cendres obtenues sont récupérées avec 10 mL d'acide nitrique (60%). Le tout est chauffé dans une étuve à 65°C pendant 24h. Après cette digestion à chaud, le résidu est filtré sur papier filtre sans cendres (Whatman 540), le volume est ajusté à 20 mL avec de l'eau pure. Les extraits sont conservés à 4 °C dans jusqu'à l'analyse (Figure 08c, 08d).

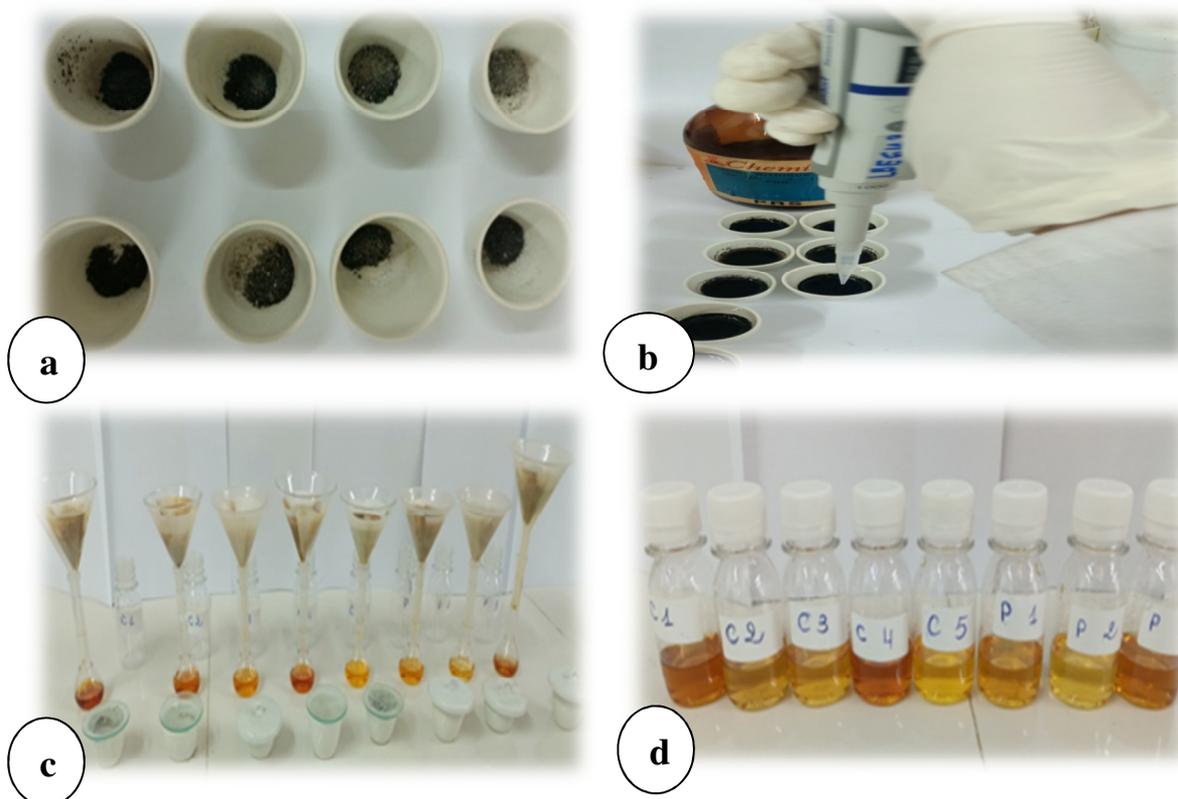


Figure 08: Extraction du Cd et Pb dans les tissus de *H. aspersa*
(a : calcination sèche, b : digestion humide, c : filtration, d : conservation)

II-3 Extraction et dosage du Cd et Pb dans les sols

II-3.1 Préparation des échantillons de sols

A la fin des tests d'écotoxicité, les échantillons de sols utilisés ont été séchés à 85°C pendant 48h, broyés à l'aide d'un mortier en porcelaine, puis tamisés à 2 mm et conservés jusqu'à analyse (Figure 9).



Figure 09 : Broyage et tamisage des échantillons de sol

II-3.2 Extraction du Cd et Pb dans le sol

L'extraction du Cd et Pb dans les échantillons de sols a été effectuée par digestion humide à l'eau régale. La technique consiste à ajouter 10 ml d'eau régale à 1g de sol, et à laisser la digestion à froid se faire pendant toute une nuit. On procède ensuite à une digestion à chaud sur un bain de sable pendant 8h (Figure 10a). Après cette digestion humide à froid puis à chaud, le mélange obtenu est filtré sur papier filtre sans cendres (Whatman 540), le volume est ajusté à 25 ml avec de l'eau pure (Figure 10b), et les extraits sont conservés à 4°C dans des flacons en polypropylène jusqu'à l'analyse (Figure 10c).

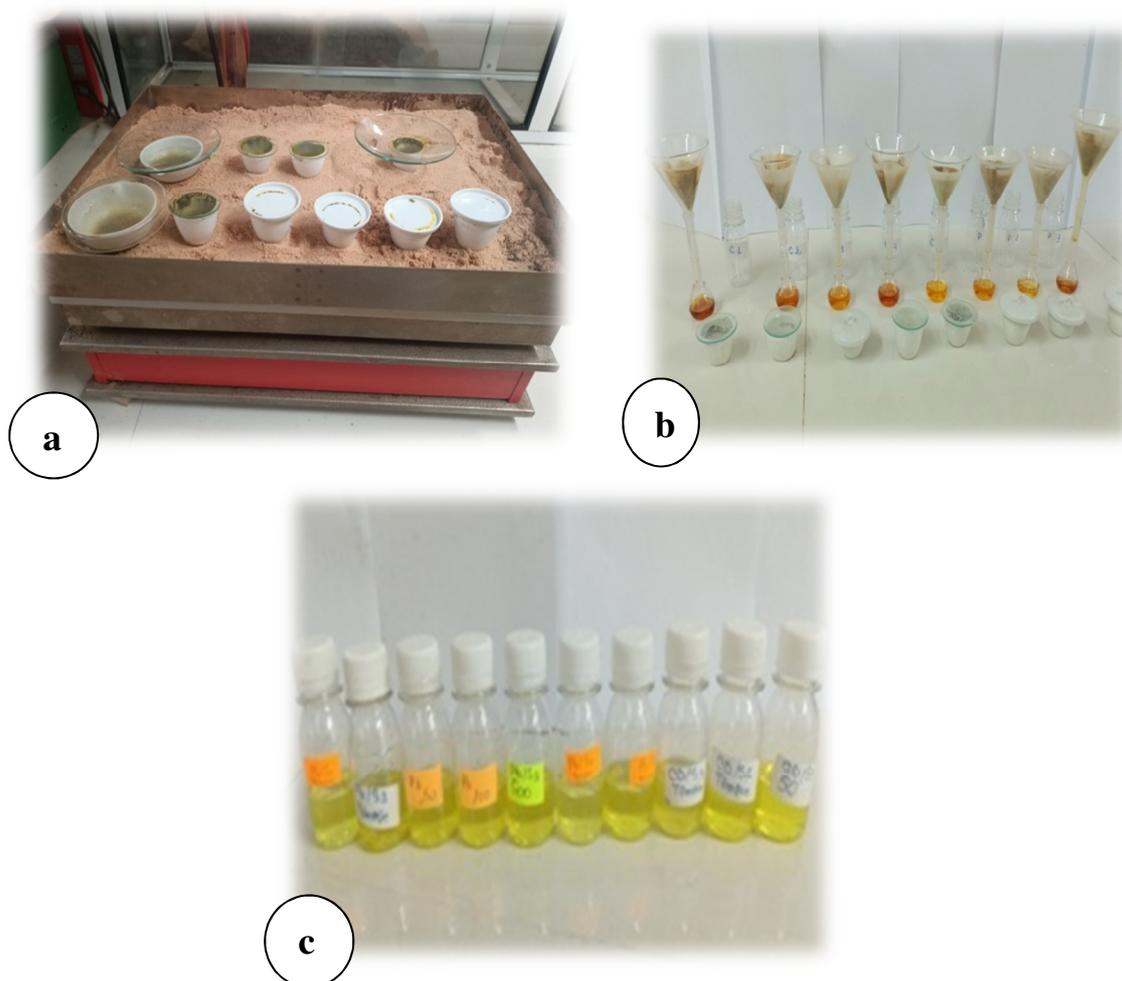


Figure 10 : Minéralisation, filtration et conservation des échantillons de sols
(a : digestion humide à chaud, b : filtration, c : conservation)

II-4 Dosage du Cd et Pb dans les extraits de *H. aspersa* et de sol

Le dosage du Cd et Pb dans les extraits des tissus mous de *H. aspersa* et de sol a été effectué par Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA) à flamme de type UNICAM 919/71. La flamme utilisée correspond à un mélange air-acétylène.

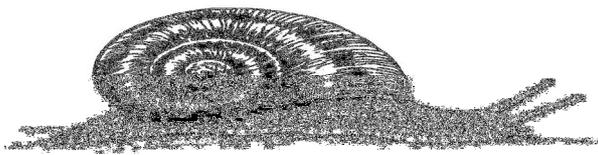
II.4. Traitement statistique des résultats

Pour le calcul des CI50 et l'élaboration des courbes dose-réponse, nous avons utilisé le programme MLA Quest Graph™ EC50 Calculator." AAT Bioquest, Inc.

Préalablement au calcul de la CI50, différentes représentations graphiques relatives aux teneurs en Cd et Pb mesurées dans les tissus mous de *H. aspersa* à la fin du test, aux facteurs de bioconcentration, et à la relation "croissance en poids *versus* teneurs en ETM accumulées", ont été réalisées permettant de mieux visualiser les résultats obtenus et donc de les commenter aisément.

Chapitre III

Résultats et discussion



III-1 Test d'écotoxicité du cadmium

III-1-1 Accumulation du cadmium contenu dans le sol par *Helix aspersa*

Les résultats relatifs aux teneurs en cadmium quantifiées dans les tissus mous de *H. aspersa* à la fin du test, sont représentés sous forme d'histogramme dans la Figure 11.

L'examen de cette dernière montre que l'accumulation du cadmium dans les tissus mous de *H. aspersa* est dose-dépendante. En effet, elle augmente au fur et à mesure que la concentration de ce métal augmente dans le sol. Les concentrations les plus faibles en cadmium (5.04 $\mu\text{g-Cd/g-tissu mou}$) ont été notées chez les individus exposés au sol témoin. Pour les individus exposés aux concentrations les plus faibles (50 $\mu\text{g-Cd/g-sol}$), la teneur est de 75.95 $\mu\text{g/g}$. Les concentrations sont 7 fois plus importantes que celle-ci chez les individus exposés au sol contenant 100 $\mu\text{g/g}$; la teneur enregistrée est de 524.30 $\mu\text{g/g}$. L'accumulation du cadmium dans les tissus mous de *H. aspersa* est plus remarquable encore chez les individus exposés aux concentrations les plus élevées ; En effet, nous avons enregistré des valeurs de l'ordre de 1015.52 et 1301.17 $\mu\text{g-Cd/g}$ de tissu mou chez les individus exposés aux sols contenant 500 et 1000 $\mu\text{g Cd/g}$ de sol, respectivement.

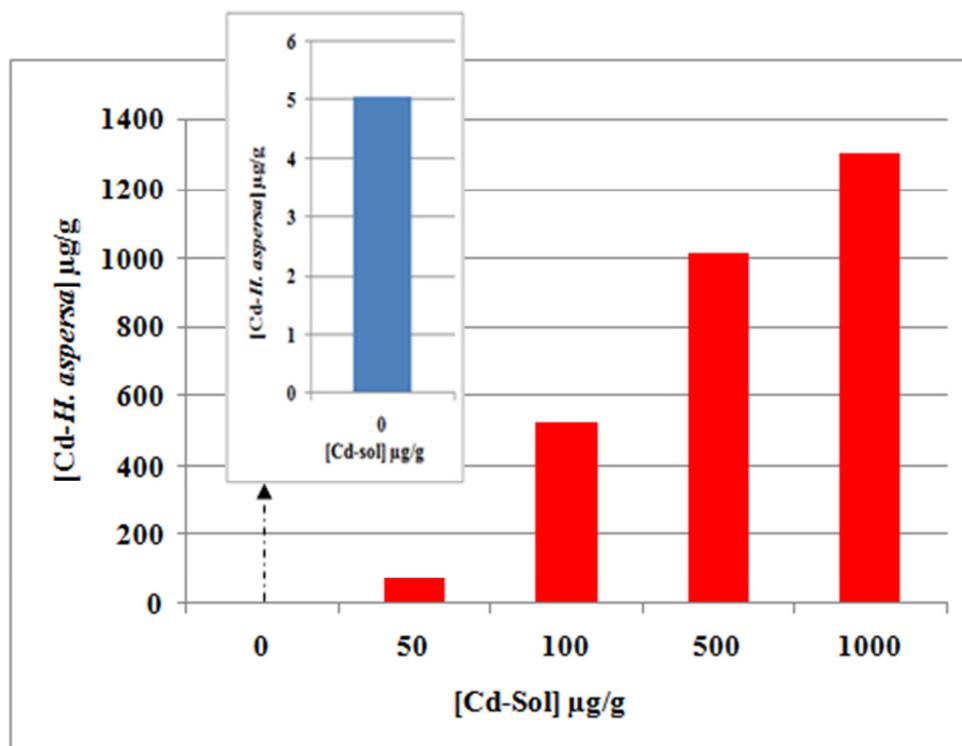


Figure 11 : Evolution des concentrations en Cd accumulées dans les tissus mous de *H. aspersa* en fonction des concentrations en Cd dans le sol ($\mu\text{g/g}$) après 28 jours d'exposition.

III-1-2 Facteurs de bioaccumulation du cadmium (BAF-Cd) chez *Helix aspersa*

L'évaluation de la bioaccumulation des divers xénobiotiques notamment les ETM chez les organismes vivants constitue une étape importante dans l'évaluation des risques liés à ces derniers. Les gastéropodes pulmonés comme *H. aspersa* sont dotés de fortes capacités accumulatrices de divers polluants, et ont l'avantage de refléter la qualité de leur milieu de vie (Viard-La Rocca, 2004).

Le facteur de bioaccumulation est un facteur couramment utilisé, c'est le ratio entre la concentration d'un xénobiotique (ETM ou autre) dans le tissu d'un organisme vivant et la concentration de ce même xénobiotique dans son environnement. Il est calculé selon la formule de Casas (2005) :

$$BAF = [ETM]_{H. aspersa} / [ETM]_{sol}$$

Où :

$[ETM]_{H. aspersa}$: concentration du Cd dans les tissus mous de *H. aspersa*.

$[ETM]_{sol}$: concentration du Cd dans les sols.

Pour l'interprétation des résultats du BAF, nous nous sommes basées sur la classification établie par Bohac et Pospisil (1989), et Pihan (2001). Ces auteurs rapportent que :

- ✓ $BAF < 1$: signifie que l'organisme vivant est un déconcentrateur du xénobiotique.
- ✓ $1 < BAF < 2$: signifie que l'organisme vivant est un microconcentrateur du xénobiotique.
- ✓ $BAF > 2$: signifie que l'organisme vivant est un macroconcentrateur.

Les résultats du facteur de bioaccumulation (BAF-Cd) calculés pour *H. aspersa* à la fin du test sont illustrés par la figure 12. De plus, dans la figure 13 est représentée à titre indicatif l'évolution des concentrations en cadmium dans le sol au début et à la fin du test. L'examen de la figure 12 montre que les valeurs du BAF varient de 1.51 à 5.24. Le facteur de bioaccumulation le plus faible a été enregistré chez les individus exposés au sol contenant la teneur la plus élevée en cadmium (1000 µg/g) ; le BAF est de 1.30. La valeur maximale (5.24) a été notée chez les individus exposés à 100 µg/g de Cd dans le sol. Le BAF pour ces individus est 4 fois plus important que celui enregistré pour les individus exposés à 1000 µgCd/g de sol. Pour ceux exposés au sol contenant 50 µg/g de Cd, le BAF est de 1.51, alors que pour ceux exposés à 500 µg/g de Cd, il est 2.03. Les résultats relatifs aux teneurs en Cd dans le sol confirment ces constatations. En effet, nous avons enregistré des concentrations de l'ordre de 32.44, 62.79, 329.22 et 502,22 µg/g dans le sol à la fin du test, versus des concentrations de départ de l'ordre de 50, 100, 500 et 1000 µg/g. D'après

la classification établie par Bohac et Pospisil (1989) et Pihan (2001), et à partir des résultats obtenus, il apparaît que *H. aspersa* est un organisme micro-concentrateur à macro-concentrateur du cadmium. L'intensité du processus d'accumulation semble être liée à la concentration de ce toxique dans le milieu.

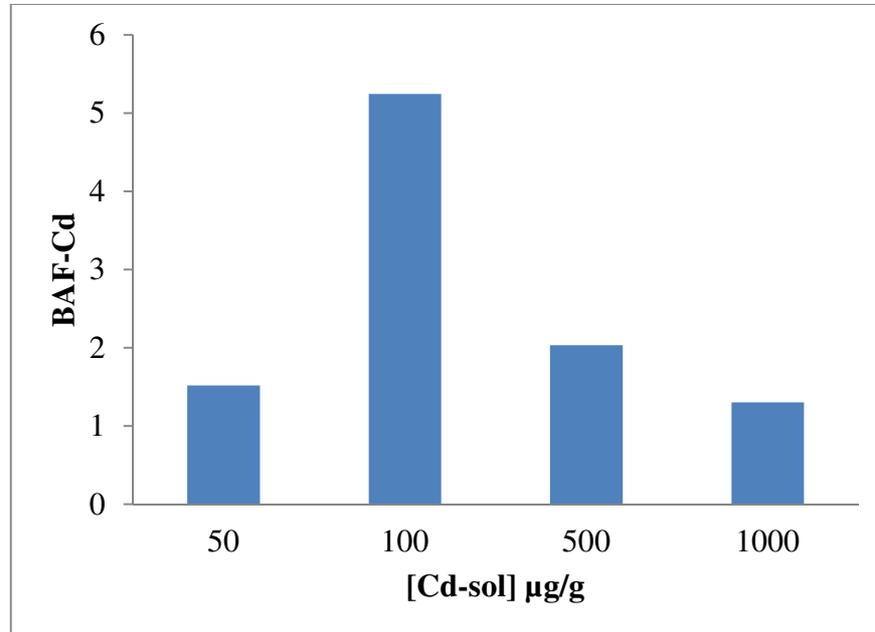


Figure 12 : Facteur de bioaccumulation du cadmium (BAF-Cd) chez *H. aspersa* après 28 jours d'exposition.

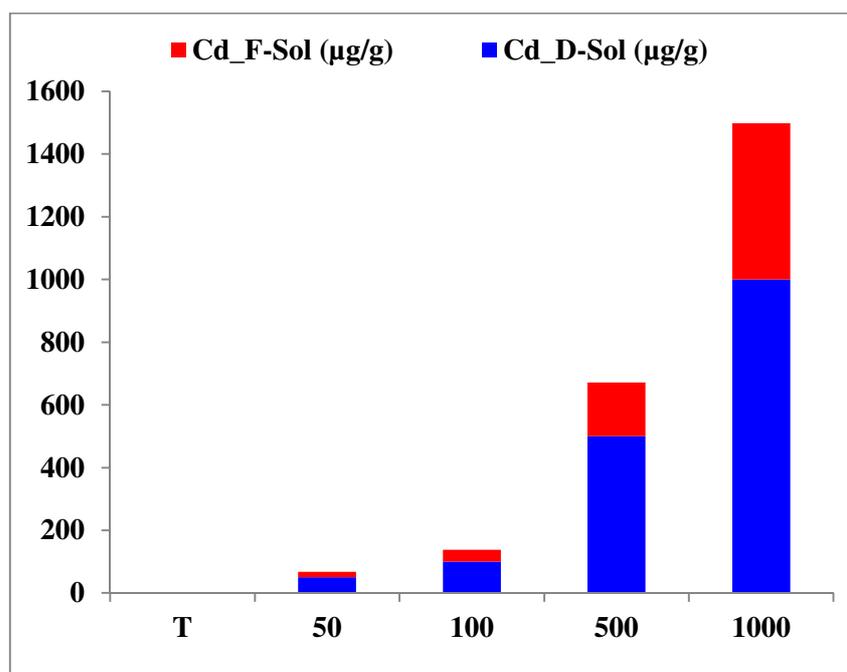


Figure 13 : Evolution des teneurs en cadmium contenu dans le sol (µg/g) au début (Cd_D) et à la fin (Cd_F) du test.

III-1-3 Relations «dose-réponse» entre les concentrations en cadmium contenu dans le sol et accumulées par *Helix aspersa*

Pour évaluer l'effet toxique du cadmium sur la croissance en poids de *H. aspersa*, et donc tracer la courbe dose-réponse et calculer la CI50, nous avons utilisé les résultats de Belhiouani (2019) obtenus à la fin du test après 28 jours d'exposition de ladite espèce aux différentes concentrations en cadmium. Il s'agit des résultats relatifs à la croissance en poids chez *H. aspersa*, qui sont donnés en annexe 02.

La figure 14 illustre la relation dose-réponse entre l'accumulation du cadmium dans les tissus mous de *H. aspersa* et sa croissance en poids. L'examen de cette courbe révèle une relation dose dépendante entre les concentrations en cadmium accumulées par *H. aspersa* et la biomasse de cette espèce. Il apparaît que l'inhibition de la croissance en poids s'accroît avec l'augmentation des teneurs en cadmium accumulées par cette espèce. La concentration qui inhibe 50% de la population est de 1153.01 $\mu\text{gCd/g}$ de tissus mous (Figure 15).

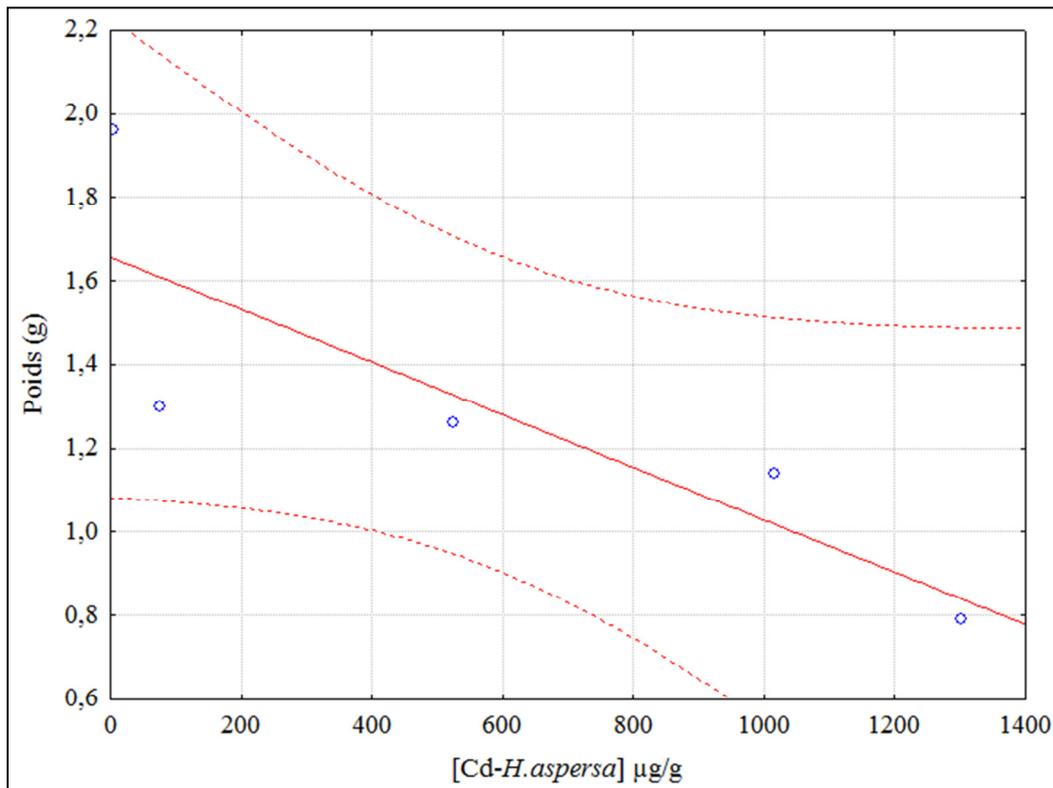


Figure 14 : Effet du cadmium accumulé dans les tissus mous sur la croissance en poids chez *H. aspersa*.

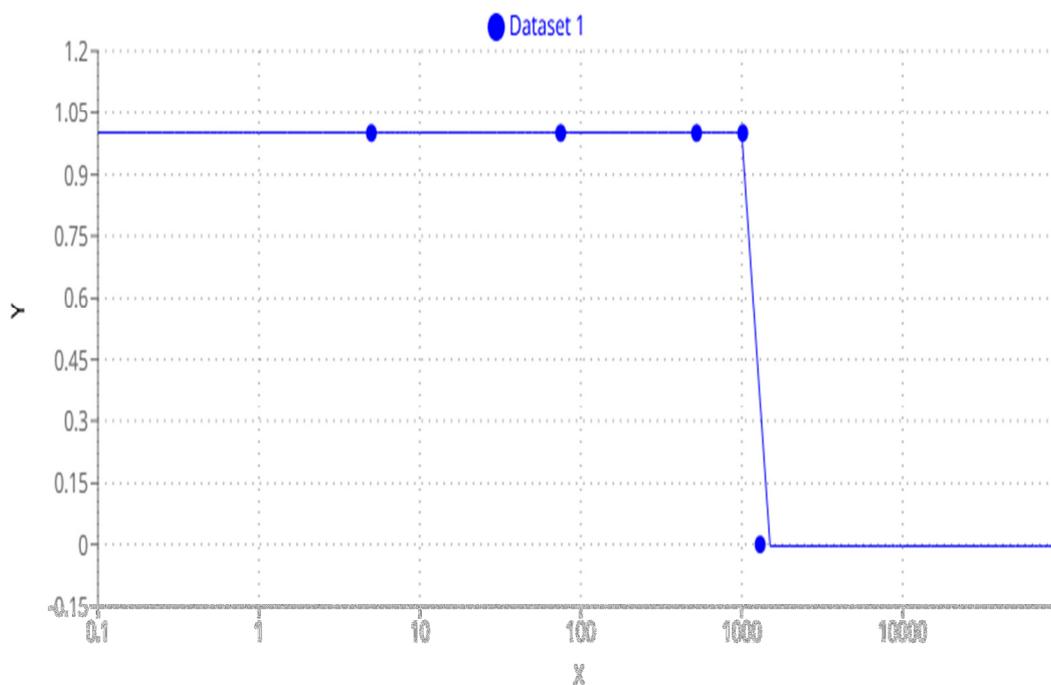


Figure 15 : relation dose-réponse entre la croissance en poids de *H. aspersa* et les concentrations en Cd accumulées dans tissus mous après 28 jours d'exposition

III-2 Test d'écotoxicité du plomb

III-2-1 Accumulation du plomb contenu dans le sol par *Helix aspersa*

Les résultats des teneurs en plomb quantifiées dans les tissus mous de *H. aspersa* après 28 jours d'exposition à un substrat contaminé sont illustrés par la figure 16. L'examen de cette dernière montre que l'évolution de l'accumulation du plomb chez *H. aspersa* en fonction des concentrations contenues dans le sol est irrégulière. La concentration la plus faible (1.35 $\mu\text{gPb/g}$) a été enregistrée chez les individus témoins. Cette concentration est 13 fois plus importante chez les individus exposés à la concentration la plus faible en plomb (50 $\mu\text{gPb/g}$ de sol) ; la teneur en plomb accumulée est de l'ordre de 17.92 $\mu\text{gPb/g}$ de tissus mous). Cette accumulation baisse chez les individus exposés à 100 $\mu\text{gPb/g}$ de sol pour augmenter à nouveau chez ceux exposés à 500 et 1000 $\mu\text{gPb/g}$ de sol. Chez les individus exposés à la concentration la plus élevée en plomb dans le sol (2000 $\mu\text{gPb/g}$ sol), l'accumulation est encore plus accentuée. En effet, la teneur en plomb enregistrée est de 2220.96 $\mu\text{gPb/g}$ de tissus mous.

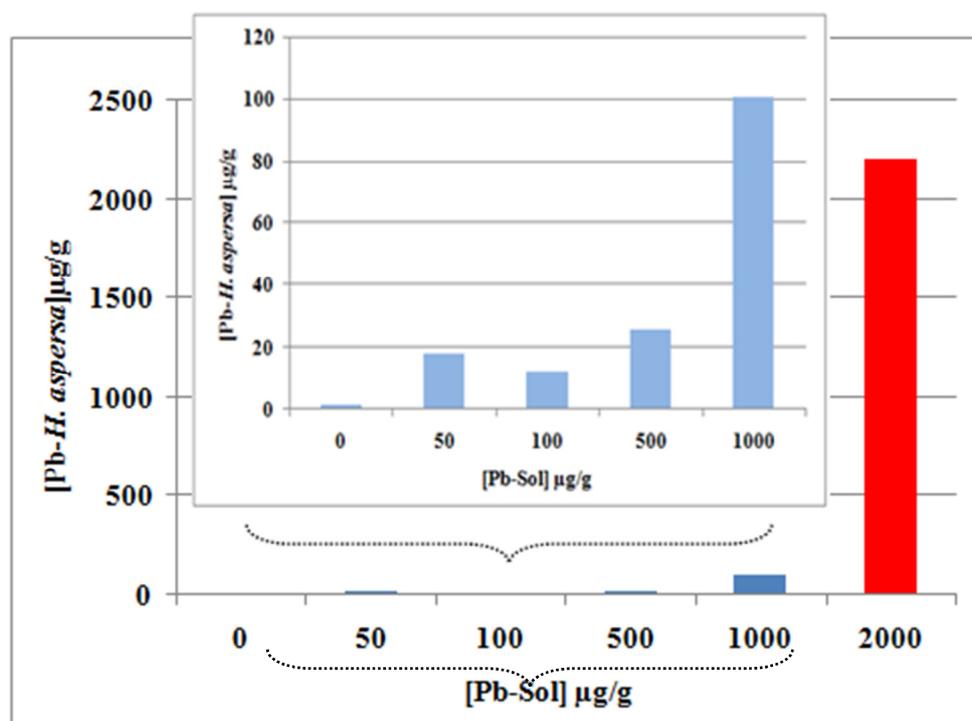


Figure 16 : Evolution des concentrations en Pb accumulées dans les tissus mous de *H. aspersa* en fonction des concentrations en Pb dans le sol ($\mu\text{g/g}$) après 28 jours d'exposition.

III-2-2 Facteurs de bioaccumulation du plomb (BAF-Pb) chez *Helix aspersa*

Les résultats du facteur de bioaccumulation (BAF-Pb) calculés pour *H. aspersa* après 28 jours d'exposition au substrat contaminé par le plomb, sont illustrés par la figure 17. De même que pour le cadmium, l'évolution des concentrations en plomb dans le sol au début et à la fin du test est représentée par la figure 18. L'examen de la figure 17 montre que les valeurs du BAF-Pb varient entre 0.051 et 1.10. L'évolution des BAFs en fonction des concentrations en plomb dans le sol est irrégulière. La valeur la plus basse a été notée chez les individus exposés à 500 $\mu\text{gPb/g}$ de sol alors que la plus élevée a été enregistrée chez ceux exposés à 2000 $\mu\text{g Pb/g}$ de sol. Les BAF sont inférieurs à l'unité pour les 4 premières concentrations, et légèrement supérieurs à l'unité pour la concentration la plus élevée en plomb (2000 $\mu\text{gPb/g}$ de sol). Les résultats relatifs aux teneurs en Pb dans le sol à la fin du test, confirment encore une fois les résultats du BAF. En effet, nous avons enregistré des concentrations de l'ordre de 16.85, 59.97, 314.42, 760.6 et 1051,75 $\mu\text{g/g}$ dans le sol à la fin du test, versus des concentrations de départ de l'ordre de 50, 100, 500, 1000 et 2000 $\mu\text{g/g}$. D'après la classification établie par Bohac et Pospisil (1989) et Pihan (2001), *H. aspersa* est considéré comme un organisme déconcentreur de plomb.

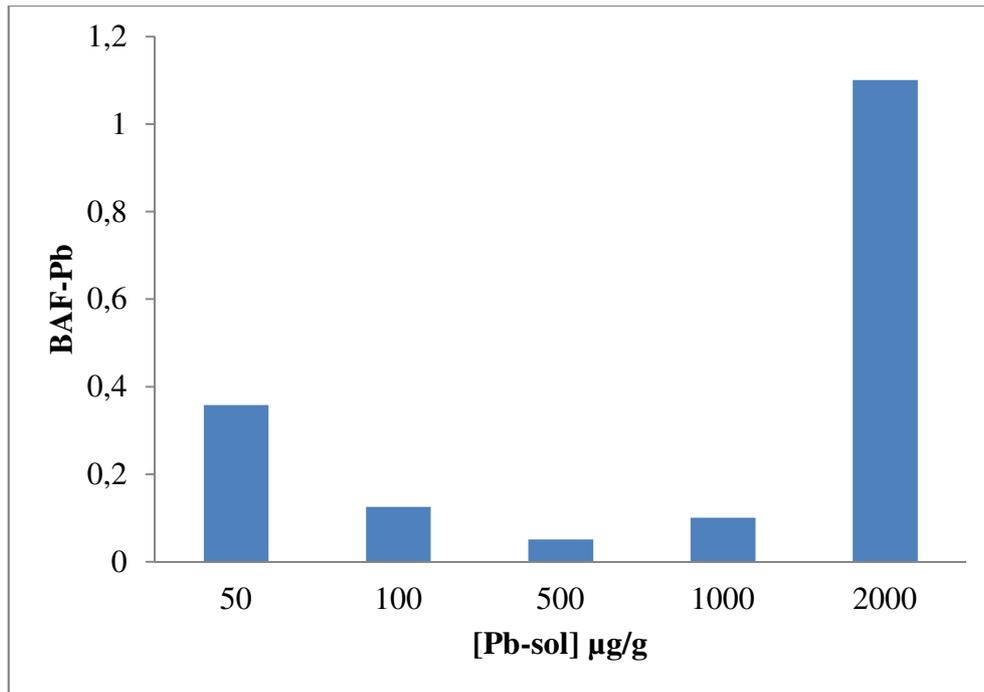


Figure 17 : Facteur de bioaccumulation du plomb (BAF-Pb) chez *H. aspersa* après 28 jours d'exposition

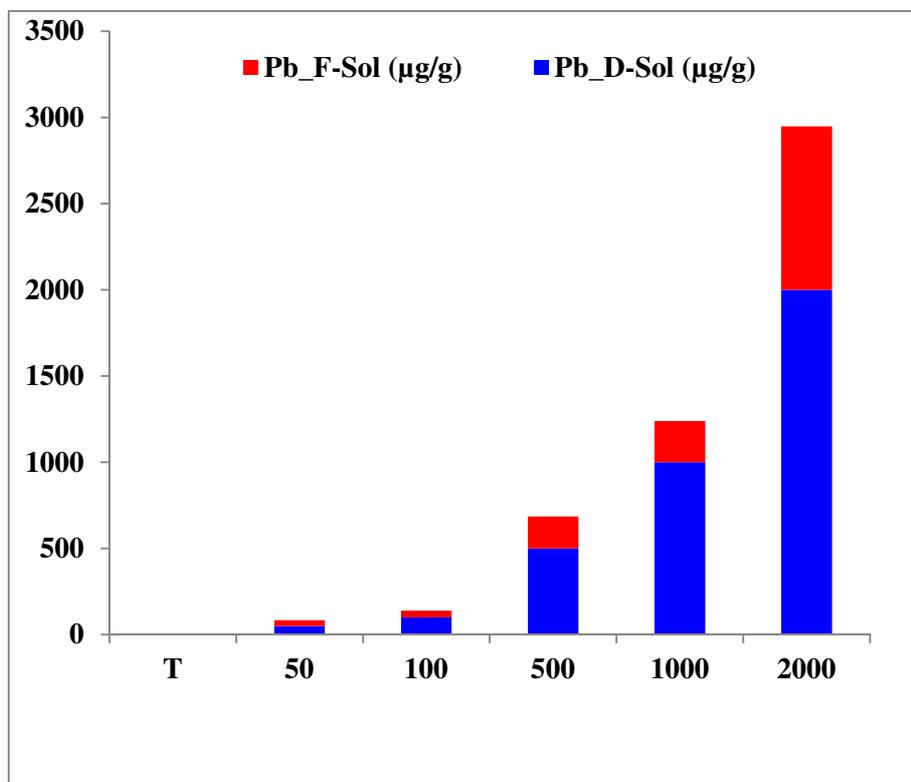


Figure 18 : Evolution des teneurs en plomb contenu dans le sol (µg/g) au début (Pb_D) et à la fin (Pb_F) du test.

III-2-3 Relations «dose-réponse» entre les concentrations en plomb contenu dans le sol et accumulées par *Helix aspersa*

La figure 19 illustre l'évolution de la croissance en poids chez *H. aspersa* en fonction des concentrations en plomb accumulées dans les tissus mous, pour les différentes concentrations en plomb contenu dans le sol. À partir de cette courbe et contrairement au cadmium, et à l'exception des individus exposés à 2000 $\mu\text{g/g}$, il apparaît que les concentrations en plomb accumulées dans les tissus de *H. aspersa* sont faibles et ne reflètent en aucun cas celles du sol. Comme mentionné plus haut *H. aspersa* a tendance à déconcentrer le plomb. Ainsi, nous n'avons pas pu déterminer la CI50. Il est évident que la valeur de cet indicateur écotoxicologique dépasse largement la plus haute concentration accumulée qui peut avoir un effet sur la croissance en poids de cette espèce. Il est à noter que les résultats de l'évolution du poids en fonction des concentrations en plomb dans le sol sont donnés en annexe 02.

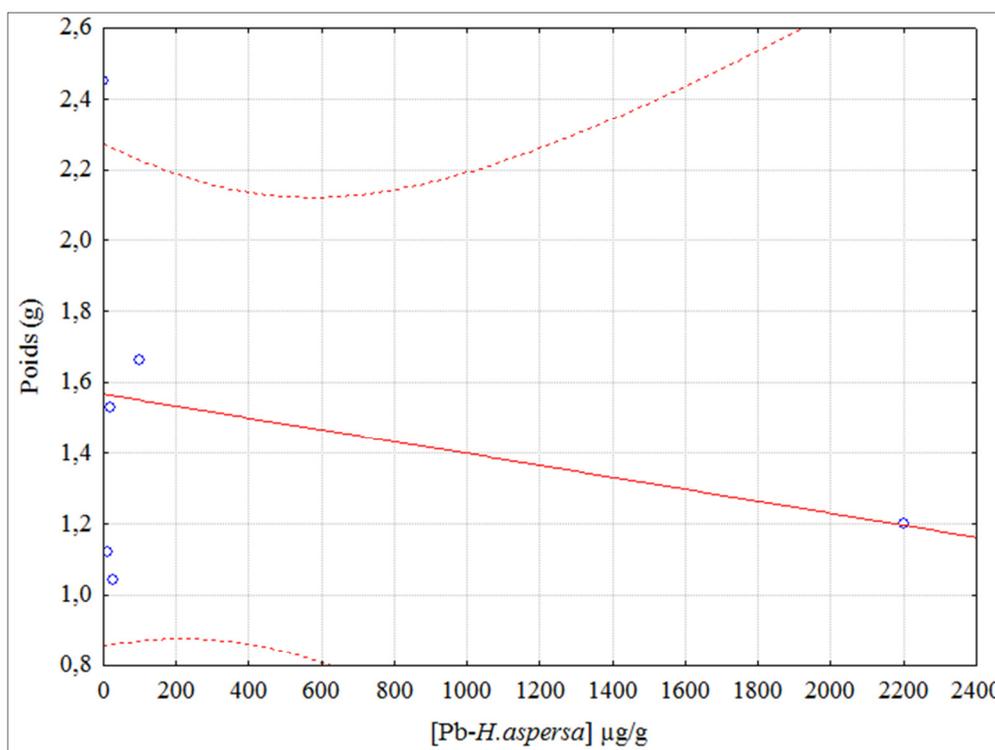


Figure 19 : Effet du plomb accumulé dans les tissus mous sur la croissance en poids chez *H. aspersa*

III-3 Discussion des résultats

Dans cette étude, les tests d'écotoxicité du cadmium et du plomb par contamination du substrat, effectués en conditions contrôlées ont révélé des perturbations considérables quant à l'accumulation des ETM, et la croissance en poids de *H. aspersa*.

Au terme des résultats relatifs à la quantification des taux du cadmium et du plomb dans les tissus mous de l'espèce testée, il est évident qu'il existe une relation entre les teneurs internes de ces éléments chez *H. aspersa* et le niveau de contamination du sol, notamment dans le cas du cadmium. En effet, l'accumulation de cet élément chez cette espèce s'accroît au fur et à mesure que la concentration dans le sol augmente. Ces conclusions sont en accord avec celles de Chabicozsky et al. (2003), Viard La Rocca et al. (2004), Belhouchani (2019), et Sahraoui et al. (2022). À travers des études de bioindication passive et des tests d'écotoxicité où le sol était la seule source de contamination, ces auteurs ont montré que l'accumulation du cadmium et du plomb se partage principalement dans les viscères et la glande digestive, le tube digestif qui joue un rôle dans le stockage du cadmium, et le pied qui apparaît plutôt comme un site d'accumulation transitoire en liaison avec l'absorption cutanée. Le transfert du cadmium et du plomb, contenu dans le sol, vers les escargots qui sont en contact direct avec ces composés se fait par voie cutanée, *via* leur derme, ou par voie digestive.

De plus, plusieurs études ayant utilisé *H. aspersa* comme espèce bioindicatrice de la contamination métallique des sols, ont conclu que cet espèce accumule les ETMs de façon significative dans les tissus mous par rapport aux coquilles (Nica et al. 2015 ; Belhouchani, 2019). Il est à noter que cette accumulation est très remarquable pour le cadmium. En effet, *H. aspersa* est capable de séquestrer cet élément dans les différents compartiments de son corps, et est ainsi considéré comme un macro-concentrateur du Cd (Dallinger et al. 2001, Sahraoui. 2022). Ceci a été confirmé par le calcul des BAF qui oscillent entre 1.30 et 5.24 pour cet élément. Ces valeurs dépassent largement celles obtenues par Sahraoui (2022) ; En effet, cet auteur a enregistré des BAF compris de 0.42 à 1.22 pour les viscères. Aussi, il faut savoir que les BAF pour le Cd varient de 3 à 8 dans les conditions naturelles (Viard la Rocca et al. 2004), et de 1 à 10 dans les conditions contrôlées de laboratoire (Gomot- De Vaufléury, 1997).

Le caractère macroconcentrateur du cadmium chez *H. aspersa* est très utile pour l'évaluation de la contamination des sols mais aussi de l'air ou encore de la nourriture par les ETM. Sturba et al. (2020) dans leur étude, se sont basés sur le caractère macroconcentrateur de *H. aspersa* pour identifier la source polluante, et ceci par l'introduction d'individus sains dans

plusieurs sites potentiellement contaminés. Les résultats se sont montrés satisfaisants pour qualifier la méthode de fiable et très peu coûteuse. Viard et al. (2004), ont également confirmé le caractère macroconcentrateur de *H. aspersa* pour le Cd lors d'une étude relative à la révélation de l'ampleur de la pollution des sols par le trafic routier.

Pour le plomb *H. aspersa* est une espèce déconcentratrice ; le BAF étant inférieur à 1 pour la plupart des concentrations testées. Ces résultats rejoignent ceux de Dallinger (1993), Viard et al. (2004), Belhiouani (2019), Sahraoui (2022). D'après ces auteurs, ceci est un signe de déconcentration du Pb, de la part du gastéropode, et ce, au niveau de tous ses organes. Ces résultats sont également en accord avec ceux de Beeby et Richmond (2003) ; en effet, ces auteurs ont enregistré des coefficients de corrélations très faibles ($R^2 = 0,16$; $p < 0,001$) entre les concentrations en Pb dans les sols et dans les tissus lors de l'étude de la bioconcentration du plomb total et biodisponible contenu dans le sol en utilisant *H. aspersa* comme modèle biologique.

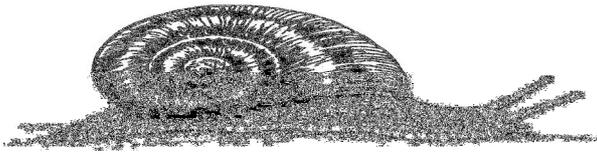
Par ailleurs, l'étude de l'effet des ETM accumulés sur la croissance en poids de *H. aspersa* a révélé une relation dose-réponse remarquable dans le cas du cadmium. En effet, plus la concentration en cadmium accumulé dans les tissus mous de *H. aspersa* est élevée plus la baisse de la croissance en poids est importante. Cette baisse dose-dépendante est sans doute due à l'accumulation de cet élément toxique et donc à une expression de la toxicité chez cette espèce. La toxicité se manifeste lorsque le toxique passe dans le corps de l'animal *via* l'épithélium situé sur le pied, puis s'accumule surtout dans l'hépatopancréas (Gomot-De Vaufleury et Pihan 2002). Une telle accumulation peut affecter la croissance en poids essentiellement (Ebenso et Ologhobo, 2008). La toxicité peut se manifester aussi suite à l'ingestion des particules de sols par *H. aspersa* (Coeurdassier et al. 2002).

La CI50 calculée pour cet élément est de 1153.01 $\mu\text{gCd/g}$ de tissus mous. Ces résultats concordent avec ceux de Coeurdassier et al. (2002) pour des individus de la même espèce mis en contact direct avec un sol contaminé par le cadmium ; ces auteurs ont rapporté des CI50 allant de 500 et 1000 $\mu\text{gCd/g}$. Nos résultats sont également proches de ceux enregistrés par Gomot-De Vaufleury et al. (2006) dans une étude sur l'évaluation des risques par l'exposition des escargots terrestres aux sols pollués par les ETM ; les CI50 enregistrées par cet auteur étaient de l'ordre de 526 à 1060 $\mu\text{gCd/g}$ dans le sol pour des tests statiques, et de 373 à 781 $\mu\text{gCd/g}$ dans le sol pour les tests semi-statiques. Nos résultats dépassent largement ceux obtenus par Sahraoui et al. (2021) ; En effet, cet auteur a enregistré des CI50 de l'ordre de 272.18 $\mu\text{g Cd/g}$ et 377.64 $\mu\text{g Cd/g}$, pour l'inhibition de la croissance en poids et en diamètre, respectivement. Ceci peut être attribué aux propriétés

physico-chimiques des sols qui peuvent influencer fortement la spéciation, et donc l'absorption et la toxicité de ces éléments. En effet, cet auteur avait utilisé 3 sols de laboratoire ayant des caractéristiques physico-chimiques différentes ; il s'agit du sol standard LUFA 2.2 obtenu à Landwirtschaftliche Untersuchungs-und Forschungsanstalt (LUFA) à Speyer en Allemagne, un sol de jardin (Garden soil) des Pays-Bas (un jardin non contaminé à Bilthoven), et un sol de prairie (Soccer field soil) collecté sur un terrain de football à De Kwakel, aux Pays-Bas. La toxicité la plus élevée et la bioaccumulation la plus importante ont été enregistrées pour le sol Lufa 2.2. Ce sol est caractérisé par un pH faible (5.5). La teneur en MO et la CEC sont également faibles. De telles conditions rendraient sans doute les ETM plus disponibles et donc plus toxiques pour les escargots (Romero-Freire et al. 2015; Zhang et al. 2019).

Comme mentionné plus haut, nous n'avons pas réussi à déterminer une CI50 pour le plomb. Ainsi, nous pouvons conclure que la valeur de cet indicateur écotoxicologique dépasse largement la plus haute concentration accumulée chez *H. aspersa* et qui peut affecter sa croissance en poids. Cette concentration est de l'ordre de 2200.96 µgPb/g accumulée chez les individus exposés à 2000 µgPb/g de sol. Un tel résultat ne signifie pas pour autant que le plomb n'est pas toxique pour ce gastéropode. Par exemple, Sahraoui (2022) avait enregistré des CI50 de 3808.18 µg Pb/g pour l'inhibition de la croissance en biomasse, et 4121.06 µg Pb/g pour celle du diamètre de la coquille, chez des individus de *H. aspersa* exposés à des concentrations croissantes en plomb dans le sol. Par ailleurs, il est à noter que pour ce métal, c'est la coquille qui concentre la plus grande teneur par rapport aux autres organes. En effet, cette dernière est utilisée par le gastéropode en tant qu'organe de stockage temporaire, et ce, pour réduire la charge des tissus mous en période de forte incidence de Pb. L'animal relâche cette concentration en Pb à nouveau lorsque les concentrations de tissus mous commencent à chuter (Belhiounai, 2019).

Conclusion Et Perspectives



L'objectif principal visé par cette étude est de confirmer la capacité du gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* à accumuler le cadmium et le plomb présent dans le sol, ainsi que d'évaluer les effets écotoxiques de ces éléments sur ce dernier *via* le calcul des CI50.

Cette étude fait suite au travail précédemment réalisé dans le cadre d'une thèse de doctorat où une population de *H. aspersa* a été exposée à des sols contenant des concentrations croissantes en Cd et en Pb pendant 28 jours, en conditions contrôlées. En ce qui nous concerne, à la fin des tests, nous avons procédé à la quantification des teneurs de ces éléments dans les sols et les tissus mous de l'espèce étudiée. Ces teneurs nous ont permis de calculer les facteurs de bioaccumulation et de déterminer les CI50.

À l'issue de ce travail, les principales conclusions peuvent être résumées ainsi :

- Il existe une relation entre les concentrations en Cd accumulées par *H. aspersa* et celles présentes dans le sol. En effet, l'accumulation de cet élément par cette espèce est dose-dépendante ; elle augmente au fur et à mesure que les concentrations du Cd dans le sol augmentent ;
- Le calcul des facteurs de bioaccumulation pour les deux éléments, nous ont permis de conclure que *H. aspersa* est un organisme macro concentrateur du Cd, et déconcentrateur du Pb ;
- Le calcul des CI50 a révélé une relation dose-réponse entre le cadmium accumulé dans les tissus mous de *H. aspersa* et la diminution de la croissance en poids chez cette espèce utilisée comme modèle biologique. La CI50 obtenue pour le cadmium est de 1153.01 µgCd/g de tissus mous ;
- En revanche, nous n'avons pas réussi à déterminer la CI50 pour le plomb. En effet, il est évident que le seuil de toxicité pour cet élément dépasse largement la plus haute concentration accumulée chez *H. aspersa* dans le cadre de cette étude.

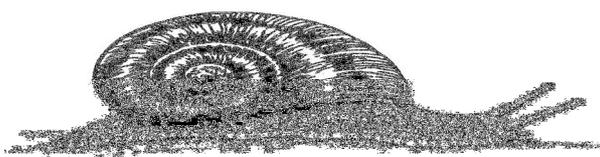
Globalement, l'évaluation de l'effet écotoxicologique du cadmium et du plomb sur *H. aspersa* souligne l'importance de prendre des mesures de protection de l'environnement pour réduire la contamination par ces deux éléments à titre indicatif, et d'autres ETM qui peuvent être encore plus toxiques. Aussi, ces résultats peuvent contribuer à la mise en place de réglementations plus strictes visant à limiter l'exposition des organismes terrestres

aux métaux toxiques, ainsi qu'à sensibiliser les industriels sur les conséquences néfastes de la pollution sur la faune et la flore.

Il est essentiel de poursuivre la recherche dans ce domaine pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et développer des stratégies de conservation efficaces pour préserver la biodiversité et l'intégrité des écosystèmes terrestres. Ainsi, comme perspectives :

- ✓ Il serait intéressant de quantifier les ETM dans les différentes parties du corps séparément, afin de cibler l'organe accumulateur pour chaque métal ;
- ✓ Effectuer des tests avec des concentrations plus hautes pour le plomb dans le but de cerner les valeurs écotoxicologiques ;
- ✓ Quantifier et étudier les effets écotoxiques d'autres éléments traces, notamment : Zn, Cu, As, Co, Ni, Mg, etc. aussi bien dans les sols que chez *H. aspersa*.

Références Bibliographiques



- **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: 1131-1138.
- **Abdurrahman S., Shawai A., Muktar H.I., Bataiya, A.G., Abdullahi I.I., Shamsuddin I.M. and Yahaya A.S. 2017.** A Review on Heavy Metals Contamination in Water and Soil : Effects, Sources and Phytoremediation Techniques, 2(2), 21-27.
- **Aghoghovwia O.A., Miri F.A. and Izah S.C. 2018.** Impacts of anthropogenic activities on heavy metal levels in surface water of Nun River around Gbarantoru and Tombia towns, Bayelsa State, Nigeria. *Annals of Ecology and Environmental Science*, 2(2), 1-8.
- **Alayat A., Souiki L., Grara N., Djebbar M.R., Boumedris Z.E., Benosmane S., Amamra R. and Berrebbah H. 2014.** Effects of Cadmium on Water Content, Soluble Protein, Proline Changes and Some Antioxidant Enzymes in Wheat (*Triticum durum* desf.) Leaves. *Annual Research & Review in Biology*. 4(24): 38353847.
- **Alloway B.J. 2013.** Sources of heavy metals and metalloids in soils *in: Heavy Metals in Soils*. Springer, Dordrecht 22. 11-50.
- **Alloway B.J. 1995.** The origin of heavy metals in soils *in: Alloway, BJ, Heavy Metals in Soils*. (Eds.), 2nd. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London. 38-56.
- **Asif N., Malik M., Chaudhry F.N. 2018.** A review of environmental pollution bioindicators. *Pollution*. 4,111-118.
- **Atilia A., Berrebbah H., Boucenna M., Alayat A., Amamra R., Grara N. and Djebbar M.R. 2016.** Biomarkers Responses of Land Snails *Helix aspersa* exposed to Chronic Metal Pollution under Field and Laboratory Conditions. *Nature Environment and Pollution Technology*. 15, 12091215.
- **Baize D., Sterckeman T. 2001.** Of the necessity of knowledge of the natural pedo-geochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by traces elements. *Science of the Total Environment*. 264, 127-139.
- **Beeby A., Richmond L. 2011.** Magnesium and the deposition of lead in the shell of three populations of the garden snail *Cantareus aspersus*. *Environmental Pollution*, 159(6): 1667-1672.
- **Beeby A. et Richmond L. 2003.** Do the soft tissues of *Helix aspersa* serve as a quantitative sentinel of predicted free lead concentrations in soils? *Applied soil ecology*22: 159–165.
- **Behanzin G.J., Adjou E.S., Yessoufou A.G., Ahoussi E.D., Sezan A. 2015.** Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. *J. Appl. Biosci*. 83, 7499-7505.
- **Belabed A.I. 2013.** Dynamique de Population et Relations Hôtes-Parasites chez la Tourterelle turque (*Streptopelia decaocto*). Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie, 222 p.
- **Belhiouani H. 2019.** Utilisation intégrée des escargots pour la surveillance de la contamination métallique des sols : approches chimique, biologique et écotoxicologique, (PhD thesis), Université Frères Mentouri Constantine. 269p.
- **Benmansour M. 2018.** Séparation et pré-concentration du Pb(II) et du Cu(II) par la technique de membrane liquide émulsionnée. These de doctorat. Université Aboubekr Belkaid, Tlemcen.155p.
- **Bliefert C., Perraud R. 2004.** Chimie de l'environnement: Air, eau, sols, déchets .Edition: De Boeck Université. Bruxelles-Belgique .477p.

- **Bohac J., Popsil J. 1989.** Accumulation of heavy metals in invertebrates and its ecological aspects. In: Vernet J-P, editor .Heavy metals in the environment, 1.Edinburgh: CEP Consultants Ltd. p.354.
- **Calow P. et Forbes V.E. 2003.** Peer reviewed : Does ecotoxicology inform ecological risk assessment- ACS Publications.Cazin X., 2014. Schéma de l'anatomie de l'escargot. Dans Biologie et zootechnie du Petit-gris *Helix aspersa* Müller. http://librairie.immateriel.fr/fr/read_book/9782738002471/e9782738002471_c.
- **Casas S. 2005.** Modélisation de la bioaccumulation de métaux traces (Hg, Cd, Cu et Zn) chez la moule «*Mytilus galloprovincialis*» en milieu méditerranéen. Thèse de doctorat, Université du sud Toulon Var, Toulon.356p.
- **Chabicoovsky M., Niederstätter H., Thaler R., Hödl E., Parson W., Rossmanith W. et 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: 25-36.
- **Chagra A. 2010.** Effets du cadmium et des traitements combinés Cd/Ca⁺ à l'échelle cellulaire et subcellulaire .Thèse de doctorat. Annaba : Université Badji Mokhtar.136p.
- **Cheriti O. 2022.** Utilisation des gastéropodes pulmonés terrestres comme traceurs de la pollution métallique des sols dans le bassin du kebirRhumel : de l'inventaire à la bioindication. These de doctorat .Université Mentouri Constantine I. 240p.
- **Clément B. 2006.** Apports des essais en microcosmes aquatiques lenticules de laboratoire à l'évaluation écotoxicologique des polluants. Mémoire d'HDR. Spécialité : Biologie et Biochimie Appliquées Villeurbanne, Lyon, Vaulx-en-Velin : INSA de Lyon et Université Lyon 1, LSE-ENTPE, 277p.
- **Coeurdassier M., De Vaufleury A. et Badot P.M. 2003.** Bioconcentration of cadmium and toxic effects on life-history traits of pond snails (*Lymnaea eapalustris* and *Lymnaea eastagnalis*) in laboratory bioassays. Archives of environmental contamination and toxicology, 45(1), 0102-0109.
- **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? Ecotoxicol Environ Saf 53:425-431.
- **Dallinger R, Berger B, Triebkorn-Köhler R, Köhler H. 2001.** Soil biology and ecotoxicology. The biology of terrestrial mollusks. Barker GM (Ed). CABI Publishing, Wallingford, p 489-525
- **Dallinger R. 1993.** Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrate. In:Ecotoxicology of metals in invertebrates.Eds Dallinger E.& Rainbow R. .Lewis Publishers,Boca Raaton,Florida,USA.289P.
- **Ebenso I.E., Ologhobo A.D. 2008.** Edible land snail shell thickness as bioindicator of environmental lead metal pollution. Pollut Res (India). 27, 75-76.
- **El-Hadef El-Okki M., Sahli L., Bentellis A., Azzoug R., Laing G.D. et Rached, O. 2016.**Assessment of Metal Contamination in Soil Banks Of the Rhumel Wadi (Notheast Algeria).Toxicological and Environmental Chemistry 98(1):53-63.
- **Forbes V.E., Forbes T.L. 1997.** Ecotoxicologie. Théorie et applications. Paris, France INRA Eds, 256p.
- **Gimbert F., Mench M., Coeurdassier M., Badot P.M. & de Vaufleury A. 2008.** Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. Science Direct, Environmental Pollution, 152: 736-745.
- **Gimbert F., De Vaufleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M. and BadotP.M. 2006.** Modeling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. Environment International 32, 866-875.

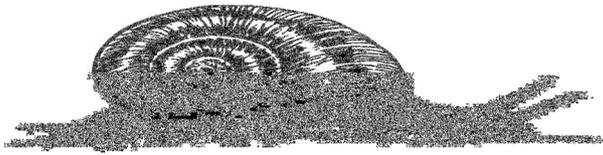
- **Gomot- De Vaufleury A. 1997.** Dose-Dependent Effects of Cadmium on the Growth of Snails in Toxicity Bioassays. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 33, 209-216.
- **Gomot- De Vaufleury A., Pihan F 2002.** Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails: metal bioavailability and bioaccumulation. Environ Toxicol Chem Int J 21:820–827
- **Gomot-De Vaufleury A., and Pihan F. 2000.** Growing snails used as sentinels To evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. Chemosphere 40, 275-284.
- **Gomot-De Vaufleury A., Cœurdassier M., Pandard P., Scheifler R., Lovy C., Crini N., Badot P-M. 2006.** How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. Environ Toxicol Chem 25:797-806.
- **Hashmi M.Z., Yu C., Shen H., Duan D., Shen C., Lou L., Chen Y. 2013.** Risk assessment of heavy metals pollution in agricultural soils of siling reservoir watershed in Zhejiang province, China. BioMedresearch international, 1-10.
- **Hooda P. 2010.** Trace elements in soils .John Wiley & Sones, Ltd., Chichester, 618p.
- **Hopkin S.P., Hames C.A.C et Dray A. 1989.** X-ray micro analytical mapping of the intercellular distribution of pollutant metals. Microscopy and analysis, 14, 23-
- **Hu Y. and Cheng H. 2016.** A method for apportionment of natural and anthropogenic contributions to heavy metal loadings in the surface soils across large-scale regions. Environmental pollution, 214, 400-409.
- **Huynh T.D. 2009.** Impact des métaux lourds sur les plantes/ver de terre/microflore tellurique. Thèse de doctorat, Université de Paris Est..151p.
- **Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques-INERIS. 2010.** Fiches de données toxicologiques et environnementales. Arsenic et ses dérivés inorganiques. 124p.
- **International Organization for Standardization-ISO. 2006.** ISO 15952:2006 Qualité du sol-Effets des polluants vis-à-vis des escargots juvéniles (Helicidae) - Détermination des effets sur la croissance par contamination du sol, Genève, .31p.
- **Jan A.T., Azam M., Siddiqui K., Ali A., & Choi I. 2015.** Heavy Metals and Human Health : Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants, International journal of molecular sciences, 16(12), 29592-29630.
- **Jandacka D., Durcanska D., Bujdos M. 2017.** The contribution of road traffic to particulate matter and metals in air pollution in the vicinity of an urban road. Transportation Research Part D: Transport and Environment. 50, 397-408.
- **Kabata-Pendias A. 2011.** Trace elements in soils and plants. 4th Edition, CRC Press.Boca Raton.USA.339p.
- **Kabata-Pendias A. 2004.** Soil-plant transfer of trace elements, an environmental issue. Geoderma. 122, 143-149.
- **Kabata-Pendias A., Pendias H. 2001.**Trace elements in soils and plants. 3rd ed.CRC Press.Boca Raton.Florida.311p.
- **Kerney M., Cameron R. and Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe. Delachaux et Niestlé SA, Paris, 2006, 288 p.
- **La Rocca B.V. 2004.** Mise au point et validation, sur sites contaminés, (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme : croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa*. Thèse de doctorat, l'université de Metz, 266p.
- **Lakherwal D. 2014.** Adsorption of heavy metals: a review. International journal of environmental research and development. 4, 41-48.

- **Lam P.S.K., Gray J.S. 2003.** The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 182186.
- **Liang J., Mao J. 2015.** Source analysis of global anthropogenic lead emissions: their quantities and species. *Environmental Science and Pollution Research.* 22, 7129-7138.
- **Lin X., Yang T., Li H. 2020.** Interactions between Different Selenium Compounds and Essential Trace Elements Involved in the Antioxidant System of Laying Hens. *Biol Trace Elem Res.* 193: 252-260.
- **Manusadžianas L., Caillet C., Fachetti L., Gylytė B. 2012.** Environmental toxicology and chemistry-Toxicity of Copper Oxide Nanoparticle Suspensions to Aquatic Biota. *Environ Toxicol Chem* 31:108-114.
- **Mehri A. 2020.** Trace elements in human nutrition (ii)-an update. *International Journal of Preventive Medicine.* 11, 2-14.
- **Mench M et Baize D. 2004.** Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces. Mesures pour réduire l'exposition. *Courrier de l'Environnement de l'INRA*, 52 : 31-56.
- **Miquel G. 2001.** Rapport sur: les métaux lourds sur l'environnement et la santé L'office parlementaire d'évaluation des choix scient. Tech. Paris, n°261.
- **Mleiki A., Marigómez I. et El Menif N.T. 2015.** Effects of dietary Pb and Cd and their combination on glutathion-S-transferase and catalase enzyme activities in digestive gland and foot of the green garden snail, *Cantareus apertus* (Born, 1778). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 94(6), 738-743.
- **Moumeni O., Berrebbah H., Azzouz Z., Amamra R., Otmani H., Alayat A., Benosmane S., Djebbar M.R. 2016.** Effects of Cycloxydim on Population Growth, Phagocytosis, Contractile Vacuole Activity and Antioxidant Responses in the Freshwater Ciliate (*Paramecium tetraurelia*). *Res. J. Environ. Toxicol.*, vol 10 (2): 115125.
- **Müller O-F. 1774.** *Helixaspera, Vermivmterrestrium et fluviatilium, seuanimaliuminfusorium, helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia. Volumenalterum. XXXVI.*
- **Nadeau F.R. 2012.** Évaluation des risques toxicologiques et écotoxicologiques d'un terrain contaminé par des métaux. Thèse de doctorat. Université de Sherbrooke, Québec .235p.
- **Nica D.V., Filimon M.N., Bordean D.M., Harmanescu M., Draghici G.A., Dragan S. and Gergen I.I. 2015.** Impact of soil cadmium on land snails: a two-stage exposure approach under semi-field conditions using bioaccumulative and conchological end?points of exposure. *PloS one* 10, e0116397.
- **Notten M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J. and Aerts R. 2005.** Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental pollution*, 138(1), 178-190.
- **Organization for Economical and Cooperative Development-OECD. 2003.** Environmental Indicators, Development, Measurement and Use, Reference Paper, OECD, Paris (France). DOI: 10.1787/978926307002-en.
- **Pacyna J.M., Sundseth K., Pacyna E.G. 2016.** Sources and fluxes of harmful metals in: Environmental Determinants of Human Health. *Molecular and Integrative Toxicology.* Springer, Cham. 1, 1-25.
- **Pauget B., Gimbert F., Coeurdassier M., Crini N., Pérès G., Faure O., Douay F., Richard A., Grand C. et De Vaufleury A. 2013.** Assessing the in situ bioavailability of trace elements to snails using accumulation kinetics. *Ecological Indicators* 34: 126-135.

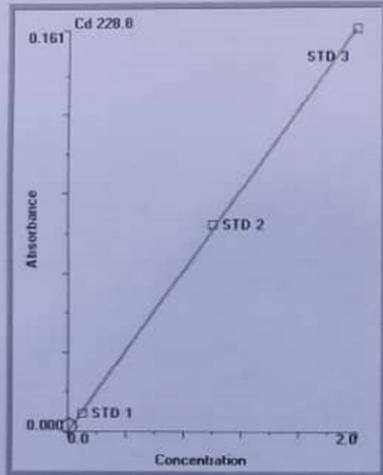
- **Pihan f. 2001.** Caractérisation de mollusques gastéropodes terrestres en tant que bioindicateurs de la contamination polymétallique (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cu, Cd et Pb).Thèse de doctorat. Université de Metz, France. 420p.
- **Razali A., Syed-Ismail S.N., Awang S., Praveena S.M., ZainalAbidin E. 2020.** The impact of seasonal change on river water quality and dissolved metals in mountainous agricultural areas and risk to human health. *Environmental Forensics*. 21, 195-211.
- **Reyjol Y., Spyrtos V., Basilico L. 2013.** Bio indication des outils pour évaluer l'état écologique des milieux aquatiques. Les Rencontres de l'ONOMA Synthèse des Journées " Eaux de surface continentales et Bio indication ", 31p.
- **Romero-Freire A., Peinado FM., Van Gestel C.A.M. 2015.** Effect of soil properties on the toxicity of Pb: assessment of the appropriateness of guideline values. *J. Hazard. Mater* 289:46-53.
- **Sahli L. 2012.** Etude du comportement de quelques espèces floristiques et faunistiques des écosystèmes aquatiques vis-à-vis des éléments traces métalliques par des bioessais. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine, 262p.
- **Sahli L., Belhiouani H., Burga-Pérez K-F.,El HadeF El Okki M., Afri-Mehennaoui F-Z., Férard J-F.and Mehennaoui S. 2021.** Assessment of Freshwater Sediment Quality: Potential Ecological Risk and Ecotoxicity Tests as Complementary Approaches. *Chemistry and Ecology*, 37:3, 219-233.
- **Sahraoui A.S. 2022.** Utilisation *in situ* et *ex situ* de *Helix aspersa* comme bioindicateur de la contamination des sols par le cadmium et le plomb. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine, 184p.
- **Sahraoui A.S., Verweij R.A., Belhiouani H., Cheriti O., Van Gestel C.A.M., Sahli L. 2021.** Dose-dependent effects of lead and cadmium and the influence of soil properties on their uptake by *Helix aspersa*: an ecotoxicity test approach. *Ecotoxicology*, 30:331-342.
- **Singh R., Gautam N., Mishra A. and Gupta R. 2011.** Heavy metals and living systems : An overview, 43(3).
- **Spellerberg I.F. 2005.** Monitoring ecological change. Second Edition, Cambridge University Press, Cambridge, England, 410p.
- **Sturba L., Fattorini N., Liberatori G., Vannuccini M.L., Nannoni F., Protano G., Tursi A., and Corsi I. 2020.** Multi-model Inference Analysis of Toxicological Responses and Levels of Heavy Metals in Soft Tissue of Land Snail *Cornu Aspersum* Caged in Proximity to an Industrial Setting. *Ecological Indicators*. 119: 106782.
- **Su C., Jiang L. and Zhang W. 2014.** A review on heavy metal contamination in the soil worldwide: Situation, impact and remediation techniques *Environmental Skeptics and Critics*, 3(2), 24 38.
- **Swislowski P., Nowak A., and Rajfur M. 2021.** The influence of environmental conditions on the lifespan of mosses under long-term active biomonitoring. *Atmospheric Pollution Research*. 12, 101203.
- **Tepanosyan G.O., Belyaeva O.A., Saakyan L.V. and Sagatelyan A.K. 2017.** Integrated Approach to Determine Background Concentrations of Chemical Elements in Soils, 55(6), 581 588.
- **Viard B., Maul A., Pihan J.C. 2004.** Standard use conditions of terrestrial gastropods inactive biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. 6, 103-107.
- **Viard B., Pihan F., Promeyrat S. and Pihan J.C. 2004.**Integrated assessment of heavy metal (Pb, Zn, Cd) highway pollution: bioaccumulation in soil, Graminaceae and land snails. *Chemosphere*. 55: 1349-1359.

- **Viard-La Rocca B. 2004.** Mise au point et validation sur sites contaminés (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme: croissance et bioaccumulation par gastéropode terrestre *Helix aspersa aspersa*. Thèse de doctorat. Université de Metz, France. 205p.
- **Yilmaz A.B., Yanar A. and Alkan E.N. 2018.** Review of Heavy Metal Accumulation in Aquatic Environment of Northern East Mediterranean Sea Part II : Some Non-Essential Metals, 4(1), 143-181.
- **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.
- **Zhang L., Verweij RA., Van Gestel C.A.M. 2019.** Effect of soil properties on Pb bioavailability and toxicity to the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus*. *Chemosphere* 217:9-17

Annexes



Annexe 01



Slope 0.08071
 Intercept 0.00000
 Correlation Coefficient 0.999792

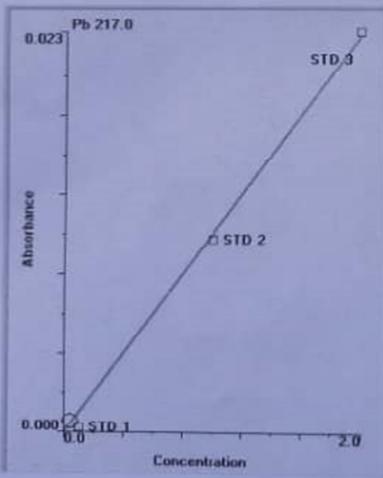
Std #	Standard ID	Entered Concentration	Calculated Concentration	Action
Blank	Blanc	0	0.000	Include
1	STD 1	0.1	0.090	Include
2	STD 2	1.0	1.023	Include
3	STD 3	2.0	1.989	Include

Calibration Equation
 Linear Through Zero

Reanalyze Standards
 Number of Standards to Reanalyze 0

Reanalyze Now

Current Sample Concentration
 Calibration Units: 0.019 mg/L



Slope 0.01140
 Intercept 0.00000
 Correlation Coefficient 0.998029

Std #	Standard ID	Entered Concentration	Calculated Concentration	Action
Blank	Blanc	0	0.000	Include
1	STD 1	0.1	0.025	Include
2	STD 2	1.0	0.966	Include
3	STD 3	2.0	2.017	Include

Calibration Equation
 Linear Through Zero

Reanalyze Standards
 Number of Standards to Reanalyze 0

Reanalyze Now

Current Sample Concentration
 Calibration Units: 0.051 ng/L

Annexe 02

Tableau 63 : Évolution des poids moyens (g) des juvéniles de *C. aspersum* en fonction du temps (jours) et des concentrations en cadmium (ppm) dans le substrat. (Page 211)

Concentrations (Cd)	J0	J7	J14	J21	J28
Témoin	0,83	1,18	1,3	1,52	1,96
50 ppm	0,77	0,95	1,01	1,29	1,30
100 ppm	0,77	0,96	0,98	1,13	1,26
500 ppm	0,96	1,23	1,29	1,43	1,14
1000 ppm	0,77	0,99	1,01	1,03	0,79

Tableau 65 : Biomasses moyennes (g) des juvéniles de *C. aspersum* en fonction du temps (jours) et des concentrations en Pb (ppm) dans le substrat. (Page 215)

Concentrations (Pb)	J0	J7	J14	J21	J28
Témoin	0,98	1,4	1,59	1,94	2,45
50 ppm	0,89	1,36	1,43	1,49	1,53
100 ppm	0,81	0,98	1	1,09	1,12
500 ppm	0,88	0,92	0,94	0,99	1,04
1000 ppm	0,95	1,13	1,21	1,46	1,66
2000 ppm	1,05	1,07	1,13	1,16	1,2

Année universitaire : 2022/2023

Présenté par :
MEHIMMEDETSI Djihane
BENGUERRA Abir

Etude des effets écotoxiques du cadmium et du plomb sur *Helix aspersa* en conditions contrôlées

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie
Fondamentale et Appliquée.

Résumé :

Le présent travail est la continuité d'une étude entamée en 2019 (plus de détails sont donnés dans les différentes parties de ce document). Ainsi, après exposition d'une population de gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* à des sols contenant des concentrations croissantes en Cd et Pb en conditions contrôlées pendant 28 jours, nous avons procédé à la quantification des teneurs de ces deux éléments dans les tissus mous de l'espèce testée. L'objectif étant de confirmer la capacité de *H. aspersa* à accumuler ces éléments, mais aussi de déterminer la relation dose-réponse et donc l'effet du Cd et Pb accumulés sur la croissance en poids de cette espèce *via* le calcul des concentrations qui inhibent la croissance de 50% de la population testée.

Les résultats obtenus ont révélé une relation entre les concentrations en Cd accumulées par *H. aspersa* et celles contenues dans le sol. En effet, l'accumulation est dose-dépendante ; elle augmente au fur et à mesure que les concentrations du Cd dans le sol augmentent. Ces résultats ont été confirmés par le calcul des facteurs de bioaccumulation pour les deux éléments qui nous ont permis de conclure que *H. aspersa* est un organisme macroconcentreur du Cd, et déconcentreur du Pb.

Par ailleurs, le calcul des CI50 a révélé une relation dose-réponse entre le cadmium accumulé dans les tissus mous de *H. aspersa* et la baisse de la croissance en poids chez cette espèce utilisée comme modèle biologique. La CI50 obtenue pour le cadmium est de 1153.01 µgCd/g de tissus mous. Pour le plomb, nous n'avons pas réussi à déterminer cette valeur écotoxicologique. Il est évident que le seuil de toxicité pour cet élément dépasse largement la plus haute concentration accumulée chez *H. aspersa*.

Globalement, l'espèce testée a montré une capacité d'accumulation relativement importante, notamment pour le cadmium, ce qui confirme son utilité dans les processus de bioindication et d'évaluation des risques liés à la contamination des sols par ces éléments considérés comme potentiellement toxiques.

Mots clés : Cd, Pb, *Helix aspersa*, Bioindication, Test d'écotoxicité

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biologie et Environnement. Département de Biologie et Ecologie Végétale. Université Frères Mentouri - Constantine 1.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Touati Laid	Pr.	UFM-Constantine 1
Rapporteur :	SAHLI Leila	Pr.	UFM-Constantine 1
Examineur :	El HadeF El Okki Mohamed	MCB	UFM-Constantine 1

Date de soutenance : 22/06/2023