



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 Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Ecologie et Environnement

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم : علم البيئة و المحيط

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Écologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Fondamentale et Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Evaluation du stress oxydatif chez *Helix aspersa* en conditions de terrain

Présenté et soutenu par :

RAHMOUNI Cherifa

Le 12/06/2024

BRAMKI Lamis

Jury d'évaluation :

Président du jury : Touati Laid

Pr. U. Constantine 1 Frères Mentouri

Encadrant : Sahli Leila

Pr. U. Constantine 1 Frères Mentouri

Examineur : El HadeF El Okki Mohamed

MC(A) U. Constantine 1 Frères Mentouri

**Année universitaire
2023 - 2024**

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la force, la capacité et le courage pour dépasser toutes les difficultés afin d'effectuer ce travail.

Nous remercions chaleureusement Madame SAHLI Leila, professeur à l'université Constantine 1, Frères Mentouri, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'encadrer ce mémoire, de nous aider et de nous conseiller tout au long de ce travail. Merci pour le temps que vous nous avez consacré, merci pour votre patience et votre disponibilité. Nous vous prions d'accepter notre profonde reconnaissance et respect.

Nous remercions très sincèrement Mr. TOUATI Laid, l'université Constantine 1, Frères Mentouri, de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury. Nous le remercions pour tous les conseils et orientations qu'il nous a donné tout au long de notre cursus.

Nous remercions Mr. EL HADEF EL OKKI Mohamed, maître de conférence classe (A), à l'Institut National de l'Alimentation, la Nutrition et des Technologies Agro-alimentaires (INATAA, Constantine) pour nous avoir accompagné sur terrain, et d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements à Mme AMEDDAH Souad et au personnel du Laboratoire de Biologie et Environnement (LBE), de l'université Constantine 1, Frères Mentouri pour les facilités accordées lors de la réalisation de ce travail.

Enfin, remercions nos famille, surtout nos parents BELAMRI Fatima et RAHMOUNI Ramadane, MAGHRI Souad et BRAMKI Kamal, que dieu ait son âme. Aussi, nous remercions nos frères, nos sœurs, et tous ceux qui ont participé, de près ou de loin à la réalisation de cet travail.

Une pensée et un grand merci pour tous les amis, amies, camarades, et à tous les membres de la famille Rahmouni et Bramki qui nous ont soutenu moralement durant notre parcours, votre soutien a été d'une aide précieuse.

" Nous dédions ce travail à nos famille, à nos proches et à tous ceux qui nous sont chers"

Dédicaces

Je dédie cet œuvre à mon doux père ma fierté et ma confiance. A ma chère mère le secret de mon succès et grâce à ses prières, je suis ici aujourd'hui. Qui ont été mes plus grands supporters. Pour votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible, vos encouragements, votre foi en mes capacités et vos sacrifices pour moi m'ont donné la force de poursuivre mes objectifs et mes rêves. Je les remercie du fond du cœur pour tout ce qu'ils ont fait pour mon confort et mon succès.

" Je suis heureuse de clôturer ce chapitre de ma vie par ce mémoire. J'espère que vous en serez fiers, ce diplôme est autant le votre que le mien "

A mes chers frères Walid, Karim, Raid, Mohammed et ma sœur Khouloud, Ce mémoire est le fruit de mes efforts, mais aussi de vos encouragements, votre patience et vos conseils ont été mes sources d'inspiration tout au long de ce parcours. Vous êtes mes piliers, mes alliés et mes meilleurs amis. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir partagé cette aventure avec moi.

"A mes adorables nièces, les doux souvenirs qui égayaient ma vie, les belles roses Assil, Iline et Anaïs que votre vie soit heureuse."

À ma tante Akila qui était en coulisses avec ses encouragements et ses motivations, merci du fond du cœur pour tout ce que tu as fait pour moi et à toute ma famille.

A mes chères amies Boutheina, Amira, Ferial, Yassmine, Khawla, Malak et Maïssa avec qui je partage le bonheur et les difficultés de nos études, les moments passés ensemble à échanger des idées et des émotions étaient inestimables pour moi, et vous étiez une source d'inspiration constante pour moi pour atteindre les plus hauts niveaux.

A ma chère promotion et à tous les enseignants sans exception, pour votre immense contribution à mon soutien et à mon développement. Votre rôle essentiel dans ma réussite restera gravé dans ma mémoire "Merci infiniment."

Cherifa

Dédicaces

Aujourd'hui je me tiens au seuil d'une grande étape de ma vie, une étape qui n'aurait pas été possible sans votre soutien inestimable. Par amour et avec tous mes sentiments de respect, avec d'expérience de ma reconnaissance en cette journée de soutenance, je dédie ma remise de diplôme

Tout d'abord, a mon père BRAMKI Kamal que dieu ait son âme, qui a toujours cru en ma réussite et a dit que l'avion volerait un jour, et aujourd'hui je suis là grâce à toi, et tu resteras toujours dans mon cœur.

A mon paradis, a la lumière de ma vie, à ma joie ma mère Souad pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices, ses prières.

A ma tante Fadhila, mes sœurs, Rahma, Serine, Anfel a mon frère Yasser, a mes petites layan et Ratel pour l'amour qu'ils me réservent, qui n'ont cessé de me conseiller, et de m'encourager.

A mes amies Assma, Rania, Yassmine, Dounia zed, Nada, ... Sans oublié mon binôme Chaima

Lamis

Résumé

Les organismes vivant dans le sol, sont soumis à des fluctuations régulières des paramètres abiotiques, ainsi qu'à une contamination chimique du milieu due aux activités anthropiques. Ils sont donc sujets à des stress multiples auxquels ils doivent faire face. A l'heure actuelle, les biomarqueurs du stress oxydant présentent un intérêt particulier pour l'évaluation de l'impact de la présence des polluants dans le sol sur la faune en conditions de terrain.

C'est dans cette optique que s'inscrit cette étude relative à l'utilisation du gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* comme modèle biologique dans la surveillance de la qualité des sols en mesurant des biomarqueurs de stress oxydant à savoir : le glutathion réductase-GSH, la glutathion-S-transférase-GST, le malonediaaldéhyde-MDA, et la catalase-CAT. Les individus ont été récoltés dans une zone de référence (Ibn Ziad à Constantine), et une zone perturbée (bordures de la RN°03 reliant le centre ville de Constantine à la commune de Hamma Bouziane en passant par B'kira).

Les résultats obtenus ont révélé des perturbations considérables ; en effet, des taux faibles en GSH et élevés en GST ont été enregistrés dans la zone de B'kira par rapport à celle d'Ibn Ziad. Les taux faibles de MDA et la baisse de l'activité catalase ont également été notés reflétant un état de stress considérable chez *H. aspersa*. Cette étude confirme l'utilité de *H. aspersa* dans les processus d'évaluation des risques écologiques liés à la contamination des sols par différents types de polluants.

Mots clés : *Helix aspersa*, stress oxydant, GSH, GST, MDA, CAT.

Abstract

Organisms living in soil are subject to regular fluctuations in abiotic parameters, as well as chemical contamination caused human activities. At present, oxidative stress biomarkers are of particular interest for assessing the impact of soil pollutants on fauna under field conditions. The aim of this study is to confirm the usefulness of the terrestrial gastropod *Helix aspersa* as a biological model of soil quality by measuring oxidative stress biomarkers namely: glutathione reductase-GSH, glutathione-S-transferase-GST, malonedialdehyde-MDA, and catalase-CAT. *H. aspersa* samples were collected in a reference area (Ibn Ziad in Constantine city), and a disturbed one (borders of RN°03 linking the center of Constantine city to Hamma Bouziane municipality).

The results revealed considerable disturbance. Indeed, low levels of GSH and high levels of GST were recorded in B'kira compared to Ibn Ziad. Low levels of MDA and decreased catalase activity were also noted, reflecting a state of considerable stress for *H. aspersa*. This study confirms the usefulness of *H. aspersa* in ecological risk assessment processes linked to soil contamination by several types of toxics.

Keywords: *Helix aspersa*, oxidative stress, GSH, GST, MDA, CAT.

ملخص

تخضع كائنات التربة لتقلبات منتظمة في العوامل البيئية الغير حية، وكذلك التلوث الكيميائي للبيئة بسبب الأنشطة البشرية. وبالتالي، فهي تتعرض لضغوط متعددة يجب أن تواجهها. في الوقت الحالي، تعتبر علامات التوتّر التأكسدي ذات أهمية خاصة لتقييم تأثير وجود الملوثات في التربة على الحيوانات البرية في ظروف الميدان.

تهدف هذه الدراسة إلى استخدام القشريات الارضية البرية او الحلزون *Helix aspersa* كنموذج بيولوجي في مراقبة جودة التربة من خلال قياس مؤشرات التوتّر التأكسدي وهي: غلوتاثيون رديكتاز - GSH ، وغلوتاثيون-S ترانسفيراز-GST-، والمالونديالدهيد MDA-، والكاتالاز CAT

تم جمع العينات في منطقة مرجعية (ابن زياد في قسنطينة)، ومنطقة مضطربة (حواف الطريق الوطنية رقم 03 الذي يربط وسط مدينة قسنطينة ببلدية الحامة بوزيان عبر بكيره)

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها اضطرابات كبيرة؛ فقد سجلت نسب منخفضة من GSH ونسب مرتفعة من GST في منطقة بكيره مقارنة بمنطقة ابن زياد. كما لوحظت نسب منخفضة من MDA وانخفاض في نشاط الكاتالاز، مما يعكس حالة توتّر كبيرة لدى *H. aspersa*. تؤكد هذه الدراسة فائدة *H. Aspersa* في عمليات تقييم المخاطر البيئية المرتبطة بتلوث التربة بأنواع مختلفة من الملوثات.

الكلمات الدالة: *Helix aspersa*, توتّر أكسدة، GSH, GST, MDA, CAT

Liste des abréviations

% : Pourcentage ;

°C : Degré Celsius ;

µM /mg: Micromole par milligramme

AGI : Acide gras insaturé

ANOVA: Analyse de la variance

CAT : Catalase

CDNB : 1-chloro, 2,4- dinitrobenzène

DTNB : Acide 5,5'dithiodis-2-nitro benzoïque

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ETMs : Éléments traces métalliques

g : Gramme

g.cm⁻³ : Gramme par centimètre cube

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GST : Glutathions transférase

HAPs : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

ISRIC : Centre International de Référence et d'Information sur les Sols

Kow : Coefficient de partage octanol/eau

MDA : Malonedialdéhyde

Mg : Milligramme

Mm : Millimètre

nm : Nanomètre

Pa : Pascal

PBS : Tampon phosphate salin

PCBs : Polychlorobiphényles

pH : Potentiel Hydrogène

PNUE : Programme des Nations Unies pour l'Environnement

POPs : Polluants organiques persistants

RN : Route nationale

SOD: Superoxyde dismutase

TBA : Acide thio-barbiturique

TCA : Acide trichloroacétique.

TNB : Acide thionitrobenzoïque

µg.kg⁻¹ : Microgrammes par kilogramme

Liste des tableaux

Tableau 01 : Données statistiques (minimum, maximum, moyenne±écartype) des paramètres biométriques chez <i>Helix aspersa</i>	28
Tableau 02: Données statistiques (minimum, maximum, moyenne±écartype) des indicateurs de stress chez <i>Helix aspersa</i>	29

Listes des figures

Figure 01 : <i>Helix aspersa</i> dans son milieu naturel (photos prises le 21 fevrier 2024 dans la zone d'Ibn Ziad)	08
Figure 02 : <i>Helix aspersa</i> en hibernation (Sheila, 2013)	09
Figure 03 : Anatomie interne de l'escargot (Bonnet et al. 1990)	10
Figure 04 : Cycle de vie du petit gris	11
Figure 05 : Localisation géographique des zones d'étude (source : google maps, 18-04-2024)	15
Figure 06 : Photos de la zone montagneuse d'Ibn Ziad (photos prises le 01 mai 2024).....	16
Figure 07 : Situation géographique de la zone d'Ibn Ziad (source : google earth, 2024) ...	17
Figure 08 : Photos de la zone urbaine de B'kira (photos prises le 18 avril 2024)	18
Figure 09 : Situation géographique de la zone de B'kira (source : google earth, 2024)	19
Figure 10 : Récolte des escargots sur terrain (photos prises le 01 mai 2024)	20
Figure 11 : Tri des escargots par classe d'âge au laboratoire	21
Figure 12 : Mesure des paramètres biométrique de <i>Helix aspersa</i> (à gauche : biomasse, a droite : diamètre et hauteur de la coquille)	21
Figure 13 : Représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères (en rouge) et l'hépatopancréas des autres organes (en bleu)	22
Figure 14 : Etapes de dissection des escargots	22
Figure 15 : Dosage du glutathion réduit (GSH)	24
Figure 16 : Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)	25
Figure 17 : Dosage du malonedialdéhyde (MDA)	26
Figure 18 : Dosage de l'activité catalase (CAT)	27
Figure19 : Variation spatiale des taux en GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des <i>Helix aspersa</i> (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$)	30
Figure 20 : Variation spatiale des taux en GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des <i>Helix aspersa</i> (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$)	31

Figure 21 : Variation spatiale des taux en MDA dans les hépatopancréas des *Helix aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$) 32

Figure 22 : Variation spatiale des taux en CAT dans les hépatopancréas des *Helix aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$) 33

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Définition du sol et principales caractéristiques 03

I.2. Pollution et dégradation des sols 03

I.2.1. Définition de la pollution 03

I.2.2. Origines des polluants dans le sol 04

I.2.3. Les principaux polluants du sol 04

I.2.3.1. Les polluants organiques 04

I.2.3.1.1. Les polluants organiques persistants (POP) 04

I.2.3.1.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) 04

I.2.3.1.3. Les polychlorobiphényles (PCB) 05

I.2.3.1.4. Les pesticides 05

I.2.3.2. Les polluants métalliques 06

I.3. Utilisations des escargots comme bio-indicateurs de la qualité des sols 07

I.3.1. Définition de la bio-indication 07

I.3.2. Les critères du choix d'un bio-indicateur 07

I.3.3. <i>Helix aspersa</i> : biologie et écologie, classification, Anatomie, reproduction et cycle de développement	08
I.3.3.1. Biologie et écologie de l'espèce	08
I.3.3.2. Classification	09
I.3.3.3. Anatomie	10
I.3.3.4. Reproduction et cycle de développement	10
I.3.4. <i>Helix aspersa</i> bioindicateur de la pollution des sols	11
I.3.4.1. Voies d'exposition de <i>Helix aspersa</i> aux polluants dans le sol	11
I.3.4.2. Organes d'accumulation des polluants chez <i>Helix aspersa</i>	11
I.3.4.3. Indicateurs biochimiques de stress chez <i>Helix aspersa</i>	12
I.3.4.3.1. Le glutathion-S transférase (GST)	12
I.3.4.3.2. La catalase	12
I.3.4.3.3. La peroxydation lipidique	13
I.3.4.3.4. Le glutathion réduit (GSH)	14

Chapitre II : Matériels et méthode

II.1. Récolte des escargots sur terrain	15
II.1.1. Présentation des zones d'étude	15
II.1.1.1. Ibn Ziad	16
II.1.1.2. B'kira	18
II.1.2. Mode de récolte des escargots	20
II.2. Tri des escargots au laboratoire	21
II.3. Détermination des paramètres biométriques	21
II.4. Détermination des paramètres indicateurs de stress oxydant chez <i>Helix aspersa</i>	22
II.4.1. Préparation des individus	22
II.4.2. Détermination des paramètres indicateurs de stress oxydant chez <i>Helix aspersa</i>	23
II.4.2.1. Dosage du glutathion réductase (GSH)	23
II.4.2.2. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)	24
II.4.2.3. Dosage du malonedialdéhyde (MDA)	25
II.4.2.4. Dosage de l'activité du catalase (CAT)	26
II.5. Traitement statistiques des données	27

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Les paramètres biométriques de <i>Helix aspersa</i>	28
III.2. Les paramètres indicateurs de stress oxydant chez <i>Helix aspersa</i>	29
III.2.1. Le glutathion réductase (GSH)	30
III.2.2. La glutathion-S-transférase (GST)	31
III.2.3. Le malonedialdéhyde (MDA)	32
III.2.4. La catalase (CAT)	33
III.3. Discussion	34
Conclusion et Perspectives	37
Références bibliographiques	39

Introduction

La pollution de l'environnement est un problème mondial qui touche aussi bien les pays développés que ceux en voie de développement. Celle des sols est l'un des défis majeurs mondiaux pour la restauration des écosystèmes, en raison de l'importance des sols pour le maintien de la santé des humains, des animaux, des plantes et de la production agricole (Ivanišević et Malvić, 2016 ; Hasani et al. 2017).

A l'heure actuelle, il existe environ 5 millions de sites de pollution des sols dans le monde couvrant 500 millions d'hectares de terres (Li et al. 2019). Dans ces zones, les sols sont contaminés par différents types de polluants qui peuvent être des composés organiques ou inorganiques présents à des concentrations dépassant les niveaux réglementaires (Rieuwerts 2017 ; Masindi et Muedi 2018 ; Li et al. 2019 ; Sahraoui et al. 2022). Les polluants proviennent de diverses sources anthropiques et sont répartis dans toutes les matrices environnementales. Les écosystèmes terrestres et aquatiques au Nord-Est de l'Algérie ne sont pas épargnés ; en effet, au cours de la dernière décennie, plusieurs auteurs ont enregistré des taux relativement inquiétants en éléments traces métalliques non seulement dans le sol, l'eau et les sédiments (Taiba et al. 2022 ; Cheriti, 2022 ; Sahraoui, 2022 ; Sahli et al. 2021 ; Belhiouani, 2019, El Hadeff El Okki et al. 2016), mais aussi dans les plantes (Zekri et al. 2019), et les produits d'origine animale (Mehouel, 2021 ; Bendeddouche, 2014).

La pollution des sols provoque une réaction en chaîne. Elle altère la biodiversité des sols, contamine l'eau stockée dans le sol, les eaux de surface et souterraines, et provoque un déséquilibre des éléments nutritifs présents dans les sols. De plus, elle a de graves conséquences sur les systèmes agroalimentaires et la santé humaine.

Depuis longtemps, la caractérisation physico-chimique des sols a été perçue comme la principale méthode pour l'évaluation du risque environnemental. Bien qu'elle soit efficace quant à la caractérisation et à l'estimation des dangers, cette dernière n'est pas exhaustive, ni assez représentative (Belhiouani, 2019). De nouvelles approches sont alors apparues ; la bioindication fait partie de ces nouvelles approches, et est considérée comme complémentaire aux analyses physico-chimiques. Elle consiste en l'utilisation d'organismes vivants à différents niveaux d'organisation biologique, pour le screening de l'état de santé des écosystèmes. Comme pour les autres invertébrés du sol (collembolles, vers de terre, enchytréides, nématodes et isopodes, etc.), les gastéropodes pulmonés terrestres ont été utilisés pendant longtemps comme modèle biologique pour la surveillance de la qualité des sols (Gomot-De Vaufleury et al. 2015 ; Louzon et al. 2020, Sahraoui et al. 2022).

A l'heure actuelle, les biomarqueurs quantifiés chez les organismes vivants font désormais partie intégrante de l'évaluation de la santé des écosystèmes (Rodriguez-Ruiz et al. 2014).

Ceux du stress oxydatif présentent un intérêt particulier pour l'évaluation de l'impact de la présence des polluants dans le sol sur la faune en conditions de terrain (Bairi et al. 2018 ; Douafer et al. 2020). C'est dans cette thématique que s'inscrit cette étude relative à l'utilisation du gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* comme modèle biologique dans la surveillance de la qualité des sols en mesurant des biomarqueurs de stress oxydant à savoir : le glutathion réductase-GSH, la glutathion-S-transférase-GST, le malonedialdéhyde-MDA, et la catalase-CAT, chez les individus de ladite espèce récoltés dans une zone de référence éloignée de toute source de perturbation anthropique (Ibn Ziad), et une zone perturbée située en bordures de route (RN°03 reliant le centre ville de Constantine à la commune de Hamma Bouziane en passant par B'kira). Trois stades de développement de *H. aspersa* ont été pris en considération : juvénile, sub-adulte, et adulte. Le choix de cette espèce repose sur le fait qu'elle soit largement distribuée au niveau des zones aussi bien perturbées que non perturbées au Nord-Est Algérien (Belhiouani et al. 2019, Cheriti et al. 2022), facile à identifier et à échantillonner, et relativement facile à élever. De plus, cette espèce intègre différentes sources de contamination (sol, atmosphère, végétaux), par diverses voies : digestives, respiratoire et/ou cutanée (De Vaufleury, 2015, Sahraoui et al. 2022).

Ce mémoire est structuré en trois chapitres :

Chapitre 1: constitue la partie "Synthèse bibliographique" qui présente un état des connaissances relatives à la problématique de recherche scientifique traitée dans le cadre de cette étude ;

Chapitre 2: constitue la partie "Matériel et méthodes" dans laquelle sont décrites les différentes techniques analytiques utilisées dans cette étude, depuis le terrain jusqu'à la quantification des indicateurs de stress oxydant chez *Helix aspersa* au laboratoire ;

Chapitre 3: expose les résultats obtenus, illustrés sous forme de tableaux et d'histogrammes, accompagnés de leur interprétation et discussion.

Enfin, l'étude est clôturée par une conclusion et des perspectives.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I.1. Définition du sol et principales caractéristiques

Le sol est un compartiment complexe, un carrefour multifonctionnel, en relation avec la lithosphère, l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère. L'altération, le remaniement et l'organisation des couches supérieures de la croûte terrestre sous l'action des échanges d'énergie qui s'y manifestent en sont le résultat (Gobate al. 2003 ; Lozet and Mathieu, 2011). C'est un corps naturel, de constituants organiques et minéraux, différencié en horizons d'épaisseur variable, qui diffèrent du matériau sous-jacent par leur morphologie, constitution physique, propriétés chimiques et composition des caractères biologiques (Doran et al. 1999). Le sol est considéré comme une entité vivante et dynamique. C'est une ressource non renouvelable, car sa vitesse de formation est relativement faible. Il est fragile, et la nécessité de le protéger a incité la commission européenne à dresser la liste des huit principales menaces présentes sur ce milieu. Celles-ci concernent, par gravité décroissante : l'érosion, la diminution des concentrations en matières organiques, la contamination diffuse et locale, la salinisation, la diminution de la biodiversité, le tassement, l'imperméabilisation et les inondations, et enfin les glissements (Zaoui, 2017).

La reconnaissance du sol repose sur l'identification de ses caractéristiques physico-chimiques (Duchaufour, 1977). En effet, le sol présente une variabilité spatio-temporelle. Cette variabilité spatiale se manifeste dans ses dimensions dans l'espace. On distingue une dimension verticale, représentée par des couches plus ou moins épaisses, appelées « horizons » ; et une dimension latérale, se traduisant par l'existence de différents types de sols, c'est-à-dire qu'un sol peut changer à travers un champ, un bassin versant ou une région (Bouma, 2010 ; Clavet, 2013).

Aussi, les sols sont différents par leurs propriétés physiques, chimiques, et biologiques. Les principales caractéristiques sont : la structure, la texture, le pH, la conductivité électrique et la salinité, la capacité d'échange cationique, les taux en calcaires total et actif, la teneur en matière organique et en azote, les teneurs en éléments nutritifs notamment le phosphore, etc.

I.2. Pollution et dégradation des sols

I.2.1. Définition de la pollution

La pollution du sol désigne tout apport d'éléments, de l'extérieur, provoquant une modification de ses caractéristiques dans une telle mesure que son utilisation normale devient limitée (Al-Taai, 2021). L'origine de cette pollution peut être soit accidentelle, soit volontaire. La pollution des sols est devenue une problématique mondiale ; en effet, le nombre de sites pollués est très élevé (Lacalle et al. 2020 ; Agrawal et al. 2021). D'après Rodríguez-Eugenio

et al. (2018), une estimation mondiale de la pollution des sols effectuée dans les années 1990 par le Centre International de Référence et d'Information sur les Sols-ISRIC, et le Programme des Nations Unies pour l'Environnement-PNUE, rapporte qu'une superficie de 22 millions d'hectares de sols sont pollués.

I.2.2. Origines des polluants dans le sol

Les activités humaines sont les principales causes de la pollution des sols, ce qui entraîne une accumulation de contaminants dans les sols pouvant atteindre des niveaux inquiétants. Les polluants du sol incluent une multitude de substances polluantes (organiques et inorganiques), qui peuvent avoir comme origine les activités humaines ou être naturellement présentes dans le sol (Duarte 2018). À titre d'exemple, on peut considérer les métaux traces comme des substances naturelles et ils ne se retrouvent habituellement dans l'environnement qu'en quantités faibles qui ne représentent pas de danger pour la santé. Toutefois, le rejet dans l'environnement d'une grande quantité de composés inorganiques contenant des métaux est souvent causé par les activités humaines, et ce n'est pas la présence d'un contaminant qui le rend toxique, mais sa concentration (El Ati-Hellal et Hellal, 2021).

I.2.3. Les principaux polluants du sol

I.2.3.1. Les polluants organiques

I.2.3.1.1. Les polluants organiques persistants (POP)

Une substance est considérée comme un POP si elle satisfait aux critères de persistance, d'ubiquité, de lipophilie, de bioaccumulation, et de toxicité. Les polluants organiques persistants (POP) sont des substances qui possèdent des propriétés toxiques et qui résistent à la dégradation. Une fois libérés dans l'environnement, ces substances ne se décomposent que très lentement ou pas du tout. À cause de cette propriété, les polluants organiques persistants ont tendance à s'accumuler dans l'environnement où ils peuvent se disperser par l'air, l'eau ou même par des espèces migratrices (Fatmé, 2019).

I.2.3.1.2. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP sont des sous-produits de combustion incomplète. Leur présence dans les compartiments environnementaux peut être d'origine naturelle ou anthropique. La teneur moyenne des HAP d'origine naturelle dans les sols est $<10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Edwards, 1983). Ces HAP peuvent avoir comme source les feux de forêts et les éruptions volcaniques mais certains d'entre eux sont aussi synthétisés par des végétaux (Girard et al. 2011). Les HAP peuvent se

déplacer du sol vers les végétaux dans les régions agricoles et maraîchères, ce qui entraîne la contamination des denrées. Ainsi, l'homme est principalement exposé aux HAP par voie orale, grâce à son alimentation. La majorité des intoxications au HAP chez les humains sont chroniques, c'est-à-dire qu'elles se produisent après une exposition prolongée à de faibles doses (Bouzidi, 2019).

I.2.3.1.3. Les polychlorobiphényles (PCB)

Les polychlorobiphényles et les polychloroterphényles, désignés par l'abréviation PCB ont été produits de manière industrielle durant les années 1930. Les PCB sont une famille de 209 composés aromatiques dérivés du biphényle, avec une teneur en chlore allant de 20 à 60%. Ils sont employés dans divers domaines tels que les transformateurs et les condensateurs, les fluides caloriporateurs et hydrauliques, les plastifiants et les lubrifiants, les peintures, les vernis, les encres, les papiers autocopiants et les huiles de coupe. Selon Breivik et al. (2002), ils sont vendus sous diverses marques : Pyralène, Aroclor, Clophen et Phénoclor. Au niveau du sol, selon Meijer et al. (2006), ces polluants sont persistants et leur toxicité dépend de leur poids moléculaire, c'est-à-dire du nombre d'atomes de chlore, ainsi que de la structure spatiale de leurs molécules.

I.2.3.1.4. Les pesticides

Les pesticides sont des substances chimiques qui jouent un rôle dans la préservation des végétaux. Ils ont pour objectif de supprimer, restreindre ou repousser les éléments néfastes pour la croissance des plantes, des insectes, des parasites et d'autres végétaux. Ils sont employés pour combattre les maladies des cultures ou pour éliminer les herbes. Les pesticides proviennent uniquement de l'activité humaine. Ces produits sont transportés vers les eaux superficielles par le ruissellement, le drainage et l'érosion, ce qui contamine les eaux souterraines par infiltration (Organisation Mondiale de la Santé, 2015)

Ces derniers sont très nombreux et appartiennent eux-mêmes à plusieurs grandes familles chimiques, comme par exemple les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines ou les urées. Ces familles sont établies en fonction du groupe fonctionnel principal de la molécule, ce qui est utile pour comprendre ses propriétés physico-chimiques mais non suffisant. En effet, une molécule spécifique appartenant à un groupe peut contenir un groupement particulier qui lui confèrera des propriétés atypiques par rapport aux autres molécules de ce même groupe (Observatoire des résidus de pesticides, 2012). La connaissance de ces propriétés est importante, car ce sont elles qui dictent le comportement

des molécules dans l'environnement, leur toxicité, ou encore leurs méthodes d'analyse. Parmi les paramètres physico-chimiques des pesticides qui expriment leurs dangers, on peut citer : leur volatilité qui est comprise entre 10^{-6} et 10^{-3} Pa (Calvet, 2005), leur hydrosolubilité ou l'hydrophobicité, mesurée par le coefficient de partage octanol/eau (Kow). La plupart des Kow des pesticides sont aux alentours de 10^2 à 10^5 , ce qui traduit une lipophilie moyenne. Ainsi que leur aptitude à s'adsorber sur les particules atmosphériques, et leur affinité pour le carbone organique du sol ou de l'eau (Calvet, 2005).

I.2.3.2. Les polluants métalliques

Chimiquement, un métal est une substance inorganique, originaire le plus souvent d'un minerai ou d'un autre métal (Cheriti, 2022). Le terme « métaux lourds » désigne les éléments métalliques naturels (environ 65 éléments), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g.cm^{-3} (Adriano, 2001). Le terme « éléments traces métalliques » est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, étant donné qu'ils sont souvent présents en quantités très limitées dans l'environnement (Baker et Walker, 1990). Présents normalement dans le sol en faibles concentrations, $< 0,1 \%$ pour chacun d'entre eux. Ils résultent de l'évolution géologique et pédologique du sol aboutissant à des concentrations « naturelles » dans un horizon de sol, souvent dénommées « fond pédogéochimique naturel local » (Baize 1997). Leur caractère persistant signifie qu'ils ne se dégraderont jamais, ni dans l'environnement, ni lors de la transformation de produits alimentaires, ni dans le corps après ingestion (Boucheseiche et al. 2002). Ces éléments sont capables de s'accumuler dans les matrices biologiques et d'être toxiques pour les êtres vivants à des concentrations assez faibles ($0,01 \%$ de la matière sèche), (Nabulo et al., 2012 ; Singh et al., 2010). Certains ETM participent activement à certains processus biologiques en tant que cofacteur de certaines enzymes et sont nécessaires pour l'organisme, à de faibles concentrations. C'est le cas du bore (B), du cuivre (Cu), du fer (Fe), du manganèse (Mn), du molybdène (Mo) ou du zinc (Zn). Pour les autres éléments, comme Cd, Pb, mercure (Hg) ou bismuth (Bi), aucun rôle biologique n'est connu dans les organismes vivants (Alturiqi et Albedair, 2012 ; Alloway, 2013).

Le devenir des ETM dans le milieu naturel dépend de différents facteurs, tels que les paramètres physico-chimiques et biologiques des sols, qui vont contrôler les processus d'adsorption sur les surfaces des particules solides (argiles, hydroxydes, matières organiques), de complexation avec des ligands organiques, de précipitation de surface, d'échanges ioniques ou de précipitation sous forme de sels ou co-précipitation (Vymazal et al., 2010 ; El Bishlawi et al. 2013). Les flux de sortie des ETM du sol sont variés et assez difficiles à

évaluer. Les ETM peuvent atteindre les eaux de surface ou souterraines *via* le transfert latéral ou vertical dans les sols ils peuvent être absorbés par les plantes ou les organismes du sol ainsi que par l'homme (Pagnanelli et al. 2009). Les transferts latéraux et verticaux des ETM peuvent être sous forme de particules colloïdales (tels que les argiles, la matière organique dissoute, les microorganismes) ou solubles (Rickson, 2014). La méso- et macrofaune contribuent aussi au transfert des éléments traces métalliques (Fernandez et al. 2007).

I.3. Utilisations des escargots comme bio-indicateurs de la qualité des sols

I.3.1. Définition de la bio-indication

un bio-indicateur est un organisme ou ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modification naturelles ou provoqué . Ils sont utilisés pour détecter les modifications qui surviennent dans l'environnement et la présence de pollution, mesurer les effets de ces perturbations sur l'écosystème et surveiller les améliorations de la qualité de l'environnement résultant de la prise de dispositions de gestion et de contrôle des sites contaminés (Guy, 2007).

I.3.2. Les critères du choix d'un bio-indicateur

Un bon bioindicateur doit présenter les caractéristiques suivantes :

- Ils doit fournir des informations précieuses sur les risques associés à leurs transferts et à leur impact global sur l'écosystème et l'état écologique des sols. Parallèlement aux analyses physico-chimiques ;
- Doit être Pertinents pour évaluer les incidences écologiques des polluants des sols opérationnels sur un certain nombre de sites contaminés ;
- Doit révéler la contamination des milieux à l'interface sol-air-végétaux ;
- Ils doivent être sédentaire, répandu et à large répartition géographique ;
- Ils doivent avoir une durée de vie assez longue ;
- Ils doivent être capables de tolérer une contamination environnementale élevée, avec un pouvoir d'accumulation des polluants ;
- Ils doivent être facile à récolter, et à élever;

I.3.3. *Helix aspersa* : biologie et écologie, classification, Anatomie, reproduction et cycle de développement

I.3.3.1. Biologie et écologie de l'espèce

Le petit-gris (Figure 01), est une espèce ubiquiste, d'origine méditerranéenne et de la côte atlantique de la France, très répandue en Europe et dans le monde. *H. aspersa* est assez rare dans les champs et les prairies, et préfère fréquenter la périphérie des zones cultivées, les lisières de forêts, ainsi que les milieux forestiers (Kerney et Cameron, 2006). Cette espèce suit un régime alimentaire non spécifique qui comprend des plantes (herbacées, graminées, légumes de culture, lichens, certaines céréales, champignons Le sol fait également partie de son alimentation, et constitue un apport en calcium indispensable à la formation de sa coquille et influençant sa croissance (Gomot et al. 1989 ; Dallinger et al. 2001). *H. aspersa* est surtout actif la nuit et en période humide. Les jours trop secs, il entre en estivation (Figure 02), en se fixant contre une paroi et en obturant sa coquille d'un voile blanchâtre ; l'épiphragme (Kerney et Cameron, 2006).



Figure 01 : *Helix aspersa* dans son milieu naturel (photos prise le 21 février 2024 dans la zone d'Ibn Ziad)



Figure 02: *Helix aspersa* en hibernation (Sheila, 2013)

I.3.3.2. Classification

L'espèce *Helix aspersa* appartient à l'embranchement des mollusques, animaux à corps mou et dépourvu de squelette. Sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied, ce qui engendre une asymétrie plus ou moins prononcée de certains de ses organes. Cette particularité anatomique le place dans la classe des gastéropodes (Bonnet et al. 2019).

- **Embranchement :** Mollusques
- **Classe :** Gasteropodes
- **Infra Classe :** Pulmones
- **Ordre :** Stylomatophores
- **Sous ordre :** Helicina
- **Famille :** Helicidae
- **Sous famille :** Helicinae
- **Genre :** *Helix*
- **Espèce :** *Cornu aspersum*

I.3.3.3. Anatomie

Le corps d'un escargot est constitué d'un seul pied. Une tête et une masse viscérale enroulée qui est placée dans la coquille (Figure 03). Le mouvement a lieu grâce à l'expansion et l'extraction de muscles dans le pied. Des glandes placées dans la partie antérieure du pied sécrètent le mucus. Des glandes de mucus se trouvent également sur le reste du corps pour préserver l'escargot de la perte d'eau. Deux paires de tentacules sont placées sur la tête. La paire supérieure porte les yeux. La coquille est formée par un épais pli de peau, appelé le manteau. La coquille est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché à la columelle. Il a des ramifications à la tête et aux tentacules. La contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. À l'intérieur de la coquille, se trouve la cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon (Zaafour, 2014).

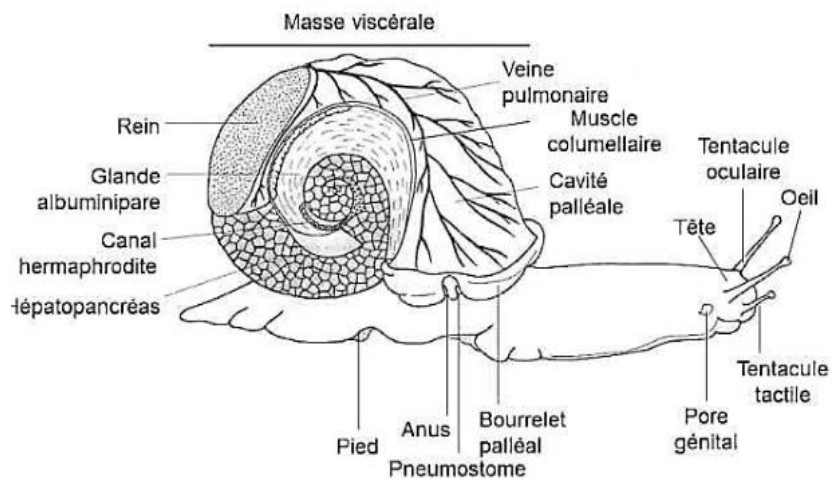


Figure 03 : Anatomie interne de l'escargot (Bonnet et al. 1990)

I.3.3.4. Reproduction et cycle de développement

Les escargots sont hermaphrodites, ce qui signifie qu'ils ont à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles. La fécondation chez ces hermaphrodites protandres, est réciproque par échange de spermatophores entre les 2 partenaires, certains individus pouvant toutefois se comporter uniquement comme des mâles ou comme des femelles (Pauget, 2012). Le printemps est la saison des accouplements et lorsque deux individus se rencontrent, ils commencent par s'enlacer : ce sont les préludes. Lors de l'accouplement, chaque escargot connecte son organe reproducteur situé à droite de sa tête à l'organe de son partenaire (Buron-Mousseau, 2014). C'est par là que vont échanger les spermatophores. Les spermatozoïdes ainsi collectés peuvent être conservés plusieurs mois ou années avant d'être utilisés pour

fertiliser des ovaires. *Helix aspersa* pond en moyenne 85 œufs dans un petit trou creusé sous terre. En climat chaud et humide (idéalement 20°C et humide à 90 %), il peut pondre jusqu'à trois fois entre mars et octobre. Les escargots enterrent leurs œufs à la limite de la surface, de 5 à 10cm de profondeur en creusant avec leur pied ou plus exactement l'arrière de leur queue (Figure 04). Après 2 à 4 semaines de climat favorable, les œufs éclosent et les naissains apparaissent (Piel, 2014).

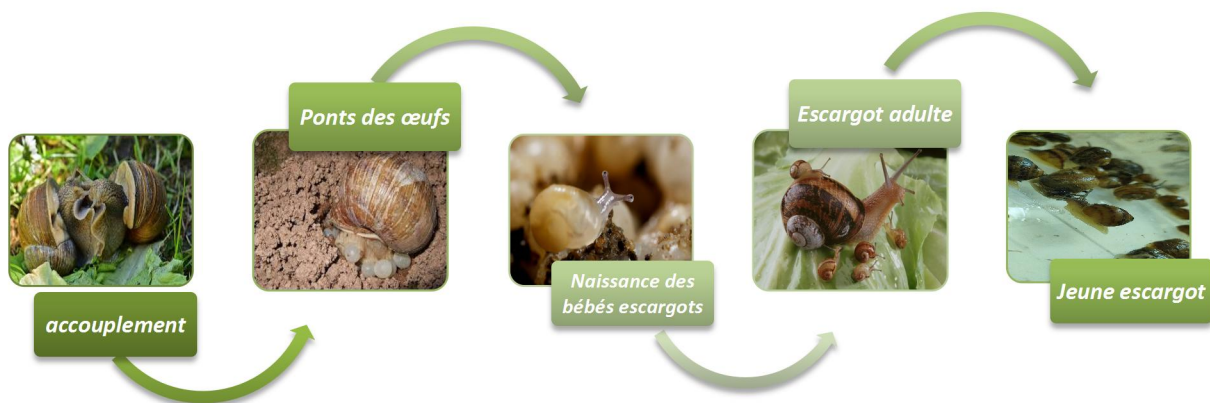


Figure 04 : cycle de vie du petit gris

I.3.4. *Helix aspersa* bioindicateur de la pollution des sols

I.3.4.1. Voies d'exposition de *Helix aspersa* aux polluants dans le sol

Grâce à leur place au sein de l'écosystème terrestre, l'escargot intègre différentes sources de contamination à l'interface entre le sol, la plante et l'atmosphère, en utilisant différentes voies d'exposition : digestive par ingestion de nourriture (plantes et particules du sol) (Gomot et al. 1989), cutanée par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (Coourdassier et al. 2006), et respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques (Regoli et al. 2006).

I.3.4.2. Organes d'accumulation des polluants chez *Helix aspersa*

L'accumulation des polluants au sein d'un organisme vivant est un processus dynamique. En effet, les concentrations internes représentent la balance entre l'absorption et l'élimination (Atailia, 2017). Le principal organe d'accumulation chez *H. aspersa* est l'hépatopancréas. Lorsque l'organisme est exposé à des polluants, l'hépatopancréas contient 70% à 90% de la quantité totale accumulée (Dallinger et al. 1984).

I.3.4.3. Indicateurs biochimiques de stress chez *Helix aspersa*

Le stress oxydant peut être défini comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène (Melila et al. 2012). Chez les escargots, les indicateurs biochimiques de stress peuvent inclure des enzymes antioxydantes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). De plus, des marqueurs de dommages oxydatifs tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS), les niveaux de peroxydation lipidique et les concentrations en glutathion réduit (GSH) peuvent être utilisés pour évaluer le stress oxydatif. Ces indicateurs fournissent des informations sur la réponse de l'escargot à des conditions environnementales défavorables, telles que la pollution, les changements de paramètres physico-chimiques du milieu de vie, etc.

I.3.4.3.1. Le glutathion-S transférase (GST)

Les glutathion-S transférases (GST) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles essentiellement cytosoliques, impliquées dans des opérations diverses de transport et de biosynthèse intracellulaires (George, 1990). Toutefois, la fonction des GST la plus étudiée, concernant les programmes de suivi environnementaux, demeure leur activité de catalyse des réactions de conjugaison entre des groupements hydrophiles endogènes (glutathion), et des molécules réactives comportant des sites capables de réagir avec des macromolécules comme les acides nucléiques : ARN, ADN (Bouzahouane, 2019).

Les GST jouent un rôle essentiel dans la protection des cellules contre les stress. Elles interviennent après les enzymes de phase I (cytochrome P450) qui oxydent les xénobiotiques les rendant parfois plus actif biologiquement. La phase de conjugaison concerne aussi bien des molécules endogènes que des xénobiotiques comme les PCBs, les HAPs et les pesticides (Aarab, 2004). De plus, différents xénobiotiques testés sur *Helix aspersa*, notamment les ETM (Grara, 2011), les poussières métalliques (Larba, 2014), et les nanoparticules d'oxydes métalliques (Boucenna, 2016), ont été responsables d'une altération de l'activité GST chez cette espèce

I.3.4.3.2. La catalase

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque unité portant un groupement prosthétique et une molécule de NADPH. Cette enzyme est présente chez tous les organismes aérobies. Chez les eucaryotes elle est principalement située dans le cytosol et dans les peroxysomes où elle catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Cossu et al.

1997). Au regard de son mode d'action et de sa localisation peroxysomale, la catalase est sensible à certains contaminants inducteurs de stress oxydatif au niveau des membranes cellulaires, comme les HAPs, les PCBs et certains pesticides (Solé et al. 1995). La catalase peut également être sensible à certains métaux lourds comme le mercure, le plomb et le cadmium. Ces métaux peuvent agir comme des catalyseurs de réactions oxydatives, entraînant des dommages cellulaires et affectant la fonction de la catalase ainsi que d'autres enzymes antioxydantes. Les métaux et leur mixture produisent un stress oxydatif conduisant à des effets hépatotoxiques et néphrotoxiques. L'activité catalase est souvent étudiée chez diverses espèces et divers groupes zoologiques (mollusques, insectes, mammifères...) comme un marqueur de stress oxydatif. Elle varie selon l'espèce, les saisons, les conditions abiotiques et la présence de xénobiotiques (Labrot et al. 1996 ; Dellali et al. 2001 ; Bouzahouane, 2019).

I.3.4.3.3. La peroxydation lipidique

L'oxydation des lipides ou peroxydation lipidique, correspond à la détérioration oxydative de doubles liaisons d'acides gras insaturés (AGI), qu'ils soient libres ou estérifiés dans des esters de glycérol (tissu adipeux), de phospholipides (membranes), ou de cholestérol (Velasco et al. 2004).

La présence d'une augmentation significative de molécules oxydantes peut provoquer une surcharge des capacités antioxydantes des organismes et causer des dommages aux macromolécules. La mesure de certaines altérations subcellulaires constitue un biomarqueur pertinent qui reflète l'effet de l'exposition à des molécules oxydantes. Parmi les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO) au niveau des macromolécules biologiques figure la peroxydation des acides gras polyinsaturés (lipoperoxydation). La lipopéroxydation peut être mesurée grâce au dosage des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA), comme le MDA qui est perçu comme un bio-indicateur de stress oxydatif en général, et plus spécifiquement de peroxydation lipidique (Bouzahouane, 2019).

Le taux de malondialdéhyde (MDA) est souvent utilisé comme un indicateur de la peroxydation lipidique des membranes. En effet, selon Bebianno et al. (2005) et Al-Mutairi et al. (2007) l'augmentation du taux de Malondialdéhyde indique une peroxydation lipidique. Cette dernière est suivie de changements et d'une dégradation des structures membranaires, Il s'ensuit une perte des récepteurs et des enzymes de la membrane (Pampanin et al. 2005). L'augmentation du taux de MDA pourrait être due à la génération de radicaux d'oxygène libre toxiques.

I.3.4.3.4. Le glutathion réduit (GSH)

Le glutathion réduit (GSH) est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-L-glycine) synthétisé par deux enzymes qui sont la γ -glutamylcystéine synthétase (γ -GCS) et la glutathion synthétase (Ballatori et al. 2009). Le site principal de la synthèse du GSH au niveau cellulaire est le cytosol, à partir duquel il est distribué aux autres compartiments cellulaires. Le GSH est synthétisé par l'action séquentielle de la glutamate-cystéine ligase et la glutathion synthétase. Il participe avec le glutathion réductase à l'établissement de ponts disulfures dans de nombreuses protéines et dans des hormones polypeptides et prend part au métabolisme des xénobiotiques présents dans la majorité des tissus. Le glutathion joue un rôle principal dans la formation de tout peroxyde organique, en présence de glutathion peroxydase (GPx) (Douafer, 2010).

Le glutathion (GSH) est le second composé hydrosulfure de faible poids moléculaire cytosolique majeur impliqué en tant que réactif cellulaire réducteur et ayant un rôle protecteur contre de nombreuses substances toxiques dont les ETM à travers son groupe de liaison SH (Swiergosz-Kowalewska, 2001). La synthèse de GSH en présence de métaux serait un mécanisme de protection dans lequel le métal se fixe aux groupements thiols du GSH, prévenant ainsi les dommages cellulaires. En effet, l'affinité des métaux vis-à-vis des groupements thiols forme des complexes avec ces entités chimiques. Cette interaction métal-glutathion conduit généralement à la formation des radicaux éthyles. Bien que ces radicaux soient relativement stables et puissent interagir entre eux pour former des ponts disulfures non radicalaires. Ils peuvent également réagir avec l'oxygène et générer ainsi des espèces réactives de l'oxygène (Galaris et al. 2002) et des radicaux libres responsables de lésions tissulaires importantes, ceci souligne le rôle important du glutathion dans la gestion d'un stress métallique (Boucenna, 2016, Larba et al. 2014).

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

II.1. Récolte des escargots sur terrain

II.1.1. Présentation des zones d'étude

La récolte des escargots a été effectuée dans deux zones situées dans la wilaya de Constantine ; l'une montagneuse (Ibn Ziad) et l'autre urbaine en bordures de route (B'kira). Constantine est située au nord-est Algérien ($36^{\circ} 21' 0''$ N $6^{\circ} 35' 60''$ E), et est caractérisée par un climat méditerranéen. La région de Constantine se situe dans l'étage bioclimatique semi-aride à hiver frais, et été chaud et sec. La moyenne annuelle des précipitations est aux alentours de 500 mm jusqu'à 700 mm. Alors que les températures varient de 25°C à 40°C en été, et de 0°C à 12°C en hiver. La figure ci-dessous 05 illustre la localisation géographique des deux zones d'étude. La figure 05 illustre la localisation géographique des deux zones.

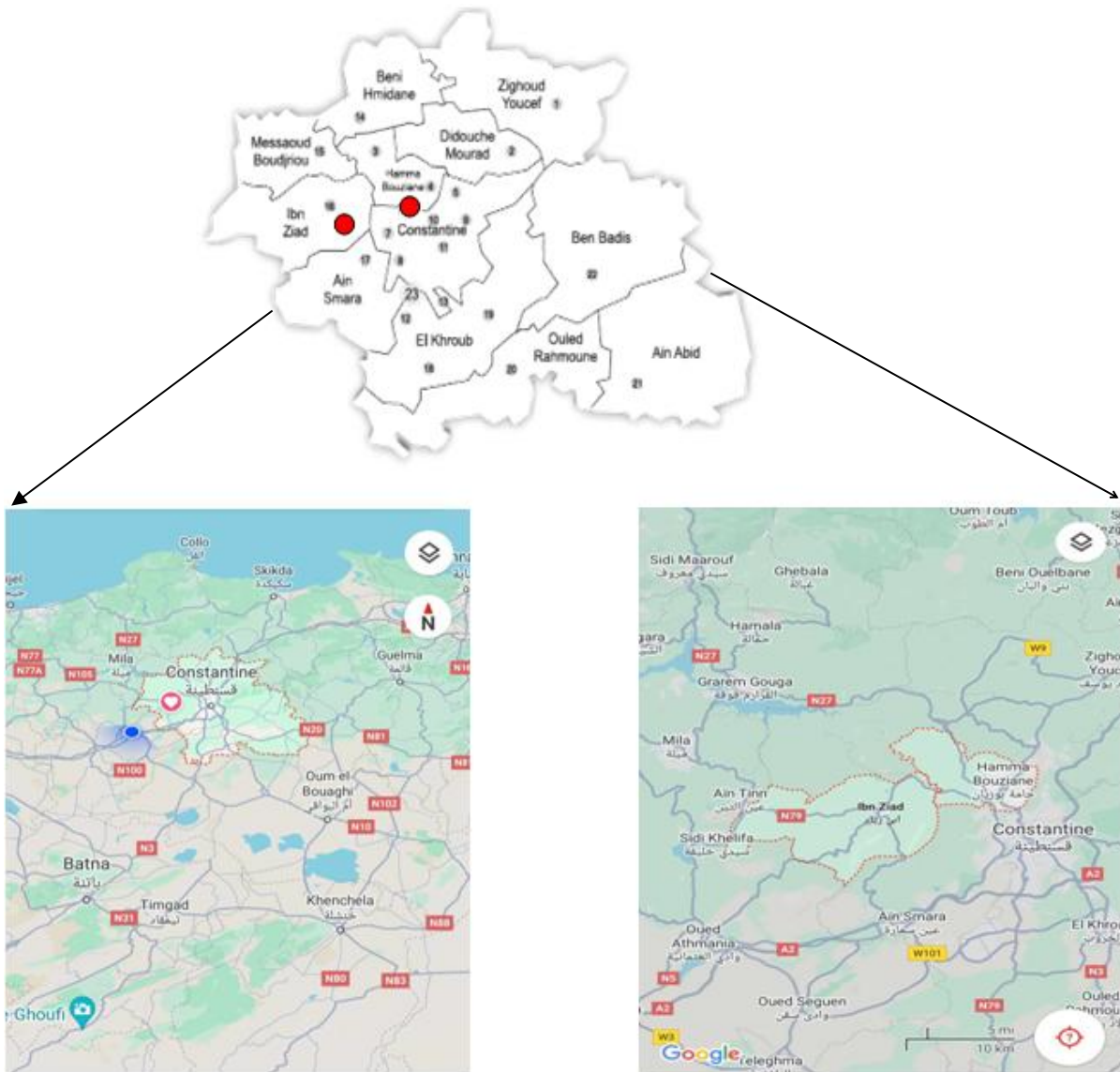


Figure 05 : localisation géographique des zones d'étude

(Source : google maps, 18-04-2024)

II.1.1.1. Ibn Ziad

Anciennement appelée Rouffach, cette zone d'étude est située au nord-ouest dans la wilaya de Constantine à environ 13 km à vol d'oiseau. Elle est construite sur une pente et est abreuvée par une source naturelle appelée "al manbouê". L'échantillonnage a été effectué dans le mont Chikh Zouaoui (Figure 06). Ses coordonnées géographiques sont 36°21'05.28''N et 6°27'45.68''E, l'altitude est de 993 m. Dans le cadre de cette étude, cette zone est considérée comme témoin compte tenu de son éloignement de toute source de perturbation anthropique. La localisation géographique de la zone d'étude est illustrée par la figure 07.



Figure 06 : photos de la zone montagneuse d'Ibn Ziad (photos prises le 01 mai 2024).

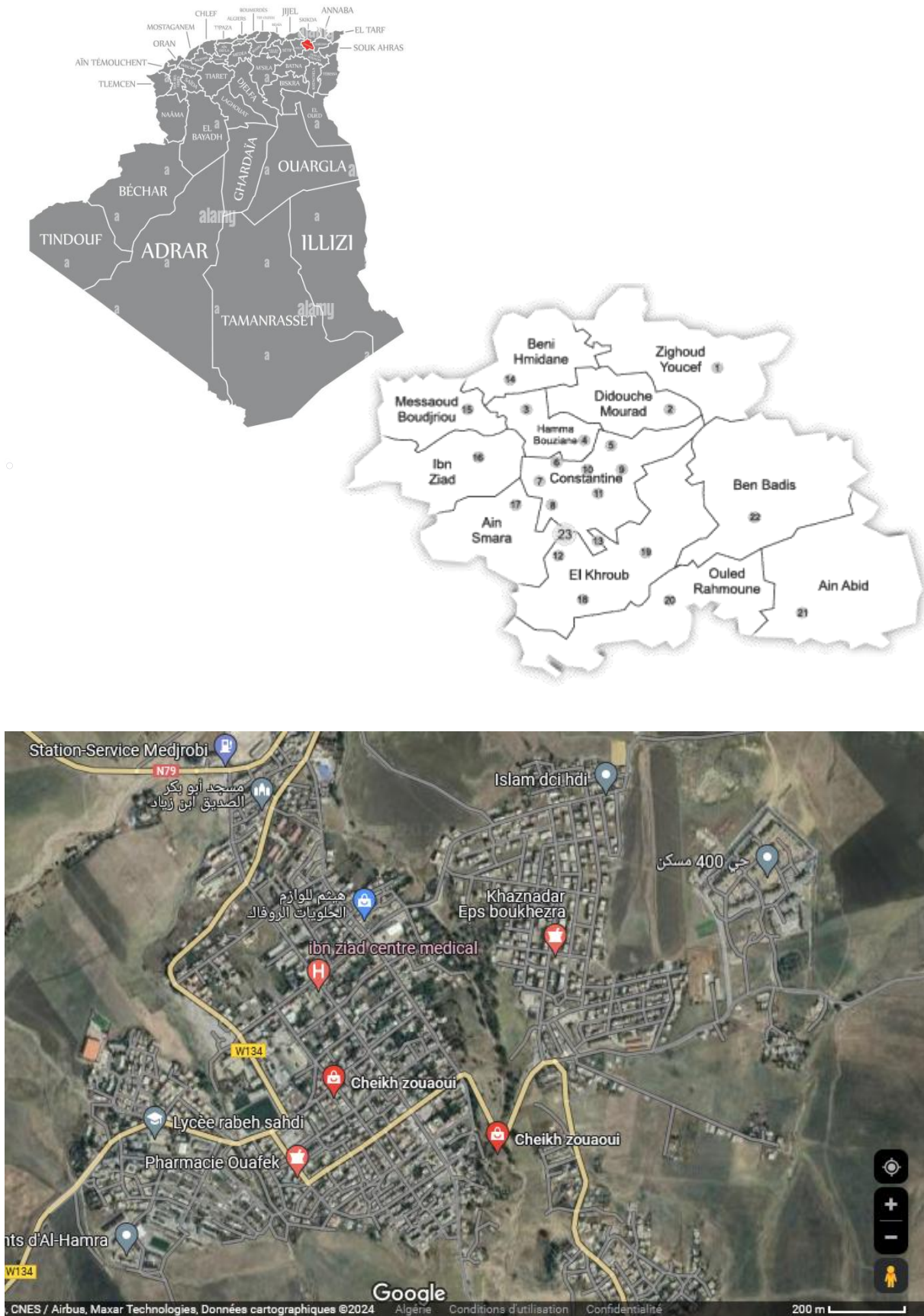


Figure 07: situation géographique de la zone d'Ibn Ziad (Source : google earth, 2024)

II.1.1.2. B'kira

Dans cette zone, l'échantillonnage a été effectué le long de la route nationale N°03 reliant le centre ville de Constantine à la commune de Hamma Bouziane en passant par B'kira (Figure 08). Par rapport à la montagne de Chikh Zouaoui dans la commune d'Ibn Ziad, la région de B'kira est considérée comme potentiellement perturbée (Belhiouani et al. 2019 ; Sahraoui, 2022). En effet, la route nationale N°03 est caractérisée par un trafic routier intense. La localisation géographique de cette zone est illustrée par la figure (Figure 09). Ses coordonnées géographiques sont : (36°23.08.533 N 6° 36.46.809 E).



Figure 08 : photos de la zone urbaine de B'kira (photos prises le 18 avril 2024).

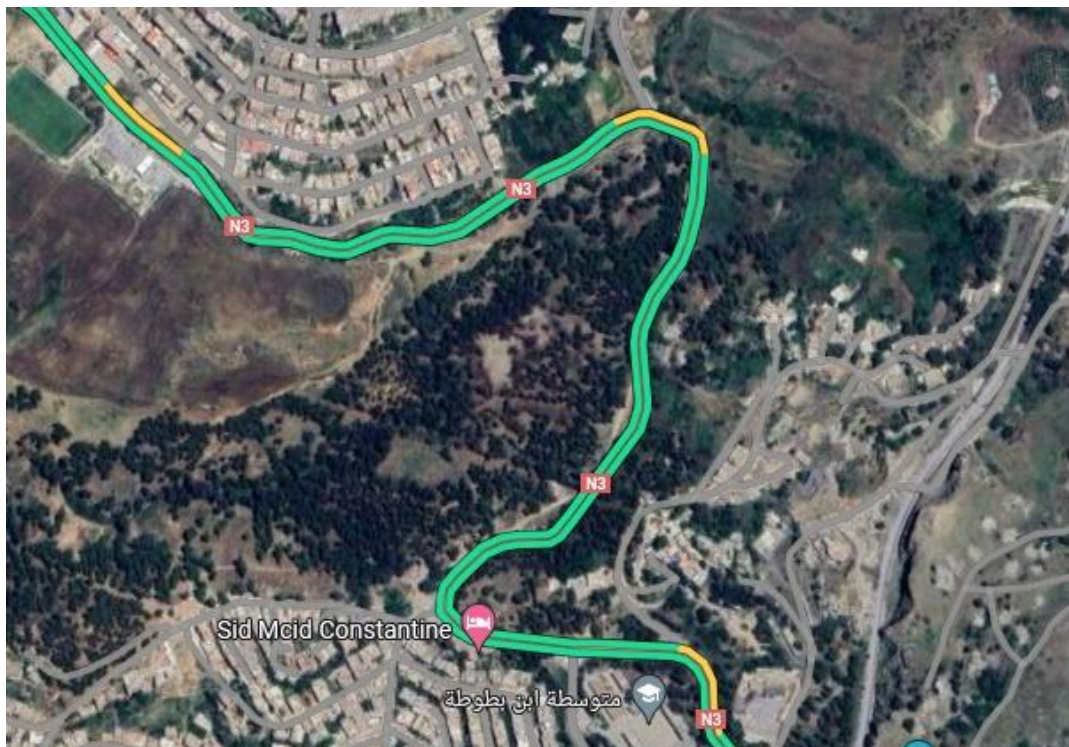


Figure 09: situation géographique de la zone de B’kira (Source : google earth, 2024)

II.1.2. Mode de récolte des escargots

La récolte des escargots a été effectuée durant la période allant du mois de février 2024 au mois d'avril 2024. Nous avons opté pour la chasse à vue ; il s'agit d'une technique couramment employée en malacologie et seuls les organismes vivants ont été collectés. L'espèce prise en considération dans le cadre de cette étude est *Helix aspersa*. Ainsi, des individus juvéniles, sub-adultes et adultes ont été collectés et mis dans des bacs en téflon avec des couvercles perforés afin d'assurer l'aération. La figure 10 montre la récolte et les différents habitats occupés par ladite espèce.



Figure 10 : récolte des escargots sur terrain (photos prise le 01 mai 2024)

II.2. Tri des escargots au laboratoire

Une fois au laboratoire, les escargots ont été nettoyés puis triés selon les classes d'âge. Ainsi, trois lots de *H. aspersa* correspondant à des individus juvéniles, sub-adultes et adultes ont été mis dans des bacs séparément selon classe d'âge. La figure 11 illustre les étapes de tri des escargots par classe d'âge au laboratoire.



Figure 11 : tri des escargots par classe d'âge au laboratoire

II.3. Détermination des paramètres biométriques

Après le tri des escargots, des mesures biométriques ont été réalisées sur l'ensemble des individus récoltés et ceci quelque le stade de développement. Ainsi, le diamètre (mm) et la hauteur (mm) de la coquille ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse digital. Le poids frais de chaque individu a été mesuré avec une balance de précision (Figure 12). L'objectif est d'avoir une idée sur la moyenne des paramètres biométriques des différentes classes d'âge analysées dans le cadre de cette étude.



Figure 12 : mesure des paramètres biométrique de *H. aspersa* (à gauche : biomasse, a droite : diamètre et hauteur de la coquille)

II.4. Détermination des paramètres indicateurs de stress oxydant chez *Helix aspersa*

II.4.1. Préparation des individus

Après la prise des mesures biométriques, les individus de *H. aspersa* appartenant aux différentes classes d'âge ont été mis à un jeun pendant 24h afin d'éliminer la nourriture non absorbée et les fèces de leur tractus digestif. Ils ont par la suite été placés dans des sacs en plastique étiquetés et sacrifiés par congélation à (-20° C) pendant 48h.

Après décongélation, la dissection des escargots a été effectuée en utilisant un pack de dissection. Ainsi, le corps de mou de *H. aspersa* est séparé de la coquille en utilisant une pince, et la masse viscérale ainsi que l'hépatopancréas ont été séparés de la masse pédieuse en utilisant un bistouri. Les figures 13 et 14 illustrent les étapes de dissection de *H. aspersa*.

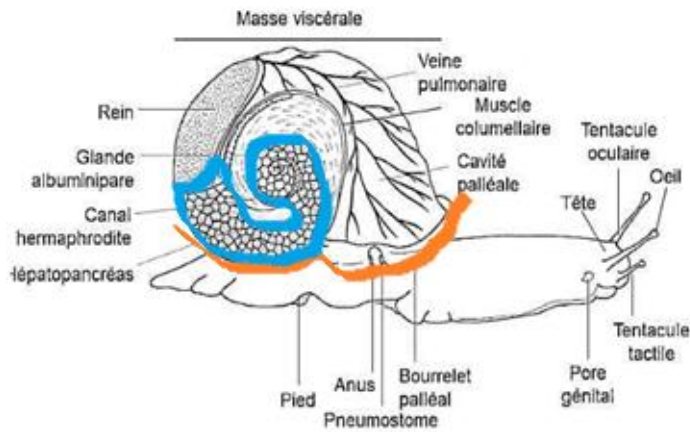


Figure 13 : représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères (en rouge) et l'hépatopancréas des autres organes (en bleu).



Figure 14 : étapes de dissection des escargots

II.4.2. Détermination des paramètres indicateurs de stress oxydant

Après dissection des *H. aspersa*, l'hépatopancréas a été retiré pour chaque individu. La quantification des différents paramètres (GSH, GST, MDA, CAT) a été effectuée dans un échantillon composite formé par les hépatopancréas de 5 à 10 individus selon les stades de développement. Il est à noter que le nombre d'individus utilisés le plus élevé est celui du stade juvénile compte tenu du poids relativement de la matrice à analysée.

Après récupération des hépatopancréas, l'homogénat est préparé par broyage de ces organes aux ultrasons dans un tampon de PBS à pH 7.5 avec un rapport (poids/volume de 1 :1). Une fraction de l'homogénat est centrifugée à 10000 tours par minute pendant 10 minutes à 4°C, après mélange avec du TCA à 10%, le culot obtenu servira pour le dosage du glutathion réduit (GSH). Le reste de l'homogénat est centrifugé sans additifs à 10000 tours par minute pendant 10 minutes à 4°C et servira pour le dosage de la glutathion-S-transférase (GST) et du malonedialdéhyde (MDA). La centrifugeuse utilisée est de type SIGMA2-16KL.

Plus de détails sur les principes des méthodes utilisées et les conditions de mesure des différents paramètres sont donnés ci-dessous.

II.4.2.1. Dosage du glutathion réductase (GSH)

Les taux de GSH dans les échantillons de l'hépatopancréas de *H. aspersa* pour les trois stades de développement (juvéniles, sub-adulte, et adulte) ont été quantifiés selon la méthode d'Ellman (1959). Le principe de cette dernière consiste à scinder la molécule d'acide 5,5'dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH et la libération de l'acide thionitrobenzoïque (TNB). La mesure a été effectuée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 412 nm ; le TNB présente une absorbance maximale à cette dernière (pH 8-9).

Le taux de GSH a été déterminé selon la formule ci-dessous, et est exprimé en micromoles de matrice hydrolysée par mg de tissus ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus). La figure 15 illustre les étapes relatives au dosage de GSH.

$$\text{GSH } (\mu\text{M}/\text{mg de tissus}) = \frac{\Delta\text{DO} * V_d * V_t}{13.1 * V_h * V_s * \text{mg tissus}}$$

Avec :

Δ DO : différence de la densité optique après hydrolyse du substrat ;

V_d : volume total de la solution de déprotéinisation (TAC + homogénat) ;

V_t : volume total dans la cuve (surnageant + PBS + DTNB) ;

13.1 : coefficient d'extinction molaire du groupement thiol (-SH), ($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) ;

V_h : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation ;

V_s : volume du surnageant dans la cuve ;

mg de tissus : équivalent matière fraîche dans la prise d'essai en mg.



Figure 15 : Dosage du glutathion réduit (GSH)

II.4.2.2. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)

Les taux de la GST dans les hépatopancréas de *H. aspersa* ont également été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode décrite par Habig et al. (1974).

La mesure de l'activité de la GST consiste à fournir à l'enzyme un substrat, en général, le 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugue facilement avec le glutathion sous l'action de la GST. La variation de la densité optique, due à l'apparition du complexe GSH-CDNB, est mesurée à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux de GST a été calculé selon la formule ci-dessous, et est exprimé en micromoles de matrice hydrolysée par mg de tissus ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus). La figure 16 illustre les étapes relatives au dosage de la GST.

$$\text{GST } (\mu\text{M}/\text{mg de tissus}) = \frac{\Delta\text{DO} * V_t}{9.6 * V_s * \text{mg tissus}}$$

Avec :

Δ DO : différence de la densité optique après hydrolyse du substrat ;

V_t : volume total dans la cuve (surnageant + PBS + GSH + CDNB) ;

9.6 : coefficient d'extinction molaire du complexe GSH-CDNB ;

V_s : volume du surnageant dans la cuve ;

mg de tissus : équivalent matière fraîche dans la prise d'essai en mg.



Figure 16 : dosage de la glutathion-S-transférase (GST)

II.4.2.3. Dosage du malonedialdéhyde (MDA)

Le malonedialdéhyde (MDA) a été déterminé selon la méthode colorimétrique décrite par Ohkawa et al. (1979). Le dosage repose sur la formation d'un pigment de couleur rose en milieu acide et chaud (100 °C) ; ce dernier est le résultat d'une réaction entre le malondialdéhyde (MDA) et deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA). La lecture a été effectuée à 532 nm ; longueur à laquelle l'absorbance est maximale. Les taux en MDA ont été déterminés selon la formule ci-dessous, et les résultats sont exprimés en ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus). La figure 17 illustre les étapes relatives au dosage du MDA.

$$\text{MDA } (\mu\text{M}/\text{mg de tissus}) = \frac{\Delta\text{DO} * V_t}{1.56 * V_s * \text{mg tissus}}$$

Avec :

Δ DO : différence de la densité optique après hydrolyse du substrat ;

V_t : volume total dans la cuve ;

1.56 : coefficient d'extinction molaire du complexe MDA-TBA ;

V_s : volume du surnageant dans la cuve ;

mg de tissus : équivalent matière fraîche dans la prise d'essai en mg.



Figure 17 : Dosage du malonedialdéhyde (MDA)

II.4.2.4. Dosage de l'activité du catalase (CAT)

L'activité de la catalase (CAT) a été déterminée selon la méthode colorimétrique décrite par Aebi (1983). Le principe repose sur la variation de la densité optique consécutive à la disparition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La lecture a été effectuée à 240 nm ; longueur à laquelle l'absorbance est maximale. Les taux l'activité CAT ont été déterminés selon la formule ci-dessous, et les résultats sont exprimés en ($\mu M/mg$ de tissus). La figure 18 illustre les étapes relatives au dosage de l'activité catalase.

$$MDA (\mu M/mn/mg \text{ de tissus}) = \frac{\Delta DO}{0.04 * L * mg \text{ tissus}}$$

Avec :

ΔDO : différence de la densité optique après hydrolyse du substrat ;

0.04 : coefficient d'extinction molaire du H_2O_2 ;

L : Longueur de la cuve

mg de tissus : équivalent matière fraîche dans la prise d'essai en mg.



Figure 18 : dosage de l'activité catalase (CAT)

II.5. Traitement statistiques des données

Dans un premier temps, des indicateurs statistiques descriptifs (minimum, maximum, moyenne et écart type) ont été calculés afin d'avoir une vue d'ensemble sur la distribution des différents paramètres mesurés chez les individus des trois stades de développement pour les deux zones étudiées. Les résultats obtenus ont également été illustrés par des représentations graphiques pour mieux visualiser les variations enregistrées et donc de les commenter aisément.

Par ailleurs, nous avons procédé à une analyse de la variance ANOVA à deux facteurs pour faire ressortir l'effet stade de développement, l'effet zone d'étude, et l'interaction stade de développement-zone d'étude.

Les traitements statistiques ont été effectués en utilisant le logiciel Statistica Version 7.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

III.1. Les paramètres biométriques de *Helix aspersa*

Les résultats des paramètres biométriques (diamètre et hauteur de la coquille, biomasse) des *H. aspersa* récoltés dans les zones d'Ibn Ziad et B'kira sont récapitulés dans le tableau 01. Il est à noter que ces résultats sont mentionnés à titre indicatif.

Tableau 01 : données statistiques (minimum, maximum, moyenne±écartype) des paramètres biométriques chez *H. aspersa*

Paramètres	Zone d'Ibn Ziad			Zone de B'kira		
	Juvénile	Sub-adulte	Adulte	Juvénile	Sub-adulte	Adulte
Diamètre (mm)	[6,16-22,3]	[12,36-26,85]	[19,62-75,85]	[10-25,3]	[14,73-30,95]	[10,45-73,81]
	14,46±4,92	21,01±4,80	40,82±19,47	15,53±5,57	24,29±6,80	30,61±13,42
Hauteur (mm)	[2,14-14,7]	[11,04-22,98]	[12,58-53,77]	[2,1-11]	[9,9-15,1]	[10,16-55,63]
	8,91±4,13	15,09±4,13	26,92±13,93	5,55±2,86	12,26±2,29	21,33±10,89
Biomasse (g)	[0,52-3,65]	[4,23-7,46]	[11,49-14,92]	[1-3]	[5-9]	[9-29]
	1,57±0,84	5,30±1,32	13,06±1,04	1,64±0,81	6,4±1,52	17,30±6,09

L'examen du tableau 01, montre que les paramètres varient en fonction du stade de développement de l'espèce mais aussi selon les zones d'étude. Ils sont légèrement supérieurs (ou inférieurs) dans la zone de référence (Ibn Ziad) par rapport à la zone perturbée (B'kira) selon le paramètre et le stade de développement. Ainsi, pour les juvéniles et les sub-adultes, les diamètres moyen des escargots récoltés dans la zone de B'kira sont légèrement supérieurs à ceux récoltés dans la zone d'Ibn Ziad. Nous avons enregistré, respectivement pour les deux stades, 14,46 mm et 21.01 mm contre 15.53 mm et 24.29 mm. Pour les adultes, ceux de la zone de référence sont nettement plus élevés ; 40.82 mm contre 30.61 mm.

Concernant la hauteur de la coquille, les valeurs enregistrées pour les *H. aspersa* récoltés dans la zone d'Ibn Ziad sont plus élevés. Nous avons relevés des hauteurs des coquilles, pour les trois stades de développement respectivement, de l'ordre de 8.91 mm, 15.09 mm et 26.92 mm dans la zone d'Ibn Ziad, contre 5.55 mm, 12.26 mm et 21.33 mm pour ceux de la zone de B'kira.

Pour les biomasses moyennes, les valeurs sont de l'ordre de 1.57 g, 5.30 g et 13.06 g, respectivement pour les individus récoltés dans la zone d'Ibn Ziad, et 1.64 g, 6.4 g, et 17.30 g pour ceux de B'kira.

III.2. Les paramètres indicateurs de stress oxydant chez *Helix aspersa*

Les résultats des paramètres indicateurs du stress oxydant chez *H. aspersa* pour les trois stades de développement et les deux zones d'étude investiguées sont récapitulés dans le tableau 02 et illustrés par les figures 19,20,21,22

Tableau 02: données statistiques (minimum, maximum, moyenne±écartype) des indicateurs de stress chez *H. aspersa*

Paramètres	Juvénile	Sub-adulte	Adulte
Zone d'Ibn Ziad			
GSH	[1,4.10 ⁻⁵ -1,5.10 ⁻⁵] 1,5.10 ⁻⁵ ±3,4.10 ⁻⁷	[1,4.10 ⁻⁵ -1,6.10 ⁻⁵] 1,5.10 ⁻⁵ ±5,9.10 ⁻⁷	[1,3.10 ⁻⁵ -1,4.10 ⁻⁵] 1,4.10 ⁻⁵ ±2,7.10 ⁻⁷
GST	[8,3.10 ⁻⁴ -9,7.10 ⁻⁴] 9,2.10 ⁻⁴ ±6,1.10 ⁻⁵	[7,4.10 ⁻⁴ -9,6.10 ⁻⁴] 8,7.10 ⁻⁴ ±7,9.10 ⁻⁵	[8,4.10 ⁻⁴ -9,6.10 ⁻⁴] 9.10 ⁻⁴ ±4,6.10 ⁻⁵
MDA	[3,2.10 ⁻³ -3,8.10 ⁻³] 3,6.10 ⁻³ ±0,24.10 ⁻³	[3,3.10 ⁻³ -5,8.10 ⁻³] 4.10 ⁻³ ±1.10 ⁻³	[2,89.10 ⁻³ -3,43.10 ⁻³] 3,28.10 ⁻³ ±0,22.10 ⁻³
CAT	[13,1.10 ⁻² -19,2.10 ⁻²] 15,4.10 ⁻² ±3.10 ⁻²	[13,2.10 ⁻² -17,9.10 ⁻²] 15,3.10 ⁻² ±2,0.10 ⁻²	[11,9.10 ⁻² -19,5.10 ⁻²] 15,1.10 ⁻² ±2.8.10 ⁻²
Zone de B'kira			
GSH	[0,8.10 ⁻⁵ -1,3.10 ⁻⁵] 1,1.10 ⁻⁵ ±27.10 ⁻⁷	[0,37.10 ⁻⁵ -0,54.10 ⁻⁵] 0,46.10 ⁻⁵ ±7,9.10 ⁻⁷	[0,20.10 ⁻⁵ -0,37.10 ⁻⁵] 0,25.10 ⁻⁵ ±6,6.10 ⁻⁷
GST	[7,57.10 ⁻⁴ -9,37.10 ⁻⁴] 8,4.10 ⁻⁴ ±7,24.10 ⁻⁵	[12,8.10 ⁻⁴ -14,8.10 ⁻⁴] 13,8.10 ⁻⁴ ±8,56.10 ⁻⁵	[10,6.10 ⁻⁴ -17,3.10 ⁻⁴] 13,2.10 ⁻⁴ ±32,3.10 ⁻⁵
MDA	[3,07.10 ⁻³ -3,7.10 ⁻³] 3,46.10 ⁻³ ±0,23.10 ⁻³	[3,44.10 ⁻³ -3,81.10 ⁻³] 3,64.10 ⁻³ ±0,13.10 ⁻³	[0,72.10 ⁻³ -1,03.10 ⁻³] 0,95.10 ⁻³ ±0,12.10 ⁻³
CAT	[1,2.10 ⁻² -4,06.10 ⁻²] 3,9.10 ⁻² ±0,17.10 ⁻²	[4,5.10 ⁻² -5,8.10 ⁻²] 5,2.10 ⁻² ±0,6.10 ⁻²	[5,29.10 ⁻² -10,4.10 ⁻²] 7,35.10 ⁻² ±2,6.10 ⁻²

III.2.1. Le glutathion réductase (GSH)

L'examen du tableau 02 et de la figure 19 montrent que les taux de GSH chez *H. aspersa* fluctuent considérablement d'une zone à l'autre, et d'un stade de développement à l'autre pour la même zone. Les taux les plus élevés ($1,4 \cdot 10^{-5}$, $1,5 \cdot 10^{-5}$, $1,5 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les stades adulte, sub-adulte et juvénile, respectivement, ont été enregistrés au niveau de la zone montagneuse d'Ibn Ziad considérée comme zone de référence dans le cadre de cette étude. Alors que les taux les plus faibles ($0,25 \cdot 10^{-5}$, $0,46 \cdot 10^{-5}$, $1,1 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement, sont ceux de la zone de B'kira. Cette variabilité dans l'espace entre les stades de développement est confirmée par l'analyse de la variance à un facteur qui a révélé un effet significatif ($p < 0.001$) pour les adultes et sub-adultes, et ($p < 0.05$) pour les juvéniles.

Par ailleurs, il est à noter que les taux de GSH varient d'un stade de développement à l'autre pour une même zone (Tableau 02). Cette variation est remarquable pour la zone de B'kira, au niveau de laquelle les taux les plus faibles en GSH ont été notés chez les adultes. Ceux des juvéniles sont 4 fois plus importants (Figure 19). L'Anova a d'ailleurs révélé un effet stade de développement significatif pour ($p < 0.001$). Pour la zone d'Ibn Ziad, l'Anova n'a pas révélé d'effet significatif ; la variation d'un stade de développement à l'autre est faible.

Il est à noter que l'analyse de la variance à deux facteurs a révélé un effet interaction (zone*stade de développement) significatif pour ($p < 0.001$).

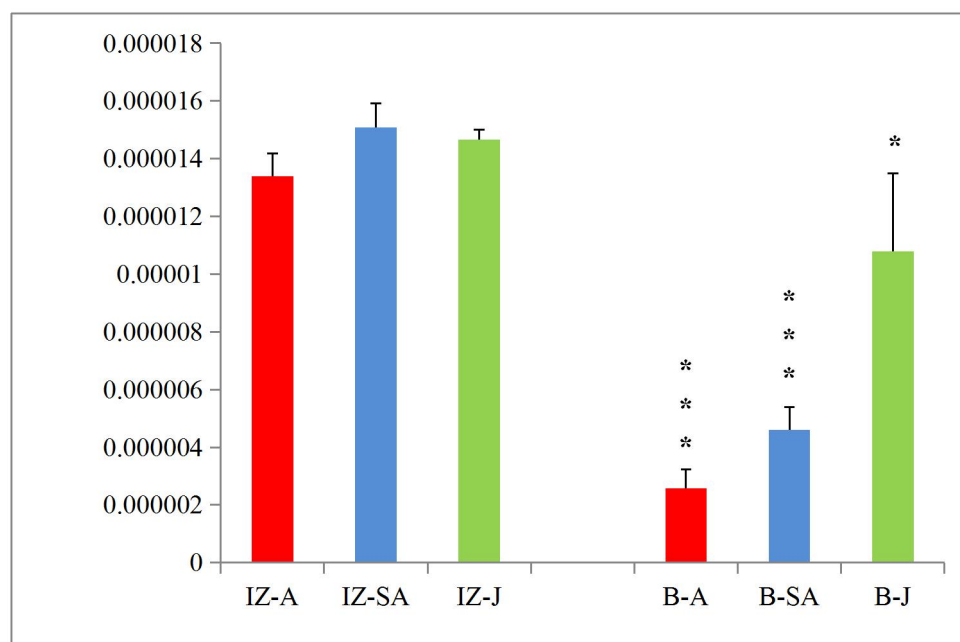


Figure 19: Variation spatiale des taux en GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancreas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$)

III.2.2. La glutathion-S-transférase (GST)

La Figure 20 représente la variation spatiale des taux en GST dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte, sub-adulte, juvénile) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad et B'kira. L'examen de cette dernière et du tableau 02, révèle des fluctuations relativement importantes d'une zone à une autre, et d'un stade de développement à l'autre quelque soit la zone. Les taux les plus faibles ($9,10^{-4}$, $8,7.10^{-4}$, $9,2.10^{-4}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les stades adulte, sub-adulte et juvénile respectivement, ont été enregistrés au niveau de la zone témoin d'Ibn Ziad. Alors que les taux les plus élevés ($13,2.10^{-4}$, $13,8.10^{-4}$, $8,4.10^{-4}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement, sont ceux de la zone de B'kira. Cette variabilité dans l'espace entre les stades de développement est confirmée par l'analyse de la variance à un facteur qui a révélé un effet significatif ($p < 0.05$) pour les adultes, et ($p < 0.001$) pour les sub-adultes. Pour les juvéniles, l'effet stade de développement entre les deux zones est non significatif.

De plus, nous observons une variation des taux de GST d'un stade de développement à l'autre au sein d'une même zone (Tableau 02). Cette variation est remarquable pour la zone de B'kira, au niveau de laquelle les taux les plus faibles en GST ont été notés chez les juvéniles. Ceux des sub-adultes sont 1.64 fois plus importants (Figure 20). L'Anova a d'ailleurs révélé un effet stade de développement significatif pour ($p < 0.01$). Pour la zone d'Ibn Ziad, l'Anova n'a pas révélé d'effet significatif ; les taux en GST sont quasiment constants.

De même que pour le GSH, l'interaction (zone*stade de développement) pour les taux en GST est également significative pour ($p < 0.01$).

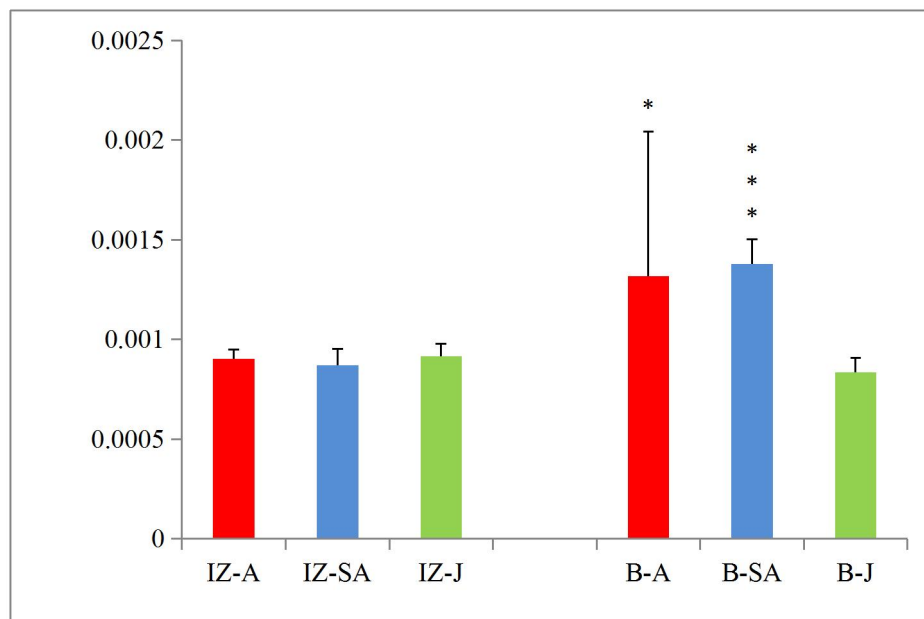


Figure 20: Variation spatiale des taux en GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$)

III.2.3. Le malonedialdéhyde (MDA)

L'examen du tableau 02 et de la figure 21 montrent que les taux de malonedialdéhyde (MDA) dans les hépatopancréas de *H. aspersa* varient d'une zone à l'autre, et d'un stade de développement à l'autre pour la même zone. Les taux les plus élevés ($3,28.10^{-3}$, 4.10^{-3} , $3,6.10^{-3}$ /mg de tissus) pour les stades adulte, sub-adulte, juvénile, respectivement, sont ceux de la zone montagneuse d'Ibn Ziad. Alors que les taux les plus faibles ($0,95.10^{-3}$, $3,64.10^{-3}$, $3,46.10^{-3}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement, sont ceux de la zone de B'kira. Cette variabilité dans l'espace entre les stades de développement est confirmée par l'analyse de la variance à un facteur qui a révélé un effet significatif ($p < 0,001$) pour les adultes, et non significatif pour les stades sub-Adulte et juvéniles.

Par ailleurs, il est à noter que les taux en MDA varient d'un stade de développement à l'autre pour une même zone (Tableau 02). Cette variation est remarquable pour la zone de B'kira, au niveau de laquelle les taux les plus faibles en MDA ont été notés chez les adultes. Ceux des juvéniles sont 4 fois plus importants (Figure 21). L'Anova a d'ailleurs révélé un effet stade de développement significatif pour ($p < 0,001$). Pour la zone d'Ibn Ziad, la fluctuation est faible et l'effet est non significatif.

Il est à noter que l'analyse de la variance à deux facteurs a révélé un effet interaction (zone*stade de développement) significatif pour ($p < 0,001$).

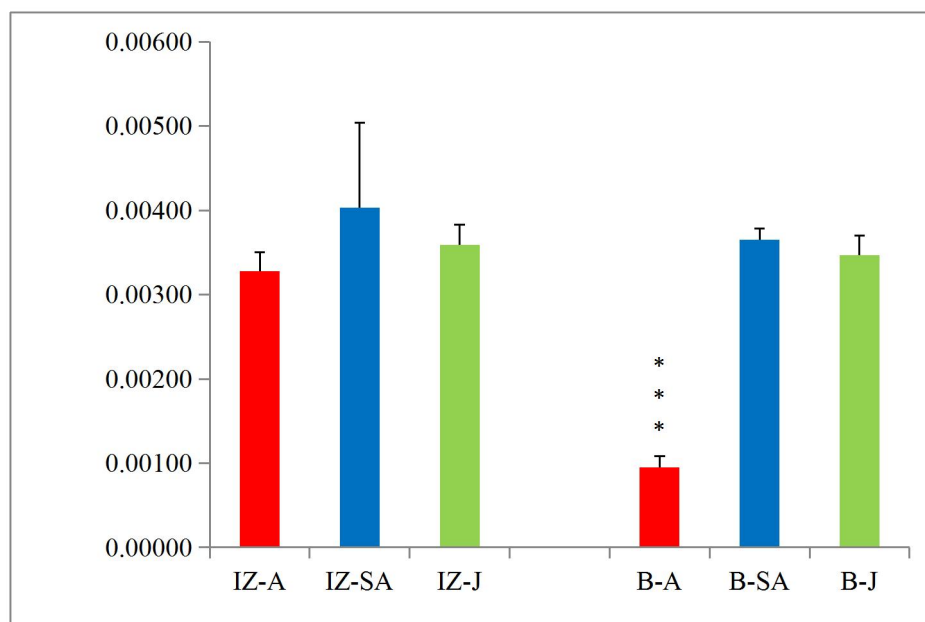


Figure 21 : Variation spatiale des taux en MDA dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0,001$)

III.2.4. La catalase (CAT)

Les résultats relatifs aux taux de la catalase sont récapitulés dans le tableau 02 et illustrés par la figure 22. De même que pour les paramètres précédents, les variations pour la catalase sont également remarquables aussi bien pour les zones que pour les stades de développement. Les taux les plus élevés ($15,1 \cdot 10^{-2}$, $15,3 \cdot 10^{-2}$, $15,4 \cdot 10^{-2}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les stades adulte, sub-adulte et juvénile respectivement, sont ceux de la zone d'Ibn Ziad, alors que les plus faibles ($7,35 \cdot 10^{-2}$, $5,2 \cdot 10^{-2}$, $3,9 \cdot 10^{-2}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) ont été notés pour les individus récoltés dans la zone de B'kira pour les mêmes stades de développement, respectivement. Cette variabilité dans l'espace entre les stades de développement est confirmée par l'analyse de la variance à un facteur qui a révélé un effet significatif ($p < 0.001$) pour les adultes, les sub-adultes, et les juvéniles.

De plus, il apparaît que les taux de catalase varient d'un stade de développement à l'autre pour une même zone (Tableau 02). Cette variation est remarquable pour la zone de B'kira, au niveau de laquelle les taux les plus faibles en catalase ont été notés chez les adultes (Figure 22). L'Anova a d'ailleurs révélé un effet stade de développement significatif pour ($p < 0.01$). Pour la zone d'Ibn Ziad, la variation est non significative. L'interaction (zone*stade de développement) est n'est pas significative non plus.

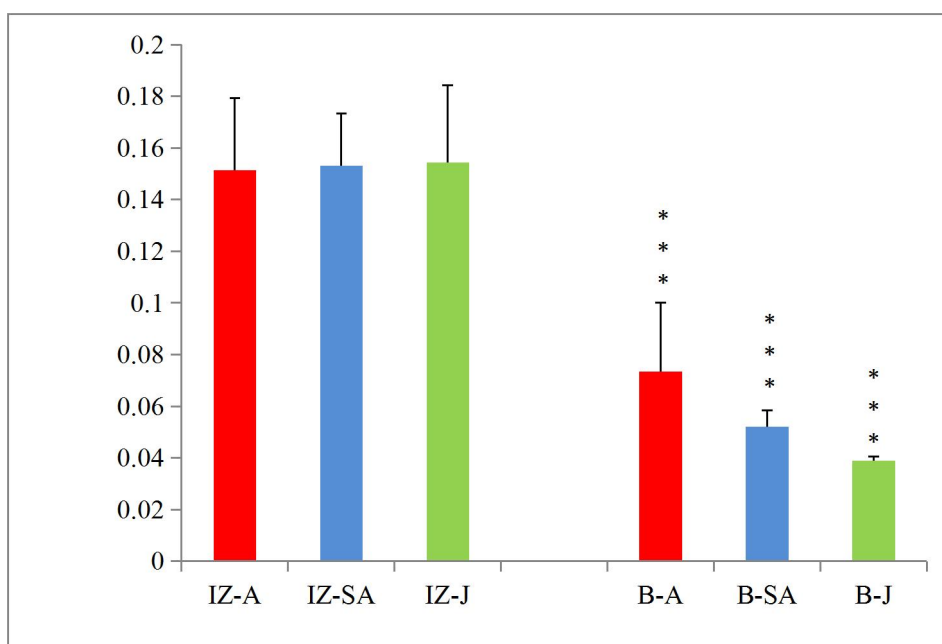


Figure 22: Variation spatiale des taux en CAT dans les hépatopancreas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les zones d'Ibn Ziad (IZ) et B'kira (B). (***) : $p < 0.001$)

Discussion

Dans les écosystèmes terrestres, les gastropodes pulmonés sont sujets à différents types de contaminants par plusieurs voies d'exposition qui impliquent l'ingestion d'aliments et de sols contaminés, le contact et l'absorption *via* l'épithélium du pied depuis des surfaces contaminées et l'inhalation de substances toxiques. Certains composés étrangers (xénobiotiques) peuvent intervenir directement dans la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), par exemple le superoxyde et les peroxydes, qui peuvent endommager les biomolécules et affecter la voie de signalisation (Hofer, 2021). De plus, les xénobiotiques peuvent également induire indirectement un stress oxydatif en affectant les enzymes antioxydantes et les antioxydants non enzymatiques. De telles altérations peuvent être utilisées comme biomarqueurs efficaces pour étudier la pollution environnementale. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) peuvent causer des dommages cellulaires en perturbant l'ADN, en oxydant les lipides et en modifiant les protéines (Huang et al. 2017). El-Gendy et al. (2009) ont montré chez l'escargot *Theba pisana* que l'exposition à un pesticide à base de cuivre entraînait la production d'espèces réactives de l'oxygène ainsi que l'augmentation de la production de défenses antioxydantes. En effet, les xénobiotiques (métaux lourds, pesticides HAPs, PCBs) sont une des causes majeures qui peuvent provoquer le stress oxydant.

L'utilisation de biomarqueurs du stress oxydatif, notamment le glutathion réductase-GSH, la glutathion-S-transférase-GST, le malonedialdéhyde-MDA, et la catalase-CAT, présentent un intérêt potentiel pour l'évaluation de l'impact des polluants chez les animaux en conditions de terrain (Abdel-Halim et al. 2013 ; Larba et Soltani, 2014 ; Bairi et al. 2018 ; Douafer et al. 2020). Ils font désormais partie intégrante de l'évaluation de la santé des écosystèmes (Rodriguez-Ruiz et al. 2014 ; Mleiki et al. 2017 ; Douafer et al. 2020).

Le glutathion (GSH) est l'antioxydant hydrosoluble de faible poids moléculaire le plus présent dans les cellules (Deneke et Fanburg, 1989). C'est un biomarqueur important du stress oxydatif en raison de son utilisation pour la conjugaison et/ou de sa participation comme antioxydant à la neutralisation des radicaux libres produits par les xénobiotiques, et au maintien de l'équilibre redox intracellulaire dans les cellules de mammifères (Lu, 1999).

Dans le cadre de cette étude, nous avons enregistré des taux relativement faibles en GSH dans les hépatopancréas des escargots récoltés dans la zone de B'kira par rapport à ceux de la zone d'Ibn Ziad, et ceci quelque soit le stade de développement. La diminution des niveaux de GSH dans les échantillons analysés des escargots examinés semble être un bon bioindicateur des impacts des polluants présents. En effet, une telle situation reflète la présence d'un stress oxydant chez *H. aspersa* dû au fait que cette zone soit localisée en bordures de route ; les sols

reçoivent des quantités importantes de polluants provenant du trafic routier notamment les éléments traces métalliques. Belhiouani (2019) a rapporté des valeurs extrêmes en Cd, Cr, Cu, Pb et Zn dans les sols superficiels de cette zone de l'ordre de 0.37, 72.8, 28.2, 63.7, et 109.7 µg/g, respectivement. Ces concentrations dépassent largement les fonds géochimiques des sols, et peuvent ainsi être responsables de perturbations remarquables aussi bien pour la faune que pour la flore.

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes qui jouent un rôle important dans la détoxification de composés intermédiaires électrophiles. La fonction des GSTs la plus connue est leur activité de catalyser des réactions de conjugaison entre, le glutathion et des substances nocives pour diminuer leurs réactivités avec les macromolécules intracellulaires, ce qui augmente l'activité du système GST chez les organismes exposés aux xénobiotiques (Merrington et al. 2002 ; Bensaci et al. 2019). Dans le cadre de cette étude, des taux élevés en GST sont enregistrés dans les tissus hépatopancréatiques des escargots récoltés dans la zone de B'kira. Cette augmentation est plus remarquable chez les adultes et sub-adultes que les juvéniles. Une telle situation pourrait être attribuée à une mesure de protection contre la toxicité des substances polluantes présentes dans le sol. Une telle constatation est en accord avec les conclusions de Bansaci et al. (2019), Larba et al. (2014), Regoli et al. (2006) ; en effet, lors d'essais expérimentaux de différents xénobiotiques en conditions contrôlées sur *Helix aspersa*, ces auteurs ont signalé une induction de l'activité GST. De même, Sabrina et al. (2015) en étudiant les marqueurs biochimiques du stress oxydant chez le ver de terre *Eisenia andrei* après exposition à un herbicide (Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, 2,4-D), ont enregistré une augmentation de l'activité enzymatique de la GST. Une élévation de la GST a également été observée chez plusieurs autres espèces d'escargots exposées à divers polluants comme : *Theba pisana* traité avec des doses sublétales de Cu, Pb, et Zn (Radwan et al. 2010) ; *Cepaea nemoralis* exposé à un sol contaminé par des éléments traces métalliques (Boshoff et al. 2015); *Eobania vermiculata* collectée sur des sites contaminés par des métaux et des produits agricoles (El-Shenawy et al. 2012) ; et *Cantareus apertus* exposée à des oligo-éléments métalliques (Mleiki et al. 2017).

Par ailleurs, un des marqueurs les plus utilisés pour évaluer le statut oxydatif sont ceux de la peroxydation lipidique. Un des meilleurs marqueurs de cette réaction est le malonedialdéhyde (MDA). Des taux élevés de MDA révèlent un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (Delattre et al. 2005). Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude, ont révélé des taux en MDA relativement faible chez les escargots récoltés dans la zone de

B'kira notamment dans le cas des individus adultes. Ce faible taux en MDA peut être lié à la réduction des lipides plasmatiques. Une telle hypothèse est en accord avec les conclusions de Touati (2016) qui a enregistré une diminution de l'activité MDA au niveau de l'hépatopancréas de la même espèce en présence de CdSe sous forme de nanoparticules métalliques.

La catalase est un biomarqueur important du stress oxydatif en raison de son utilisation comme un catalyseur qui permet une décomposition rapide de l'eau oxygénée (H_2O_2). Les taux en catalase enregistrés dans le cadre de cette étude sont nettement faibles dans la zone urbaine (B'kira) par rapport à la zone de référence (Ibn Ziad). Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Sana et al. (2022), et ceux de Atailia et al. (2016) qui ont enregistré une baisse de l'activité catalase chez *H. aspersa* exposés à des concentrations croissantes en éléments traces métalliques en conditions de laboratoire et de terrain.

Globalement, les résultats obtenus dans le cadre de cette étude ont confirmé les conclusions de Sahraoui (2022) et Belhiouani (2019) relatifs à la perturbation de la zone de B'kira. En effet, ces auteurs ont enregistré des taux élevés en éléments traces métalliques dans les sols notamment en cadmium, cuivre, chrome, plomb et zinc. L'exposition chronique des gastéropodes pulmonés terrestres aux polluants en conditions de terrain provoque des changements dans les systèmes non enzymatiques et enzymatiques de biomarqueurs, et peut également être responsable du développement d'un stress oxydatif. Dans cette étude, la variation significative des taux des paramètres révélateurs de stress oxydant (GSH, GST, MDA, CAT) chez *H. aspersa* semble être influencée non seulement par la zone d'étude mais aussi par le stade de développement. Les juvéniles pourraient être associés à une durée de vie plus courte, car un stress accru peut compromettre leur santé et leur capacité à survivre. En revanche, des taux plus bas d'indicateurs de stress chez les adultes pourraient contribuer à une longévité accrue, car ils sont mieux équipés pour faire face aux défis environnementaux et aux stress potentiels.

Conclusion et perspectives

La perturbation des sols est devenue un enjeu majeur à l'échelle mondiale, entraînant des répercussions graves sur les écosystèmes et la santé humaine. L'escargot *Helix aspersa* se révèle être un indicateur précieux des perturbations dues à l'activité anthropique ; ce dernier étant particulièrement sensible aux polluants du sol. C'est pourquoi il est souvent utilisé pour évaluer la qualité des sols dans les zones contaminées. En effet, les gastéropodes pulmonés terrestres, sont reconnus comme d'excellents indicateurs écologiques en raison de leur capacité à accumuler et à révéler la présence des polluants dans le milieu *via* la mesure de différents paramètres.

Notre étude vise à explorer le profil du stress oxydant par la mesure du glutathion réduit (GSH), de la glutathion S-transférase (GST), du malondialdéhyde (MDA), et de l'activité catalase (CAT) chez des individus de l'espèce *Helix aspersa* appartenant à différents stades de développement (juvéniles, sub-adultes et adultes), et vise ainsi, à confirmer l'utilisation de cette espèce comme indicateur de stress oxydant.

La quantification des biomarqueurs révélateurs de stress oxydant chez les *H. aspersa* récoltés dans les deux zones investiguées (Ibn Ziad, Bkira), a montré des fluctuations considérables des taux de ces biomarqueurs entre les zones mais aussi en entre les stades de développement.

A l'issu de ce travail, les conclusions auxquelles nous sommes parvenus peuvent se résumer comme suit :

- Les taux en GSH sont relativement faibles dans les hépatopancreas des escargots récoltés dans la zone de B'kira par rapport à ceux de la zone d'Ibn Ziad ; ceci suggère la présence d'un stress oxydant chez *H. aspersa* dû au fait que cette zone soit localisée en bordures de route. Ce stress est accentué chez es adultes ;
- Les résultats de la GST confirment ceux du GSH. En effet, les taux élevés pourraient être attribués à une mesure de protection contre la toxicité des substances polluantes présentes dans le sol ;
- Pour le MDA, les taux faibles enregistrés dans les hépatopancreas des escargots récoltés dans la zone de B'kira peuvent être liés à la réduction des lipides plasmatiques, révélant ainsi un stress oxydatif chez *H. aspersa* ;
- Les taux en catalase enregistrés sont nettement faibles dans la zone urbaine (B'kira) par rapport à la zone de référence (Ibn Ziad). Ceci révèle, un état de stress oxydatif chez *H. aspersa* exprimé par une inhibition de l'activité CAT.

Nos résultats ont clairement montré des perturbations considérables, et confirment l'utilité de *H. aspersa* dans les processus d'évaluation de l'état de santé de santé des écosystèmes. Le

stress oxydatif peut être causé par l'exposition chronique des gastéropodes pulmonés terrestres aux polluants en milieu naturel, ce qui entraîne des modifications dans les systèmes non enzymatiques et enzymatiques des biomarqueurs.

Comme perspectives à cette étude et à ces résultats, il serait intéressant :

- De quantifier d'autres paramètres du stress oxydant (glutathionperoxydase-GSH-Px, acétylcholinestérase-AChE, super oxyde dismutase-SOD, etc.) ;
- Étudier l'histologie de l'hépatopancréas dans les deux zones, et pour les différents stades de développement ;
- Investiguer d'autres zones contaminées dans le constantinois et Nord-Est Algérien ;
- Mesurer les mêmes paramètres en conditions contrôlées ;
- Effectuer des études similaires sur d'autres modèles biologiques;

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Aarab N. 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves: de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain, sciences de l'environnement. Thèse de doctorat, Ecotoxicologie des milieux aquatique. Université Bordeaux 1. 276 p.
- Adriano D.C. 2001.** Trace elements in terrestrial environments. Biochemistry bioavailability and risks of metals, 2nd Edition. New York: Springer-Verlag. 867 pages.
- Aebi H. 1983.** Catalase in vitro. In : Packer, L. (ed.), Methods in enzymology, 105, Academic Press Publisher, London, pp. 121-126.
- Agrawal Y., Isha G., Payal M. 2021.** Review on Bioremediation of Metal Contaminated Soils. Journal of Bioremediation & Biodegradation. 11(4):469.
- Alloway B.J. 2013.** Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils, in: Heavy Metals in Soils, Environmental Pollution. Springer, Dordrecht, pp. 11-50.
- Al-Mutairi D.A., Craik J.D., Batinic-Haberle I., Benov L.T. 2007.** Induction of oxidative cell damage by photo-treatment with zinc metal N-methylpyridylporphyrin. Free radical research. 41, 89-96.
- Anwar M., Margomez I., El Menif N.T. 2017.** Green garden snail, *Cantareus apertus*, as biomonitor and sentinel for integrative metal pollution assessment in roadside soils. Environmental Science and Pollution Research, 24(28), 24644-24656.
- Bairi Y., Sifi K., Soltani N. 2018.** Growth and Responses of Biomarkers in the Snail *Helix aspersa* (Mollusca, Gastropoda) used as Bioindicator of Soil Pollution in Northeast of Algeria. In Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. (pp. 339-341). Springer, Cham.
- Baize D. 1997.** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France) : Références et stratégies d'interprétation. Programme ASPITET. INRA Editions, Paris. 409p.
- Baker A.J.M. and Walker P.L. 1990.** Ecophysiology of Metal Uptake by Tolerant Plants. In: Shaw, A.J., Ed., Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects, CRC Press, Boca Raton, 155-177.
- Ballatori N., Krance M.S., Notenboom S. 2009.** Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. Biol Chem. 390 (3) : 191-214.
- Belhiouani H. 2019.** Utilisation intégrée des escargots pour la surveillance de la contamination métallique des sols : approches chimique, biologique et écotoxicologique. Thèse doctorat 3^{ème} cycle. Université Frères Mentouri Constantine. 269 p.

- Belhiouani H., El HadeF-El-Okki M., Afri-Mehennaoui F.Z., Sahli L. 2019.** Terrestrial gastropod diversity, distribution and abundance in areas with and without anthropogenic disturbances, Northeast Algeria. *Biodiversitas J. Biol. Divers.* 20, 243-249.
- Besnaci S., Bouacha M., Chaker A., Babouri Y., Bensoltane S. 2015.** Impact des nanoparticules de silice fumée (SiO₂) sur des indicateurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa*. *Bull. Soc. R. Sci. Liege.* 91(1), 11-22.
- Bonnet J.C., Aupinel P., Vrillon J.L. 2019.** L'escargot *Helix aspersa*: biologie-élevage. Edition Quae. Surgères. 126p.
- Bonnet J.C., Aupinel P., Vrillon J.L. 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Éditions Quae. Paris, 124p.
- Boshoff M., Jordaens K., Baguet S., Bervoets L. 2015.** Trace metal transfer in a soil-plant-snail microcosm field experiment and biomarker responses in snails. *Ecological Indicators.* 48, 636-648.
- Boucenna M. 2016.** Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nanotoxicologique du Fe₂O₃ et Al₂O₃. Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar, Annaba-Algérie. 191p.
- Boucheseiche C., Crémille E., Pelte T., Pojer K. 2002.** Pollution toxique et écotoxicologie : Notions de base. Guide technique N°7 du SDAGE Rhône Méditerranée-Corse. 83p
- Bouzahouane H. 2019.** Biosurveillance environnementale du littoral Est-Algérien à travers l'utilisation d'un mollusque gastéropode *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767) : approche multi-marqueurs et évaluation de la pollution métallique. Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar, Annaba-Algérie. 219p.
- Bouzi I. 2019.** Développement et évaluation d'une méthode à base de mousse pour l'oxydation améliorée de sols insaturés contaminés par des hydrocarbures Thèse de doctorat. Université de Franche-Comté. 208p.
- Breivik K., A. Sweetman J. Pacyna K.J. 2002.** Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners-a mass balance approach. Global production and consumption. *The Science of the Total Environment*, 290(1-3):181-98.
- Buron-Mousseau F. 2014.** Accouplement de Petit-gris. Dans *Zoologie* (consulté en ligne).
- Calvet R. 2013.** Le sol. Constitution, propriétés physiques, physico chimiques et chimiques ; organismes vivants : rôles, biodisponibilité de l'eau, des nutriments et des substances toxiques; qualité des sols, relation avec la qualité de l'air et des eaux. Ed. France agricole. Paris. 678p.
- Calvet R. 2005.** Structure du sol in : Le sol: propriétés et fonctions. Constitution, structure, phénomènes aux interfaces. Ed. France agricole. Paris. 219-251.

- Cheriti O., Belhiouani H., El-Hadef-El-Okki M., Neubert E., Sahli L. 2022.** Inventory of land snails from the Kebir Rhumel basin, Northeast of Algeria Biodiversity, 22(2):1-21.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M.C., Babut M., Exinger A., Vasseur P. 1997.** Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus* as biomarkers of aquatic contamination in field studies. Ecotoxicol. Environ. Saf. 38(2), 122-131.
- Dallinger R. and Wieser W. 1984.** Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. Comparative Biochemistry and Physiology part C: Comparative Pharmacology, 79(1), 117-124.
- Delattre Jacques. Beaudoux J-L., Bonnefont-Rousselont D. 2005.** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Paris ; Londres ; New-York : Tec & Doc Lavoisier. 548p.
- Deneke S.M., Fanburg B.L. 1989.** Cellulaire and molecular physiology. Increase in endothelial cell glutathione and precursor amino acid uptake by diethyl maleate and hyperoxi. 257, 265-271.
- Doran J., Jones A., Arshad M. Gilley J. 1999.** Determinants of Soil Quality and Health. In Soil quality and soil erosion Madison, WI: Soil. Science Society of America, Special Publication. 329p.
- Douafer L. 2010.** Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa* (Mollusca, Gasteropoda): inventaire, activité enzymatique et composition physicochimique du sol. Magister en Biologie et Physiologie Animale, Université Badji Mokhtar-Annaba. 98p.
- Doukour C. 2007.** Application de la modélisation neuronale à l'évaluation du risque de contamination des eaux souterraines par les pesticides. Thèse de doctorat en cotutelle. Université du Québec-Canada et Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse-France.187p.
- Duarte A., Cachada A., Rocha-Santos T. 2018.** Soil Pollution: From Monitoring to Remediation Armando Duarte, Anabela Cachada & Teresa Rocha-Santos, eds. Academic Press/Elsevier. 296p.
- Duchaufour P. 1977.** Introduction à la science du sol. Sol, végétation environnement.6^{ème} Edition. Dunod, Paris, 331p.
- Edwards N.T. 1983.** Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) in the Terrestrial Environment A Review. Journal of Environmental Quality. 12(4): 427-441.

- El Bishlawi H., Shin J.Y., Jaffe P.R. 2013.** Trace metal dynamics in the sediments of a constructed and natural urban tidal marsh: The role of iron, sulfide, and organic complexation. *Ecol. Eng.*, 58: 133-141.
- 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 (Northeast Algeria). *Toxicological & Environmental Chemistry.* 98 (1):1-11, 53-63.
- Ellman G.L. 1959.** Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 82, 70-77.
- El-Shenawy N.S., Mohammadden A. Al-Fahmie Z.H. 2012.** Using the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system of the land snail *Eobania vermiculata* as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution. *Ecotoxicology and environmental safety.* 84:347-54.
- Fatmé M. 2019.** Contamination par les polluants organiques persistants et émergents une étude de cas : la rivière Kadicha. Sciences de la Terre. Thèse de doctorat. Université Montpellier et Université Libanaise. 264p.
- Fernandez C., Labanowski J., Cambier P., Jongmans A.G. 2007.** Fate of airborne metal pollution in soils as related to agricultural management : Zn and Pb distributions in soil profiles. *Eur J. Soil. Sci.*, 58: 547-559.
- Galaris D., Evangelou A. 2002.** The role of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 42 (1), 93-103.
- George. 1990.** Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione-S-transferases. *Fish Physiology and Biochemistry.* 8, 437-449.
- Girard M.C., Walter C., Rémy J.C., Berthelin J., Morel J.L. 2011.** Sols et environnement. 2^{ème} édition. Dunod. Paris. 865 p.
- Grara N. 2011.** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba. 280.
- Guy Y. 2007.** Réflexions sur les critères de choix d'indicateurs de pression phytosanitaire. *Courrier de l'environnement de l'INRA*, N° 54, p.113-120.
- Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B., 1974.** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry.* 249, 7130-7139.
- Hattab S., Boughattas I., Boussetta H., Viarengo A., 2015.** Transcriptional expression levels and biochemical markers of oxidative stress in the earthworm *Eisenia andrei* after exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122(2-5), 76-82.

- Hofer T. 2021.** Oxidative Stress in Human Toxicology Department of Environmental Health. Antioxidants, 21, 10(8):1159.
- Huang Q., Bai K., Zhang J., He J., Zhang L., Wang T. 2017.** Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* fmbJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens Poultry. Science Association Inc. pp 74-82.
- Kerney M., Cameron R., Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe. Delachaux et Niestlé SA, Paris. 288 p.
- Larba R., Soltani N. 2014.** Use of the land snail *Helix aspersa* for monitoring heavy metal soil contamination in northeast Algeria. Environmental Monitoring and Assessment, 186 4987-4995.
- Li F., Zhou L., Liu J. X., Liang Y., Zhang G.J. 2019.** High-entropy pyrochlores with low thermal conductivity for thermal barrier coating materials. Journal of Advanced Ceramics, 8(4), 576-582.
- Louzon M, Pauget B, Gimbert F, Morin-Crini N, Gomot-De Vaufleury A. 2020.** Ex situ environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus*. Sci. Total Environ. 721:13778.
- Lu S.C. 1999.** Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies. FASEB J. 13(10):1169-83.
- Mathieu C. and Lozet J. 2011.** Dictionnaire encyclopédique de science du sol. Editions Tech & Doc. Paris. 733 p.
- Mehouel F., Bouayad L., Berber A., Van Hauteghem I., Van de Wiele M. 2021.** Analysis and risk assessment of arsenic, cadmium and lead in two fish species (*Sardina pilchardus* and *Xiphias gladius*) from Algerian coastal water. Food Additives & Contaminants. Part A 36, 1515-1521.
- Meijer S.N., Ockenden W.A., Sweetman A., Breivik K., Grimalt J.O., Jones K.C. 2003.** Global distribution and budget of PCBs and HCB in background surface soils: Implications for sources and environmental Processes, Environ. Sci. Technol. 37, 667-672.
- Melila M., Poutouli W., Amouzou K., Tchangbedji G., Tchaou M., Doh A., Goto C., 2012.** Induction du stress oxydatif chez l'homme suite à la bioconcentration des éléments traces métalliques (cadmium et plomb) par voie trophique à Kpémé (Sud du Togo). Int. J. Biol. Chem. Sci., 6(3): 1263-1270.

- Merrington G., Nfa L.W., Parkinson R., Redman M., Winder L. 2002.** Agricultural pollution: environmental problems and practical solutions. 1^{ère} edition. Spon Press Ed. London. 264p.
- Myriam El Ati-Hellal & Faycal Hellal. 2021.** Heavy Metals in the Environment and Health Impact. Chapter Book. Takemi Otsuki Ed. Japan. p14.
- Ohkawa H ., Ohishi N., Yagi K. 1979.** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 95, 2: 351-358.
- Pampanin D.M., Camus L., Gomiero A., Marangon I., Volpato E., Nasci C. 2005.** Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venic Lagoon (Italy). Mar.Pollut. Bull, 50, 1548-15557.
- Pauget B. 2012.** Détermination des facteurs du sol modulant la bio disponibilité et l'accumulation des métaux pour l'escargot (*cantareusaspersus*). Thèse de doctorat à l'université de Franche-Comté. 196.
- Piel P. 2014.** Schéma d'un Petit-gris en position de ponte. Dans Gastéropodes : escargot Petit-Gris. Consulté en ligne.
- Radwan M.A., El-Gendy K.S., Gad A.F. 2010.** Biomarkers of oxidative stress in the landsnail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution.Chemosphere. 79 (1): 40-46.
- Regoli F., Gorbi S., Fattorini D., Tedesco S., Notti A., Machella N., Bocchetti R., Benedetti M., Piva F., 2006.** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: An integrated approach. Environmental Health Perspectives. 114, 63-69.
- Rickson R.J. 2014.** Can control of soil erosion mitigate water pollution by sediments? Article in Press. Sci. The Science of The Total Environment. 468(1-4).
- Rodríguez-Eugenio N., McLaughlin M. and Pennock D. 2018.** Soil Pollution: A Hidden Reality. Rome, FAO.142p.
- 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 Frères Mentouri Constantine 1. 184p.
- Sahraoui A.S., Verweij A.R., 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.
- Sheila T. 2013.** Garden Snails Hibernating. Consulté en ligne. <https://sciencephotogallery.com/featured/garden-snails-hibernating-sheila-terry.html>

- Solé M., Porte C., Albaiges J., 1995.** Seasonal variation in the mixed-function oxygenase system and antioxidant enzymes of the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environment. Toxic. Chem.* 14, 157-164.
- Hadi Hassan Al-Taai S. 2021.** Soil Pollution-Causes and Effects. : Earth and Environmental Science. First International Virtual Conference on Environment & Natural Resources. *Earth Environ. Sci.* 790, 012009.
- Swiergosz-Kowalewska R. 2001.** Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents. *Microscopy Research and Technique.* 55, 208-222.
- Velasco J., Marmesat S., Marquez-Ruiz G., Dobarganes M.C. 2004.** Formation of short-chain glycerol-bound oxidation products and oxidised monomeric triacylglycerols during deep-frying and occurrence in used frying fats. *Eur J Lipid Sci Technol.* 106:728.
- Zaafour M. 2014.** Étude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*, Gastropoda: Stylommatophora; Helicidae) dans la région Nord-Est. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annab. 109p.
- Zaoui L. 2017.** Evaluation de la pollution des sols et des eaux de la plaine de Bounamoussa et essais de dépollution. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba. 137p.
- Zekri J., Rached O., Sahli L., Yilmaz M.A., Temel H. et Tahar A., 2019.** Assessment of soil contamination and plant stress tolerance in an antimony mining area: case study for *Scabiosa atropurpurea* L. and *Santolina chamaecyparissus*. *Environment and Ecology* 37: 747-757.

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par :

RAHMOUNI Cherifa

BRAMKI Lamis

Evaluation du stress oxydatif chez *Helix aspersa* en conditions de terrain

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Écologie Fondamentale et Appliquée.

Résumé :

Les organismes vivant dans le sol, sont soumis à des fluctuations régulières des paramètres abiotiques, ainsi qu'à une contamination chimique du milieu due aux activités anthropiques. Ils sont donc sujets à des stress multiples auxquels ils doivent faire face. A l'heure actuelle, les biomarqueurs du stress oxydant présentent un intérêt particulier pour l'évaluation de l'impact de la présence des polluants dans le sol sur la faune en conditions de terrain.

C'est dans cette optique que s'inscrit cette étude relative à l'utilisation du gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* comme modèle biologique dans la surveillance de la qualité des sols en mesurant des biomarqueurs de stress oxydant à savoir : le glutathion réductase-GSH, la glutathion-S-transférase-GST, le malonedialdéhyde-MDA, et la catalase-CAT. Les individus utilisés ont été récoltés dans une zone de référence (Ibn Ziad à Constantine), et une zone perturbée (bordures de la RN°03 reliant le centre ville de Constantine à la commune de Hamma Bouziane en passant par B'kira).

Les résultats obtenus ont révélé des perturbations considérables ; en effet, des taux faibles en GSH et élevés en GST ont été enregistrés dans la zone de B'kira par rapport à celle d'Ibn Ziad. Des taux faibles en MDA et la baisse de l'activité catalase ont également été notés reflétant un état de stress considérable chez *H. aspersa*. Cette étude confirme l'utilité de *H. aspersa* dans les processus d'évaluation des risques écologiques liés à la contamination des sols par différents types de polluants.

Mots-clefs : *Helix aspersa*, stress oxydant, GSH, GST, MDA, CAT.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biologie et Environnement.

Département : Écologie et Environnement.

Université Constantine 1- Frères Mentouri.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Touati Laid

Pr.

U. Constantine1 Frères Mentouri

Encadrant : Sahli Leila

Pr.

U. Constantine1 Frères Mentouri

Examineur: El HadeF El Okki Mohamed

MC(A)

U. Constantine1 Frères Mentouri

Date de soutenance : 12/06/2024