



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 :

**Biomarqueurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa* :
suivi de la qualité des sols en milieu urbain à
Constantine**

Présenté et soutenu par :

BENMANSOUR Dhikra Aouatef

Le 12/06/2025

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Touati Laid	Pr.	U. Constantine 1 Frères Mentouri
Encadrant :	Sahli Leila	Pr.	U. Constantine 1 Frères Mentouri
Examinateur :	Boughaba Rokia	MA(A)	U. Constantine 1 Frères Mentouri

Remerciements

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, le Clément, le Miséricordieux, qui m'a accordé la santé, la patience, la force et l'inspiration nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans Sa volonté et Sa bénédiction, rien de tout cela n'aurait été possible.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à Madame SAHLI Leila, professeur à l'université Constantine 1, Frères Mentouri, encadrante de ce mémoire, pour son accompagnement rigoureux, ses conseils précieux et sa disponibilité tout au long de ce travail. Sa bienveillance et ses remarques pertinentes ont grandement contribué à l'élaboration et à l'aboutissement de ce mémoire.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers M. TOUATI Laid, l'université Constantine 1, Frères Mentouri, pour avoir accepté de présider le jury. Je lui suis reconnaissante pour tous les conseils et orientations qu'il m'a prodigués au cours de ma formation. L'intérêt qu'ils ont porté à ce travail, ainsi que pour leurs observations constructives.

Je remercie Madame Boughaba Rokia, Maître assistante (A), à l'université Constantine 1, Frères Mentouri, d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, ainsi que pour ses observations constructives.

Aussi je remercie Mr. EL HADEF EL OKKI Mohamed, et Mr. SAHRAOUI, pour nous avoir accompagné sur terrain et je remercie Madame BELHIOUANI pour m'avoir accompagné au laboratoire de l'université Constantine 1, Frères Mentouri.

Je remercie chaleureusement toutes les personnes rencontrées dans ce contexte pour leur soutien, leur collaboration et leur gentillesse.

Je n'oublie pas de remercier mes parents, pour leur encouragement constant, leur patience et leur soutien moral tout au long de mes études.

Enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce travail, je dis un grand merci

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à la fille de 21 ans que j'étais, celle qui avait peur après avoir changé plusieurs fois de spécialité. Je veux lui dire que ce sont justement ces "mauvais choix" qui m'ont menée là où je suis aujourd'hui. Grâce à eux, j'ai appris, grandi, et surmonté de nombreuses difficultés.

À mon père, qui m'a toujours soutenue avec patience et prévoyance, et qui m'a encouragée dans les moindres détails au fil des années : merci du fond du cœur.

À ma mère, mon amie préférée, qui a été présente dans mes hauts comme dans mes bas, qui m'a écoutée, conseillée, et aimée sans conditions : ce diplôme est autant le vôtre que le mien.

À mes deux chers frères, Youssef et Abdou, ce diplôme est aussi le fruit de vos encouragements constants.

À ma tante Fella et son époux Ahmed, qui m'ont, dès l'enfance, encouragée à aimer la science et transmis la passion des livres.

À mon oncle Torki, qui a toujours été là pour moi lorsque j'avais besoin d'aide.

À mes amis rencontrés à la Fondation Friedrich Ebert, pour les moments précieux partagés.

À l'équipe du Green Dreamers Club, avec laquelle j'ai eu le bonheur de collaborer, ainsi qu'à toutes les personnes croisées au cours des programmes et événements : merci pour votre inspiration et votre aide tout au long de ces années.

À la mémoire de mes grands-parents et de mes oncles disparus, qui continuent de vivre dans mon cœur.

Enfin, à tous les enseignants qui m'ont encouragée, inspirée, et qui ont cru en moi : je vous en suis profondément reconnaissante

Dhikra Aouatef

Résumé

La pollution de l'environnement, dont la cause est industrielle, agricole ou urbaine, concerne l'introduction de composés toxiques dans les écosystèmes naturels, tels que les éléments traces métalliques, les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, etc. Ces composés ont le potentiel de transformer en profondeur la physiologie des organismes vivants, principalement lorsque les organismes sont exposés pendant de longues périodes à ces derniers dans leur milieu de vie. L'un des biorythmes principaux de l'exposition est l'induction du stress oxydatif.

En ce sens, les biomarqueurs jouent un rôle important dans l'évaluation de l'état de santé des écosystèmes. Ils permettent une surveillance plus sensible et plus réactive de la pollution, pouvant même servir de mécanismes d'alerte précoce. C'est conformément à cette approche que cette étude a été réalisée en utilisant le gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* comme modèle biologique pour le suivi de la qualité des sols en milieu urbain. Trois biomarqueurs du stress oxydatif ont été explorés : le glutathion (GSH), la glutathion-S-transférase (GST) et le malonodialdéhyde (MDA). Les échantillons de *H. aspersa* ont été pris dans deux stations : une de référence, et l'autre perturbée.

Les résultats ont indiqué des perturbations biologiques remarquables. En effet, les taux du GSH et de la GST sont significativement bas au niveau de la station perturbée par rapport à la station témoin, tandis que le MDA est élevé. Une telle situation reflète sans doute un état de stress oxydatif chez *H. aspersa*. Ce stress est accentué chez les individus adultes.

De telles observations confirment encore une fois l'utilité de cette espèce en tant que bioindicateur pour évaluer l'état de santé des écosystèmes.

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

Abstract

Environmental pollution, whether from industrial, agricultural, or urban activities, involves the introduction of harmful substances into natural ecosystems, such as trace metals, pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, etc. These substances have the potential to severely alter the physiology of organisms, especially when organisms are exposed chronically to these substances in the environment. One of the major biological rhythms disrupted by exposure is the induction of oxidative stress.

In this context, biomarkers are useful in establishing the health status of ecosystems. They enable the monitoring of pollution to be more responsive and sensitive and even serve as early warning systems. Considering this approach, the present study was conducted using the terrestrial pulmonate gastropod *Helix aspersa* as a biological model for urban soil quality monitoring. Three oxidative stress biomarkers were investigated: glutathione (GSH), glutathione-S-transferase (GST), and malondialdehyde (MDA). *H. aspersa* samples were collected from two stations: a reference station and a disturbed station.

The analysis showed that there were significant biological disruptions. Indeed, GSH and GST were significantly lower in the disturbed site compared to the control site, while MDA was higher. This situation clearly shows a state of oxidative stress in *H. aspersa*, which is more pronounced in adult individuals. These results once more confirm the appropriateness of this species as a bioindicator for assessing the health of ecosystems.

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

ملخص

تلوث البيئة ، الناتج عن الانشطة الصناعية او الزراعية او الحضرية، يتعلق بادخال مركبات سامة الى النظم البيئية الطبيعية، مثل العناصر المعدنية، والمعادن، والهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات وغيرها . بمتلك هذه المركبات القدرة على احداث تغيرات عميقة في فيسيولوجيا الكائنات الحية، خاصة عندما تتعرض هذه الكائنات لها لفترات طويلة في بيئتها.

ومن بين الوسائل البيولوجية الرئيسية المرتبطة بالتلوث هو تحفيز الاجهاد التاكسدي . و في هذا السياق ، تلعب المؤشرات البيولوجية دورا مهما في تقييم الحالة الصحية للنظم البيئية فهي تنتج مراقبة اكبر حساسية و استجابة للتلوث ، بل و قد تعمل كآليات انذار مبكر و انطلاقا من هذا النهج تم اجراء هذه الدراسة باستخدام الحلزون البري *Helix aspersa* كنموذج بيولوجي لمتابعة جودة التربة في البيئة الحضرية . وقد تم دراسة ثلاثة مؤشرات :

الجلوتاثيون ريدكتاز -GSH، انزيم جلوتاثيون-S-ترانسفيراز GST، و MDA المالوندالهيد ، تم أخذ عينات من *H. aspersa* من محطتين، واحدة مرجعية و أخرى متأثرة بالتلوث : أظهرت النتائج اضطرابات بيولوجية ملحوظة، إذ كانت مستويات GST و GSH منخفضة بشكل كبير في المحطة المتأثرة مقارنة بالمحطة المرجعية، بينما كانت مستويات MDA مرتفعة مقارنة بالمحطة المرجعية و لقد كان الاجهاد التاكسدي أكثر وضوحا ادى الافراد البالغين .
تؤكد هذه الملاحظات مرة أخرى فائدة هذا النوع كمؤشر حيوي لتقييم الحالة الصحية للنظم البيئية

الكلمات المفتاحية : *Helix aspersa*, GST, MDA, GSH, الاجهاد التاكسدي

Liste des abréviations

% : Pourcentage ;

°C : Degré Celsius ;

µM /mg:Micromole par milligramme

ANOVA: Analyse de la variance

AOX : Adsorbable Organic Halogen

CABI : Centre for Agricultural Bioscience International

CAT : Catalase

CAPAE : Centre anti poison environnemental,

CDNB : 1-chloro, 2,4- dinitrobenzène

CEC : capacité d'échange cationique

COV: composés organiques volatils

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

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

ETMs : Éléments traces métalliques

GPx : Glutathion peroxydase

GSH : Glutathion réduit

GST : Glutathions transférase

HAPs : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

LPO : peroxydation des lipides

MDA : Malonedialdéhyde

MDDEP: Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des parcs

PBS : Tampon phosphate salin

PCBs : Polychlorobiphényles

PCDD: polychorodibeno-dioxine

PCDF: polychorodibeno-furanes

POPs : Polluants organiques persistants

SOD : Superoxyde dismutase

TBA : Acide thio-barbiturique

TCA : Acide trichloroacétique.

TCDD: 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine

TNB : Acide thionitrobenzoïque

Liste des tableaux

Tableau 01 : données statistiques (minimum, maximum, moyenne±écartype) des indicateurs de stress oxydant chez <i>H. aspersa</i> ($\mu\text{M}/\text{mg}$)(a, b : groups homogènes-Test Newan-Keuls-Effet station)	30
--	----

Listes des figures

Figure 01 : Anatomie générale externe (a) et interne (b) des escargots (sources : www.projetecolo.com ; www.aquaportal.com).....	09
Figure 02 : Voies d'exposition des escargots aux polluants (Gendy et al. 2021).....	12
Figure 03 : Utilisation <i>d'Helix aspersa</i> et de <i>Pinus nigra</i> comme bioindicateurs pour étudier la pollution atmosphérique temporelle dans le nord du Liban (Baroudi et al. 2019).....	14
Figure 04 : Réponses des biomarqueurs chez les gastéropodes terrestres exposés aux polluants (Radwan et al. 2020).....	16
Figure 05 : Localisation géographique de la zone d'étude (source : google maps 2025)....	19
Figure 06 : Situation géographique de la station 01 (Source: google maps 2025).....	20
Figure 07 : Etat des lieux au niveau de la station 01 (photos prises le 10 avril 2025).....	21
Figure 08 : Situation géographique de la station 2 (source: google maps 2025).....	22
Figure 09 : Etat des lieux au niveau de la station 02 (photos prises le 10 avril 2025).....	23
Figure 10 : <i>Helix aspersa</i> dans son habitat naturel (photos prises le 10 avril 2025).....	24
Figure 11 : Opération de dissection d' <i>Helix aspersa</i>	25
Figure 12 : préparation de l'homogénat (Photos prises le 13/05/2025).....	26
Figure 13 : Opérations de détermination des biomarqueurs indicateurs du stress oxydant chez <i>Helixa aspersa</i> (Photos prise le 13/05/2025)	28
Figure 14 : Variation spatiale des taux en GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des <i>H. aspersa</i> (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les stations 01 (PC) et 02 (ME). (a, ab, b, : groups homogènes-Test Tukey-effet stade de développement).....	31
Figure 15 : Variation spatiale des taux en GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des <i>H. aspersa</i> (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les stations 01 (PC) et 02 (ME). (a, ab, b, : groups homogènes-Test Tukey-effet stade de développement).....	32
Figure 16 : Variation spatiale des taux en MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des <i>H. aspersa</i> (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les station 01 (PC) et 02 (ME).....	33

Tables des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. La pollution des sols en milieu urbain	03
I.1.1. Définition de la pollution des sols	03
I.1.2. Origine et source de la pollution des sols en milieu urbain.....	03
I.1.3. Les principaux polluants des sols en milieu urbain.....	03
I.1.3.1. Les polluants organiques.....	03
I.1.3.1.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).....	03
I.1.3.1.2. Les polychlorobiphényles (PCB).....	03
I.1.3.1.3. Les polychorodibenzo-dioxine (PCDD) et polychorodibenzo-furanes (PCDF)	04
I.3.3.1.4. Les composés organiques volatils (COV).....	04
I.1.3.2. Les polluants inorganiques.....	05
I.2. La pollution des sols et la bio-indication.....	05
I.2.1. Définition de la bio-indication.....	05
I.2.2. Les caractéristiques d'un bon bio-indicateur.....	06
1.2.3. Utilisation des escargots en tant que bioindicateur en milieu terrestre généralités sur l'espèce <i>Helix aspersa</i>	06
1.2.3.1. Biologie et écologie de l'espèce.....	06
1.2.3.1.1. Biologie	06
1.2.3.1.2. Ecologie.....	07

I.2.3.2. Classification de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	07
I.2.3.3. Anatomie externe et interne des escargots.....	08
I.2.3.3.1. Anatomie externe.....	09
I.2.3.3.2. Anatomie interne.....	10
I.3. Utilisation des biomarqueurs dans l'étude du stress oxydatif chez <i>Helix aspersa</i>.....	11
I.3.1. Voies d'exposition aux polluants contenus dans le sol.....	11
I.3.1.1. Ingestion de sol contaminé.....	12
I.3.1.2. Absorption alimentaire à partir de plantes contaminées.....	13
I.3.1.3. Absorption cutanée.....	13
I.3.1.4. Exposition via la voie respiratoire.....	13
I.3.2. Accumulation des polluants chez <i>Helix aspersa</i>	14
I.3.2.1. Répartition tissulaire des polluants.....	14
I.3.2.2. Facteurs influençant l'accumulation des polluants.....	15
I.3.3. Les biomarqueurs du stress oxydatif chez <i>Helix aspersa</i>	15
I.3.3.1. Superoxyde dismutase (SOD).....	16
I.3.3.2. Catalase (CAT).....	16
I.3.3.3. Glutathion peroxydase (GPx).....	17
I.3.3.4. le glutathion reduit (GSH).....	17
I.3.3.5. Le glutathion-S transférase (GST).....	17

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Récolte des escargots sur terrain.....	19
II.1.1. Présentation de la zone d'échantillonnage.....	19
II.1.1.1. La station 01.....	20
II.1.1.2. La station 02.....	21
II.1.2. Récolte des escargots sur terrain.....	23
II.1.2.1. Choix de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	23
II.1.2.2. Mode de récolte des escargots	24
II.2. Tri des escargots	24
II.3. Détermination des biomarqueurs indicateurs de stress oxydant chez <i>Helix aspersa</i>.....	24
II.3.1. Préparation des individus.....	24

II.3.2. Détermination des biomarqueurs.....	25
II.3.2.1. Dosage du glutathion réductase (GSH).....	26
II.3.2.2. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST).....	27
II.3.2.3. Dosage du malonodialdéhyde (MDA).....	27
II.4. Traitement statistiques des données.....	28

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Les paramètres indicateurs de stress oxydant chez <i>Helix aspersa</i>.....	30
III.1.1. Le glutathion réductase (GSH).....	30
III.1.2. La glutathion-S-transférase (GST).....	31
III.1.3. Le malonodialdéhyde (MDA).....	33
III.2. Discussion.....	34
Conclusion et Perspectives.....	37
Références bibliographiques	39

Introduction

La pollution, véritable maladie pour la santé de notre planète, est une menace sérieuse pour toute forme de vie (Chawla et al. 2024). Ses conséquences néfastes sur la biodiversité, les écosystèmes et la santé humaine constituent un problème environnemental mondial majeur (Shetty et al. 2023). En dehors des impacts immédiats, la pollution altère profondément les équilibres écologiques et la qualité de vie humaine. Parmi les différentes formes de pollution, les rejets d'effluents domestiques et industriels constituent une source majeure de contamination. Riches en matière organique et en nutriments, ils transportent également des substances chimiques indésirables telles que des éléments traces métalliques (Chaney, 1988). Celle des sols est devenue un enjeu environnemental critique, principalement en raison des activités humaines telles que l'industrialisation, les pratiques agricoles intensives et la mauvaise gestion des déchets. Cette pollution, souvent liée aux déchets organiques ou aux éléments traces métalliques, affecte non seulement la fertilité des sols, mais aussi leur stabilité. Le nord-est de l'Algérie n'est pas loin de ses perturbations anthropiques. La pollution métallique résultant des activités humaines constitue l'un des principaux risques. Plusieurs études ont été menées dans ce sens notamment celles relatives à la contamination des eaux, des sédiments, des sols, des végétaux et de la pédofaune du constantinois par les éléments traces métalliques (Afri-Mehennaoui et al. 2004 ; Ouahrani et Gheribi, 2007 ; Sahli et al. 2011, 2012, 2014, 2021 ; krika et al.2013 ; El Hadef El Okki et al. 2016 ; Zekri et al. 2019 ; Sahli et Belhiouani, 2021 ; Taiba et al. 2022). Contrairement aux polluants organiques, les ETM ne se dégradent ni chimiquement ni biologiquement. Ils peuvent persister longtemps dans l'environnement, s'y accumuler et représenter une menace sérieuse pour les êtres vivants (Ayangbenro and Babalola, 2017). La caractérisation physico-chimique des écosystèmes, en particulier la mesure des concentrations en polluants, est perçue comme une méthode directe d'évaluation du niveau de pollution d'un écosystème. Toutefois, cette méthode reste insuffisante ; en, effet, les résultats ne permettent ni de déterminer, ni d'évaluer la portion réellement accessible aux êtres vivants. C'est pour cette raison qu'il est important de la combiner avec les approches écologiques comme la bioindication qui facilite une surveillance efficace des écosystèmes. Par exemple, la genette commune (*Genetta genetta*) a été utilisée comme espèce sentinelle pour évaluer la santé de l'écosystème d'Edough d'Annaba (Belbel et al. 2025). De plus, les gastéropodes terrestres pulmonés comme *Helix aspersa* sont d'excellents bioindicateurs de la pollution du sol par les polluants organiques et inorganiques (Sahraoui et al. 2021). Cette espèce encore plus sensible que le ver de terre (*Lumbricus terrestris*) pour la détection de la contamination du sol, stocke les polluants via différentes voies d'exposition : digestive, respiratoire et cutanée (Vaufleury , 2000).

À nos jours, les biomarqueurs jouent également un rôle essentiel en matière d'évaluation de la santé des écosystèmes, en plus des analyses chimiques traditionnelles (Boyd, 2010). La détermination des biomarqueurs est susceptibles de fonctionner comme des systèmes d'alerte anticipée pour le suivi environnemental terrestre (E-lshenawy et al. 2012), car la pollution provoque des stress oxydatifs qui induisent des mécanismes de défense antioxydante aux organismes exposés (Tlili et al. 2010). Ces mécanismes incluent des systèmes enzymatiques comme la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GSH-Px), la catalase et la glutathion S-transférase (GST) (Larba, 2014). C'est donc dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui explore l'utilisation du gastéropode terrestre *H. aspersa* comme modèle biologique pour détecter la qualité écologique des milieux. Ainsi, des biomarqueurs du stress oxydatif sont quantifiés chez des individus recueillis dans deux stations : une station éloignée de toute source de perturbation anthropique considérée comme témoin, et une autre station située en aval de la ville de Constantine et considérée comme perturbée. Trois stades de développement sont pris en compte : juvénile, sub-adulte et adulte. La raison pour laquelle *H. aspersa* a été sélectionnée comme modèle biologique est attribuée à sa large aire de répartition géographique aussi bien dans des zones non perturbées que perturbées, sa régularité, son abondance dans le Nord-Est algérien et sa capacité avérée à agir comme bioindicateur de la pollution des sols (Zaafour, 2014 ; Belhiouani et al. 2019 ; Sahraoui et al. 2022 ; Cheriti et al. 2022).

Ce manuscrit est composé de trois chapitres, en plus de l'introduction et de la conclusion :

Chapitre 1 : Une synthèse bibliographique qui présente un état de l'art sur la thématique traité dans le cadre de cette étude.

Chapitre 2 : La section « Matériel et Méthodes », qui décrit la démarche expérimentale adopté sur terrain et au laboratoire depuis l'échantillonnage jusqu'à la quantification des biomarqueurs de stress oxydatif chez *H. aspersa*.

Chapitre 3 : Présentation et discussion des résultats obtenus, étayées de représentations graphiques (tableaux et histogrammes), et de traitement statistique.

Finalement, une conclusion et des perspectives de recherche viennent compléter cette étude.

Chapitre 01: Synthèse bibliographique

I.1. La pollution des sols en milieu urbain

I.1.1. Définition de la pollution des sols

La pollution des sols implique l'introduction de contaminants tels que les éléments traces métalliques (plomb, cadmium, arsenic, etc.), les polluants organiques (pesticides, produits chimiques industriels, etc.) et d'autres substances nocives dans la matrice du sol. Ces contaminants peuvent provenir de sources naturelles ou anthropiques, les activités humaines étant le principal contributeur dans la plupart des cas (Singh, 2024).

I.1.2. Origine et source de la pollution des sols en milieu urbain

Les activités humaines sont la cause principale de la pollution des sols en milieu urbain. Les procédés industriels, notamment l'exploitation minière et l'industrie manufacturière, ont toujours été les principales causes de pollution des sols. En effet, les zones industrielles présentent généralement des concentrations beaucoup plus élevées d'oligo-éléments et de contaminants organiques. Cela est dû aux rejets intentionnels et non intentionnels des procédés industriels directement dans l'environnement, notamment dans le sol, les plans d'eau adjacents et l'atmosphère (Ajmone-Marsan et Biasioli, 2010). Les contaminants présents dans les sols urbains peuvent également avoir une origine plus lointaine (pollution diffuse) et provenir des dépôts atmosphériques d'émissions provenant d'activités industrielles et artisanales (Douay et al. 2007).

I.1.3. Les principaux polluants des sols en milieu urbain

I.1.3.1. Les polluants organiques

I.1.3.1.1. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) constituent un groupe de substances chimiques contenant au moins deux cycles benzéniques, généralement formés suite à la combustion incomplète de matières organiques. L'exposition aux HAP est difficile à éviter compte tenu de leur omniprésence dans les combustibles fossiles, les contenants en plastique et en caoutchouc, etc (Touraud et al. 2002). Ainsi, ils affectent les communautés microbiennes et les insectes du sol, qui sont essentiels au cycle des nutriments et à la décomposition de la matière organique (Sushma et Chinmayi, 2024).

I.1.3.1.2. Les polychlorobiphényles (PCB)

Les polychlorobiphényles (PCB) sont dérivés du biphenyl par substitution de 1 à 10 atomes d'hydrogène par des atomes de chlore. Chaque groupe homologue possède un nombre

spécifique d'isomères. Les PCB sont produits et utilisés dans le monde entier en grandes quantités (environ 1,3 million de tonnes au total) depuis de nombreuses années comme huiles de transformateur, huiles hydrauliques, fluides caloporteurs, additifs pour plastiques, colorants et papier autocopiant. La production de PCB a été arrêtée à l'échelle mondiale entre la fin des années 1970 et le début des années 1980, après que les autorités ont pris conscience de leurs effets néfastes sur l'environnement, en raison de leur persistance, de leurs propriétés bioaccumulables et de leur toxicité (Stohs, 2014). Les PCB contribuent à la pollution des sols, avec des implications environnementales et sanitaires importantes (Romianingsih, 2023). Ils causent des dommages aux écosystèmes par la perturbation d'équilibre écologique, affectant les micro-organismes du sol et la santé des plantes (Romianingsih, 2023).

I.1.3.1.3. Les polychlorodibenzo-dioxine (PCDD) et polychlorodibenzo-furanes (PCDF)

Les Polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD ou dioxines) et les Polychlorodibenzo-p-furanes (PCDF ou furanes) appartiennent à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques halogénés. Les PCDD/F sont composés de deux cycles benzéniques interconnectés par un ou deux atomes d'oxygène. Les PCDD/F sont des molécules très toxiques, qui persistent dans l'environnement et peuvent être transportées sur de longues distances. Ils ont tendance à s'accumuler facilement dans les tissus vivants. 17 molécules sont systématiquement surveillées à cause de leur haut degré de toxicité. Parmi eux, le 2,3,7,8-tétrachlorodibenzodioxine (ou TCDD) (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 2006). Les zones industrielles et urbaines présentent des concentrations plus élevées de ces polluants en raison des émissions locales provenant de la fabrication de produits chimiques et de la gestion des déchets (Tran et al. 2024).

I.3.3.1.4. Les composés organiques volatils (COV)

La définition d'un composé organique volatil (COV) repose à la fois sur des critères chimiques et physiques. En effet, les COV sont tout d'abord des composés organiques, c'est-à-dire des composés contenant au moins l'élément carbone et un ou plusieurs autres éléments tels que l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, les halogènes (fluor, chlore, brome, iodé), le soufre, le phosphore, le silicium, etc. De plus, les COV se caractérisent par leur grande volatilité : ils passent facilement de l'état liquide à l'état gazeux, dans les conditions normales de pression et de température (Grange et al. 2007). Les COV sont directement issus des activités humaines. En effet, les composés carbonylés dont l'acétone, la MEK, le MIBK et le méthylglyoxal, sont

présents dans les carburants automobiles et sont émis lors de la combustion incomplète de ces carburants (Kean et al. 2001).

I.1.3.2. Les polluants inorganiques

Les polluants inorganiques, notamment les éléments traces métalliques (ETM) comme le cadmium, le chrome, le cuivre, le manganèse, le nickel, le plomb et le zinc, contribuent de manière significative à la pollution des sols, notamment autour des sites industriels et miniers. Ils sont principalement issus des activités humaines et sont libérés lors des opérations de fabrication et d'exploitation minière (Ogundiran et al. 2024). Ils ont comme source aussi les pratiques agricoles à cause de l'utilisation d'engrais et de pesticides chimiques contenant des métalloïdes et d'autres substances inorganiques (Singh, 2024). Aussi une mauvaise élimination des déchets municipaux et industriels peut entraîner la lixiviation de métaux nocifs dans le sol (Ogundiran et al. 2024).

I.2. La pollution des sols et la bio-indication

I.2.1. Définition de la bio-indication

L'intégrité écologique d'un milieu naturel est déterminée par la combinaison de son degré d'intégrité chimique, physique et biologique. La dégradation d'une ou plusieurs de ces composantes se manifeste généralement dans la biocénose, c'est-à-dire dans les différentes communautés biologiques (Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs, 2011). En ce sens, les altérations morphologiques, comportementales, tissulaires ou physiologiques, ainsi que l'abondance, le succès reproductif et la mortalité des espèces animales et végétales constituent des variables observables et mesurables reflétant l'état de santé de leur habitat (Harrag, 2012). La bio-indication réfère donc à un processus d'analyse de divers indicateurs biologiques qui s'inscrit dans la bio-surveillance de la qualité des écosystèmes. Selon la définition de Banaru et Perez (2010), reprise par plusieurs autres auteurs, un bioindicateur 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 ou d'un écocomplexe et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées ». Le recours aux bio-indicateurs constitue donc une mesure indirecte, substitutive, d'un phénomène écologique.

I.2.2. Les caractéristiques d'un bon bio-indicateur

Un bon bioindicateur doit présenter les caractéristiques suivantes tel la pertinence qui joue un rôle important dans l'écosystème et la cohérence avec le problème posé, aussi la fiabilité car il couvre une large distribution et prélèvement facile, et la sensibilité ou la réponse est mesurable, il doit être aussi reproductible ça veut dire que la réponse est la même à différentes perturbations similaires dans l'espace (Centre Anti Poison Environnemental, 2020). Un bon bioindicateur possède plusieurs caractéristiques clés qui renforcent son efficacité dans la surveillance de la santé environnementale. Tout d'abord, sa sensibilité est cruciale ; un bioindicateur doit détecter les faibles variations des conditions environnementales afin de fournir des signes qui précèdent la dégradation de l'écosystème. En effet, la surveillance indirecte des contaminants gagne en importance en raison de sa grande sensibilité et, par conséquent, de son champ d'application en pleine expansion. Grâce à leur spécificité et à leur sensibilité élevées, les bioindicateurs constituent un système d'analyse exceptionnel pour la surveillance des polluants environnementaux (Upadhyay et Verma, 2015). De plus, la pertinence par rapport à l'écosystème spécifique ou au problème environnemental surveillé est également essentielle, garantissant que les données collectées sont significatives. Afin de les rendre accessibles aux gestionnaires de sites, les informations bioindicatrices complexes doivent être traitées et visualisées sous forme de cartes et de modèles (Sienkiewicz et al. 2024)

1.2.3. Utilisation des escargots en tant que bioindicateur en milieu terrestre : généralités sur l'espèce *Helix aspersa*

1.2.3.1. Biologie et écologie de l'espèce

1.2.3.1.1. Biologie

L'escargot « Petit-gris », *Helix aspersa*, se distingue des autres espèces de ce genre par sa taille plus réduite, son diamètre pouvant aller de 30 à 40 mm et son poids vif adulte généralement compris entre 6 et 15g.

L'escargot *Helix aspersa*, bien qu'il soit un mollusque sourd et presque aveugle, possède deux épithéliums olfactifs très puissants au bout de ses tentacules. Il détecte les odeurs simplement en agitant ses tentacules. Il est capable d'identifier une cible à plus de cent mètres autour de lui. Il porte une coquille calcaire à motifs variables mais le plus souvent brune rayée de noir. Sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre. La coquille d'*Helix aspersa* est gris jaunâtre souvent ornée de 1 à 5 bandes interrompues, brun violacé (Zaafour, 2014).

Les *Helix aspersa* sont des hermaphrodites mais sont incapables de s'autoféconder (Falkner et al. 2001). Un escargot mature s'accouple de 2 à 6 fois en une seule saison et l'accouplement nécessite de 4 à 12 heures. Ainsi, les deux animaux reçoivent des spermatozoïdes en très grand nombre (chaque ejaculat contient environ $5,5 \times 10^6$) à chaque accouplement (Centre for Agricultural Bioscience International, 2020).

1.2.3.1.2. Ecologie

La niche écologique des escargots est très variée. Grâce à leur incroyable capacité d'adaptation, ils réussissent à survivre même dans des conditions climatiques extrêmes et en situation de pénurie alimentaire qui rendraient la survie presque impossible. Ces mollusques font face à chaque obstacle avec une résistance passive, en s'efforçant de ne pas gaspiller leur énergie. Ils ont une capacité exceptionnelle à jeûner (Karamoko, 2009).

L'espèce est principalement actif durant la nuit et lors des périodes humides. Lors des périodes trop sèches, il se met en estivation en se fixant sur une paroi et en scellant sa coquille avec un film blanc, appelé épiphragme. En Europe, dès le mois d'octobre, l'escargot entre en hibernation en se terrant dans le sol ou en se réfugiant dans les fissures des murs. Il a tendance à reprendre ses activités au printemps lorsque les températures se situent autour de 12 à 14°C (Kerney et Cameron, 2006). Tout comme les autres escargots, il se nourrit à l'aide d'une langue dentée appelée radula comportant entre 1500 et 2500 dents.

Helix aspersa est un escargot comestible largement présent en Algérie et facile à collecter. On le trouve surtout dans les jardins, les terrains agricoles, les zones en friche et les haies. Il est caractérisé par une alimentation herbivore de type généraliste. La diversité des plantes qui constituent sa nourriture font de lui un consommateur majeur dans les biotopes où il évolue. Les herbivores ont un impact significatif sur la composition des communautés végétales et le fonctionnement des écosystèmes (Baptiste et al. 2014).

1.2.3.2. Classification de l'espèce *Helix aspersa*

Il fait partie de la classe des Gastropodes, il possède un poumon (ou cavité palléale), ce qui le situe dans la sous classe des Pulmonés, il appartient au sous ordre des Stylommatophores, caractérisés par le port des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. Sa coquille enroulée caractérise la famille des Hélicidés ; sa spirale tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre, pouvant contenir tout son corps. La masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columbaire.

Selon Bonnet et al. (1990), sa position systématique est la suivante :

Règne : Animalia

Embranchement : Mollusca

Classe : Gastéropode

Sous-classe : Pulmoné

Ordre : Stylomatophora

Super-famille : Helicacea

Famille : Helicidae

Sous famille : Helicinae

Genre : Helix

Espèce : *Helix aspersa* (Müller, 1774)

I.2.3.3. Anatomie externe et interne des escargots

Les escargots notamment *Helix aspersa*, sont composés d'un corps mou et visqueux en raison de la présence du mucus. La figure 01 illustre l'anatomie externe (a) et interne (b) des escargots.

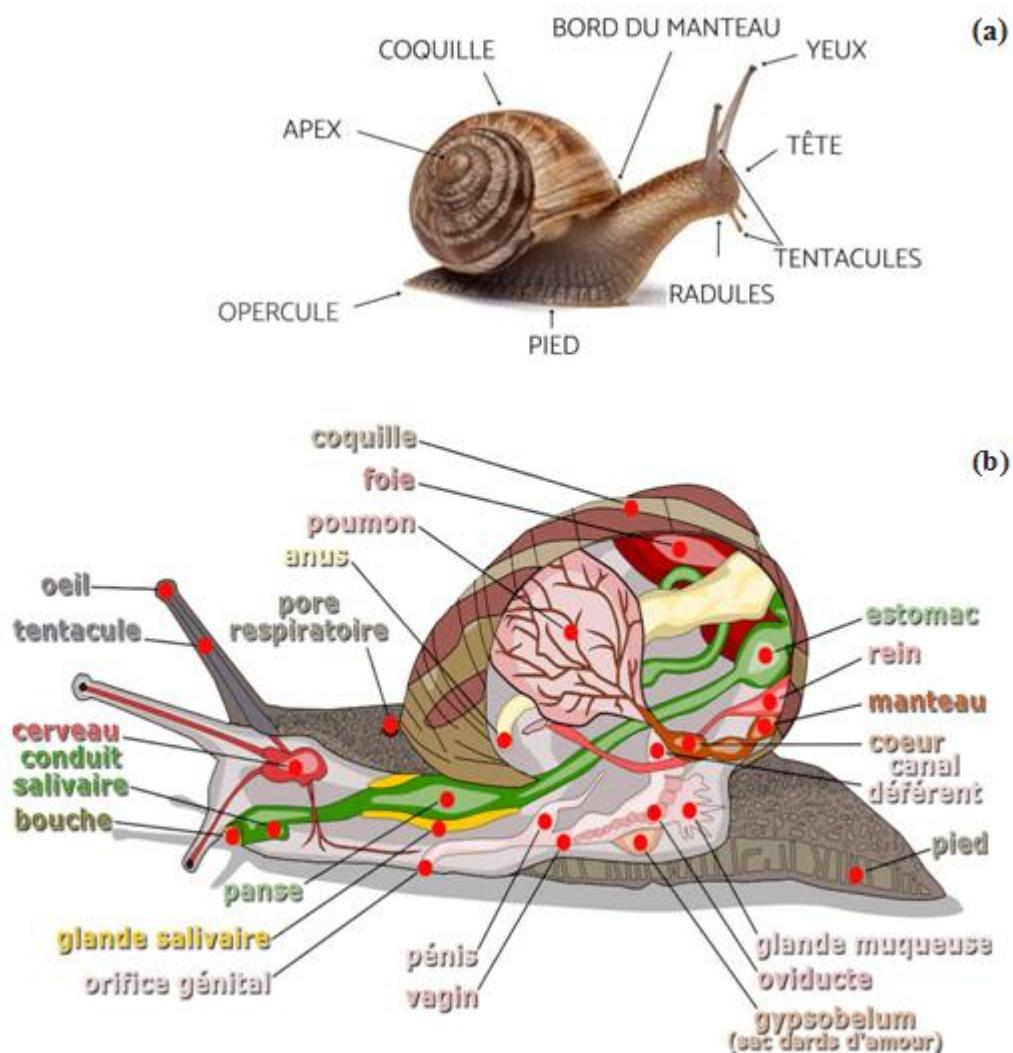


Figure 01 : Anatomie générale externe (a) et interne (b) des escargots
 (sources : www.projetecolo.com; www.aquaportal.com)

I.2.3.3.1. Anatomie externe

D'un point de vue anatomie externe, l'escargot est constitué essentiellement de trois parties : la tête, le pied et la masse viscérale (Bonnet et al. 1990).

a- La tête

Elle comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens qui sont constitués de deux paires de tentacules (Didier, 2006). Les tentacules antérieurs, petits et renflés en bouton

à leur extrémité, ont un rôle tactile et gustatif ; les tentacules postérieurs, les plus grands, également renflés au sommet, portent à leur extrémité un œil logé du côté externe et un organe olfactif (Guyard, 2009).

b- Le pied

L'animal en extension fait apparaître un muscle appelé le pied. Il aide l'animal à se déplacer.

Le pied comprend une tête sur laquelle se trouvent deux paires de tentacules (Mebirouk, 2016). 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 (Zaafour, 2013).

c- La masse viscérale

Cette masse est contenue dans la coquille spiralée de l'escargot et est reliée au pied musculaire, qui est la partie visible lors de l'extension. Elle s'appelle aussi le tortillon (Djadouri et Ben Dahra, 2014).

En plus de ces trois parties essentielles, et comme illustré dans la figure 01 (b), nous remarquons également la présence de la coquille et de trois orifices.

d- La coquille

L'escargot *Helix aspersa* possède une coquille enroulée dans le sens des aiguilles d'une montre et secrétée par le manteau. Elle contient tout son corps (le pied et la masse viscérale). Elle est composée de protéines (2 %) et de minéraux (calcite et aragonite), (Pirame, 2003).

e- Les orifices impairs

Ils sont bien visibles sur le corps de l'animal. Nous distinguons : l'orifice génital situé en arrière du tentacule oculaire droit; l'orifice respiratoire situé sur le côté droit du bourrelet qui sépare la coquille du pied (bourrelet palléal), et qui s'ouvre et se ferme rythmiquement ; et enfin l'anus situé à proximité de l'orifice respiratoire, qui se révèle par l'apparition d'un petit cordon d'excréments verdâtres (Douafer, 2010).

I.2.3.3.2. Anatomie interne

Pour ce qui est de l'anatomie interne, nous distinguons ce qui suit :

a- Le système digestif

La bouche se prolonge par ce qu'on appelle le bulbe buccal en formant l'œsophage. Ce dernier se termine par l'estomac. L'estomac se prolonge à son tour et forme l'intestin (Pirame, 2003).

b- Le système nerveux

Le système nerveux des escargots est constitué de deux systèmes (Pirame, 2003). Un système nerveux sympathique formé d'une paire de ganglions buccaux qui se trouve sous le bulbe buccal et une paire de ganglions cérébroïdes qui sont reliés entre eux par deux cordons nerveux. Et un système nerveux central qui se localise dans la région céphalique et est constitué d'une chaîne de ganglions (Mebirouk, 2016).

c- Le système circulatoire :

Le cœur est constitué d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur. Le sang ou hémolymphé contient un pigment, l'hémocyanine. Il est incolore sous sa forme désoxydée et bleu sous sa forme oxydée. Le sang est propulsé dans le réseau artériel *via* deux aortes. L'aorte antérieure irrigue le pied et la postérieure le tortillon. Le sang revient au cœur par un système de veines et de sinus veineux (Piram, 2003).

d- L'appareil reproducteur :

Il faut rappeler que l'escargot est un animal hermaphrodite ; son appareil génital est formé de d'une gonade (ovotestis) qui est le lieu de formation des cellules sexuelles mâles et femelles et un canal hermaphrodite dont le rôle est l'évacuation des gamètes et un ovo-spermiducte (Pirame, 2003).

I.3. Utilisation des biomarqueurs dans l'étude du stress oxydatif chez *Helix aspersa***I.3.1. Voies d'exposition aux polluants contenus dans le sol**

A l'interface sol-plante-atmosphère, l'escargot intègre plusieurs sources de contaminations accessibles via différentes voies d'exposition : ingestion de sol, absorption alimentation, absorption cutanée, voie respiratoire (Figure 02).

Exposure

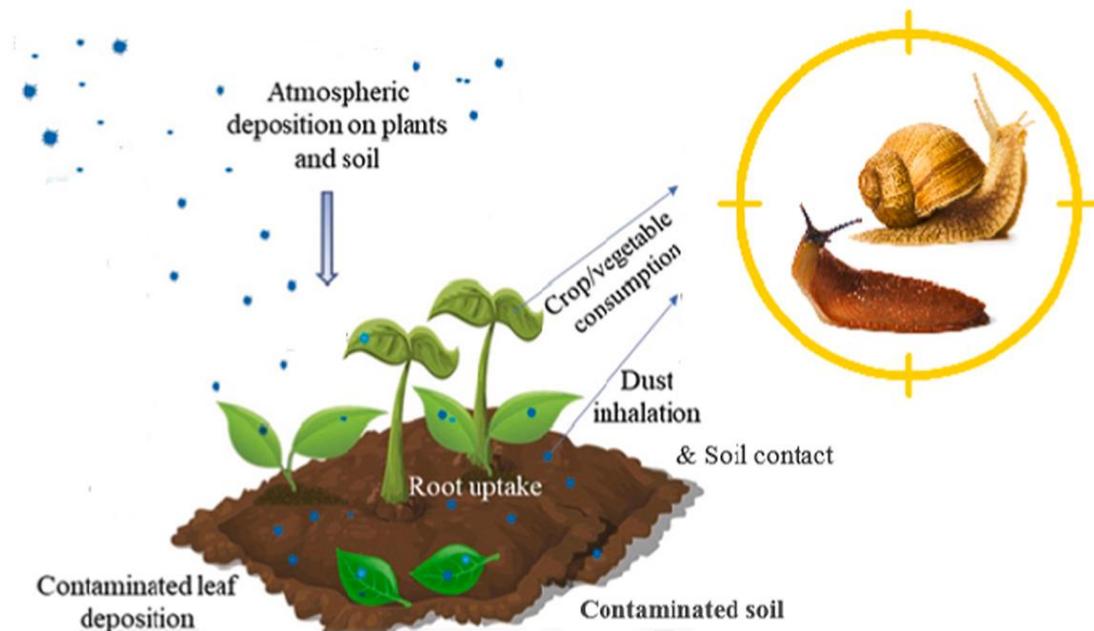


Figure 02: Voies d'exposition des escargots aux polluants (Gendy et al. 2021)

I.3.1.1. Ingestion de sol contaminé

Pour *Helix aspersa*, l'ingestion de sols contaminés est la principale source d'exposition aux ETM. Les escargots sont des êtres de terre et leur appareil digestif est conçu pour gérer les particules du sol, qui sont souvent adsorbées par divers éléments métalliques. Des recherches ont démontré que le taux de ETM dans les viscères de l'escargot est supérieur à celui du pied, ce qui suggère que l'absorption de ces derniers se fait principalement par ingestion (Belhiouani, 2019). En plus des ETM, *H. aspersa* peut aussi entrer en contact avec des polluants organiques persistants (POPs) tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), certains pesticides ou encore les polychlorobiphényles (PCB). Les POPs sont d'une nature lipophile, ce qui leur permet de s'accumuler dans les tissus adipeux des *H. aspersa*. Ils causent des effets toxiques variés comme l'altération du système enzymatique antioxydant, la modification du fonctionnement des glandes (perturbation endocrinienne) et des effets génotoxiques (Louzon et al. 2012).

I.3.1.2. Absorption alimentaire à partir de plantes contaminées

Helix aspersa peut également accumuler des ETM en consommant des plantes contaminées. Lors d'une étude en microcosme, Scheifler et al. (2006) ont montré que les escargots exposés à de la laitue cultivée dans un sol pollué accumulent considérablement le Cd, le Pb et le Zn dans leurs tissus mous. La dépendance du passage de ces ETM des végétaux aux escargots est liée à la nature du métal et à sa concentration dans les tissus des plantes. Par exemple, le Cd et le Zn sont transférés vers les escargots de manière plus efficace que le Pb, qui a un tendance à s'accumuler dans le sol. Lorsque les escargots consomment de la matière organique provenant du sol et des plantes, ils peuvent être contaminés par des polluants, ce qui entraîne leur exposition directe (Vaufleury, 2009).

I.3.1.3. Absorption cutanée

Bien que l'ingestion soit la principale source d'exposition, l'absorption par la peau participe aussi à l'exposition aux ETM et autres polluants chez *Helix aspersa*. Les escargots sont capables d'absorber les polluants à travers leurs pieds lorsqu'ils se déplacent sur des surfaces polluées. Cette approche revêt une importance particulière dans les contextes où les lixiviats des sols contiennent des concentrations élevées en ETM par exemple (Louzon et al. 2020). Des considérations sont nécessaires pour les endroits où il y a la présence de métaux lourds et des contaminants organiques, car les escargots sont capables d'absorber l'ensemble des polluants via la peau lorsqu'elle entre en contact avec un sol ou un bitume souillé (Carbone et Faggio, 2019).

I.3.1.4. Exposition *via* la voie respiratoire

À travers l'inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques (Regoli et al. 2006), des organismes terrestres comme *Helix aspersa* sont capables d'absorber une grande variété de polluants suspendus dans l'air. Ces polluants atmosphériques provenant de sources anthropiques, telles que le trafic motorisé, les activités industrielles et la combustion de biomasse, incluent des composés organiques volatils, ainsi que d'autres agents toxiques et des ETM. De tels polluants atmosphériques peuvent être inhalés dans les poumons, où ils peuvent s'accumuler dans divers tissus et produire une multitude d'effets biologiques, y compris le stress oxydatif, des changements pathologiques lents, des altérations enzymatiques, voire des dommages tissulaires (Carbone et Faggio, 2019). Cette voie d'exposition s'ajoute aux différentes voies de contamination environnementale qui incluent l'ingestion de particules contaminées, le contact avec un sol pollué et l'interaction directe avec le corps, ce qui

contribue de manière significative à la charge toxique globale subie par l'organisme. La figure 03 illustre l'intérêt de l'utilisation d'*Helix aspersa* comme bioindicateur de pollution atmosphérique .

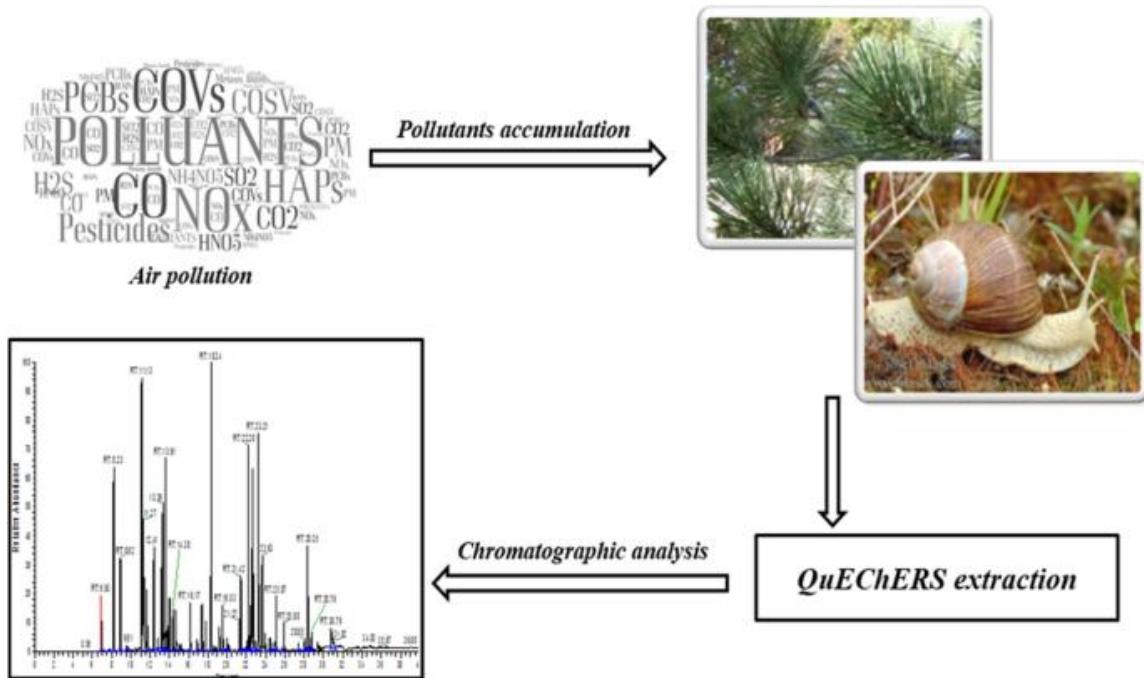


Figure 03 : Utilisation d'*Helix aspersa* et de *Pinus nigra* comme bioindicateurs pour étudier la pollution atmosphérique temporelle dans le nord du Liban (Baroudi et al. 2019)

I.3.2. Accumulation des polluants chez *Helix aspersa*

I.3.2.1. Répartition tissulaire des polluants

Dans les tissus de l'espèce *Helix aspersa*, la distribution des polluants n'est ni homogène ni aléatoire, mais dépend fortement de la nature chimique des substances et de leur affinité pour certains organes. L'hépatopancréas, une glande digestive majeure jouant un rôle central dans le métabolisme et la détoxification, est reconnu comme le principal site d'accumulation des ETM, en particulier du plomb (Pb), du zinc (Zn) et du cadmium (Cd). Cet organe agit comme un réservoir physiologique, capable de séquestrer temporairement ou à long terme ces éléments toxiques. Selon Nowakowska et Łaciak (2012), dans certains cas, les ETM peuvent être stockés dans la cellule sous forme liée à des métallothionéines ou à des granules intracellulaires, ce qui permet de limiter leur toxicité. En revanche, ces éléments peuvent être remobilisés dans le sang ou excrétés par voie digestive ou urinaire selon les besoins physiologiques de l'animal. L'hépatopancréas apparaît comme un site clé d'accumulation des

micro-contaminants organiques persistants (POPs) (tels que les HAP, les pesticides, les PCB, les dioxines, ...) qui, étant lipophiles, tendent à se concentrer dans les tissus riches en lipides, où ils perturbent le métabolisme énergétique, provoquent des stress oxydatifs, et perturbent les processus hormonaux et reproductifs (Louzon et al. 2012). De plus, certaines études ont indiqué la présence de résidus de médicaments et perturbateurs endocriniens dans les tissus de *H. aspersa*, détournant éventuellement l'attention de la pollution métallique, vers un éventuel éventail plus large de polluants organiques ou d'éléments traces (Fleuren et al. 2018).

I.3.2.2. Facteurs influençant l'accumulation des polluants

Des caractéristiques du sol, comme le pH, la quantité de matière organique et la capacité d'échange cationique (CEC), ont un impact notable sur la disponibilité des ETM par exemple pour *H. aspersa*. Dans les sols avec un pH bas et une faible concentration en matière organique, les ETM sont plus biodisponibles, ce qui provoque une plus grande accumulation dans le corps des escargots (Sahraoui et al. 2021). D'autres paramètres, comme la texture du sol, l'humidité ou la teneur en oxydes de fer et manganèse, influent également sur le devenir des polluants. Les oxydes de fer par exemple, peuvent adsorber certains polluants organiques de type HAP ou pesticides, tandis que la texture a un rôle dans la rétention et la circulation de l'eau et des polluants. Par exemple, l'humidité du sol favorise le transport des polluants vers le biota, particulièrement dans des situations de percolation, et peut par voie de conséquence accroître la charge d'exposition des organismes terrestres.

I.3.3. Les biomarqueurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa*

Les biomarqueurs du stress oxydatif sont des indicateurs biologiques permettant d'évaluer l'impact des espèces réactives de l'oxygène (ERO) sur les cellules et les tissus. L'exposition aux polluants tel que les éléments traces métalliques (ETM) peut induire un stress oxydatif, caractérisé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme. L'accumulation élevée de ces derniers dans le foie, les reins, le cœur et les branchies, est associée à une augmentation de la peroxydation lipidique et à des altérations des enzymes antioxydantes dans ces organes (Farombi et al. 2007). La figure 04 illustre les réponses des biomarqueurs chez les gastéropodes terrestres exposés aux polluants dans leurs habitats.

D'après l'étude de (Regoli et al. 2006) sur l'évaluation de l'impact toxique réel des polluants atmosphériques urbains (ETM et HAP) à travers des réponses biologiques et biochimiques

intégrées, une hausse notable de la peroxydation lipidique (MDA) ainsi qu'une dégradation de l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT) ont été enregistrés chez *Helix aspersa*.

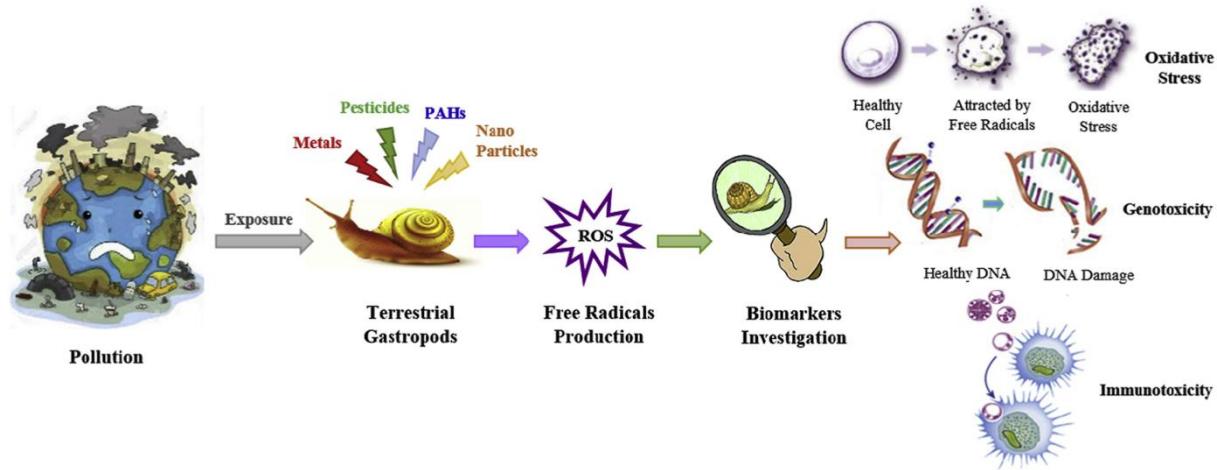


Figure 04 : Réponses des biomarqueurs chez les gastéropodes terrestres exposés aux polluants (Radwan et al. 2020)

I.3.1. Superoxyde dismutase (SOD)

La superoxyde dismutase (SOD) est une métalloprotéine essentielle qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde (O_2^-) en oxygène (O_2) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et ils se distinguent par les ions métalliques qui se trouvent dans leurs sites actifs tel que Mn-SOD et Fe-SOD et contribuant ainsi à la protection des cellules contre le stress oxydatif et il joue un rôle central dans la défense antioxydante, les niveaux élevés d'ETM perturbent les activités de ses ions métalliques qui sont des métaux constitutifs de la SOD, ce qui réduit sa lutte contre le stress oxydatif (Moutaouakkil et al. 2024).

I.3.2. Catalase (CAT)

Est une enzyme antioxydante essentielle qui protège les cellules en décomposant le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, et contient un site qui est composé des atomes de fer, son activité peut être affecté par les ETM ou causé même son inhibition. Le cuivre est le plus puissant inhibiteur de la catalase (Sukhdev, 2006) ; il est utilisé comme un marqueur de stress oxydatif chez les êtres vivants pour évaluer le taux de pollution par exemple chez les poissons carnivores exposés au plomb et au nickel. L'activité CAT peut diminuer de manière significative avec l'augmentation des concentrations en ETM (Arshad et al. 2018).

I.3.3. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est une sélénoprotéine composée de quatre sous-unités, chacune contenant un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine, essentielle à son activité enzymatique ce qui explique son effondrement en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium, ou même pour les ETM par exemple chez les escargots d'eau douce. L'exposition aux ETM peut entraîner une augmentation significative de l'activité GPx, indiquant une régulation positive des défenses antioxydantes (Mnkandla et al. 2019).

I.3.4. le glutathion reduit (GSH)

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Présent dans la majorité des cellules, il joue un rôle crucial en tant qu'anti oxydant endogène, protégeant les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène-ROS (Haleg et al. 2007). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress.

I.3.5. Le glutathion-S transférase (GST)

C'est une famille d'enzymes présentes chez les eucaryotes et les procaryotes. Les glutathion transférases (GSTs) constituent une superfamille ubiquitaire d'enzymes multifonctionnelles impliquées dans les processus de détoxication cellulaire en métabolisant des substrats exogènes appelés xénobiotiques et dans le métabolisme secondaire. Pour cela, ces enzymes peuvent catalyser la conjugaison d'une molécule de glutathion (GSH) sur les composés ciblés ou simplement les lier au travers d'une fonction ligandine. Alors que la fonction de conjugaison est catalysée par les GSTs possédant une sérine ou une tyrosine comme résidu catalytique, certaines d'entre elles possèdent à la place une cystéine. Cette substitution change radicalement leurs propriétés puisque les GSTs à cystéine (Cys-GSTs) catalysent plutôt des réactions de déglutathionylation (Lallement, 2018). L'exposition au cadmium peut entraîner

une diminution de l'activité des GST, augmentant la vulnérabilité des cellules au stress oxydatif (Dobritzsch et al. 2020). Les GST jouent un rôle important dans la protection cellulaire contre les substances toxiques.

Chapitre 2: Matériel et Méthodes

II.1. Récolte des escargots sur terrain

II.1.1. Présentation de la zone d'échantillonnage

La récolte des escargots a été effectuée dans deux stations localisées dans la wilaya de Constantine, l'une près du pont des chutes et l'autre à l'exutoire de Constantine près du pont d'El Menia.

Constantine est située au Nord Est de l'Algérie ($36^{\circ} 21' 0''$ N $6^{\circ} 35' 60''$ E). Elle est entourée par l'Atlas tellien au nord et l'Atlas saharien au sud ce qui lui confère un climat méditerranéen, souvent chaud et sec en été, et froid et humide en hiver. La figure 05 illustre la localisation géographique de la zone d'étude.

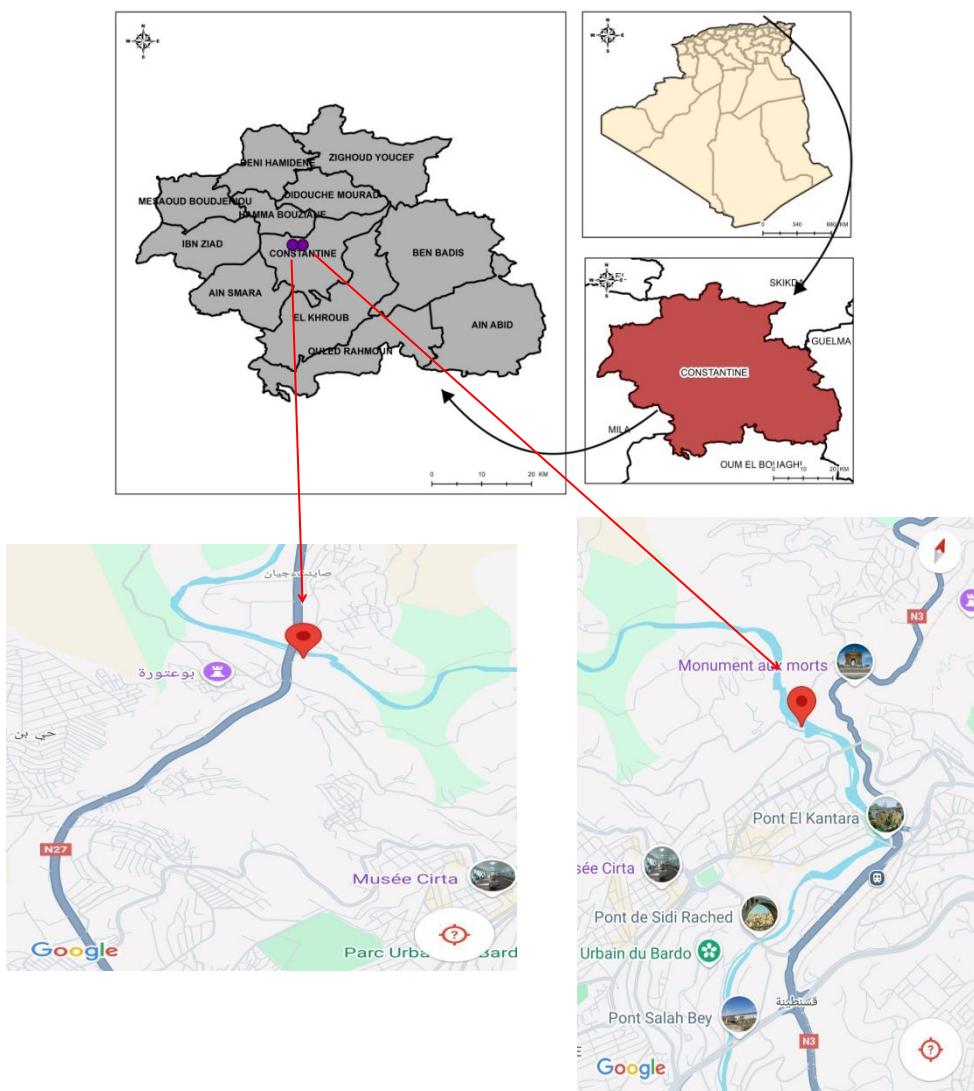


Figure 05 : Localisation géographique de la zone d'étude (source : google maps 2025)

II.1.1.1. La station 01

Cette station est située près du pont des chutes. Elle est loin des perturbations anthropiques et est considérée comme station de référence dans le cadre de cette étude. Ses coordonnées géographiques sont : 36°22'21.2"N 6°36'41.0"E. La localisation de ce point d'échantillonnage est illustrée par la figure 06. La figure 07 illustre l'état des lieux à niveau de ce point d'échantillonnage.

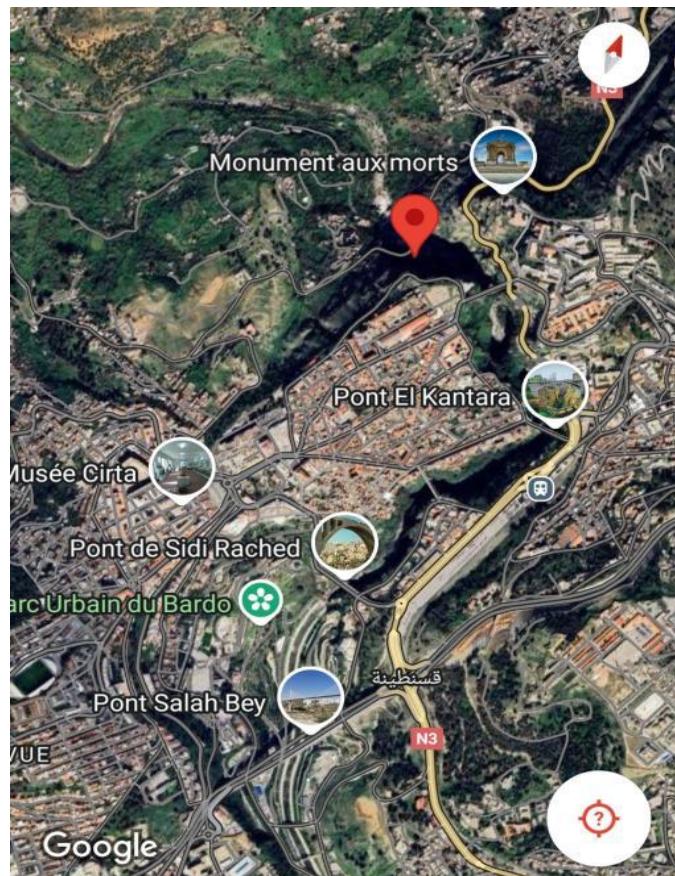


Figure 06 : Situation géographique de la station 01 (Source: google maps 2025)



Figure 07: Etat des lieux au niveau de la station 01 (photos prises le 10 avril 2025)

I.1.1.2. La station 02

Le deuxième point d'échantillonnage est localisé en aval de Constantine, sous le pont d'El Menia. Par rapport à la station 01, celle-ci est considérée comme perturbée. En effet plusieurs études relatives au niveau de contamination des eaux, des sédiments et des sols aux alentours de cette station ont révélé des situations préoccupantes (Sahli et al. 2011, El Hadef El Okki et al. 2016 ; Cheriti, 2022). Ses coordonnées GPS sont : 36°22'21.3"N 6°35'35.4"E, et la localisation géographique est illustrée par la figure 08. La figure 09 illustre l'état des lieux au niveau de ce point d'échantillonnage.

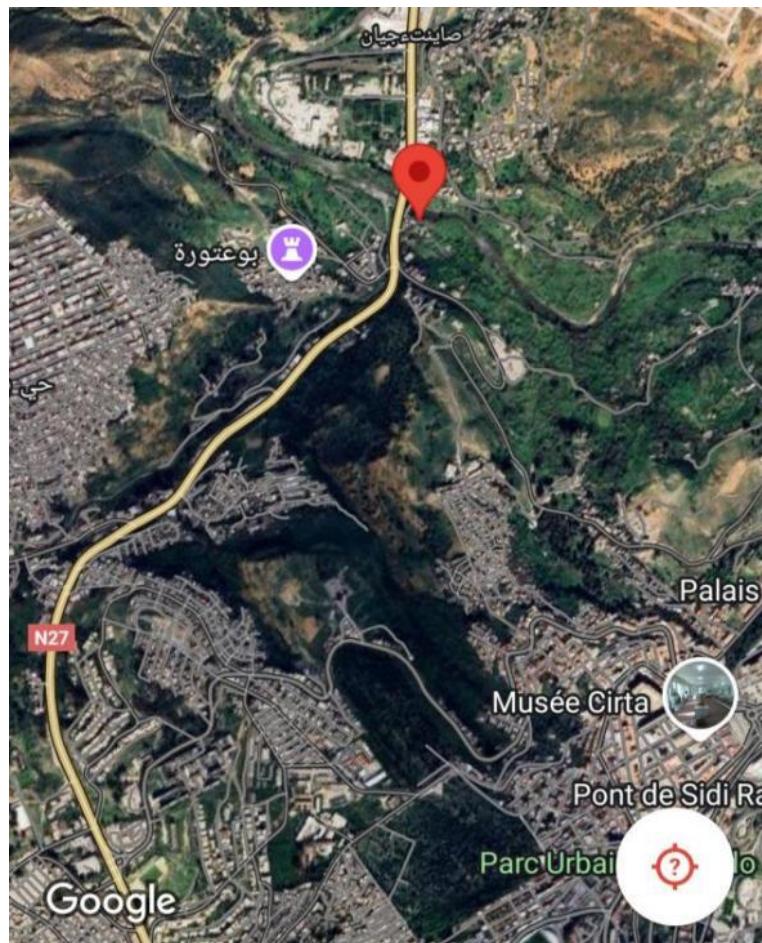


Figure 08 : Situation géographique de la station 2 (source: google maps 2025)



Figure 09 : Etat des lieux au niveau de la station 02 (photos prises le 10 avril 2025)

II.1.2. Récolte des escargots sur terrain

II.1.2.1. Choix de l'espèce *Helix aspersa*

Helix aspersa a la capacité d'absorber et de concentrer divers polluants, notamment les ETM, des pesticides et des nanoparticules. Cela peut se faire par l'ingestion de nourriture, de sol ou d'eau contaminés, ou même par un contact direct avec l'air ou les surfaces polluées (Baroudi et al. 2021). L'exposition aux agents polluants provoque des modifications précises et mesurables dans la physiologie de l'escargot, comme un ralentissement de la croissance, des variations de l'activité enzymatique : comme pour l'acétylcholinestérase, la glutathion S-transférase, la catalase (Abdel Azeem et al. 2023). En tant qu'organisme terrestre vivant à l'interface air-sol, *Helix aspersa* est directement exposé aux contaminants environnementaux, ce qui en fait une espèce sentinelle sensible à la pollution du sol et de l'air (Carbone et al. 2019).

II.1.2.2. Mode de récolte des escargots

La récolte des escargots a été effectuée durant le mois d'avril 2025. Nous avons choisi la méthode de la chasse à vue, une technique fréquemment utilisée en malacologie, et nous n'avons collecté que des organismes vivants en fouillant dans les herbes et les rochers et entre les troncs des arbres. Dans le contexte de cette recherche, des individus de stade juvénile, sub-adulte et adulte ont été recueillis et placés dans des boîtes en assurant l'aération. La figure 10 montre la récolte d'*Helix aspersa* dans son habitat naturel.



Figure 10 : *Helix aspersa* dans son habitat naturel (photos prises le 10 avril 2025)

II.2. Tri des escargots

Lorsque les escargots ont été amenés au laboratoire, ils ont d'abord été nettoyés, puis classés en fonction de leur âge. Ainsi, trois groupes de *H. aspersa* représentant des individus juvéniles, sub-adultes et adultes ont été placés dans des récipients distincts en fonction de leur tranche d'âge.

II.3. Détermination des biomarqueurs indicateurs de stress oxydant chez *Helix aspersa*

II.3.1. Préparation des individus

Les spécimens de *H. aspersa* issus de diverses tranches d'âge ont été mis à un jeûn pendant 24 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide et les excréments présents dans leur système digestif éliminé. Ils ont ensuite été mis dans des sacs en plastique identifiés et sacrifiés par congélation à une température de -20° C pendant une durée de 48 heures. Une fois décongelés, les escargots ont été disséqués à l'aide d'un kit de dissection. De ce fait, la coquille est détachée du corps à l'aide d'une pince, tandis que la masse viscérale et

l'hépatopancréas sont séparés de la masse pédieuse avec un scalpel. La figure 11 illustre l'opération de dissection.



Figure 11 : Opération de dissection d'*Helix aspersa*

II.3.2. Détermination des biomarqueurs

Après à la dissection des *H. aspersa*, l'hépatopancréas a été extrait de chaque sujet. L'évaluation des divers paramètres (GSH, GST, MDA) a été réalisée sur un échantillon composite constitué par les hépatopancréas de 1 à 3 individus en fonction des phases de développement. Il convient de souligner que le nombre d'individus le plus élevé correspond à la phase juvénile, en raison du poids faible de la matrice à examiner chez cette tranche d'âge. Une fois l'hépatopancréas récupéré, l'homogénat est préparé en broyant ces organes à l'aide d'ultrasons dans une solution tampon de PBS à pH 7.5. L'homogénat est soumis à une centrifugation à 10 000 tours par minute pendant une durée de 10 minutes à une température de 4°C. Après avoir été mélangée avec du TCA à 10 %, le surnagent obtenu sera utilisé pour mesurer le taux de glutathion réduit (GSH). L'homogénat restant est soumis à une centrifugation sans additifs à 10 000 tours par minute pendant 10 minutes à 4°C, et sera utilisé pour le dosage de la glutathion-S-transférase (GST) et du malonaldéhyde (MDA). La centrifugeuse utilisée est de type SIGMA2-16KL. La Figure 12 illustre l'opération de préparation de l'homogénat.



Figure 12 : préparation de l'homogénat (Photos prises le 13/05/2025)

II.3.2.1. Dosage du glutathion réductase (GSH)

Nous avons utilisé la technique d'Ellman (1959) pour déterminer les teneurs en GSH dans les échantillons d'hépatopancréas de *H. aspersa* pour les trois stades de croissance (juvénile, sub-adulte et adulte). Cette technique se base sur la décomposition de la molécule d'acide 5,5'-dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, suivie de 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 optimale à cette même longueur d'onde (pH 8-9). Pour calculer le taux de GSH, nous avons utilisé l'équation ci-dessous. Les taux sont exprimés en micromoles de matrice hydrolysée par milligramme de tissu ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissu).

$$\text{GSH } (\mu\text{M}/\text{mg de tissus}) = \frac{\Delta DO * Vd * Vt}{13.1 * Vh * Vs * mg tissus}$$

Avec :

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

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

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

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

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

Vs : volume du surnageant dans la cuve ;

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

II.3.2.2. Dosage de la glutathion-S-transférase (GST)

La méthode de Habig et al. (1974) a été utilisée pour déterminer les taux de GST dans les hépatopancréas de *H. aspersa*. L'activité de la GST se mesure en présentant à l'enzyme un substrat, typiquement le 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui s'unit aisément au glutathion grâce à l'action de la GST. On mesure le changement de la densité optique, causé par la formation du complexe GSH-CDNB, avec un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 340 nm. Le taux de GST a été déterminé selon la formule suivante et est présenté en micromoles de matrice hydrolysée par milligramme de tissu ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissu).

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

Avec :

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

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

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

Vs : volume du surnageant dans la cuve ;

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

II.3.2.4. Dosage du malonodialdéhyde (MDA)

La quantification du malonodialdéhyde (MDA) a été effectuée en suivant la méthode de coloration établie par Ohkawa et al. (1979). L'évaluation de la quantité repose sur la création d'un pigment rose en milieu acide et à haute température (100 °C) ; ce pigment est le produit d'une réaction entre le malonodialdéhyde (MDA) et deux molécules de l'acide thiobarbiturique (TBA). La mesure a été réalisée avec un spectrophotomètre à 532 nm ; une longueur d'onde où l'absorbance atteint son maximum. Les taux en MDA ont été calculés en suivant la formule mentionnée ci-dessous, et les résultats sont présentés en ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus).

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

Avec :

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

Vt : 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

La figure 13 illustre quelques étapes de la mesure des différents marqueurs (GSH, GST, MDA) indicateurs de stress oxydant chez *H. aspersa*.



Figure 13 : Opérations de détermination des biomarqueurs indicateurs du stress oxydant chez *Helix aspersa* (Photos prises le 13/05/2025)

II.4. Traitement statistiques des données

Dans un premier temps, des indicateurs statistiques des paramètres relatifs au stress oxydant chez *H. aspersa* ont été calculés dans le but d'avoir une vue d'ensemble sur l'évolution de la variation de ces paramètres en fonction des stations d'échantillonnage et des stades de développement. Ainsi, nous avons déterminé les minimums, les maximums, les moyennes et les écarts types pour chaque paramètre par stade de développement et par station.

Dans un deuxième temps, nous avons procédé à une analyse de la variance ANOVA à un facteur et deux facteurs pour faire ressortir l'effet stade de développement, l'effet station d'échantillonnage, et l'effet interaction stade de développement*station d'échantillonnage. Ces analyses ont été suivies par les tests post hoc de newman keuls (TNK) et Tukey pour faire apparaître les groupes homogènes.

Auparavant, les résultats obtenus ont également été illustrés par des histogrammes permettant de mieux visualiser les résultats obtenus et donc de les commenter aisément.

Les traitements statistiques ont été effectués en utilisant le logiciel Statistica Version 7.0

Chapitre 3: Résultats et discussion

III.1. Les paramètres indicateurs de stress oxydant chez *Helix aspersa*

Les résultats des paramètres indicateurs du stress oxydant chez *H. aspersa* pour les trois phases de développement et les deux stations d'étude examinées sont récapitulés dans le tableau 01 et les figures 14, 15, 16.

Tableau 01 : données statistiques (minimum, maximum, moyenne \pm écartype) des indicateurs de stress oxydant chez *H. aspersa* ($\mu\text{M}/\text{mg}$)

(a, b : groups homogènes-Test Newman-Keuls-Effet station)

Paramètres	Juvénile	Sub-adulte	Adulte
Station 1			
GSH	[$1,64 \cdot 10^{-5}$ - $2,09 \cdot 10^{-5}a1,85 \cdot 10^{-5} \pm 0,18 \cdot 10^{-5}$	[$1,06 \cdot 10^{-5}$ - $2,32 \cdot 10^{-5}$ ^a $1,49 \cdot 10^{-5} \pm 0,56 \cdot 10^{-5}$	[$0,71 \cdot 10^{-5}$ - $0,98 \cdot 10^{-5}$ ^a $0,82 \cdot 10^{-5} \pm 0,11 \cdot 10^{-5}$
GST	[$1,28 \cdot 10^{-3}$ - $1,65 \cdot 10^{-3}$ ^a $1,5 \cdot 10^{-3} \pm 0,15 \cdot 10^{-3}$	[$1,28 \cdot 10^{-3}$ - $2,28 \cdot 10^{-3}$ ^a $1,82 \cdot 10^{-3} \pm 0,43 \cdot 10^{-3}$	[$2,02 \cdot 10^{-3}$ - $2,38 \cdot 10^{-3}$ ^a $2,15 \cdot 10^{-3} \pm 0,16 \cdot 10^{-3}$
MDA	[$0,64 \cdot 10^{-3}$ - $1,36 \cdot 10^{-3}$ ^a $1,08 \cdot 10^{-3} \pm 0,31 \cdot 10^{-3}$	[$1,07 \cdot 10^{-3}$ - $1,32 \cdot 10^{-3}$ $1,25 \cdot 10^{-3} \pm 0,11 \cdot 10^{-3}$	[$1,04 \cdot 10^{-3}$ - $1,35 \cdot 10^{-3}$ $1,20 \cdot 10^{-3} \pm 0,14 \cdot 10^{-3}$
Station 2			
GSH	[$2,32 \cdot 10^{-6}$ - $8,06 \cdot 10^{-6}$ ^b $0,6 \cdot 10^{-5} \pm 0,25 \cdot 10^{-5}$	[$2,26 \cdot 10^{-6}$ - $3,71 \cdot 10^{-6}$ ^b $0,3 \cdot 10^{-5} \pm 0,06 \cdot 10^{-5}$	[$0,41 \cdot 10^{-6}$ - $2,95 \cdot 10^{-6}$ ^b $0,21 \cdot 10^{-5} \pm 0,12 \cdot 10^{-5}$
GST	[$0,02 \cdot 10^{-3}$ - $0,23 \cdot 10^{-3}$ ^b $0,15 \cdot 10^{-3} \pm 0,09 \cdot 10^{-3}$	[$0,10 \cdot 10^{-3}$ - $0,20 \cdot 10^{-3}$ ^b $0,15 \cdot 10^{-3} \pm 0,05 \cdot 10^{-3}$	[$0,01 \cdot 10^{-3}$ - $1,7 \cdot 10^{-3}$ ^b $0,51 \cdot 10^{-3} \pm 0,8 \cdot 10^{-3}$
MDA	[$0,15 \cdot 10^{-3}$ - $1,96 \cdot 10^{-3}$ ^b $0,95 \cdot 10^{-3} \pm 0,89 \cdot 10^{-3}$	[$0,3 \cdot 10^{-3}$ - $1,69 \cdot 10^{-3}$ $0,82 \cdot 10^{-3} \pm 0,64 \cdot 10^{-3}$	[$0,06 \cdot 10^{-3}$ - $1,06 \cdot 10^{-3}$ $0,45 \cdot 10^{-3} \pm 0,43 \cdot 10^{-4}$

III.1.1. Le glutathion réductase (GSH)

L'analyse du tableau 01 et de la figure 14 révèle que les concentrations de GSH chez *H. aspersa* varient fortement selon les stations, ainsi qu'en fonction du stade de développement au sein d'une même station. Les valeurs les plus élevées ($0,82 \cdot 10^{-5}$, $1,49 \cdot 10^{-5}$, $1,85 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les stades Adulte, sub-adulte et juvénile, respectivement, ont été observées dans la station 01, considérée comme station de référence dans cette étude. Tandis que les faibles valeurs ont été enregistrées dans la station 02 ($0,21 \cdot 10^{-5}$, $0,3 \cdot 10^{-5}$, $0,6 \cdot 10^{-5}$ $\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement. 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, ($p < 0,001$) pour les sub-adultes, et ($p < 0,001$) pour les juvéniles. Le test post-hoc de Newman-Keuls a fait ressortir deux groupes

homogènes a et b correspondant aux stations 1 et 2, pour chacun des 3 stades de développement comme indiqué dans le tableau 01.

En outre, les taux de GSH fluctuent d'un stade de développement à l'autre pour une même station. Les taux de GSH les plus élevés sont observés pour les juvéniles, alors que les faibles sont ceux des adultes et ceci quelque soit la station d'échantillonnage. L'analyse de la variance à un facteur a révélé un effet stade de développement significatif ($p<0.01$) pour la station 01, et ($p<0.05$) pour la station 02. Le test post-hoc de Tukey a fait ressortir trois groupes homogènes a, ab, et b, correspondant aux stades adulte, sub-adulte et juvénile pour chacune des deux stations, comme indiqué dans la figure 14. Il est à noter que l'interaction station*stade développement est non significatif.

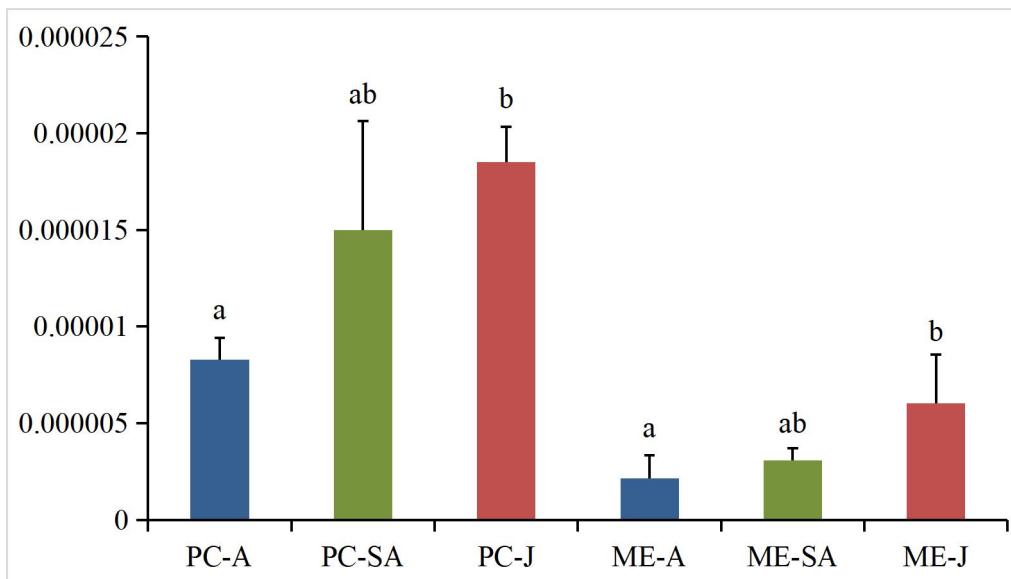


Figure 14 : Variation spatiale des taux en GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les stations 01 (PC) et 02 (ME). (a, ab, b, : groupes homogènes-Test Tukey-effet stade de développement)

III.1.2. La glutathion-S-transférase (GST)

La figure 15 illustre la variation spatiale des taux en GST dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adultes, subadultes et juvéniles) échantillonnés dans les stations 01 et 02. La figure 15 et le tableau 01 montrent des variations importantes d'une station à l'autre, et d'un stade de développement à l'autre pour les deux stations. Les taux les plus élevés ($2,15 \cdot 10^{-3}$, $1,83 \cdot 10^{-3}$, $1,5 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus), pour les stades adultes, sub-adultes et juvéniles, respectivement, ont été enregistrés dans la station 01. Alors que les taux les plus faibles ($0,51 \cdot 10^{-3}$, $0,15 \cdot 10^{-3}$,

$0,15 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement, ont été observés au niveau de la station 02. Cette fluctuation d'une station à l'autre est confirmée par l'analyse de la variance à un facteur qui a révélé un effet significatif ($p < 0.01$) pour les adultes, ($p < 0.001$) pour les sub-adultes, et ($p < 0.001$) pour les juvéniles. Le test post-hoc de Newman-Keuls a fait ressortir deux groupes homogènes a et b correspondant aux stations 1 et 2, pour chacun des 3 stades de développement comme indiqué dans le tableau 01.

Par ailleurs, les taux en GST varient d'un stade de développement à l'autre pour une même station. Les taux en GST les plus élevés sont ceux des adultes alors que les plus faibles sont ceux des juvéniles pour les deux points d'échantillonnage. L'analyse de la variance à un facteur a révélé un effet stade de développement significatif ($p < 0.05$) pour la station 01, et non significatif pour la station 02. Le test post-hoc de Tukey a fait ressortir trois groupes homogènes a, ab, et b, correspondant aux stades adulte, sub-adulte et juvénile pour la station 01 comme indiqué dans la figure 15. L'interaction station*stade développement est non significatif non plus.

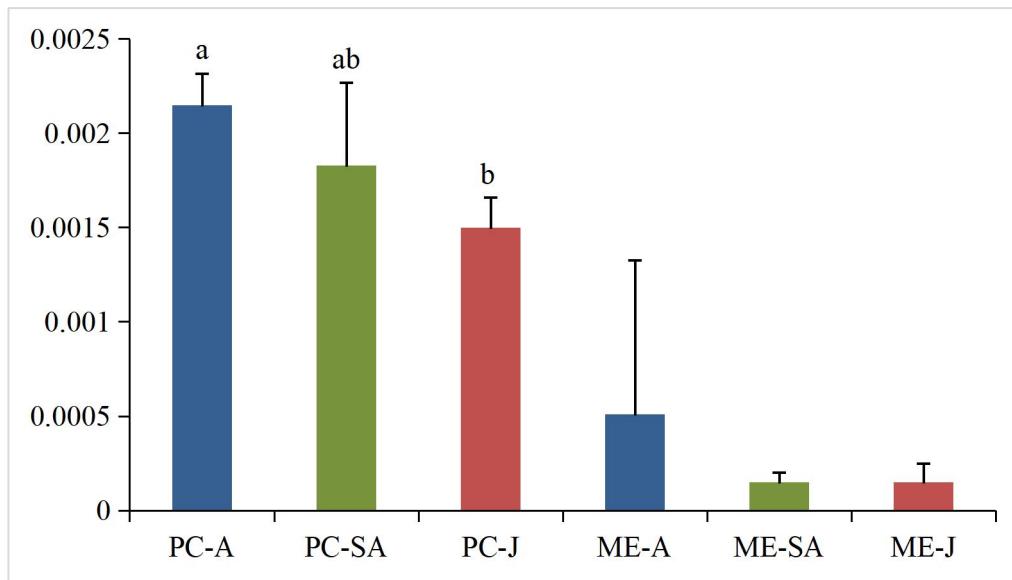


Figure 15: Variation spatiale des taux en GST ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les stations 01 (PC) et 02 (ME). (a, ab, b, : groupes homogènes-Test Tukey-effet stade de développement)

III.1.3. Le malonedialdéhyde (MDA)

Le tableau 01 et la figure 16 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 les deux stations. Les taux les plus élevés ($1,20 \cdot 10^{-3}$, $1,25 \cdot 10^{-3}$, $1,08 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les stades adulte, sub-adulte, juvénile, respectivement, sont ceux de la station 01. Cependant les taux les plus faibles ($0,45 \cdot 10^{-3}$, $0,82 \cdot 10^{-3}$, $0,95 \cdot 10^{-3} \mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) pour les mêmes stades de développement, sont ceux de la station 02. L'analyse de la variance à un facteur a révélé un effet station significatif pour les adultes ($p < 0,05$), non significatif pour les sub-adultes, et les juvéniles. Le test post-hoc de Newman-Keuls a fait ressortir deux groupes homogènes a et b correspondant aux stations 1 et 2, pour les adultes comme indiqué dans le tableau 01.

Par ailleurs, les taux de MDA varient d'un stade de développement à l'autre pour une même station. Les taux de MDA les plus élevés sont ceux des sub-adultes dans la station 01, tandis que pour la station 02, se sont les juvéniles qui enregistrent les taux les plus élevés. Néanmoins, l'analyse de la variance à un facteur a révélé un effet stade de développement non significatif pour les deux stations. L'effet interaction station*stade développement est non significatif aussi.

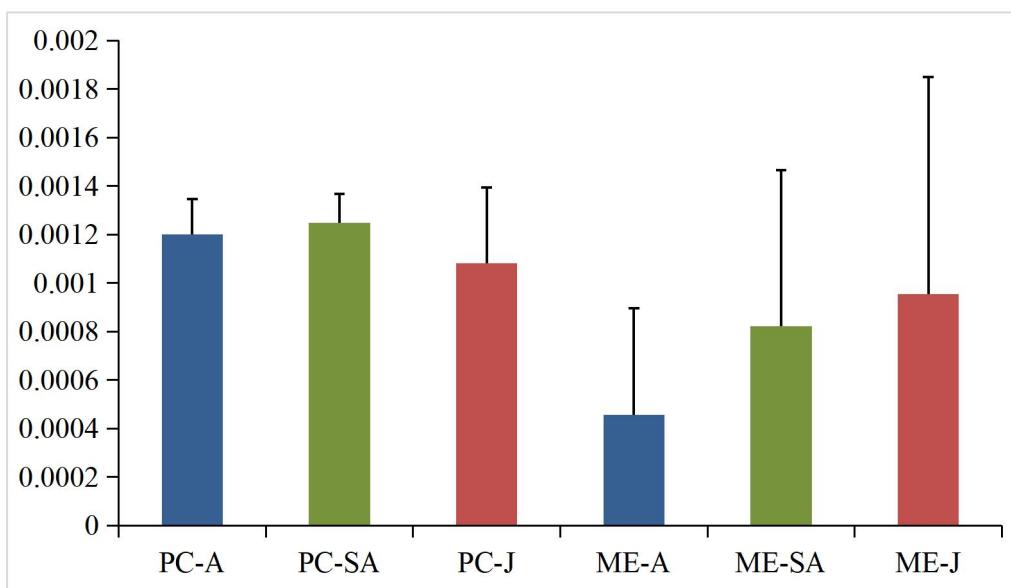


Figure 16: Variation spatiale des taux en MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de tissus) dans les hépatopancréas des *H. aspersa* (adulte : A, sub-adulte : SA, juvénile : J) récoltés dans les station 01 (PC) et 02 (ME).

Discussion

En raison de leur position dans l'écosystème terrestre, les escargots peuvent être exposés à diverses sources de contamination (sol, air, plantes) par différents moyens : digestive, respiratoire et/ou contact cutané. L'espèce *H. aspersa*, appartenant aux invertébrés terrestres qui sont capables d'accumuler diverses catégories de composés chimiques. Ils représentent donc des espèces pertinentes pour la surveillance des polluants dans le milieu naturel.

On associe généralement les dommages cellulaires provoqués par les ETM par exemple à la formation d'espèces réactives de l'oxygène (Leonard et al. 2004). La production des ERO constitue un indicateur pertinent pour évaluer l'écotoxicité des réactions protectrices des cellules face au stress oxydatif, qui provoque des modifications nuisibles de l'ADN, des lipides et des protéines, qui sont employées comme biomarqueurs efficaces pour analyser le stress oxydatif induit par les polluants (Poletta et al. 2016). En effet, de nombreuses études ont démontré que le stress oxydatif était un biomarqueur primordial dans l'évaluation de la toxicité des nanoparticules par exemple (Reddy, 2015). Le stress oxydatif se produit lorsqu'il y a un déséquilibre entre les proportions d'agents oxydants et antioxydants.

L'utilisation de biomarqueurs nécessite l'identification de toutes les variations possibles qui peuvent influencer la réponse biochimique, parce que les écosystèmes sont généralement soumis à un mélange de polluants, ce qui peut créer des effets additifs, opposés ou concurrents (Binelli et al. 2006). Ces paramètres biochimiques chez les espèces exposées à des substances toxiques sont généralement reconnus comme pertinents. Ils peuvent servir d'outil de diagnostic crucial pour mesurer l'exposition et l'impact des xénobiotiques (McLoughlin et al. 2000).

Le glutathion est le principal antioxydant non enzymatique des cellules animales. Il s'agit du composé réducteur de soufre le plus abondant du compartiment intracellulaire, impliqué dans le métabolisme, les processus de transport et la protection des cellules contre les effets toxiques des composés endogènes et exogènes (Boucenna, 2016). Dans le cadre de cette étude, au niveau de la station 02, les escargots récoltés ont montré des niveaux plutôt bas en GSH dans leur hépatopancréas comparativement à ceux provenant de la station 01, et ce, indépendamment du stade de développement. La baisse des niveaux de GSH dans les échantillons d'escargots analysés paraît être un bon indicateur biologique des effets des polluants présents. Effectivement, une telle circonstance dénote la présence d'un stress oxydant chez *H. aspersa*. Ceci peut être attribué au fait que cette zone se trouve en aval de

Constantine et est considérée comme perturbé. Plusieurs études ont été menées pour évaluer la pollution à cette station et les analyses ont révélé des concentrations en ETM dans les sédiments, avec un potentiel de transfert vers la végétation locale, témoignant d'une contamination métallique alarmante dans la région (Sahli et al. 2011).

La réduction de l'activité de la GSH pourrait s'expliquer par le déficit ou l'absence de biotransformation des xénobiotiques et des substances androgènes. Par conséquent, la GSH joue un rôle important dans la neutralisation et la détoxicification de certains xénobiotiques en augmentant leur solubilité dans l'eau et en facilitant ainsi leur élimination (Vander et al. 2003). Salmi et al. (2017) ont indiqué que l'exposition de *H. aspersa* à des nanoparticules de sélénium de cadmium a provoqué une diminution des taux de glutathion (GSH) dans l'hépatopancréas. Les auteurs ont attribué la baisse des niveaux de GSH dans le HLS, le sérum et l'hépatopancréas à l'affinité élevée du cadmium pour cette molécule. On considère que le glutathion joue un rôle crucial dans la défense des cellules contre les agressions oxydatives provoquées par les espèces réactives de l'oxygène (Ali et al. 2020). Ces auteurs ont également observé une réduction car le glutathion est reconnu comme un agent réducteur, il est réputé capturer l'ensemble des radicaux libres et fait aussi office de substrat pour les enzymes associées au glutathion (Ali et al. 2020). Quig (1998) et Hultberg et al. (2001) ont signalé que l'épuisement du GSH est la conséquence d'une exposition prolongée aux ETM. Ces conclusions sont en accord avec celles d'Abdel-Halim et al. (2013), qui ont observé une réduction du GSH chez *H. aspersa* exposés à la pollution métallique des villes. Nos résultats concordent aussi avec ceux de Rahmouni et Bramki (2024) qui ont noté une réduction remarquable du GSH dans les hépatopancréas de *H. aspersa* récoltée en bordures de route par rapport à des individus récoltés dans une zone montagneuse.

Les glutathion S-transférases (GST) sont des enzymes du métabolisme de phase 2 capables de conjuguer une molécule de glutathion réduit au centre électrophile d'un xénobiotique afin de le rendre plus soluble et donc plus facilement excrétible par l'organisme. Leur expression peut être induite ou inhibée par certains xénobiotiques, ce qui leur confère un grand intérêt en tant que biomarqueurs potentiels de la pollution (Vidal, 2001). C'est une enzyme détoxifiante clé qui joue également un rôle important dans l'élimination des ROS et le piégeage du métabolite de la peroxydation lipidique (Wang et al. 2016). Dans notre étude des niveaux faibles en GST sont détectés dans les tissus hépatopancréatiques des escargots collectés dans la station 02. On observe une hausse notable chez les adultes par rapport aux sub-adultes et juvéniles. La réduction de l'activité de la GST pourrait s'expliquer par le déficit ou l'absence de

biotransformation des xénobiotiques et des substances androgènes. Par conséquent, la GST joue un rôle important dans la neutralisation et la détoxicification de certains xénobiotiques en augmentant leur solubilité dans l'eau et en facilitant ainsi leur élimination (Vander et al. 2003). L'inhibition de la GST pendant cette période d'exposition pourrait indiquer une défaillance du processus de détoxicification et l'émergence d'un stress oxydatif (Atailia et al. 2016). Nos résultats sont en accord avec les informations fournies par Borkovic Mitic et al. (2013), qui ont noté une réduction de la GST chez le bivalve d'eau douce *Unio tumidus* lorsqu'il est exposé à une pollution métallique. Selon Borkovic-Mitic et al. (2013), l'inhibition de l'activité de la GST peut résulter soit d'une action directe du métal sur l'enzyme, soit d'un effet indirect par la génération de ROS qui agissent directement sur l'enzyme. Nos résultats concordent également avec ceux de Abdel-Halim et al. (2020) qui ont étudié une augmentation des concentrations de LPO et de LDH, ainsi qu'une réduction de la teneur en GSH et des activités de la GST et de la GPX chez l'escargot *Monacha cartusiana* après exposition à des nanoparticules d'oxyde de zinc ; ce qui indique une atteinte oxydative importante dans les tissus de l'escargot.

Les niveaux de MDA indiquent le degré de dommages oxydatifs ; ce qui en fait un bon indicateur pour le suivi des niveaux de stress chez *H. aspersa* (Cordiano et al. 2023). Notre étude a révélé des niveaux de MDA élevés chez les escargots collectés dans la station 02 surtout chez les juvéniles, et donc une augmentation de la production de peroxydation lipidique, qui peut être attribué à la production de ROS en réponse oxydative pour protéger les cellules des dommages. Les lipides sont considérés comme une cible importante du stress oxydatif (Abdel Azeem, 2020). Nos résultats sont en accord avec l'étude de Salmi et al. (2017) qui ont indiqué que l'exposition de *H. aspersa* avec des nanoparticules de sélénium de cadmium entraînait une augmentation de l'activité du malondialdéhyde (MDA), ainsi qu'une diminution des taux de glutathion (GSH) et de GPX dans l'hépatopancréas. Une autre étude effectuée par Grara et al. (2012), a montré que l'exposition aux poussières métalliques a entraîné une augmentation de 94,77 % du MDA dans l'hépatopancréas des escargots, et dans une autre recherche, une concentration plus importante de MDA a été détectée, signalant une lésion oxydative due à la bioaccumulation des ETM (Tao et al. 2013).

Conclusion et perspectives

Conclusion

La pollution est devenue une problématique environnementale importante au plan mondial, compromettant la stabilité des écosystèmes et représentant un danger sérieux pour la santé humaine. En ce sens, l'utilisation de bioindicateurs biologiques s'avère déterminante en vue d'évaluer la qualité des milieux naturels touchés.

Parmi ces organismes, les gastéropodes pulmonés terrestres. Leur sédentarité, leur aptitude à bioaccumuler un large spectre de contaminants, et leur grande sensibilité aux polluants les rendent des marqueurs efficaces et intéressants de la contamination environnementale, notamment celles des sols. Du fait de la multiplicité des voies d'exposition, les gastéropodes fournissent des informations intéressantes sur la qualité de leur environnement. L'étude de paramètres biochimiques par exemple, tels que le stress oxydatif ou la bioaccumulation permet de quantifier précisément l'impact de ces contaminations sur ces organismes vivants et, par extension, sur la qualité de leur environnement.

Notre étude a pour objectif d'étudier le stress oxydatif en mesurant le taux de glutathion réduit (GSH), de la glutathion S-transférase (GST), et du malondialdéhyde (MDA), chez des spécimens de l'espèce *Helix aspersa* appartenant à diverses phases de développement (adultes, sub-adultes, et juvéniles).

Ainsi, l'évaluation des biomarqueurs indicateurs de stress oxydant chez les *H. aspersa* récoltés dans les deux stations (une station de référence et l'autre perturbée), a révélé des variations substantielles des niveaux de ces biomarqueurs à la fois entre les deux stations et à travers les stades de développement de cette espèce.

Suite à ce travail, les conclusions que nous avons tirées peuvent être résumées de la manière suivante :

Concernant la station 02, les escargots collectés ont présenté des niveaux de GSH plutôt faibles dans leur hépatopancréas par rapport à ceux issus de la station 01, et cela, indépendamment du stade de développement. Une telle observation indique l'existence d'un stress oxydatif chez *H. aspersa*. Ceci pourrait être attribué à la localisation de cette station en aval de Constantine, et est considérée par conséquent comme perturbée.

Nous avons également enregistré des niveaux bas de la GST dans les tissus hépatopancréatiques des escargots récoltés au niveau de la station 02. L'inhibition de la glutathion-S-transférase pourrait signaler un dysfonctionnement du mécanisme de détoxicification et donc la présence d'un stress oxydatif.

Pour le MDA, des taux élevés ont été enregistrés chez les escargots récoltés à la station 02. Il y a donc, une hausse de la production de peroxydation lipidique, qui peut être liée à la génération de ROS en réponse à un stress oxydatif pour protéger les cellules contre les lésions.

Conclusion

Nos conclusions ont révélé de manière indiscutable des perturbations importantes et soutiennent l'importance de *H. aspersa* dans les procédures d'évaluation de la santé des écosystèmes. L'exposition chronique des gastéropodes pulmonés terrestres à des substances polluantes présentes dans leur environnement est susceptible d'induire un stress oxydatif, qui provoque des altérations des systèmes enzymatiques et non enzymatiques de leurs biomarqueurs.

Comme perspectives, il serait intéressant :

- De déterminer d'autres paramètres du stress oxydant notamment la glutathionperoxydase (GPx), l'acétylcholinestérase (AChE), les super oxyde dismutase (SOD), la catalase (CTA), etc. ;
- D'effectuer des études similaires dans d'autres zones avec différents types de perturbations anthropiques ;
- D'effectuer des études similaires sur d'autres modèles biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdel-Azeem H.H., Gamalat Y.O., Azza H.M. 2023.** Potential toxic effects of titanium oxide (TiO₂) nanoparticles on the biological, biochemical, and histological aspects of the land snail *Helix aspersa*. Environmental Science and Pollution Research International, 30(32), 78127-78138.
- Abdel-Azeem H.H & Osman G.Y. 2020.** Oxidative stress and histopathological effect of zinc oxide nanoparticles on the garden snail *Helix aspersa*. Environmental Science and Pollution Research, 28, 9913-9920.
- Abdel-Halim K.Y., Osman S. R., Abdou G.Y. 2020.** In vivo evaluation of oxidative stress and biochemical alteration as biomarkers in glass clover snail, *Monacha cartusiana* exposed to zinc oxide nanoparticles. Environmental Pollution, 257, 113120.
- Abdel-Halim K.Y., Abo El-Saad A.M., Talha M.M., Hussein A.A., Bakry N.M. 2013.** Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. Chemosphere, 93(6), 1131-1138.
- Afri-Mehennaoui F.Z., Sahli L., Mehennaoui S. 2004.** Assessment of sediment trace metal level and biological quality of Rhumel river by using multivariate analysis. Environmetrics, 15(5), 391-539.
- Ajmoun M., Biasioli M. 2010.** Trace Elements in Soils of Urban Areas. Water, Air, & Soil Pollution. 213, 121-143
- Ali S., Khan A., Nawaz A., Naz S., Ejaz S. 2020.** Glutathione application delays surface browning of fresh-cut lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn) root slices during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology, 200, 112311.
- Arshad R., Abdulah S., Naz H., Abbas K. 2018.** Catalase activity as a bio-indicator of lead and nickel toxicity in carnivorous fish *Channa striata*. Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences, 55(4), 37-43.
- Atailia A., Berrebbah H., Boucenna M., Alayat A., Amamra R., Grara N. and Djebbar M. R. 2016.** Biomarkers Responses of Land Snails *Helix aspersa* exposed to Chronic Metal Pollution under Field and Laboratory Conditions. Nature Environment and Pollution Technology. 15, 12091215.
- Ayangbenro A.S , Babalola O.O. 2017.** A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. Int J Environ Res Public Health, 14(1), 94.
- Banaru D., Pérez T., Grégori G., Harmelin-Vivien M. 2010.** In situ investigation of *Spongia officinalis* (Demospongiae) particle feeding: coupling flow cytometry and stable isotope analysis. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 389(1-2), 61-69.
- Baptiste j., Escobar T., Ramone M., Reynaud L. 2014.** Préférences alimentaires helix aspersa, UE GLBE 405 "Ecologie Fonctionnelle". 06p
- Baroudi F., Al-alam J., Chimjarn S., Haddad Ka., Fajloun Z., Delhomme O., Millet M. 2021.** Use of *Helix aspersa* and *Pinus nigra* as bioindicators to study temporal air pollution in Northern Lebanon. International Journal of Environmental Research, 15(1), 1-13.
- Belbel F., Boukheroufa M., Micle V., Sur I.M., Sakraoui F., Smical I. 2025.** Heavy Metal Accumulation (Cd, As, Zn, Cu, Cr) in Hair and Bones of Small Mammal Prey of the Sentinel Species Common Genet (*Genetta genetta*) in an Anthropogenic Environment of Edough Mountain Forest, Northeastern Algeria. Animals, 15(1), 114.

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*, 20, 243-249.

Besnaci S., Bouacha M., Chaker A., Babouri Y., Bensoltane S. 2015. Impact des nanoparticules de silice fumée (SiO_2) sur des indicateurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa*. *Bull. Soc. R. Sci. Liege.* 91(1), 11-22.

Binelli A., Ricciardi F., Riva C., Provini A. 2006. New evidences for old biomarkers: Effects of several xenobiotics on EROD and AChE activities in Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Chemosphere*, 62(4), 510-519.

Bonnet J. C., Aupinel P., Vrillon J. L. 1990. L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Éditions Quae. Paris, 124p.

Borković-Mitić S., Pavlović S., Perendija B., Despotović S., Gavrić J. 2013. Influence of some metal concentrations on the activity of antioxidant enzymes and concentrations of vitamin E and SH-groups in the digestive gland and gills of the freshwater bivalve *Unio tumidus* from the Serbian part of Sava River. *Ecological Indicators*, 32, 212-221.

Boucenna M. 2016. Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nanotoxicologique du Fe_2O_3 et Al_2O_3 . Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar, Annaba-Algérie. 191p.

Boyd A.C., Greening A.P., Imrie M., Noble D., Duncan A. 2010. Sputum Trace Metals Are Biomarkers of Inflammatory and Suppurative Lung Disease. *Chest*, 137(3), 635-641.

CABI. *Cornu aspersum (common garden snail)*. 2020. Consulté en ligne . <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompendium.26821>

Carbone D et Faggio C. 2019. *Helix aspersa* as sentinel of development damage for biomonitoring purpose: A validation study. *Molecular Reproduction and Development*, 86(10), 1283-1291.

Centre Antipoison Environnemental. 2020. Indicateurs biologiques.Consulté en ligne : <https://www.centre-antipoison-environnemental.com/biodiversite.html>

Chaney R.L. 1988. Effective utilisation of sewage sludge on cropland in United States and toxicological considerations for land application. In: Land Application of Sewage Sludge. Association for the Utilisation of Sewage Sludge, Tokyo, pp. 77-105.

Chawla H, Singh S.K & Haritash A.K. 2024. Reversing the damage: ecological restoration of polluted water bodies affected by pollutants due to anthropogenic activities. *Environmental Science and Pollution Research*. 31, 127-143.

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

Cordiano R., Di Gioacchino M., Mangifesta R., Panzera C., 2023. Malondialdehyde as a Potential Oxidative Stress Marker for Allergy-Oriented Diseases: An Update. *Molecules* 28(16), 5979.

De Vaufleury A., Fritsch C., Gimbert G., Pauget B., Coeurdassier M., Crini N. & Scheifler R. 2009. Utilisation et intérêts des escargots et des micromammifères pour la bioindication de la qualité des sols. *Étu. Gest. Sols.*, 16, 203-217

Didier P. 2006. Elevage de l'escargot. Consultable sur internet.
<http://www.fondationlamap.org/fr/page/11571/elevage-de-lescargot>.

Djadouri D et Ben dahra I. 2014. Effets potentiels antioxydant et anti-inflammatoire de l'homogénat chez le rat. Mémoire de Master 2 en Immuno-oncologie. Université Mentouri Constantine 1, 179p.

Dobritzsch D., Grancharov k., Hermsen C., Krauss G., Schaumlöffel D. 2020. Inhibitory effect of metals on animal and plant glutathione transferases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 57, 48-56.

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, Universite Badji Mokhtar-Annaba. 98p.

Douay F., Richard A., Ryckelynck N., Rychen G., Houot S. 2007. Pollution des sols urbains : sources, impacts et gestion. *Revue Environnement Urbain*, 1(1), 45-60.

El-Gendy K.S., Gad A.F., Radwan M.A. 2021. Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assessment. *Environmental Research*, 193, 110558.

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, 347-354.

Falkner G., Bank R.A. et Von proschwitz T. 2001. Checklist of the non-marine Molluscan species-group taxa of the States of Northern Atlantic and Central Europe (CLECOM 1), 4, 1-76.

Farombi E.O., Adelowo O.A. et Ajimoko Y.R. 2007. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish *Clarias gariepinus* from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 4(2), 158-165.

Grange D., Host S., Gremy I. 2007. Les composés organiques volatils (COV). Etat des lieux : définition, sources d'émissions, exposition, effets sur la santé. Observatoire régional de santé d'Ile-de-France, 127p.

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. 280p.

Grara N., Atailia A., Boucenna M., Khalid F., Berrebah H., Djebbar M.R. 2012. Effects of heavy metals on the *Helix aspersa* bioindicators of environment pollution for human health. *Int. Conf. Appl. Life. Sci.* 241-246.

Gomot de Vaufleury A. 2000. Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb and pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf*, 46, 41-50.

- Guyard A. 2009.** L'escargot. Consultable sur internet : <http://baladesnaturalistes.hautetfort.com/archive/2009/10/10/l-escargot-de-bourgogne.html>
- 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
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O. 2007.** Stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62 (10), 628-38.
- Harrag A. 2012.** Bioindication. : Concept et biosurveillance. Note de cours. Université Ferhat Abbas. 7p. Consulté en ligne : <Http://fr.calamero.com/red/00118058687a447e5d0152>.
- Hultberg B., Andersson A., Isaksson A. 2001.** Interaction of metals and thiols in cell damage and glutathione distribution: potentiation of mercury toxicity by dithiothreitol. *Toxicology*, 156(2-3), 93-100.
- Karamoko M., Sika Piba N.A., Otchoumou A., Adou C.F. 2015.** Effet de la teneur en protéines alimentaires sur la croissance de l'escargot terrestre *Archachatina marginata* (Swainson, 182). *International journal of biological and chemical science*, 9(2), 890-900.
- Kean A.J., Grosjean E., Grosjean D., Harley R.A. 2001.** On-road measurement of carbonyls in California light-duty vehicle emissions, *Environmental Science and Technology*, 35(21), 4198-4204.
- Kerney M., Cameron R. et Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe. Delachaux et Niestlé SA, Paris, 2006, 288 p.
- Kooch Y., Nouraei A., Wang L., Wang X., Wu D., Francaviglia R. 2024.** Long-term landfill leachate pollution suppresses soil health indicators in natural ecosystems of a semi-arid environment. *Chemosphere*, 367, 143647
- Krika A., Rached O., Laing G.D. 2013.** Assessment of atmospheric lead contamination of banks soils using soils tamarisk grove: case study of the Kebir-Rhumel (Algeria). *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 8(1), 207-216.
- Lallement P. A. 2018.** Caractérisation biochimique et fonctionnelle de glutathion transférases à cystéine catalytique de peuplier (*Populus trichocarpa*). Thèse de doctorat, Université de Lorraine, 272p.
- Larba R. 2014.** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 105 p.
- Leonard S., Bower J & Shi X. 2004.** Metal-induced toxicity, carcinogenesis, mechanisms and cellular responses. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 255, 3-10.
- Louzon M., Coeurdassier M., Gimbert F., Pauget B., de Vaufleury A. 2019.** Telomere 525 dynamic in humans and animals: review and perspectives in environmental toxicology. 526 *Environ. Int.* 131, 105025. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105025>
- Louzon M., Gimbert F., Pauget B., Vaufleury A. 2020.** Ex situ environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus*, *The Science of The Total Environment*, 721, 137789.
- McLoughlin N., Yin D., Maltby L. 2000.** Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(8), 2085-2092.

Mebirouk R., Naimi D., Riani M., Antonicelli F. 2016. Comparative study of two *Helix aspersa* extractson tumorcell lines (HUT-78 and SEAX) Proliferation and MMP-9 secretion. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 8(11), 288-293.

Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs. 2011. Guide d'élaboration des études d'impact sur l'environnement : Le milieu biologique.Gouvernement du Québec, Disponible sur : <https://www.environnement.gouv.qc.ca>

Mnkandla M.S., Basopo N & Siwela A.H. 2019. The Effect of Persistent Heavy Metal Exposure on Some Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation of the Freshwater snail, *Lymnaea natalensis*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 103, 515-558.

Moutaouakkil Y., Radia M., Ait El Cadi M., Lamsaouri J., Cherrah Y., Bousliman Y et ElJaoudi R. 2024. Stress oxydant et maladies auto-immunes. Cahiers Santé Médecine Thérapeutique, 33, 205-210.

Müller O. F.1774. *Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusorium, Helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia.* vol 2: I–XXXVI, 1–214, 10 unnumbered pages. Havniae et Lipsiae, apud Heineck et Faber, ex officina Molleriana.

Ogundiran M.B., Ogunsola S.S., Adelodun A.A. 2024. Stabilization of Pb, Cu, and Zn in Phytoaccumulator Ashin Calcined Clay-based Geopolymers and Potential Application. Tropical Aquatic and Soil Pollution, 4(1). 27-42.

Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 95, 2: 351-358.

Ouahrani G. et Gheribi-Aoulmi Z. 2007. Apport des lombriciens à l'estimation des éléments traces (Cd, Cu, Pb et Zn) des sols bordant l'Oued Rhumel (Constantine). Ecologia Mediterranea, 33, 73-84.

Pirame S.S.L. 2003. Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit-gris (*Helix aspersa*) : reproduction expérimentale. Thèse de doctorat vétérinaire (Tou 3-4097), Ecole Nationale Vétérinaire, Université Paul-Sabatier, Toulouse, France, 99 p.

Poletta G.L., Schaumburg L.G., Siroski P., Mudry M. 2016. Genotoxicity induced by Roundup (Glyphosate) in tegu lizard (*Salvator merianae*) embryos. Pesticide Biochemistry and Physiology, 130, 71-78.

Quig D. 1998. Cysteine metabolism and metal toxicity. Alter. Med, 3, 262-270.

Radwan M.A., El-Gendy K.S., Gad A.F. 2020. Biomarker responses in terrestrial gastropods exposed to pollutants: A comprehensive review. Chemosphere, 257, 127218.

Rahmouni C et Bramki L. 2024. Evaluation du stress oxydatif chez *Helix aspersa* en conditions deterrain. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Écologie Fondamentale et Appliquée, Université des Frère Mentouri Constantine 1. 68p.

Reddy U.A., Prabhakar P.V., Rao G.S., Rao P.R., Sandeep K. 2015. Biomarkers of oxidative stress in rat for assessing toxicological effects of heavy metal pollution in river water. Environmental science and pollution research, 22. 13453-13463.

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.

Romianingsih P.W. 2023. The pollution of polychlorinated biphenyls (PCBs) waste from PLN electrical activities. Asian Journal of Toxicology, Environmental, and Occupational Health, 1(1), 36-44.

Sahli L., Afri-Mehennaoui F.Z., El Okki M.E., Mehennaoui S. 2011. Spatial and seasonal variations and ecotoxicological significance of sediment trace metal concentrations in Kebir-Rhumel basin (Northeast of Algeria). Water Science & Technology, 64(8), 1759-66

Sahli L. 2012. Etude du comportement de quelques espèces floristiques et faunistiques des écosystèmes aquatiques vis-à-vis des éléments traces métalliques par des bioessais. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine, 215p.

Sahli L., El Hadef El Okki M.E., Afri-Mehennaoui F.Z., & Mehennaoui S. 2014. Utilisation d'Indices Pour l'évaluation de la Qualité des Sédiments: Cas du Bassin Boumerzoug (Algérie). European Scientific Journal, 10, 336-346.

Sahli L., Belhiouani H., Burga Pérez KF., El Hadef El Okki M., Afri-Mehennaoui F.Z., Férand J.F & Mehennaoui S. 2021. Assessment of freshwater sediment quality: potential ecological risk and ecotoxicity tests as complementary approaches. Chemistry and Ecology, 37(3), 219-233.

Sahraoui A.S., 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

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.

Salmi A., Rouabhi R., Toualbia N., Taib C., Chenikher H., Gasmi S & Boussekine S. 2017. Subcellular study of the cadmium selenide nanoparticles (CdSe-NPs) toxicity on a terrestrial bioindicator model *Helix aspersa*. Toxicology and Environmental Health Sciences, 9, 135-140.

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

Shetty S., Deepthi D., Harshitha S., Shipra S., Naik B. 2023. Environmantal pollutants and their effect on human health, Heliyon, 9(4) e19496.

Singh K., Peshin T., Sengupta S., Thakrar S.K. 2023. Air pollution mortality from India's coal power plants: unit-level estimates for targeted policy. Environmantal Research letter, 19(6), 12.

Sienkiewicz J., Ostrowska A., Vohland K., Stratmann L & Grygoruk M. 2014. Indicators for Monitoring Climate Change-Induced Effects on Habitats-A Wetlands Perspective. Springer nature link, 77-94.

Stohs S.J. 2014. Polychlorinated Biphenyls (PCBs). Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), 1035-1037.

Sushma N. and Chinmayi S. 2024. The interplay between soil pollution, insect biodiversity and soil health. International journal of advanced biochimistry research , 8(10), 504-512.

Sukhdev M. S., Sivalingam P.M. 2006. In vitro study on the interactive effects of heavy metals on catalase activity of *Sarotherodon mossambicus* (Peters). Journal of Fish Biology, 20(6), 683-688.

Taiba C.A., Mahmoudi Y & Belkhatir M. 2022. Impact of the overall regularity and related granulometric characteristics on the critical state soil mechanics of natural sands: a state-of-the art. Geomechanics and Geoengineering, 19(1), 23-26.

Tao Y., Pan L., Zhang H., Tian S. 2013. Assessment of the toxicity of organochlorine pesticide endosulfan in clams *Ruditapes philippinarum*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 93, 22-30.

Tlili S., Métais I., Boussetta H., Mouneyrac C. 2010. Linking changes at sub-individual and population levels in *Donax trunculus*: Assessment of marine stress. Chemosphere, 81(6), 692-700.

Touraud E., Cloarec O., Crone M., Thomas O. 2002. Kit de diagnostic rapide de la contamination des sols par les HAP. Environnement, Ingénierie & Développement. 35-39.

Tran H.T., Hoang H.G., Wambura E., Mukherjee C.S. 2024. A review of advanced bioremediation technologies for dioxin-contaminated soil treatment: Current and future outlook. Chemosphere, 366.

Upadhyay S.B & Verma N. 2015. Role of Biosensors in Environmental Monitoring. Environmental Microbial Biotechnology, 45, 77-90.

Van der D., MakkinkjeM., Jansens A., Braakman I., Verkleij A.J., Wirtz K. 2003. Oxidation of ER Resident Proteins Upon Oxidative Stress: Effects of Altering Cellular Redox/Antioxidant Status and Implications for Protein Maturation. Antioxidants & Redox Signaling, 5(4).

Vidal M. 2001. Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez les mollusques bivalve d'eau douce *Corbicula fluminea* (müller) purification et caractérisation des Glutathion S-transferases. Thèse de doctorat en science du vivant, Géosciences, science de l'environnement, option : Ecotoxicologie, Université Bordeaux 1. 282p

Wang Q., Wang Z., Awasthi M.K., Jiang Y., Li R. 2016. Evaluation of medical stone amendment for the reduction of nitrogen loss and bioavailability of heavy metals during pig manure composting. Bioresource Technology, 220, 297-304.

Zaafour M. 2014. Étude écophysiologique de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*, Gastropoda: Stylocephalophora; Helicidae) dans la région Nord-Est. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annab. 109p.

Zekri J., Rached O., Sahli L., Yilmaz M A., Temel H., 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 (3), 747-757.

Année universitaire : 2024-2025

Présenté par :
BENMANSOUR Dhikra Aouatef

Biomarqueurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa* : suivi de la qualité des sols en milieu urbain à Constantine

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

Résumé :

La pollution de l'environnement, dont la cause est industrielle, agricole ou urbaine, concerne l'introduction de composés toxiques dans les écosystèmes naturels, tels que les éléments traces métalliques, les pesticides, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, etc. Ces composés ont le potentiel de transformer en profondeur la physiologie des organismes vivants, principalement lorsque les organismes sont exposés pendant de longues périodes à ces derniers dans leur milieu de vie. L'un des biorythmes principaux de l'exposition est l'induction du stress oxydatif.

En ce sens, les biomarqueurs jouent un rôle important dans l'évaluation de l'état de santé des écosystèmes. Ils permettent une surveillance plus sensible et plus réactive de la pollution, pouvant même servir de mécanismes d'alerte précoce. C'est conformément à cette approche que cette étude a été réalisée en utilisant le gastéropode pulmoné terrestre *Helix aspersa* comme modèle biologique pour le suivi de la qualité des sols en milieu urbain. Trois biomarqueurs du stress oxydatif ont été explorés : le glutathion (GSH), la glutathion-S-transférase (GST) et le malonodialdéhyde (MDA). Les échantillons de *H. aspersa* ont été pris dans deux stations : une de référence, et l'autre perturbée.

Les résultats ont indiqué des perturbations biologiques remarquables. En effet, les taux du GSH et de la GST sont significativement bas au niveau de la station perturbée par rapport à la station témoin, tandis que le MDA est élevé. Une telle situation reflète sans doute un état de stress oxydatif chez *H. aspersa*. Ce stress est accentué chez les individus adultes.

De telles observations confirment encore une fois l'utilité de cette espèce en tant que bioindicateur pour évaluer l'état de santé des écosystèmes.

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

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

Examinateur: Boughaba Rokia

MA(A) U. Constantine1 Frères Mentouri

Date de soutenance : 12/06/2025