



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



UNIVERSITE Abbes LAGHROUR Khenchela

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT D'ÉCOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

MEMOIRE DE MASTER ACADEMIQUE

Filière: Ecologie

Option: protection des écosystèmes

Thème

La biosurveillance de la qualité des sols par l'utilisation d'une espèce bioindicatrice *Hélix aspersa*.

Présenté par:

Mlle. Bourezegue Chaima & Mlle. Debbache Djihane

JURY:

Présidente: Mme. BERKANI Chérif MCB. Université Abbes LAGHROUR Khenchela

Encadreur: Mr. LARBA. Rabah MCB. Université Abbes LAGHROUR Khenchela

Examineur: Mme. MAZHOUD Amel MAA. Université Abbes LAGHROUR Khenchela

Année universitaire: 2019/2020



Remerciement

<<Avant tout ; louange à ALLAH omnipotent qui m'a illuminé. >>

Ce modeste travail est le fruit des efforts et des sacrifices déployés par les enseignants de l'université qui ont su guider nos pas dans la voie de la recherche et le savoir.

*Nous remercions en particulier Mr : **LARBAA.Rabah** pour avoir accepté de m'encadrer avec ses précieux conseils ; sa disponibilité et sa compréhension.*

*Nos remerciements également aux membres du jury Mme : **Dalli. N** et Mme : **Berkani.CH** qui ont accepté de juger ce travail*

Aussi nous remercions nos enseignants ; nos amis et nos collègues.

Je remercie mes parents ; ma famille

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation ce travail

Dédicace

Du profond de mon cœur ; je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

A MON CHER PERE

Autant de phrases et d'expression aussi éloquentes soit elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité ; de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter.

Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tous les maux.

A MA CHERE MERE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect ; mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre sollicitude et intérêt m'accompagnent toujours.

A mes chers frères Hussam et Sinou

Ils m'ont été d'une aide et assistance considérables, c'est pourquoi ; je les remercie fortement.

Bourezegue Chaimae

A mes chères et adorables sœurs :

Kaouther ; la prunelle de mes yeux ; Oumaima la douce au cœur

Majdama copine du cœur et ma troisième sœur.

*Vos encouragements et vos soutiens étaient la bouffée d'oxygène
qui me ressourçait dans les moments pénibles.*

*Merci d'être toujours à mes côtés par vos présences, par vos
amours dévoués et vos tendresses.*

*Je prie Dieu le tout puissant pour qu'il vous donne tout le bonheur
et la prospérité*

➤ *Une dédicacée un peu spéciale pour mes chères
tantes : Nazifa et Sana qui sont toujours à mes côtés et qui
m'éclaircissent de leurs précieux conseils et encouragements.*

*Sans oublier ma chère Rima et ses deux garçons Mondji le plus
intelligent et Yasser le plus mignon ... je vous aime trop*

Que Dieu tout puissant les garde et les entoure de sa bénédiction.

➤ *A la mémoire de ma grande mère maternelle ; et mes
oncles Lakhdher Mokhnane et Samir Bekhouche*

*Que dieu ; le miséricordieux ; vous accueille dans son vaste
paradis.*

AMES AMIS DE TOUJOURS :

Lina, Meriem, Ikram, Djouhaina, Aymen...

*En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments
agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce
travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection
la plus sincère.*

Bourezegue Chaimae

DEDICACE

A ma Chère Mère Djamila

A mon Père Abd El Ali

Dont le mérite, les sacrifices et les qualités
humaines m'ont permis de vivre ce jour.

A mes Frères et mes sœurs

Aymen, sofiane, yasmina, sirine

A tous les gens m'aiment

Adel, rouslan, souhila, ikram, nina.....

DEBBACHE DJIHANE



SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

1. INTRODUCTION1

2. MATERIEL ET METHODES5

2.1. Présentation des sites4
2.2. Matériel Biologique6

2.2.1. Présentation et classification de l'espèce bio indicatrice6

2.2.2. Distribution géographique6

2.2.3. Anatomie générale de l'escargot 7

2.2.3.1. Anatomie externe de l'escargot 7

2.2.3.2. Anatomie interne d'un escargot7

2.2.4. Rythme d'activité8

2.2.5. Estivation et hibernation8

2.2.6. Croissance9

2.2.7. Reproduction9

2.3. Dissection et prélèvement des organes10

2.4. Extraction et dosage des biomarqueurs10

2.4.1. Dosage de l'acétylcholinestérase10

2.4.2. Dosage de la glutathion S-transférase11

2.4.3. Extraction et dosage des protéines 12

2.5. Extraction et dosage des métaux lourds par la SAA Extraction13

2.6. Traitements statistiques des données 14

3. RESULTATS15

3.1. Dosage des biomarqueurs du stress environnemental chez *helix aspersa***15**

3.1.1. Activité saisonnière de l'acétylcholinestérase**15**

3.1.2. Activité saisonnière de la glutathion S-transférase**16**

3.1.3. Concentration des éléments traces métalliques dans les sols étudiés**19**

3.1.4. Comparaison des concentrations de Manganèse dans le sol**20**

3.1.5. Comparaison des concentrations de Plomb dans le sol**22**

3.1.6. Comparaison des concentrations du Cadmium dans le sol**24**

4. DISCUSSION27

4.1. Mesure des biomarqueurs du stress environnemental**27**

4.1.1. Activité de la glutathion S-transférase **27**

4.1.2. Activité de l'acétylcholinestérase**29**

4.2. Dosage des éléments traces métalliques dans les sols **31**

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES32

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 44

7. Résumés

Liste des tableaux

Tab	Titre	Page
1	Coordonnées géographiques des sites étudiés dans le Nord-est de l'Algérie.	5
2	La gamme d'étalonnage des protéines	12
3	Conditions particulières d'analyse pour la détermination des éléments traces Dans lessols (Juste, 1988).	14
4	Activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans la de l' <i>helixaspersa</i> récoltés dans différents sites ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	15
5	Activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans la de l' <i>Helixaspersa</i> récoltés dans différents sites ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la varia à deux critères de classification.	16
6	Activité spécifique de la glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéine) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	17
7	Activité spécifique de la Glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>helixaspersa</i> récoltés dans différent sites ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.	18
8	Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) pendant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	19
9	Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification	20
10	Concentrations de Manganèse dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	21
11	Concentration de Manganèse dans le sol des sites étudiés (mg/g de poids sec sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.	22
12	Concentration du Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	23
13	Concentration du Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification	24

14	Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).	25
15	Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.	26
16	Concentration des éléments traces métalliques (Fer, Manganèse, Plomb et Cadmium) dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à trois critères de classification	26
17	Limites de détection des métaux lourds (g/Kg) dans les sols (AFNOR, 1996).	32

Liste des figures

Fig	Titre	Page
1	Localisation géographique des sites d'étude ; 1 : El-Hadjar, 2 : Ben M'hidi, 3 : El-Tarf, 4 : El-Kala (PNK).	5
2	Anatomie externe d'un escargot	7
3	Anatomie interne d'un escargot	8
4	Les différents organes prélevés (la tête et l'hépatopancréas).	10
5	Principe de fonctionnement de la spectrophotométrie d'absorption atomique (S.A.A).	13
6	Activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites ($m \pm s$; $n=12$).	16
8	Activité spécifique la glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différents sites ($m \pm s$; $n=12$).	18
9	Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) pendant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).	20
10	Concentration de Manganèse dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).	21
11	Concentration de Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).	23
12	Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g}/\text{g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).	25

Introduction

1. Introduction

Prendre les mesures nécessaires pour supprimer ou limiter l'impact négatif des activités de l'Homme sur son environnement est un sujet d'actualité. En effet, ces dernières génèrent par ces activités une quantité de plus en plus importante de déchets gazeux, solides et liquides. La pollution peut être classée selon la nature et le type du polluant, on parle ainsi : de pollution physique, chimique, biologique et parfois des simples nuisances (Popescu et Tuffs, 2009). Avec l'apparition d'une prise de conscience des notions de pollution s'est imposé un domaine nouveau dans les sciences biologiques, pour identifier et lutter contre les pollutions du milieu naturel. L'écotoxicologie est la science qui intègre la chimie, l'écologie et la toxicologie (Truhaut, 1997; Pelletier, 2004). Depuis les années 1990, de nombreux auteurs ont fait apparaître la nécessité et l'intérêt de considérer les impacts des polluants d'un point de vue écologique et non plus seulement toxicologique : l'écotoxicologie devenant en ce sens une écologie du stress, les polluants étant considérés comme des stressés environnementaux au même titre que les autres contraintes écologiques (Van Straalen, 2003 ; Van den Brink, 2008).

La pollution atmosphérique est devenue en quelques décennies un des problèmes majeurs de notre époque, englobant tous les continents de notre planète. Par la nature et l'étendue de son impact, le rejet d'un grand nombre de polluants dans l'atmosphère représente une grave menace pour la santé humaine mais aussi pour l'environnement (FOAN, 2012). La pollution atmosphérique peut être définie comme la présence d'impuretés dans l'air pouvant provoquer une gêne notable pour le confort ou la santé et un dommage aux biens. Cette pollution peut provenir de gaz, de vapeurs, de particules liquides ou solides ou encore de rayonnements. C'est aussi une modification chimique et physique du milieu naturel aboutissant à des effets nuisibles pour l'homme (Philippe, 2011).

Les métaux lourds sont parmi les polluants les plus dangereux, car ils ne peuvent pas être dégradés et leurs concentrations augmentent régulièrement dans les différents compartiments des écosystèmes (Zorrig, 2004). Naturellement présents dans la biosphère, les métaux suivent des cycles biogéochimiques qui amènent à une distribution hétérogène de leurs concentrations à la surface du globe (Garret 2000). Les métaux lourds peuvent ainsi affecter les organismes

directement en s'accumulant dans leurs corps ou indirectement par transfert par le biais de la chaîne alimentaire (Forstner et Wittman, 1983).

Le sol est certainement la composante de l'environnement la plus mal connue alors qu'il constitue le support direct de la plupart des activités humaines. Ce n'est que récemment, et souvent à la suite de la mise en évidence de la pollution des sols par les activités industrielles ou agricoles (McBride, 1994 ; Saltiene *et al.*, 2002 ; Chapman *et al.*, 2003), la présence d'un polluant dans le sol n'est pas en soit un danger. Le risque apparaît dès que ce polluant peut être mobilisé et agit sur l'environnement (faune, flore) ou sur l'homme (Dubey et Dwivedi, 1988). Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les sols, notamment ceux aux abords des infrastructures routières, se comportent comme des systèmes accumulateurs d'éléments traces métalliques (Bourrelier et Berthelin, 1998 ; Colinet, 2003 ; Dère, 2006). C'est pourquoi, plusieurs représentants ont été utilisés pour la biosurveillance et la bioremédiation des sols contaminés par ces éléments, tels : les bactéries, les mollusques, les vers de terre, les plantes, etc. (Houda, 2010 ; Kabata-Pendias, 2011 ; Alloway, 2013). L'accumulation des métaux dans les organismes est fonction de l'espèce considérée (e.g., Eisler 1981; Miramand et al. 1999). L'influence des différents facteurs écologiques, physiologiques, physico-chimiques sur l'accumulation des métaux dans les organismes doit être prise en compte avant de mesurer et de comparer les concentrations métalliques dans les tissus des organismes sélectionnées comme bioindicateurs (Phillips 1980; Cossa 1989).

Les mollusques gastéropodes terrestres pulmonés sont reconnus comme indicateurs biologiques appropriés, par leur grande capacité d'accumulation des éléments-traces métalliques (ou ETM) dont les plus fréquents sont Cd, Cu, Pb et Zn (Berger et Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999). Cette propriété a été mise à profit pour utiliser les escargots comme bioindicateurs de pollution, par ETM (Selloum, 2013).

Un bioindicateur est défini comme « un organisme qui peut-être utilisé pour quantifier les niveaux relatifs de pollution par les mesures des concentrations en contaminants dans ses tissus » (Phillips 1990). Il existe dans le monde de 30.000 à 35.000 espèces de mollusques terrestres (Tsai, 2004). Malgré leur grande biodiversité, leurs valeurs évolutives, géologiques, écologiques et économiques, les gastéropodes terrestres sont assez mal connus, tant d'un point

de vue biologique que de la répartition des espèces et la plupart des données sont issues des études anciennes (Karas, 2009).

L'escargot terrestre appartenant à l'espèce *Helix aspersa* est un excellent bioindicateur de pollution terrestre plus efficace que le Ver de terre *Lumbricus terrestris* (Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2000). et est parmi les espèces les plus utilisées au laboratoire dans les expériences d'écotoxicologie (Russell *et al.*, 1981 ; Sheifler *et al.*, 2003 ; Gomot, 1997 ; Gimbert *et al.*, 2006, Grara, 2011).

La présente étude s'inscrit dans le programme de biosurveillance de la qualité du sol. On a choisi quatre sites différents par rapport à la proximité ou leur éloignement des zones industrielles : El-Hadjar, Ben M'hidi proches de plusieurs complexes industriels, El-Tarf et El-Kala éloignés des sources de pollution. L'étude comprend deux parties :

- une première partie traite le dosage de quelques éléments traces métalliques (Fer, Plomb, Manganèse et Cadmium) dans les sols des sites étudiés.
- une deuxième partie aborde le dosage de l'acétylcholinestérase et de la glutathion S-transférase chez l'espèce la plus abondante et la plus fréquente dans la région *Helix aspersa* utilisée comme espèce sentinelle pour évaluer la qualité des sols.

Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation des sites d'étude

2.1.1. El-Hadjar

C'est une daïra de la wilaya d'Annaba, située à 10Km au Sud-Est de la ville de Annaba.Elle a une superficie de 63 km². Elle bénéficie d'un climat humide.La pluviométrie annuelle dans cette région est de 450 à 600 mm/an. La daïra d'El-Hadjar est frontalière avec les Daïras d'El-Bouni au Nord, Ben M'hidi à l'Est, Ain Berda au Sud et Sidi Ammar à l'Ouest. Elle comprend plusieurs complexes industriels dont Arcelor Mittal qui est considéré comme une source principale de la pollution. Les coordonnées géographiques des différents sites sont dont données dans le tableau 1.

2.1.2. Ben M'hidi

C'est une daïra de la wilaya de El-Tarf, située à 25Km à l'Est de la ville de El-Hadjar.Elle a une superficie de 150,65km². Elle bénéficie d'un climat humide. La pluviométrie annuelle dans cette région est de 400 à 600 mm/an.Elle est frontalière avec les Daïras d'El-Chatt au Nord, Bouteldja à l'Est, Drean au Sud et El-Hadjar à l'Ouest. C'est une zone agricole et comprend une usine des produits phytosanitaires.

2.1.3. El-Tarf

C'est une daïra de la wilaya d'El-Tarf, située à 60Km à l'Est de la ville de El-Hadjar.Elle a une superficie de 111,4 km².Elle bénéficie d'un climat humide. La pluviométrie annuelle dans cette région est de 420 à 620 mm/an.Elle est frontalière avec les Daïras d'El-Chatt au Nord, El-Kala à l'Est, Zrizer au Sud et Bouteldja à l'Ouest.C'est une zone agricole.

2.1.4. Le Parc National d'El Kala

Le parc national de El-Kala (P.N.K) a été crée par le décret 83/462 du 13.07.83 et érigé en zone protégée en 1991 par l'UNESCO dans le but d'une conservation du patrimoine naturel Algérien. Il situé à l'extrême Nord-est Algérien (70 Km à l'Est de Annaba et 80Km à la ville de El-Hadjar), il est limité à l'Est par la frontière Algéro-Tunisienne, au Nord par la Mer Méditerranéen, à l'Ouest par l'extrémité de la plaine alluviale d'Annaba et enfin au Sud par le contrefort des monts de la Medjerda. Il est servi par un ensemble de conditions naturelles éminemment favorable à une richesse biologique peu commune (Benyakoub & Chabi, 2000),

considéré comme une entité de référence sur le plan de la biodiversité en Algérie qui a toujours attiré les naturalistes nationaux et internationaux pour étudier sa faune et sa flore (Semraoui *et al.*, 1993). Il borde la Mer Méditerranéenne et comprend une belle mosaïque d'habitats qui implique une grande diversité biologique notamment au niveau de la faune: Zones humides (trois lacs), forêts de pins et de chênes (dont une rare forêt littorale de Pins d'Alep), zones montagneuses et écosystèmes marins.

Tableau 1 : Coordonnées géographiques des sites étudiés dans le Nord-est de l'Algérie.

Sites	Nord	Est
El-Hadjar	36°48'00,36''	7°44'00,00''
Ben M'hidi	36°46'02,06''	7°54'11,64''
El-Tarf	36°46'01,58''	8°19'01,84''
El-Kala	36°53'48,55''	8°26'36,80''



Figure 1 : Localisation géographique des sites d'étude ; 1 : El-Hadjar, 2 : Ben M'hidi, 3 : El-Tarf, 4 : El-Kala (PNK).

2.2. Matériel Biologique

2.2.1. Présentation et classification de l'espèce bioindicatrice

Helix aspersa ou le petit gris, est un escargot appartient à l'embranchement des Mollusques, animaux à corps mou et dépourvu de squelette, sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certains de ses organes (Bonnet *et al.*, 1990).

Classification

Helix aspersa (Müller, 1774) est un Mollusque gastropode, pulmoné terrestre, aussi nommé *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature récente (Barker, 2001) ou le petit gris.

Selon Bonnet & Vrillon (1990) sa position systématique est la suivante:

Règne:	Animalia
Embranchement :	Mollusca
Classe :	Gastéropoda
Sous-classe :	Pulmonés
Ordre :	Stylomatophora
Super-famille :	Helicacea
Famille:	Helicidae
Genre :	<i>Helix</i>
Espèce	<i>aspersa</i>
Sous-espèce :	<i>aspersa</i> (Müller, 1774)

2.2.2. Distribution géographique

Grâce à ses pouvoirs adaptatifs aux variations climatiques, *Helix aspersa* est très commun; se trouve dans ses zones habituelles de répartition : jardins, buissons, haies, champs, rochers, et vignobles, généralement, il est très commun au niveau de la région méditerranéenne, dans le monde. *Helix aspersa* se distribue selon l'Université de Floride (2009) comme suit ;

En Afrique : Le Nord d'Afrique (Algérie) et l'Afrique du sud.

Dans l'Asie ; Turquie, rives de la mer noire. Le Pacifique : Australie (Queens land, Tasmanie), nouvelle Zélande.

En Europe ; Grande-Bretagne (principalement les régions du sud et côtières), Belgique, France, Allemagne, Grèce, Irlande, Italie, Portugal, Espagne.

L'Amérique du nord ; Mexique, Etats-Unis et Amérique du sud : Argentine, Chili.

2.2.3. Anatomie générale de l'escargot

2.2.3.1. Anatomie externe de l'escargot

La coquille est un squelette externe secrétée par la face dorsale et le bord libre du manteau, elle est globulaire, spirale, a un enroulement dextre, son ouverture est évasée, descendante; son bord externe est appelé: péristome (Chevalier, 1982). Le corps de l'escargot est mou, visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de trois parties : la tête, le pied et la masse viscérale (Bonnet *et al.*, 1990)(Fig. 4). Sa tête comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens constitués de deux paires de tentacules. Les tentacules inférieures, tactiles, sont dirigés vers le bas, les tentacules supérieures, oculaires, portant un œil simple et un organe olfactif, qui sont dirigés vers le haut (Bonnet *et al.*, 1990). Le pied est musculueux, large et plat, il supporte une coquille calcaire formée d'une seule pièce en forme de spirale. Sa face inférieure, en contact avec le sol, forme une sole de reptation, lorsque l'escargot se déplace, elle laisse une trace brillante formée de mucus (Cadart, 1975). La masse viscérale dont la plus grande partie est enfermée dans la coquille (Chevalier, 1982), contenant presque tous les organes ; elle est richement vascularisée.

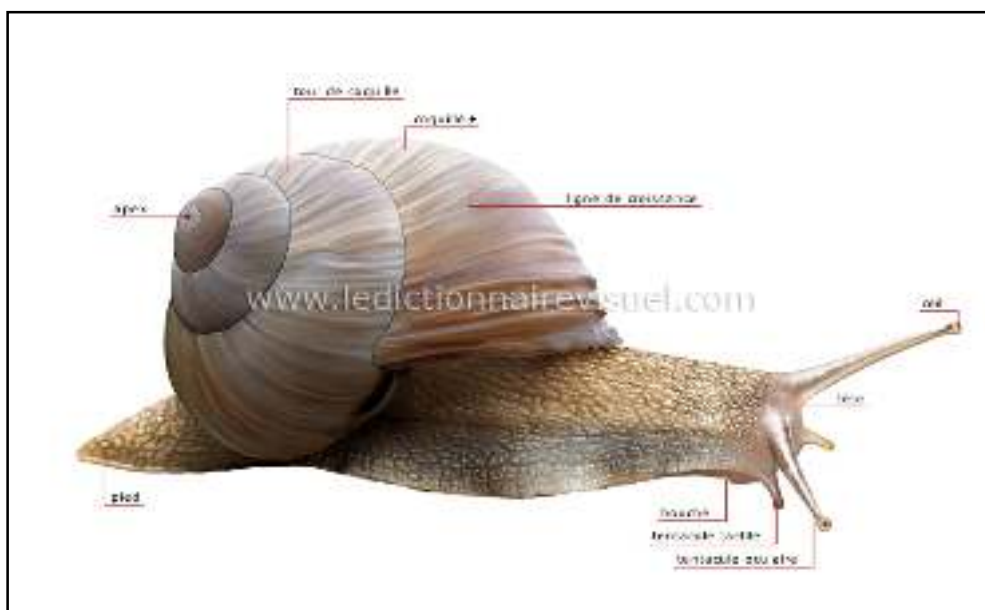


Figure 2 : Anatomie externe d'un escargot(www.nature-scientia.com).

2.2.3.2. Anatomie interne d'un escargot

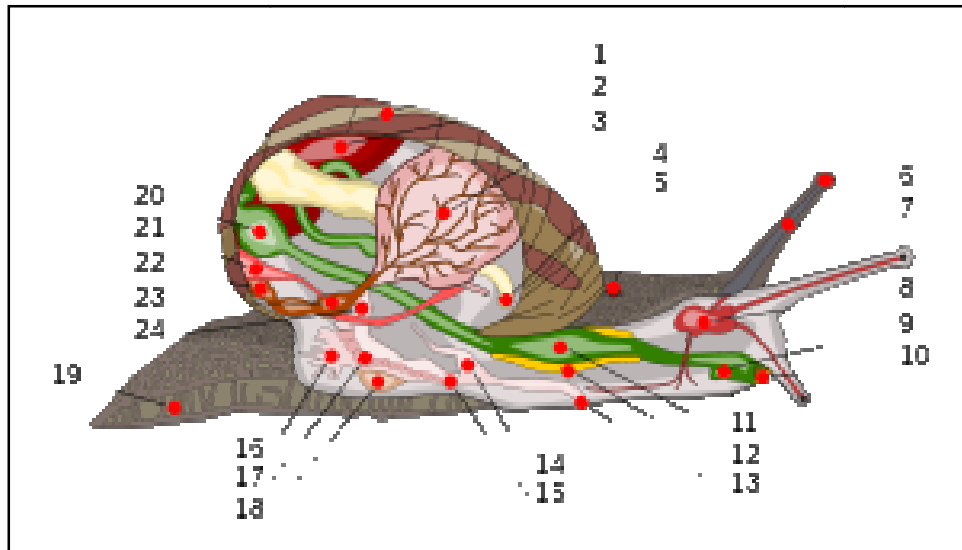


Figure 3 : Anatomie interne d'un escargot (www.nature-scientia.com).

Légende : (1.coquille - 2. foie - 3. poumon - 4. anus - 5. pore respiratoire - 6. oeil - 7. tentacule - 8. cerveau - 9. conduit salivaire - 10. bouche - 11. panse -14. pénis - 15. vagin - 16. glande muqueuse - 17. ovaire - 18. sac de dards - 19. pied - 20. estomac - 21. rein - 22. manteau - 23. coeur - 24. canal déférent).

2.2.4. Rythme d'activité

L'activité des escargots petit-gris est préférentiellement nocturne. Elle se synchronise avec la photopériode naturelle et débute au coucher du soleil avec un maximum six heures après celui-ci (Chevallier, 1992). Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse (Chevallier, 1982). Les escargots sont actifs si l'humidité relative de l'air est supérieure à 80% et si la température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9° C.

2.2.5. Estivation et hibernation

Une absence prolongée d'humidité provoque l'estivation de *Helix aspersa*(Chevallier, 1992). L'animal se fixe alors sur un support en fermant l'ouverture de sa coquille par un voile de mucus solidifié : l'épiphragme. Il reprend son activité lorsque les conditions

environnementales sont plus favorables. Lorsque la température moyenne devient inférieure à 15° C, les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol ou la litière et secrètent un épiphragme d'hiver. Dans une atmosphère humide, le processus d'hibernation s'effectue en-dessous de 5° C. Le raccourcissement de la durée de jour semble avoir également une action sur la mise en hibernation (Bailey, 1981).

2.2.6. Croissance

Quatre phases de croissance ont été définies en fonction de la taille et de la masse des animaux mais aussi de leur différenciation sexuelle (Gomot, 1997 b) :

- ✓ Phase infantile durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g,
- ✓ Phase juvénile relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6,0 g.
- ✓ Phase de maturation sexuelle ou phase préadulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6 g.
- ✓ La phase adulte à croissance nulle durant laquelle les animaux sont aptes à se reproduire. Ils sont alors bordés et pèsent entre 6 et 14 g.

En général, la croissance naturelle jusqu'au stade adulte s'étale sur deux ans si bien que les individus sont le plus souvent considérés comme sexuellement matures à partir du deuxième ou troisième été suivant leur naissance (Chevallier, 1992). Cette croissance se fait par pallier, au rythme des estivations et hibernations. Les facteurs qui influencent la croissance sont la température, l'humidité ambiante, l'éclairement (longueur d'onde, intensité et photopériode) ainsi que la nature du sol et de la nourriture (Gomot, 1997). La durée de vie moyenne d'un escargot en milieu naturel est de 6 à 7 ans (Gomot & Gomot, 1995).

2.2.7. Reproduction

La période de reproduction commence au début du mois de mai et dure jusqu'à la mi-septembre. L'accouplement implique une fécondation réciproque par échange de spermatophores entre les deux partenaires. Cette règle n'est cependant pas absolue et certains individus se comportent soit comme mâle soit comme femelle. L'autofécondation n'a été que très rarement constatée chez les escargots du genre *Helix* et jamais pour *H. aspersa aspersa*. La durée entre l'accouplement et la ponte varie en fonction des conditions du milieu. En

conditions optimales, elle est d'une dizaine de jours mais ce délai peut atteindre un voire deux mois suivant les conditions d'environnement. (Daguzan, 1981; Chevallier, 1982). Pour pondre, l'escargot creuse une cavité de quelques centimètres de profondeur dans le sol, y dépose ses oeufs puis rebouche le "nid de ponte". Le nombre moyen d'oeufs par ponte varie de 80 à 130 pour des individus de différentes origines (Madec, 1983).

2.3. Dissection et prélèvement des organes

Dans une cuvette à dissection, placer un escargot et découper la coquille avec les ciseaux en suivant le bord d'enroulement de la coquille (trait pointillé rose).



Figure 4 : Les différents organes prélevés (la tête et l'hépatopancréas).

2.4. Extraction et dosage des biomarqueurs

Le dosage de l'acétylcholinestérase est effectué dans la tête d'*helix aspersa*, tandis que le dosage des activités de la GST est effectué dans les hépatopancréas des mêmes individus. Les protéines ont été déterminées selon la méthode de Bradford (1976).

2.4.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine en présence de DTNB (acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.

Les têtes sont homogénéisées dans 1 ml de solution détergente [38.03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1 ml triton X 100 %, 5,845 g Na Cl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)], puis centrifuges (5000 tours/mn, 5mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 μ l à la quelle on ajoute 100 μ l de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). après 3 à 7 min, 100 μ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément (23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée) sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 min pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc ou 100 μ l de la solution détergente replace les 100 μ l du surnageant. L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante:

$$\text{AChE}(\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_0 / \text{mn} \times V_t}{1,36 \times 10^4 \times V_s} \times \text{mg de protéines}$$

ΔD_0 : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

$1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB.

V_t : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 acétylthiocholine].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml

2.4.2. Dosage de la glutathion S-transférase

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2,4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur, le glutathion (GSH). La lecture des absorbances est effectuée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/UV (GENESYS TM8).

Les hépatopancreas sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/mn pendant 30min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 0,2 ml du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5 mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1ml tampon phosphate (0,1M, pH 6). La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 min pendant 5 min à une longueur d'onde de 340nm contre un blanc contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant.

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

$$\text{GST}(\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_0 / mn \times V_t}{9,6 \times V_s} \text{ mg de protéines}$$

ΔD_0 : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

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

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

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

2.4.3. Extraction et dosage des protéines

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976), le dosage s'est effectué sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de Bleu Brillant de Comassie (BBC) (C250, Merk) comme réactif [100 mg de BBC, 50 ml d'éthanol (95%), 100ml d'acide ortho phosphorique (85%) et complété à 1000 ml par l'eau distillée] et l'albumine sérum de bœuf (BSA, Sigma) comme standard.

La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm, dans un spectrophotomètre Janway 6300 et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de bœuf (1 mg/ml) selon les indications ci-dessous dans le tableau 11.

Tableau 2: La gamme d'étalonnage des protéines.

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

Réactif (BBC) (ml)	4	4	4	4	4	4
--------------------	---	---	---	---	---	---

2.5. Extraction et dosage des métaux lourds par la SAA Extraction

Le dosage des métaux lourds (manganèse, fer, plomb et cadmium) a été réalisé selon la méthode de Laib & Laghouchi (2011). Le procédé d'extraction consiste à ajouter à 2 g de sol pris à partir d'un échantillon broyé dans un mortier puis passé au tamis de 250 microns, 15 mL d'acide chlorhydrique et 5 mL d'acide nitrique dans un bicher. Laisser en contact pendant une nuit afin de permettre une oxydation lente de la matière organique, puis chauffer dans un bain de sable pendant 2h à une température de 180°C, après refroidissement et rinçage du réfrigérant par quelques mL d'eau déminéralisée, le contenu de bain de sable est filtré sur papier filtre (Whatman n°01) sans cendre, lavé aux acides à vitesse moyenne de filtration dans des fioles de 100 mL puis compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Tous les échantillons dosés par la SAA sont filtrés sous vide par des membranes de filtration ayant une porosité 0,45µm.

Le dosage est effectué par spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA) à flamme air/acétylène de type (SHIMADZU AA-6200, Analytik Jena, Germany). Il comporte les dispositifs suivants (Fig. 2). Les gammes d'étalonnage sont préparées à partir de solutions standard (1000 mg/L) de Fer, Manganèse, Plomb et Cadmium chloride in water Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). (Tableau 7) spécifiques aux éléments étudiés.

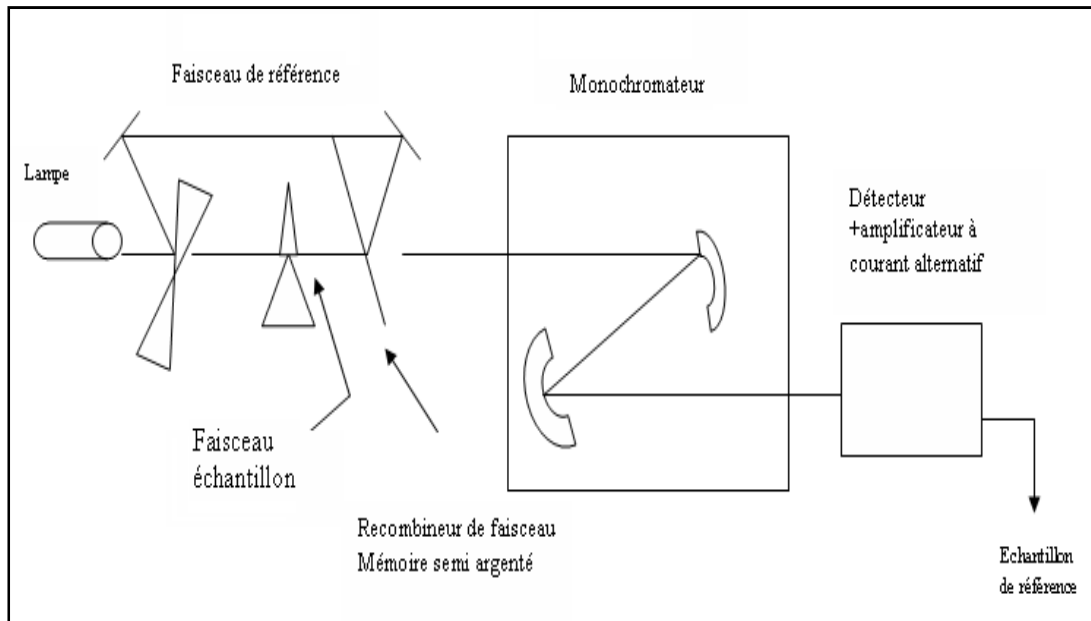


Figure 5 : Principe de fonctionnement de la spectrophotométrie d'absorption atomique (S.A.A).

Tableau 3: Conditions particulières d'analyse pour la détermination des éléments traces Dans lessols (Juste, 1988).

Elément	Longueur d'onde (nm)	Atomisation	Limite de détection (g/Kg)	Gamme d'étalonnage (mg/L)
Cd	228,8	Flamme:air/acétylène	2	0,2 – 0,4 – 1 – 2,5 – 5
Mn	279,5	Flamme:air/acétylène	nd	0,5 – 1 – 2 – 4 – 6
Pb	283,3	Flamme:air/acétylène	100	1 – 2,5 – 5 – 10 – 15
Fe	297,4	Flamme:air/acétylène	nd	2,5 – 5 – 10 – 15 – 20

*: nd: non disponible

Pour mieux interpréter les résultats obtenus au cours de notre étude, une étude statistique a été faite à travers deux méthodes ; l'analyse de la variance et la matrice de la corrélation par l'utilisation du logiciel Excel.

2.6. Traitements statistiques des données

L'analyse statistique des données est effectuée avec le logiciel MINITAB d'analyse et traitement statistique des données version (Version 17,1, PA State College, USA. La

répartition des mesures biologiques (métaux lourds et biomarqueurs) répond à une loi normale et ces paramètres sont exprimées par leur moyenne et leur l'écart type établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisées dans les figures et les tableaux. La démonstration statistique des effets recherchés est réalisée à l'aide de tests paramétriques. Différents tests statistiques ;ANOVA à un, deux et trois critères de classification, test de Tukey et test de corrélation. Le niveau de signification est $p < 0,05$.

Résultats

3. Résultats

3.1. Dosage des biomarqueurs du stress environnemental chez *helix aspersa*

3.1.1. Activité saisonnière de l'acétylcholinestérase:

L'activité de l'AChE ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans les têtes d'*helix aspersa* est variable dans chaque site entre les saisons (Tab. 4 et Fig 6). L'activité de l'AChE passe de $40,472 \pm 1,236$ ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de El-Kala en période hivernale à $14,044 \pm 1,680$ ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de El-Hadjar en période printanière.

Le test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe quatre classes en printemps ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. En ce concerne l'hiver, on remarque l'existence de trois classes ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tous les sites ; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 4: Activité spécifique de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans la tête de *helix aspersa* récoltés dans différents sites ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

	El-Hadjar	Ben M'hidi	El-Tarf	El-Kala
Printemps	$14,044 \pm 1,680$ A a	$19,087 \pm 1,836$ B a	$27,530 \pm 1,978$ C a	$32,550 \pm 1,079$ D a
Hiver	$25,579 \pm 1,392$ A b	$28,436 \pm 1,698$ B b	$39,468 \pm 0,843$ C b	$40,472 \pm 1,236$ C b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les saisons.

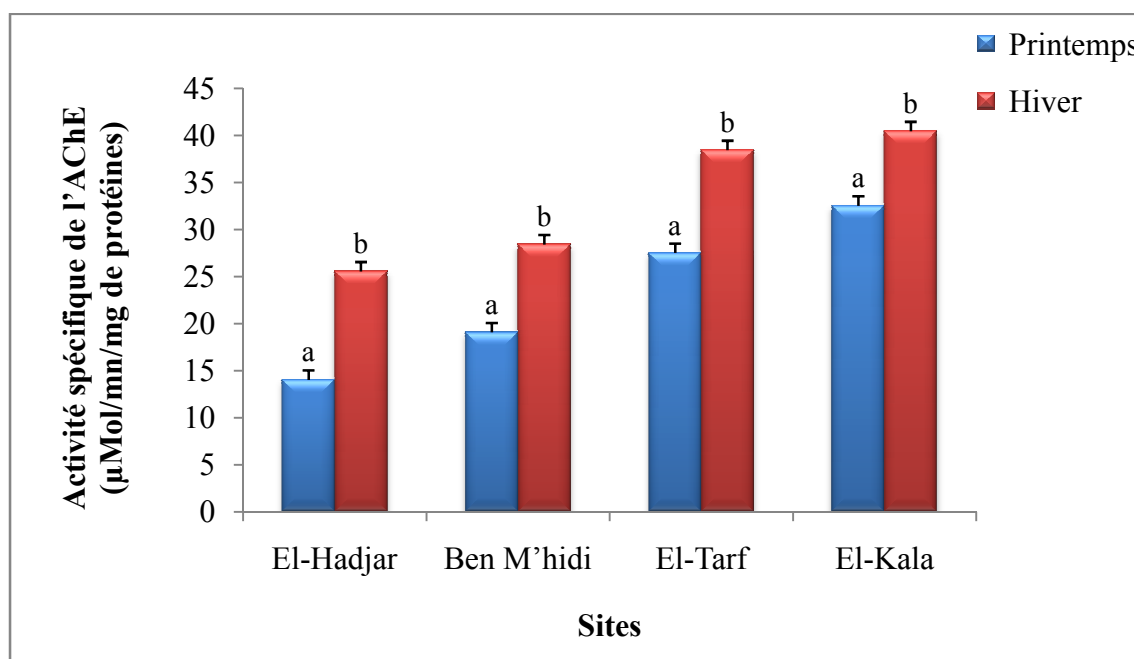


Figure 6. Activité spécifique de l’acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) dans la tête d’*Helix aspersa* récoltés dans différents sites ($m \pm s$; $n=12$).

Pour la variation saisonnière de l’AChE, l’analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet site, saison et l’interaction site*saison ($P \leq 0,001$) hautement significatif entre les deux saisons et les quatre sites prospectés pendant la période d’étude (Tab. 5).

Tableau 5 : Activité spécifique de l’acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) dans la tête de l’*Helix aspersa* récoltés dans différents sites ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	3	9279,66	9279,66	1855,93	2860,14	0,001***
Saison	1	8873,17	8873,17	806,65	1243,11	0,001***
Site*saison	3	298,52	298,52	5,43	8,36	0,001***
Erreur	24	140,16	140,16	0,65		
Total	36	18591,51				

3.1.2. Activité saisonnière de la glutathion S-transférase

L'activité de la glutathion S-transférase déterminée au niveau de l'hépatopancréas d'escargot *Helix aspersa* selon la méthode de Habig *et al.* (1974) dans les quatre sites d'études pendant la période de Décembre 2010 à Mai 2011; elle est exprimée en $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéine.

Le taux de GST ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) dans les hépatopancréas d'*helix aspersa* est variable dans chaque site entre les saisons. Le taux de la GST passe de $39,485 \pm 0,989$ ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de El-Kala en période hivernale à $18,304 \pm 0,737$ ($\mu\text{Mol}/\text{m}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de El-Hadjar en période printanière (Tab. 6 et Fig 7).

La comparaison du taux de la GST grâce au test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe quatre classes pendant le printemps; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. En ce qui concerne l'hiver, on remarque l'existence de quatre classes; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tous les sites; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 6 : Activité spécifique de la glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéine) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

	El-Hadjar	Ben M'hidi	El-Tarf	El-Kala
Printemps	$35,045 \pm 1,424$ A a	$30,419 \pm 0,962$ B a	$23,279 \pm 1,047$ C a	$18,304 \pm 0,737$ D a
Hiver	$39,485 \pm 0,989$ A b	$36,076 \pm 1,470$ B b	$28,894 \pm 1,132$ C b	$20,725 \pm 1,239$ D b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les saisons.

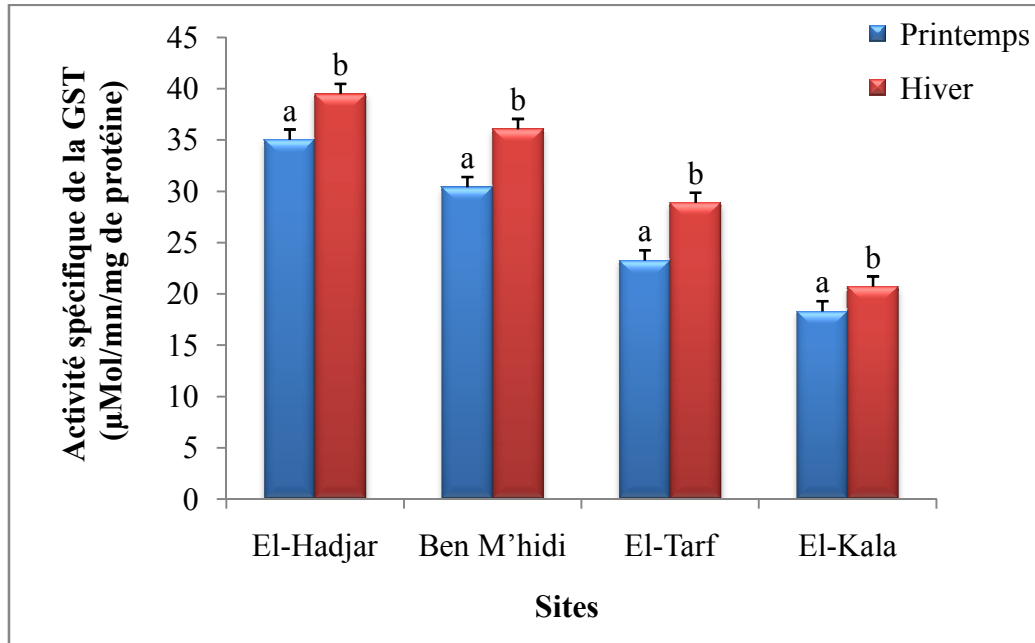


Figure 7.Activité spécifique la glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différents sites ($m \pm s$; $n=12$).

ANOVA à deux critères de classification (site, saison) des taux de la GST montre un effet site, un effet saison et l'interaction site/saison ($p < 0,001$) hautement significatif (Tab. 7).

Tableau 7:Activité spécifique de la Glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) dans l'hépatopancréas d'*helixaspersa* récoltés dans différent sites ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	3	9279,66	9279,66	1855,93	2860,14	0,001***
Saison	1	8873,17	8873,17	806,65	1243,11	0,001***
Site*saison	3	298,52	298,52	5,43	8,36	0,001***
Erreur	24	140,16	140,16	0,65		
Total	36	18591,51				

NS : non significatif * significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($P < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)

3.1.3. Concentration des éléments traces métalliques dans les sols étudiés

Les concentrations obtenues de fer dans le sol des sites étudiés par la SAA (Tab. 8 et Fig 8) révèlent que les concentrations les plus élevées sont enregistrées en période printanière, avec une concentration maximale à El-Hadjar $630,147 \pm 24,979$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et une concentration minimale à El-Kala $243,574 \pm 24,984$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol). On remarque que les valeurs les plus faibles en période hivernale. La valeur maximale enregistrée au niveau de El-Hadjar $586,943 \pm 3,926$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) minimale au niveau de El-Kala $192,433 \pm 24,282$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol).

La comparaison des concentrations de Fer grâce au test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe quatre classes en printemps ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. En ce concerne l'hiver, on remarque l'existence de quatre classes ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tous les sites ; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 8: Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) pendant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Sites Saisons	El-Hadjar	Bouteldja	El-Tarf	El-Kala
Printemps	$630,147 \pm 24,979$ A	$387,573 \pm 11,323$ B a	$332,414 \pm 17,694$ C a	$243,574 \pm 24,984$ D a
Hiver	$586,943 \pm 33,926$ A B	$332,693 \pm 18,525$ D b	$295,203 \pm 20,693$ D b	$192,433 \pm 24,282$ E b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les deux saisons.

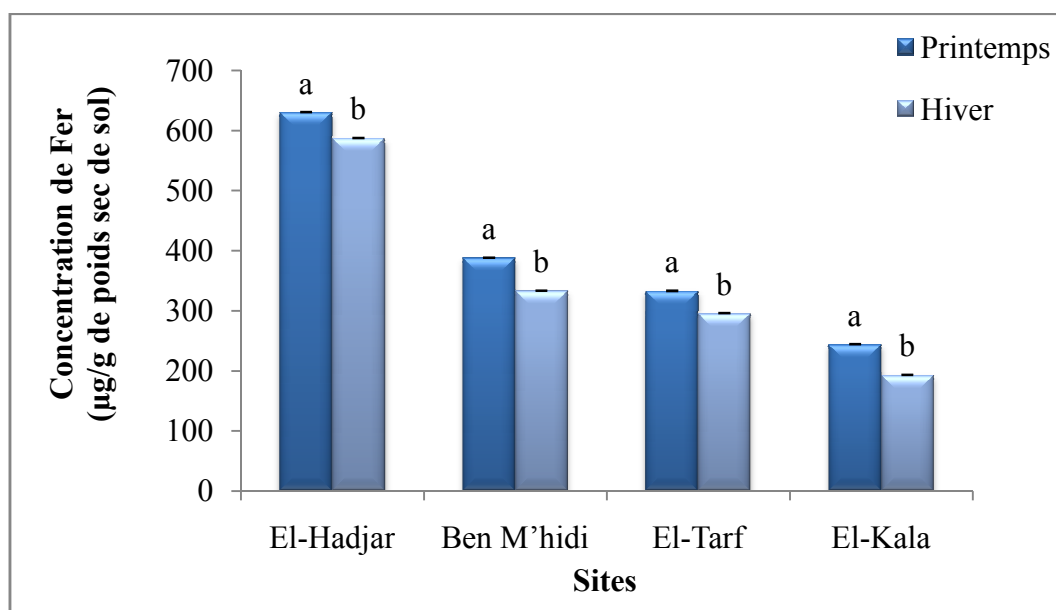


Figure 8. Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés (µg/g de poids sec de sol) pendant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 (m±s, n=12).

Tableau 9: Concentration de Fer dans le sol des sites étudiés (µg/g de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 (m±s, n=12). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	2	1432480	1432480	286496	1171,86	0,000***
saison	3	292521	292521	97507	398,83	0,000***
Site*Saison	6	31620	31620	2108	8,62	0,000***
Erreur	24	11735	11735	244		
Total	36	1768356				

NS : non significatif * significatif (P< 0,05) ** très significatif (P< 0,01) *** hautement significatif (P< 0,001)

3.1.4. Comparaison des concentrations de Manganèse dans le sol

Les concentrations de manganèse (µg/g de poids sec de sol) dans le sol des sites étudiés par la SAA sont mentionnées dans le tableau 10 et figure 9. En effet les résultats obtenus montrent que les concentrations les plus élevées sont enregistrées en période printanière avec une concentration maximale à El-Hadjar 14,532±1,032(µg/g de poids sec de sol) et une concentration minimale à El-Kala 6,599±0,992 (µg/g de poids sec de sol). Les faibles concentrations de manganèse sont enregistrées en hiver. On signale que la valeur la plus élevée

toujours motionnée au niveau de El-Hadjar $11,398 \pm 0,397$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et la plus faible au niveau de El-Kala $3,206 \pm 0,074$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol).

La comparaison des concentrations de Manganèse grâce au test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe trois classes en printemps ; classe A regroupe El-Hadjar et El-Tarf, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe le site de El-Kala. En ce concerne l'hiver, on remarque l'existence de quatre classes ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tout les sites ; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 10 : Concentrations de Manganèse dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

	El-Hadjar	Ben M'hidi	El-Tarf	El-Kala
Printemps	$14,532 \pm 1,032$ A a	$10,307 \pm 1,385$ B a	$13,563 \pm 1,060$ AC a	$6,599 \pm 0,992$ D a
Hiver	$11,398 \pm 0,397$ A b	$8,675 \pm 0,211$ B b	$10,562 \pm 0,262$ AC b	$3,206 \pm 0,074$ D b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les saisons.

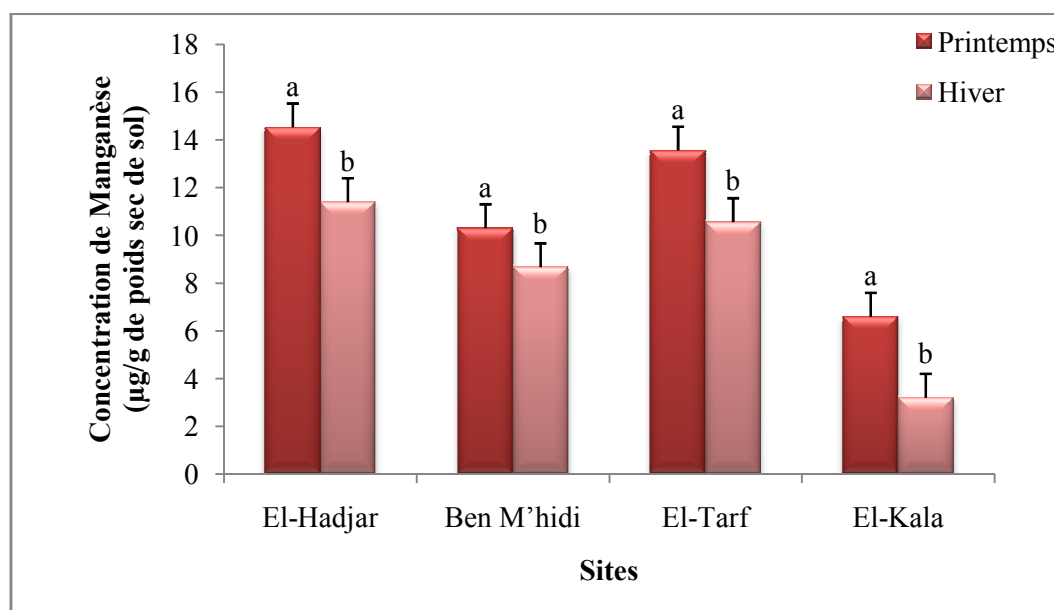


Figure 9 : Concentration de Manganèse dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).

Tableau 11 : Concentration de Manganèse dans le sol des sites étudiés (mg/g de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	3	508,974	508,974	101,795	160,10	0,000***
saison	1	504,422	504,422	168,141	264,45	0,000***
Site* saison	3	24,56	24,56	1,637	2,58	0,007**
Erreur	24	30,519	30,519	0,636		
Total	36	1068,475				

NS : non significatif * significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($P < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)

3.1.5. Comparaison des concentrations de Plomb dans le sol

Les concentrations de Plomb ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) dans le sol des sites étudiés par la SAA sont mentionnées dans le tableau 12 et figure 10. Les résultats obtenus montrent que les concentrations les plus élevées sont enregistrées en période printanière, avec une concentration maximale à El-Tarf $1,477 \pm 0,058$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et une concentration minimale à El-Kala $0,540 \pm 0,061$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol). On observe que les valeurs les plus faibles en période hivernale, la valeur maximale enregistré à El-Tarf $1,399 \pm 0,058$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et la valeur minimale à El-Kala $0,374 \pm 0,110$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol).

La comparaison des concentrations de Manganèse grâce au test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe quatre classes en printemps ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. En ce concerne l'hiver, on remarque l'existence de quatre classes ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tous les sites ; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 12: Concentration du Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

	El-Hadjar	Ben M'hidi	El-Tarf	El-Kala
Printemps	1,313 \pm 0,081 A a	1,107 \pm 0,194 B a	1,477 \pm 0,058 C a	0,540 \pm 0,061 D a
Hiver	1,149 \pm 0,055 A b	0,856 \pm 0,056 B b	1,399 \pm 0,058 C b	0,374 \pm 0,110 D b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les saisons.

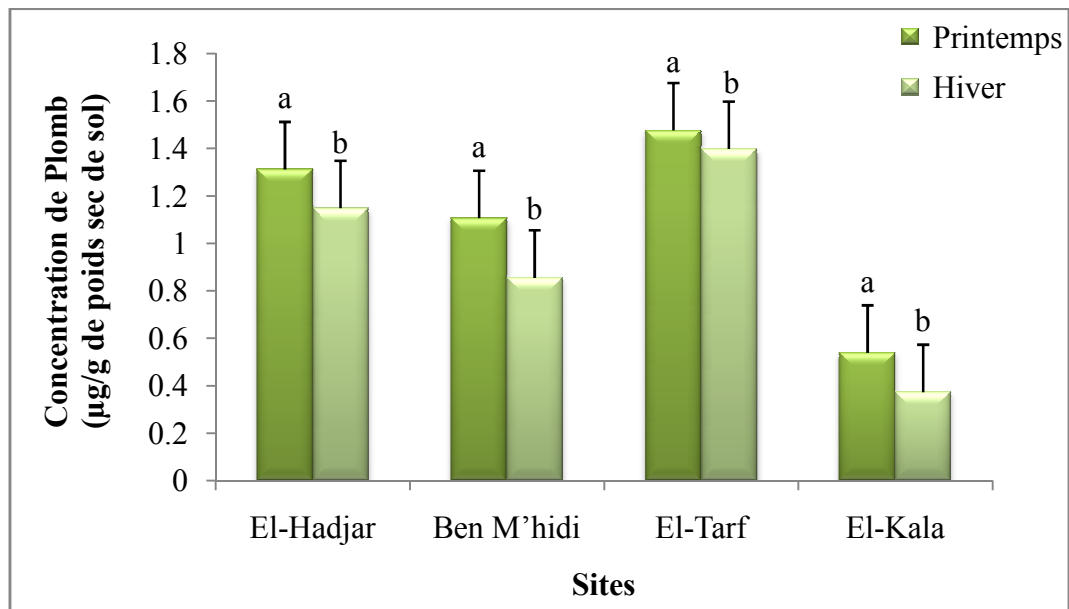


Figure 10: Concentration de Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).

L'analyse de la variance à deux critères de classification (site, saison) des concentrations du Plomb montre un effet site et un effet saison ($p < 0,001$) hautement significatifs et l'interaction site/saison révèle un effet ($p < 0,01$) très significatif (Tab. 13).

Tableau 13 : Concentration du Plomb dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	3	8,06634	8,06634	1,61327	320,82	0,001***
saison	1	2,69849	2,69849	0,89950	178,87	0,001***
Site*saison	3	0,25542	0,25542	0,01703	3,39	0,001***
Erreur	24	0,24138	0,24138	0,00503		
Total	36	11,26163				

NS : non significatif * significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($P < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)

3.1.6. Comparaison des concentrations du Cadmium dans le sol

Les concentrations de Cadmium ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) dans le sol des sites étudiés par la SAA sont mentionnées dans le tableau 14 et figure 11. En effet, les résultats obtenus montrent que les concentrations les plus élevées sont enregistrées en période printanière avec une concentration maximale à El-Hadjar $0,119 \pm 0,002$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et une concentration minimale à El-Kala $0,032 \pm 0,001$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol). En période hivernale, la valeur la plus élevée mentionnée à de El-Hadjar $0,097 \pm 0,009$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) et la plus faible à El-Kala $0,017 \pm 0,003$ ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol).

La comparaison des concentrations de Manganèse grâce au test de Tukey entre les sites d'une même saison montre qu'il existe quatre classes en printemps ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarfet classe D regroupe le site de El-Kala. En ce concerne l'hiver, on remarque l'existence de quatre classes ; classe A regroupe El-Hadjar, classe B regroupe Ben M'hidi, classe C regroupe El-Tarf et classe D regroupe le site de El-Kala. Le test de Tukey entre les saisons d'un même site montre qu'il existe deux classes au niveau de tout les sites ; Classe a le printemps et classe b l'hiver.

Tableau 14: Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Test de Tukey : les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

	El-Hadjar	Ben M'hidi	El-Tarf	El-Kala
Printemps	0,119 \pm 0,002 A a	0,101 \pm 0,002 B a	0,051 \pm 0,003 C a	0,032 \pm 0,001 D a
Hiver	0,097 \pm 0,009 A b	0,073 \pm 0,001 B b	0,036 \pm 0,004 C b	0,017 \pm 0,003 D b

Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même saison entre les sites, tandis que les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même site entre les saisons.

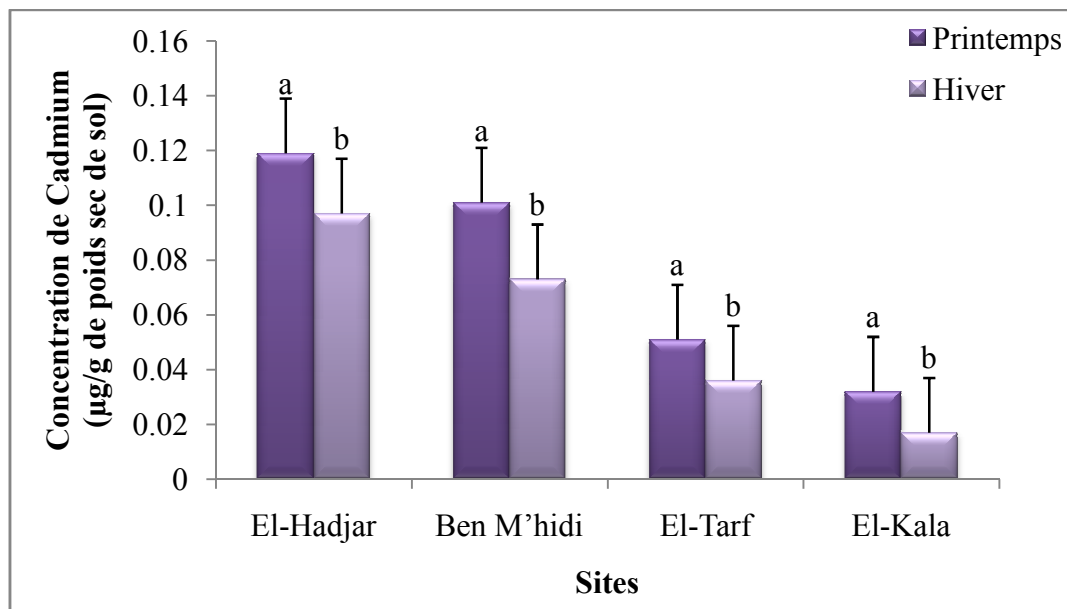


Figure 11 : Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$).

L'ANOVA de à deux critères de classification (site, saison) des concentrations de Cadmium montre un effet site et effet saisons ($p < 0,001$) hautement significatif, un et l'interaction site/saison révèle un effet ($p < 0,01$) très significatif (Tab. 14).

Tableau 14: Concentration de Cadmium dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	5	0,0619098	0,0619098	0,0123820	480,33	0,001***
saison	3	0,0207747	0,0207747	0,0069249	268,64	0,001***
Site*saison	15	0,0005334	0,0005334	0,0000356	1,38	0,196 ^{NS}
Erreur	48	0,0012373	0,0012373	0,0000258		
Total	71	0,0844553				

NS : non significatif * significatif ($P < 0,05$) ** très significatif ($P < 0,01$) *** hautement significatif ($P < 0,001$)

Enfin, l'analyse de la variance à trois critères de classification indique qu'il y a un effet métal, un effet saison, un effet site, l'interaction métal/saison, l'interaction métal/site, l'interaction saison/site et l'interaction métal/saison/site ($p < 0,001$) hautement significatif (Tab. 15).

Tableau 15 : Concentration des éléments traces métalliques (Fer, Manganèse, Plomb et Cadmium) dans le sol des sites étudiés ($\mu\text{g/g}$ de poids sec de sol) durant la période de Décembre 2010 à Mai 2011 ($m \pm s$, $n=12$). Analyse de la variance à trois critères de classification

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Métal	3	88418	88418	29473	493,32	0,000***
Saison	2	11706317	11706317	3902106	65314,62	0,000***
Site	3	361567	361567	72313	1210,40	0,000***
Métal*saison	6	237703	237703	26411	442,08	0,000***
Métal*site	9	8340	8340	556	9,31	0,000***
Saison*site	6	1047366	1047366	69824	1168,74	0,000***
Métal*saison*site	18	24369	931958	542	9,06	0,000***
Erreur	96	11471	11471	60		

Total	148	13485551				
--------------	-----	----------	--	--	--	--

*NS : non significatif * significatif (P< 0,05) ** très significatif (P< 0,01) *** hautement significatif (P< 0,001)*

Discussion

4. Résultats

4.1. Mesure des biomarqueurs du stress environnemental

La préservation de la qualité des sols est devenue une préoccupation majeure des pouvoirs publics au même titre que la protection des milieux aquatiques et aériens. Il est impératif de développer des techniques analytiques capables de détecter plusieurs polluants (Gimbert *et al.*, 2006). De ce fait, l'utilisation des paramètres biochimiques appelés biomarqueurs comme indicateurs de la qualité des écosystèmes (Soltani *et al.*, 2012, Boumaza, 2014). Ces biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental et peuvent être chimiques, physiologiques ou biologiques (Wo, 1999) ; leur validité tient à trois caractéristiques principales: spécificité, sensibilité et préciosité (Amiard-Triquet *et al.*, 1998). L'inhibition ou l'induction *in vivo* des biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur les organismes (Ozmen *et al.*, 1999 ; Sturn *et al.*, 1999). La capacité d'un organisme de s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique dépend principalement des mécanismes de la détoxification de divers composés endogènes (Parsons *et al.*, 1998)

4.1.1. Activité de la glutathion S-transférase

Les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques impliquées, dans des opérations diverses de transport et de biosynthèse intracellulaire (Georges *et al.*, 1990). Ces enzymes sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques parmi lesquels figure la détoxification de nombreux xénobiotiques (Habig *et al.*, 1974 ; Lauterburg & Mitchel, 1981). En effet, ces enzymes catalysent la réaction d'addition entre ces composés et le groupement –SH du glutathion générant ainsi des composés plus hydrosolubles par neutralisation des sites électrophiles des xénobiotiques (Hayes *et al.*, 2004). Cependant, la fonction la plus étudiée est leur capacité de catalyser des réactions de conjugaison entre un peptide, le glutathion et des molécules réactives comportant des sites électrophiles, capables de réagir avec les macromolécules comme les acides nucléiques (ADN et ARN) (Baussant *et al.*, 2009). La catalyse de cette conjugaison du glutathion avec certains substrats représente une étape essentielle dans la formation de composés qui seront moins toxiques et plus hydrosolubles que les molécules de départ (Chatterjee & Bhattacharya, 1984).

Nos résultats révèlent que l'induction de GST est maximale en été dans les quatre sites (El-Hadjar, Ben M'hidi, El-Tarf et El-Kala) et il diminue progressivement en hiver. Cette variation entre saisons peut s'expliquer par des variations des facteurs environnementaux comme la pluviométrie, la température, l'hygrométrie, l'humidité, la durée du jour et l'alimentation qui agissent principalement sur l'activité de l'escargot, alors en hiver les facteurs environnementaux sont défavorables (stress environnemental), l'escargot entre en hibernation, ses activités physiologiques sont réduites, son métabolisme est ralenti (Bailey, 1975 ; 1986), dans ce cas il n'est pas en contact continu avec son milieu ; ce qui réduit les périodes d'exposition aux contaminants existant dans l'environnement ; contrairement en printemps et en automne, les facteurs environnementaux seront favorables pour reprendre ses activités dans son milieu, des longues périodes d'exposition, favorisent l'accumulation des polluants.

De plus, le taux de GST augmente dans les sites El-Hadjar, Ben M'hidi, et El-Tarf comparativement au site d'El-Kala qui présente un taux faible. Cette augmentation peut se traduire par une pollution provenant de la zone industrielle FERTIAL, l'usine ArcelorMittal d'El-Hadjar et le complexe métallurgique FERROVIAL ; ces activités métallurgiques ont des apports diffus d'origine lointaine (poussières, aérosols) pouvant parcourir des centaines de kilomètres à partir de leur sources avant de se déposer (Godin *et al.*, 1985 ; Hopkin, 1989 ; Merian *et al.*, 2004) ou soit des apports ponctuels localisés d'origine proche liée aux activités industrielles de longues durées (Baize, 1997). L'augmentation du taux du GST au niveau de Ben M'hidi, et El-Tarf est en rapport avec la direction des vents qui jouent un rôle dans le transport des polluants des zones industrielles précédentes et aussi par l'effet des engrais (Cd dans les engrais phosphatés (Hamon *et al.*, 1998); les émissions atmosphériques liées au trafic routier et à l'incinération des ordures ménagères (Denison & Silbergeld, 1998 ; Modrzewska & Wyszowski, 2014). Le parc national d'El Kala reste un site moins pollué. Ce gradient décroissant de l'activité de la GST peut s'expliquer par l'éloignement des principales sources de pollution (les zones industrielles ; FERTIAL et FERROVIAL).

Les résultats de nombreuses expériences montrent l'augmentation de l'activité de GST en réponse à la quantité élevée de polluants dans l'environnement (Canesi *et al.*, 1999 ; Viard-La rocca *et al.*, 2004). En accord avec nos résultats Radwan *et al.*, (2010) trouvent un gradient décroissant de l'induction de la GST chez un gastéropode terrestre (*Theba pisana*) par l'éloignement à la source de pollution (Egypte). Une induction de la GST a été signalée chez l'escargot *Theba pisana* exposé aux pesticides (El-Gendy *et al.*, 2009) et aussi chez trois

espèces de mollusque terrestre ; *Helix pomatia*, *Helix aspersa* et *Arion rufus* collectées dans des sites contaminées par les métaux lourds (Italy) (Menta & Parisi, 2001). Ces résultats sont en accord aussi avec les travaux de Radwan *et al.*, (1992), qui ont mis en évidence une induction de l'activité GST après exposition du gastéropode terrestre (*Theba pisana*) à un pesticide (Carbamate) mais aussi chez l'espèce *Helix aspersa* exposé aux insecticides (Radwan & Mohamed, 2013). Chez les escargots *Nucella lapilli* et *Monodonta lineata* exposés au cuivre on note une réduction de l'activité de la GST (Cunha *et al.*, 2007). Dans une étude de biosurveillance, l'induction de la GST a été observée chez l'escargot *Helix aspersa* récolté dans des sites urbains pollués par les métaux lourds (Abdel-Halim *et al.*, 2013).

L'estimation de l'activité de la GST chez la population de *Helix aspersa* au cours de deux saisons montre une augmentation de l'activité de l'enzyme dans les différents sites. Nos résultats montrent une augmentation significative du taux de GST au niveau de l'hépatopancréas en présence des ETMs ; cette augmentation est une réponse au stress oxydatif provoqué par la présence de métaux lourds dans l'organe (Farombi *et al.*, 2007). Les enzymes de biotransformation sont parmi les premières à répondre à la présence d'un élément métallique dans un organisme vivant. Cette augmentation indique un taux élevé de conjugaison des ETMs avec le glutathion (Peršić, 2004).

4.1.2. Activité de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est la cible principale des ETMs (Payne *et al.*, 1996 ; Flammarion *et al.*, 1998a et 2002a ; Sturm *et al.*, 1999 ; Barra *et al.*, 2001). L'inhibition de l'acétylcholinestérase peut avoir des effets sur le comportement des êtres vivants (Saglio *et al.*, 1996 ; Khessiba *et al.*, 2001). L'analyse de l'activité de l'acétylcholinestérase dans les différents tissus des organismes terrestres est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux terrestres (Viar-La rocca, 2004 ; Gimbert, 2006).

L'acétylcholinestérase peut être inhibée par de nombreux neurotoxiques (Bocquené, 1996 ; Bainsy, 2000). La mesure de son inhibition constitue un marqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des organismes à différents contaminants et notamment certains produits phytosanitaires. L'AChE constitue en effet la cible privilégiée de certains ETMs (Cadmium), herbicides (triazines, paraquat) et autres molécules neurotoxiques (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Dellali *et al.*, 2001 ; Belabed & Soltani,

2013). L'inhibition de l'activité de l'AChE s'est également révélée intéressante dans le cadre d'étude de la qualité des milieux terrestre (Viar-La Rocca, 2004).

Nos résultats montrent une diminution significative de l'activité de l'AChE au niveau de la tête d'*Helix aspersa* au cours des deux saisons (printemps et hiver). L'inhibition de l'AChE est maximale en été dans les quatre sites (El-Hadjar, Ben M'hidi, El-Tarf et El-Kala) et relativement moindre en hiver. Cette variation entre saisons peut s'expliquer par des variations des facteurs environnementaux (Xu & Tao, 2004; Rodriguez *et al.*, 2008). En hiver les facteurs environnementaux sont défavorables (stress environnemental), l'escargot entre en hibernation, ses activités physiologiques sont réduites (Bailey, 1975 ; 1986), son métabolisme est ralenti, dans ce cas il n'est pas en contact continu avec son milieu ; ce qui réduit les périodes d'exposition aux contaminants existant dans l'environnement ; contrairement au printemps, les facteurs environnementaux seront favorables pour reprendre ses activités dans son milieu, des longues périodes d'exposition, favorisent l'accumulation des polluants.

Un gradient décroissant de l'inhibition de l'AChE El-Hadjar > Ben M'hidi > El-Tarf et le site de El-Kala moins pollué. Cette diminution peut s'expliquer par une pollution provenant des usines périphériques. L'inhibition de l'AChE dans le site de El-Hadjar peut être due à l'accumulation des ETMs par *Helix aspersa* proviennent du complexe ARCELOR METAL (Merian *et al.*, 2004 ; Maas *et al.*, 2010) La diminution de l'activité de l'AChE au niveau de Ben M'hidi, Sidi Kaçi, Bouteldja et El-Tarf est exprimée par la direction des vents qui joue un rôle dans le transport des polluants des zones industrielles. Le parc national d'El Kala reste un site moins pollué ne contient aucune source de pollution.

Des études cinétiques à plus long terme, basées sur l'analyse d'*Helix aspersa* exposés 56 jours sur le terrain, ont permis d'affiner l'analyse temporelle des transferts sol-plante-escargots de métaux (Gimbert *et al.*, 2008). D'autres travaux appuient nos résultats, notamment ceux de Radwan *et al.* (1992), qui ont mis en évidence une inhibition de l'activité (AChE) après exposition du gastéropode terrestre (*Theba pisana*) aux pesticides (carbamates) ou encore de Salama *et al.*, (2005) relatifs à une inhibition de l'activité de l'AChE après exposition du gastéropode *Helix aspersa* au carbofurane (pesticide) et aux insecticides (Imidaacloprod) (Radwan & Mohamed, 2013). Une étude *in situ* concernant l'activité de l'AChE montre que cette inhibition augmente d'une manière dose-dépendante en présence de poussières métalliques et de cadmium dans les organes d'*Helix aspersa* (Grara, 2011).

Des expériences précises des contaminations des milieux terrestres par les métaux ont ainsi été obtenues par exemple au Royaume-Uni avec *H. aspersa* (Cooke *et al.*, 1979), ou *Cepaea hortensis* (Dallinger *et al.*, 2004). Elles peuvent en effet révéler des différences interspécifiques de bioaccumulation, comme l'a par exemple constaté Rabitsch (1996) avec des espèces comme *Helix pomatia*, *Arianta arbustorum*, *Aegonis verticillus* et *Bradybaena fructicum*. Pourtant, en complément des études de bioindication active où l'on maîtrise l'exposition et qui renseignent sur la disponibilité des contaminants, l'analyse des escargots peut apporter des informations sur les niveaux atteints après des expositions de plusieurs années (Gomot-de Vaufleury & Pihan, 2000 ; Pihan & de Vaufleury, 2000).

4.2. Dosage des éléments traces métalliques dans les sols

Les bioindicateurs des ETM dans les sols donnent une indication de la fraction biologiquement circulante de ces éléments et par conséquent de la quantité qui rentre dans la chaîne alimentaire (Abdul Rida, 1992 ; Abdul Rida & Bouché 1995). Les sites de notre étude sont diversement contaminés par les ETM. Les sols pollués constituent une source pour les ETMs dans l'environnement et constituent une source d'exposition majeure des organismes (Alloway, 1995). Concernant le Fe, Mn, Pb et le Cd, les sources anthropogéniques majeures sont l'industrie métallurgique, l'industrie manufacturière et surtout la fonderie, les activités minières, les sites de stockage de déchets (résidus d'incinération de plastiques, batteries...) (Suna *et al.*, 2010, Maas *et al.*, 2010), les épandages de boues d'épuration, les pratiques agricoles (fertilisants, pesticides...), la combustion d'hydrocarbures et autres combustibles fossiles et les gaz d'échappement des véhicules notamment pour le Pb (Alloway, 1995). Dans le cas de rejets atmosphériques d'activités minières et de fonderie par exemple, les dépôts peuvent affecter plusieurs dizaines de km² autour de la mine/de l'usine concernée (Rieuwerts & Farago, 1996 ; Martley *et al.*, 2004 ; Hasselbach *et al.*, 2005). Dans le cas d'émissions de poussières contaminées depuis des sources ponctuelles, il a été montré que la distance à la source, la direction et la vitesse des vents, la fréquence et la quantité de précipitations, la rugosité et l'interception par l'environnement influencent sur les taux de déposition et en conséquence, les niveaux de pollution des sols (Antonic & Legovic, 1999 ; Branford *et al.*, 2004 ; De Ridder *et al.*, 2004 ; Ali-Khodja *et al.*, 2005 ; Floret *et al.*, 2006 ; Rawlins *et al.*, 2006). De plus, les quantités et la spéciation des ETMs varient avec l'occupation du sol, les milieux boisés montrant des concentrations en ETMs dans les sols généralement plus fortes

que les milieux ouverts (prairies, champs cultivés, landes...) (Rieuwerts & Farago, 1996 ; Fowler *et al.*, 2004 ; Ettler *et al.*, 2005 ; Magiera & Zawadzki, 2007). Les sols étudiés contiennent des teneurs en ETM qui varient en fonction de l'éloignement des sites par rapport à la source de pollution (Bretzel & Calderisi, 2006 ; Suna *et al.*, 2010 ; Modrzewska & Wyszowski, 2014). Les valeurs trouvées dans les sols des différents sites sont inférieures aux normes (AFNOR, 1996) indiquées dans le tableau 16. Le site d'El-Hadjar est relativement le plus pollué avec des teneurs maximales du Cd, Mn et surtout du Fe à cause de l'existence d'un complexe sidérurgique Arcelor Mital (Maas *et al.*, 2010). Les concentrations élevées de Pb à Bouteldja et El-Tarf par rapport aux autres sites sont en rapport avec leur proximité avec le réseau routier générant une pollution plombique. Ceci est en accord avec des études précédentes faites ailleurs (Garcia & Millan, 1998 ; Maas *et al.*, 2010 ; Škrbić & Đurišić-Mladenović, 2013 ; Modrzewska & Wyszowski, 2014). Des variations saisonnières importantes observées pour les teneurs en ETM, ces teneurs en ETM dans les sols étudiés sont élevés en été comparativement à l'hiver, un gradient décroissant est observé été > automne > printemps > hiver, ceci peut être due au lessivage des polluants par la pluie (Piron-Frenet *et al.*, 1994 ; Xu & Tao, 2004 ; Rodriguez *et al.*, 2008).

Tableau 16 : Limites de détection des métaux lourds (g/Kg) dans les sols (AFNOR, 1996).

Métaux lourds	Concentrations*
Cd	2
Cr	150
Cu	100
Pb	100
Zn	300
Fe	nd
Mn	nd

*: nd: non disponible

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude s'inscrit dans l'objectif d'évaluer la pollution des sols dans certains biotope du Nord-Est (Algérie) en surveillant mensuellement deux biomarqueurs de stress environnemental (GST, AChE), qui s'étend de Décembre 2010 à Mai 2011 chez un mollusque gastéropode *Helix aspersa* (Müller, 1774).

Le dosage des éléments traces métalliques ; Fer, Manganèse, Plomb et Cadmium, indique qu'il y a une pollution des sols. Il relève que la concentration des polluants est plus élevée dans la période printanière et plus faible dans la période hivernale. De plus, la pollution est plus importante au niveau d'El-Hadjar et moins importante au niveau d'El-Kala.

La mesure des biomarqueurs montre une variation saisonnière ainsi qu'une différence entre les sites. La forte contamination dans la région d'El-Hadjar et Ben M' hididûe a la diminution de l'activité de l'AChE et une augmentation de la GST, tandis que la plus faible contamination dans la région de EL teref est presque nulle dans la région d'El-Kala. dûe a l'augmentation de l'activité de l'AChE et la diminution de la GST. Ce gradient de pollution est lié aux les sources de pollution.

A l'avenir :

- évaluer les effets secondaires de ces éléments sur la physiologie de l'espèce
- analyser les éléments traces métalliques dans la chair de l'espèce d'*Helix aspersa*
- Dosage des métaux lourds dans le sol.
- Dosage d'autres biomarqueurs tels que la catalase.
- Le dosage d'un biomarqueur de la pollution métallique (les métallothionéines) et d'autres enzymes de détoxifications (GPx et SOD) est envisagé afin d'obtenir des informations complémentaires sur l'action de ces éléments traces métalliques.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

6. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abd El-Halim K.Y., Abo El-Saad A.M., Talha M.M., Hussein A.A., & Bakry N.M., 2013.** Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*, 93, 1131–1138.
- Abdul Rida A.M.M., & Bouché M.B., 1995.** The eradication of earthworm genus by heavy metal in southern France. *Appl. Soil. Ecol*, 2, 45-52.
- Abdul Rida A.M.M., 1992.** Biosurveillance de la contamination du sol: apport de l'étude des lombriciens à l'évaluation des risques liés aux éléments traces. Thèse de doctorat en ecotoxicologie et environnement, Université de Montpellier 2 (France), 234p.
- Ali-Khodja H., Boumegoura N., & Habbas B., 2005.** Spatio-temporal deposition fluxes of dust and trace elements around a cement plant in the vicinity of Hamma Bouziane, Algeria. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14, 237-247.
- Alloway B.J., 1995.** Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professionals, 368 pp.
- Alloway, J.B.. (2013).** *Heavy metals in soils: trace metals and metalloids in soils and their bioavailability*. 3rd Ed. Springer, New York..
- Amiard J.C., Caquet T., & Lagadic L., 1998.** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 21-31.
- Antonic O., & Legovi c, T., 1999.** Estimating the direction of an 'unknown air pollution using a digital elevation model and a sample of deposition. *Ecol. Model*, 124, 85–95.
- Bailey S.E.R., 1975.** The seasonal and daily patterns of locomotor activity in the snail *Helix aspersa* Miiller, and their relation to environmental variables. *Proc. Malacol. Soc. London* 35: 43-45;
- Bailey S.E.R., 1981.** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Miiller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Jorn. Comp. Physiol*, 142, 89-94.
- Bainy A.C.D., 2000.** Biochemical responses in Peneids caused by contaminants. *Aquacul.*, 191: 163 – 168.

- Baize D., 1997.** Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). *INRA*, Paris, 408 p.
- Barker G.M., 2001.** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 567 p.
- Barra R., Notarianni V. & Gentili G., 2001.** Biochemical biomarker responses and chlorinated compounds in the fish *Leuciscus cephalus* along a contaminant gradient in a polluted river. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.*, 66, 582-590.
- Baussant T., Bechmann R.K., Taban I.C., Larsen B.K., Tandberg A.H., Bjørnstad A., Torgrimsen S., Naevdal A., Øysaed K.B., Jonsson G. & Sanni S., 2009.** Enzymatic and cellular responses in relation to body burden of PAHs in bivalve molluscs: A case study with chronic levels of North Sea and Barents Sea dispersed oil. *Mar. Poll. Bull.*, 58 : 1796-1807.
- Belabed S., & Soltani, N., 2013.** Acute toxicity of cadmium on *Donax trunculus*: acetylcholinesterase, glutathione S-transferase activities and pattern of recovery. *European Journal of Experimental Biology*, 3(2), 54-61.
- Benyacoub S., & Chabi Y., 2000.** Egg size variation in Algerian population of the blue Tit (*Parus caeruleus ultramarinus*): effects of altitude and habitat. *Rev. Ecol. Terre. Vie*, 55 : 183-192.
- Berger, B., & Dallinger, R. (1993).** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25(1), 65-84.
- Bliefert, C., & Perraud, R. (2007).** *Chimie de l'environnement: air, eau, sols, déchets*. De Boeck Supérieur. liver
- Bocquené G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse Doc., Ecole Pratique des Hautes Etudes : 250p.
- Bocquené G., Galgani F. & Walker H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., (eds) *Biomarqueurs en écotoxicologie – Aspects fondamentaux*. Masson, Papis : 209- 204

- Bonnet J.C., & Vrillon J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa* biologie – élevage. Edition INRA, 14-15.
- Bonnet J.C., Aupinel P., & Vrillon J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain. INRA.
- Boumaza F.Z., 2014.** Évaluation de l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba à travers un Mollusque Gastéropode *Patella caerulea* (Linnaeus, 1758) : paramètres écologiques et biochimiques. Thèse de doctorat 3ème cycle en science de la vie, 194p.
- Bourrelier, P. H., Berthelin, J., & Pedro, G. (1998).** *Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion: [organisé par l'Académie des sciences, 11 mai 1998]*. Tec & Doc.
- Branford D., Fowler D., & Moghaddam M.V., 2004.** Study of aerosol deposition at a wind exposed forest edge using ^{210}Pb and ^{137}Cs soil inventories. *Water Air and Soil Pollution*, 157, 107-116
- Bretzel F., & Calderisi M., 2006.** Metal contamination in urban soils of Coastal Tuscany (Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, 118: 319-335.
- Cadart J., 1975.** Les Escargots. Biologie-Elevage-Parcage-Histoire-Gastronomie-Commerce. 38 Figures.
- Canesi L., Viarengo A., Leonzio C., Filipelli M., & Gallo G. 1999.** Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissue. *Aquat. Toxicol.* 46, 67-76.
- Chapman, J. W., Reynolds, D. R., & Smith, A. D. (2003).** Vertical-looking radar: a new tool for monitoring high-altitude insect migration. *Bioscience*, 53(5), 503-511.
- Chatterjee S. & Bhattacharya S., 1984.** Detoxication of industrial pollutants by the glutathione S- transferase system in the liver of *Anabas testudineuse* (Bloch). *Toxicol. Lett.*, 22: 187 – 198.
- Chevalier H., 1992.** L'élevage des escargots : production et préparation du « Petit-gris » .Ed. *Du point vétérinaire*. 144 p.
- Chevallier H., 1982.** Facteurs de croissance chez des gastéropodes pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Haliotis*, 12, 29-46.

- Colinet, G. (2003).** *Éléments traces métalliques dans les sols-Contribution à la connaissance des déterminants de leur distribution spatiale en région limoneuse belge*. Thèse de doctorat, FUSA Gx, Gembloux, 442p.
- Cooke M., Jackson G., Nickless D.J., Roberts, A., 1979.** Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 23: 445-451
- Cortet, J., Gomot-De Vaufleury, A., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999).** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35(3), 115-134.
- Cossa, D. (1989).** A review of the use of *Mytilus* spp as quantitative indicators of cadmium and mercury contamination in coastal waters. *Oceanologica acta*, 12(4), 417-432.
- Cunha I., Mangas-Ramirez E., Guilhermino L. 2007.** Effects of copper and cadmium on cholinesterase and glutathione S-transferase activities of two marine gastropods (*Monodonta lineata* and *Nucella lapillus*). *Comp. Biochem. Physiol*, 145, 648-657
- Daguzan J., 1981.** Contribution à l'élevage de l'escargot petit-gris : *Helix aspersa* Müller (mollusque gastéropode pulmoné stylommatophore). I. Reproduction et éclosion des jeunes en bâtiment et en conditions thermohygrométriques contrôlées. *Ann. Zootechn* 30, 249-272.
- Dallinger R., Lagg B., Egg M, Schipflinger R., & Chabicoovsky M., 2004.** Cd accumulation and Cd-metallothionein as a biomarker in *Cepaea hortensis* (Helicidae, Pulmonata) from laboratory exposure and metal-polluted habitats. *Ecotoxicology*, 13(8), 757-772.
- De Ridder K., Neiryck J., & Mensink C., 2004.** Parametrisation of forest edge deposition effective roughness length. *Agricultural and Forest Meteorology*, 123, 1-11.
- de Vaufleury, A. G., & Pihan, F. (2000).** Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3), 275-284.
- Dellali M., Gnassia-Barelli M., Romeo M. & Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp. Biochem. Physiol.C.*, 130, 227-235.

- Dendani, D., & Berrai, N. (2018).** *Inventaire qualitatif et quantitatif des gastéropodes terrestre au niveau de deux stations de la wilaya de Tizi-Ouzou*(Aneir Amellal et Draa Ben Khedda).
- Denison R.A., & Silbergeld E.K., 1988.** Risks of municipal solid waste incineration: an environmental perspective. *Risk analysis*, 8, 343-355.
- Dère, C. (2006).** *Mobilité et redistribution à long terme des éléments traces métalliques exogènes dans les sols: Application à des Luvisols pollués par 100 ans d'épandage d'eaux usées brutes dans la plaine de Pierrelaye*Thèse de doctorat de l'ENGREF, 124p.
- Dubey, B.L., et Dwividi, P., 1988.**Projective value of somatic Inkb lot – séries II in casestammering. *Journal of personality and clinical studies*. 8, 173-176.
- Eisler, R. (1981).***Trace metal concentrations in marine organisms*. Pergamon Press.
- El- Gendy K.S., Radwan M.A., Gad A.F. 2009.** In vivo evaluation of oxidative stress biomarkers in the land snail, *Theba pisana* exposed to copper-based pesticides. *Chemosphere*, 77, 339-344.
- Ettler V., Vanek A., Mihaljevic M., & Bezdicka P., 2005.** Contrasting lead speciation in forest and tilled soils heavily polluted by lead metallurgy. *Chemosphere*, 58, 1449-1459.
- Farombi E. O., Adelowo O. A., & 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. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 4(2),158-165.
- Flammarion P., Migeon B., Urios S., Morfin P. & Garric J., 1998a.** Effect of Methidathion on the cytochrome P450 1A in the cyprinid fish gudgeon (*Gobio gobio*). *Aquat. Toxicol.*, 42, 93- 102.
- Floret N., Viel J.F., Lucot E., Dudermel P.M., Cahn J.Y., Badot P.M., & Mauny F., 2006.** Dispersion modeling as a dioxin exposure indicator in the vicinity of a municipal solid waste incinerator: A validation study. *Environmental Science and Technology*, 40, 2149-2155.

- FOAN, L ; et al. Mosses as an integrating tool for monitoring PAH atmospheric deposition: Comparison with total deposition and evaluation of bioconcentration factors. A year-long case- study [En ligne]. 2016, Vol. 119, p 452-58. (Consulté le 02/06/2018)
- FOAN, L. (2012). *Biosurveillance des retombées atmosphériques à l'aide de bryophytes: suivi des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à diverses échelles spatio-temporelles*. Thèse de doctorat : Sciences des Agroressources. Toulouse : Université de Toulouse, 2012, 337p.
- Forget J., Pavillon J.F., Bellaeff B. & Bo quené G., 1999. Joint action of pollutants combinations (pesticides and metals) on survival (LC₅₀ value) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida) . *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(5), 912-918.
- Forstner, U., & Wittmann, G. T. W. (1983). *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag GmbH. New York Tokyo, USA.
- Fowler D., Skiba U., Nemitz E., Choubedar F., Branford D., Donovan R., & Rowland P., 2004. Measuring aerosol and heavy metal deposition on urban woodland and grass using inventories of ²¹⁰Pb and metal concentrations in soil. *Water Air and Soil Pollution* 4, 483-499.
- Garcia R., & Millan E. 1998. Assessment of Cd, Pb and Zn contamination in roadside soils and grasses from Gipuzkoa (Spain). *Chemosphere*, 37(8), 1615-1625.
- Garrett, R. G. (2000). Natural sources of metals to the environment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 6(6), 945-963.
- Georges G.S., & Buchanan G., 1990. Isolation, properties and induction of piace liver cytosolic glutathione S-transferase. *Fish. Physiol. Biochem.*, 8(6): 437-449
- Gimbert F., de Vaufleury, A., Douay F., Coeurdassier M., Scheifler R., & Badot P.M., 2006. Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environment International*, 32, 866-875.
- Gimbert F., de Vaufleury, A., Douay F., Coeurdassier M., Scheifler R., & Badot P.M., 2006. Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environment International*, 32, 866-875
- Gimbert, F., De Vaufleury, A., Douay, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., & Badot, P. M. (2006). Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environment International*, 32(7), 866-875.

- Godin M., Feinbert M.H., & Ducauze C.J., 1985.** Modeling of soil contamination by air - borne lead and cadmium around several emission sources. *Environmental Pollution*, 10, 97-114.
- Gomot A., & Gomot L., 1995.** Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *Helix*. *Bull. Inst. Océa. Monaco*, 14, 141-149.
- Gomot A., & Pihan F., 1997.** Comparison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc among two snails subspecies (*Helix*). *Ecotox. Environ. Safe.*, 38, 85-94.
- Gomot de Vaufleury A., & Pihan, F., 2000.** Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40, 275 - 284.
- Gomot, A., . (1997).** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. Discussion: Pollution des sols et santé de l'homme. . *Bull. Acad. Natl. Méd*, 181, 59-75.
- Grara N., 2011.** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux. Thèse en science de la vie, Option: Toxicologie cellulaire, Université de Annaba, 120p.
- Grara, N. (2011).** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*): Cas des métaux. Thèse en science de la vie, Option: Toxicologie cellulaire, Université de Annaba, 120p.
- Habig W.H., Pabst M.J., & Jakoby W.B., 1974.** Gluthation-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139.
- Hamdi-Ourfella, A. N., & Soltani, N.** Qualité des sols dans deux sites du Nord-Est Algérien: utilisation d'une espèce bioindicatrice de la pollution des sols (Soil quality of two sites in Northeast Algeria: use of a bioindicator species of soil pollution).
- Hamon R.E., McLaughlin M.J., Naidu R., & Correll A., 1998.** Long- term changes in cadmium bioavailability in soil. *Environmental Sciences and Technology*, 32, 3699-3703.
- Hasselbach L., Ver Hoef J.M., Ford J., Neitlich P., Crecelius E., Berryman S., Wolk B., & Bohle, T., 2005.** Spatial patterns of cadmium and lead deposition on and adjacent to National Park Service lands in the vicinity of Red Dog Mine, Alaska. *Science of the Total Environment*, 348, 211-230.

- Hayes J.D., Flanagan J.U., & Jowsey I.R., 2004.** Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 51 – 88.
- Herbert A., Guilhermino L., Assis H.C.S. & Hansen P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift Angewandt Zool.*, 3, 1-5.
- Hopkin S.P., 1989.** Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. *Elsevier Applied science*, NY, USA, 366 p.
- Houda PS. 2010.** Trace Elements in Soils. A John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, 618p
- Kabata-Pendias, A. (2011).** Trace elements in soils and plants/fourth editions. Taylor & Francis; 338-339.
- Karas, F. (2009).** Gastéropodes terrestres, invertébrés continentaux des Pays de la Loire. *Gretia*, 379p.
- Khessiba U.N., Hoarau P., Magnassia B. Aissa P. & Roméo M., 2001.** Réponse biochimique de la moule *Mytilus galloprovincialis* du lac de Bizerte (Tunisie) à une exposition du polluant chimique. *Environ. Toxicol. Chem.*, 40, 222-229.
- Lauterburg D.J. & Mitchel J.R., 1981.** Gillette, bromobenzene-induced liver necrosis, protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatic intermediate. *Pharmacol.*, 11:151-169.
- Maas, S., Scheifler, R., Benslama, M., Crini, N., Lucot, E., & Brahmis, Z., 2010.** Spatial distribution of heavy metal concentrations in urban, suburban and agricultural soils in a Mediterranean city of Algeria. *Environmental Pollution*, 158, 2294–2301.
- Madec L., 1983.** Importance des conditions climatiques et de l'origine des individus pour la reproduction de l'escargot petit-gris en élevage sous bâtiment contrôlé. Session ITAVI, Rennes
- Magiera T., & Zawadzki J., 2007.** Using of high-resolution topsoil magnetic screening for assessment of dust deposition: Comparison of forest and arable soil datasets. *Environmental Monitoring and Assessment*, 125, 19-28.

- Martley E., Gulson B., & Pfeifer H., 2004.** Metal concentrations in soils around the copper smelter and surrounding industrial complex of Port Kembla, NSW, Australia. *Science of the Total Environment*, 325, 113-127.
- McBRIDE, M. B. (1994).** Chemisorption and precipitation of inorganic ions. *Environmental chemistry of soils*, 121-168.
- Menta C., & Parisi V. 2001.** Metal concentrations in *Helix pomatia*, *Helix aspersa* and *Arion rufus*: a comparative study. *Environmental Pollution*, 115, 205-208.
- Merian E., Anke M., Ihnat M., & Stoeppler M. , 2004.** Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. 2nd Edition, VCH Publishers, Weinheim, New York, USA, 1806 .
- Merian E., Anke M., Ihnat M., & Stoeppler M. , 2004.** Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. 2nd Edition, VCH Publishers, Weinheim, New York, USA, 1806
- Miramand, P., Pigeot, J., Guyot, T., & Fichet, D. (1999).** Ecotoxicologie intégrée: de l'espèce à l'écosystème. *Océanis*, 25(4), 581-608.
- Modrzewska B., & Wyszowski M., 2014.** Trace metals content in soils along the state road 51(northeastern Poland). *Environ Monit Assess*, 186, 2589–2597. doi : 10.1007/s10661-013-3562-z.
- Modrzewska B., & Wyszowski M., 2014.** Trace metals content in soils along the state road 51(northeastern Poland). *Environ Monit Assess*, 186, 2589–2597. doi : 10.1007/s10661-013-3562-z.
- Ozmen M., Sener S., Mete A., & Kucukbay H., 1999.** In vitro and in vivo acetylcholinesterase- inhibiting effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environ Toxicol Chem* 18: 24-246.
- Parsons R., Tassinary L.G., Ulrich R.S., Hebl M.R., & Grossman-Alexander M., 1998.** The view from the road : Implications for stress recovery and immunization. *Jorn Envi Psych*, 18(2), 113-140.
- Payne J. F., Mathieu A., Melvin W. & Fancey L. L., 1996.** Acethylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Mar. Poll. Bull.*, 32, 225-231.

Peršić A., 2004. Modalités de contamination par les polluants organiques persistants des réseaux trophiques lagunaires. Application de la méthode des isotopes stables .Thèse de Doctorat. Université Paris XI. 159p.

PHILIPPE A. (2011). Climat et pollution. *In : L'air ? L'eau ? L'énergie ? La pollution ? LA VIE !*. 1er édition, Hermann, paris, p. 52- 77

Phillips, D. J. (1980). Quantitative aquatic biological indicators: their use to monitor trace metal and organochlorine pollution. Chapman & Hall, London

Phillips, D. J. (1990). Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metal levels in estuaries and coastal waters. In: Furness RW, Rainbow PS (eds) Heavy metals in the marine environment. CRC Press, Boca Raton, pp 81-99

Pihan F., & de Vaufleury A., 2000. The Snail as a Target Organism for the Evaluation of Industrial Waste Dump Contamination and the Efficiency of Its Remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46 (2), 137-147.

Piron-Frenet M., Bureau F., & Pineau A., 1994. Lead accumulation in surface roadside soil: its relationship to traffic density and meteorological parameters. *The Science of the Total Environment*, 144, 297–304.

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

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

Radwan M.A., El-Gendy K.S., & Gad A.F. 2010. Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*, 79, 40-46.

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

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

Rawlins B.G., Lark R.M., Webster R., & O'Donnell K.E., 2006. The use of soil survey data to determine the magnitude and extent of historic metal deposition related to

atmospheric smelter emissions across Humberside, UK. *Environmental Pollution*, 143, 416-426.

Rieuwertz J.S., & Farago M.E., 1996. Mercury concentrations in a historic lead mining and smelting town in the Czech Republic: a pilot study. *Sci Tot Environ*, 188, 167–171.

Rodriguez J.A., Nanos N., Grau J.M., Gil L., & Lopez-Arias M., 2008. Multiscale analysis of heavy metal contents in Spanish agricultural topsoils. *Chemosphere*, 70, 1085-1096.

Russell, L. K., DeHaven, J. I., & Botts, R. P. (1981). Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Helix aspersa*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(1), 634-640.

Saglio P., Trijasse S. & Azam D., 1996. Behavioural effects of water-born carbofuron in goldfish. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31: 232-238.

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

Saltiene, Z., Brukstiene, D., & Ruzgyte, A. (2002). Contamination of soil by polycyclic aromatic hydrocarbons in some urban areas. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22(1), 23-35.

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

Scheifler, R., De Vaufleury, A., Cœurassier, M., Crini, N., & Badot, P. M. (2006). Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. *Environmental Pollution*, 122(3): 343-350.

Škrbić B., & Đurišić-Mladenović N., 2013. Distribution of heavy elements in urban and rural surface soils: the Novi Sad city and the surrounding settlements, Serbia. *Environ Monit Assess*, 185, 457-471 doi 10.1007/s10661-012-2567-3.

Soltani N., Amira A., Sifi K., & Beldi H., 2012. Environmental monitoring of the annaba gulf (algeria): measurement of biomarkers in *Donax trunculus* and metallic pollution. *Bulletin de la Société zoologique de France*, 137(1-4), 47-56

Sturm A., Wogram J., Hansen P.D. & Liess M., 1999. Potential use of cholinesterase in monitoring low level in organophosphates in small streams: natural variability in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 194-200.

Sturm A., Wogram J., Hansen P.D. & Liess M., 1999. Potential use of cholinesterase in monitoring low level in organophosphates in small streams: natural variability in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 194-200.

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

Tsai, C. L. (2004). Introduction of slugs in plant quarantine. *Council of Agriculture Plant Protection Series*, 5, 113-119.

Viard-La rocca B., Maul A., & Pihan J.C., 2004. Standard use conditions of terrestrial gastéropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environment Monitoring*, 6; 103-107

Viard-La rocca B., Maul A., & Pihan J.C., 2004. Standard use conditions of terrestrial gastéropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environment Monitoring*, 6; 103-107.

Wo k.T., Lm P.K.S. & Wu R.S.S., 1999. A comparison of growth biomarkers for assessing sublethal effects of cadmium on marine gastropod. *Nassarius festivus*. *Mar. Poll. Bull.*, 39: 165-173.

Xu S., & Tao S., 2004. Coregionalization analysis of heavy metals in the surface soil of Inner Mongolia. *Science of the Total Environment*, 320, 73-87.

Zorrig, W., Rouached, A., Shahzad, Z., Abdelly, C., Davidian, J. C., & Berthomieu, P. (2010). Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *Journal of Plant Physiology*, 167(15), 1239-1247.

Liste d'abréviation

AChE : *Acétylcholinestérase*

GST : *glutathion S-transférase*

CDNB : *1-chloro 2,4 dinitrobenzène*

EGTA : *acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique*

GSH : *glutathion*

DNTB : *dithio bis-2-nitrobenzoate*

BBC : *bleu brillant de Coomassie*

BSA : *l'albumine de bœuf (sigma)*

Vt : *Volume total*

SAA : *spectrophotométrie d'absorption atomique*

Fe: *Fer*

Mn: *Manganèse*

Pb: *Plomb*

Cd: *Cadmium*

Résumé

*Cette étude expérimentale est destinée à manifester l'évaluation de l'effet de la pollution des sols dans quelques biotopes de la région Nord-Est d'Algérie par l'utilisation d'un bioindicateur *Hélix aspersa*, un escargot très abondant au niveau de quatre sites étudiée.*

Le dosage des éléments traces métalliques relève que la concentration des polluants est plus élevée dans la période printanière, et plus faible dans la période hivernale.

La mesure des deux biomarqueurs (AChE et GST) révèle que les sites El-Hadjar et Ben- M'hidi sont les plus pollués, le site d'EL-Tarf est moins pollué que les sites précédents, Tandis que la pollution au niveau d'EL-Kala est presque nulle.

Mots clés : *Hélix aspersa ; Biomarqueurs ; Bioindicateur ; Dosage ; AChE ; GST.*

Abstract

This experimental study is destined to show the evaluation of the soil pollution in certain Algerian North-East biotopes regions with the use of bioindicator, *Helix aspersa*, (Mollusca, Gasteropoda), an abundant snail in 4 studied a sites.

The element dosage metallic traces indicate that the pollutant concentration is higher in spring and lower in fall.

The measurement of the two biomarkers (AChE; GST) reveals that the sites of El-Hajar and Ben-M'hidi are the most polluted; the El-Tarf site is less polluted than the previous sites, while the pollution at the level of El-Kala is nearly null.

Keywords: Dosage, *Helix aspersa*, Heavy metals, Biomarkers, East of Algeria.

ملخص

تهدف هذه الدراسة التجريبية الى توضيح تقييم تأثير تلوث التربة في بعض البيئات الحيوية في منطقة الشمال الشرقي للجزائر باستعمال المؤشر البيولوجي هليكس اسبرسا رخيوات (حلزون متوفر بكثرة في مناطق الدراسة)

يكشف تكثيف العناصر المعدنية ان تركيز الملوثات يكون اعلى في فترة الربيع و يكون اقل في فترة الشتاء

يكشف قياس المؤشرين الحيويين الستيل كولينستراز و الغل ثانيون-اس-ترانسفيراز

(GST و AChE).

ان موقعي الحجار و بن مهدي هما الكثر تلوثا , و ان موقع الطارف يعد اقل تلوث من المناطق السابقة بينما التلوث على مستوى منطقة القالة يقارب النعدام

الكلمات المفتاحية

تلوث التربة, مؤشر بيولوجي, هليكس اسبرسا, العناصر النزرة المعدنية, الستيل كولينستراز, غليثانينون-اس-ترانسفيراز

Abstract

*This experimental study is destined to show the evaluation of the soil pollution in certain Algerian North-East biotopes regions with the use of bioindicator, *Helix aspersa*, (Mollusca, Gasteropoda), an abundant snail in 4 studied a sites.*

The element dosage metallic traces indicate that the pollutant concentration is higher in spring and lower in fall.

The measurement of the two biomarkers (AChE; GST) reveals that the sites of El-Hajar and Ben-M'hidi are the most polluted; the El-Tarf site is less polluted than the previous sites, while the pollution at the level of El-Kala is nearly null.

ملخص

تهدف هذه الدراسة التجريبية الى توضيح تقييم تأثير تلوث التربة في بعض البيئات الحيوية في منطقة الشمال الشرقي للجزائر باستعمال المؤشر البيولوجي هليكس اسبرسا (رخويات) حلزون متوفر بكثرة في مناطق الدراسة

يكشف تكثيف العناصر النزرة المعدنية ان تركيز الملوثات يكون اعلى في فترة الربيع و يكون اقل في فترة الشتاء

يكشف قياس المؤشرين الحيويين الاستيل كولينستراز و الغلي ثانيون-اس-ترانسفيراز (AChE و GST) ان موقعي الحجار و بن مهدي هما الاكثر تلوثا , و ان موقع الطارف يعد اقل تلوث من المناطق السابقة بينما التلوث على مستوى منطقة القالة يقارب الانعدام.

الكلمات الرئيسية:

تلوث التربة, مؤشر بيولوجي, هليكس اسبرسا, العناصر النزرة المعدنية, الاستيل كولينستراز, غلي ثانيون-اس-ترانسفيراز