



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



UNIVERSITE Abbes LAGHROUR Khenchela

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT D'ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

MEMOIRE DE MASTER ACADEMIQUE

Filière: Ecologie

Option: Ecologie et environnement

Thème

Biosurveillance de la qualité des sols au niveau de quelques biotopes de la wilaya de Khenchela par l'utilisation d'une espèce bioindicatrice *Hélix aspersa* (Müller, 1774)

Présenté par:

M. GHORMA Moussa & M. GHOZLENE Djalel

JURY:

Président:	Mme. DIB. D	MAA. Université Abbes LAGHROUR Khenchela
Encadreur :	M. LARBA. R	MCB. Université Abbes LAGHROUR Khenchela
Examineur:	M. BOUCHAMA. Kh	MAA. Université Abbes LAGHROUR Khenchela

Année universitaire: 2016/2017

Remerciement

Je souhaite que Die nous bénisse de sa miséricorde et accepte mes louages ainsi fut écrit qu'il me guidera afin d'aider a apporté une humble contribution a l'immense océan de cette science.

*Je souhaite faire parte de mes remerciement a monsieur **LARBA.RABAH** pour avoir accepté de m'encadrer et diriger patiemment de façon exemplaire et pour le temps qu'il m'a consacré.*

*Mes remerciement également aux membres du jury Mr : **BOUCHAMA. Kh** et Me **DIB. D** qui ont accepté de juger ce travail.*

Aussi je remercier mes enseignants et mes amés et mes collègues.

*Je remercie **mes parents, ma famille.***

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Ma mère, mon père et mes frères et sœurs, pour son affection, sa patience, et ses prières.

Mes meilleurs amis : Imade ghozlane, Bilel Ghodjmis, Achref Boghar et Abderazak Laanani pour leur aide, leur temps, leur encouragements, leur assistance et soutien.

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

Merci infiniment.

Ghozlane Djalal

Dédicace

Je dédie ce travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Ma mère, mon père et mes frères et sœurs, pour son affection, sa patience, et ses prières.

Mes meilleurs amis : Laid, Mostapha, Naser, Mamar, Taher, Brahim, A.Allah, Zohir, yaya pour leur aide, leur temps, leur encouragements, leur assistance et soutien.

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

Merci infiniment.

Ghorma Moussa

Liste des figures

Fig	Titre	Page
1	Localisation géographique des sites d'échantillonnage (1 : Fais, 2 : Kais, 3 : El-Hamma 4 : Ain Touila)	6
2	Morphologie d' <i>Helix aspersa</i> (Müller, 1774).	12
3	Anatomie interne de l'escargot (James, 1904).	13
4	Cycle biologique des Escargots (James, 1904).	14
5	Les différents organes prélevés (la tête et l'hépatopancréas).	14
6	Dosage des protéines et droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (μg).	20
8	Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase (pMol/Min/Mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).	21
9	Taux de glutathion S-transférase ($\mu\text{Mol/Mg}$ de protéines), dosées dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).	23

Liste des tableaux

Tab	Titre	Page
1	localisation géographiques des sites d'échantillonnage	6
2	Echelle de la texture	8
3	Classification des sols d'après leur teneur en matière organique	8
4	La gamme de pHeau des sols	9
5	Echelle de salinité du sol (USSS-1954)	9
6	Classification des sols d'après leur teneur en calcaire.	10
7	Classification des sols d'après leur porosité	11
8	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines	17
9	Paramètres physico-chimiques du sol des 4 sites étudiés pendant les mois de février, Mars et Avril 2017 (m±s, n=3).	21
10	Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbances en fonction de la quantité d'albumines (µg) (R ² : coefficient de détermination).	24
11	Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase (pMol/Min/Mg de protéines) dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites (m±s ; n=4).	21
12	Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase (µMol/Min/Mg de protéines), dans la tête d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites Analyse de la variance à deux critères de classification.	22
13	Taux de glutathion S-transférase (µMol/Mg de protéines), dosées dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites (m±s ; n=4).	23
14	Taux de glutathion S-transférase (µMol/Mg de protéines), dosées dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> récoltés dans différent sites. Analyse de la variance à deux critères de classification.	24

List d'abréviation

AChE : Acétylcholinestérase

DNTB : dithio bis-2-nitrobenzoate

CO : Concentration de l'homogénat en protéines (mg /g de tissu).

GST : glutathion S-transférase

CDNB : 1-chloro 2,4 dinitrobenzène

GSH : glutathion

BBC : bleu brillant de coomassie

Vt : volume total

BSA : l'albumine de bœuf (Sigma)

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATERIEL ET METHODES	5
2.1. Présentation des sites.....	4
2.2. Analyse physico-chimiques du sol.....	6
2.2.1. Technique d'échantillonnage et préparation des sols.....	7
2.2.2. Température	7
2.2.3. Texture.....	7
2.2.4. Matière organique.....	8
2.2.5. pH eau.....	8
2.2.6. Conductivité électrique (salinité).....	9
2.2.7. Calcaire.....	9
2.3.7. Porosité.....	10
2.3. Présentation de l'espèce <i>Hélix aspersa</i>	12
2.3.1. Anatomie de l'escargot.....	13
2.3.2. Cycle de vie.....	14
2.4. Dissection et prélèvement des organes.....	14
2.5. Extraction et dosage des biomarqueurs.....	15
2.5.1. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	15
2.5.2. Dosage de glutathion S-transférase.....	16
2.6. Dosage des protéines.....	17
2.7. Analyses statistiques.....	18

3. RESULTATS.....	19
3.1. Caractéristiques physico-chimiques des sites de prélèvement.....	19
3.2. Analyses biochimiques	20
3.2.1. Dosage de protéines.....	20
3.3.2 Dosage de l'acétylcholinestérase	20
3.4.2. Dosage de glutathion S-transférase.....	22
4. DISCUSSION.....	25
4.1. Caractéristiques physico-chimiques des sites de prélèvements.....	25
4.5. Effets sur les activités enzymatiques.....	26
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	30
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	31
7. Résumés.....	40

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Protéger l'environnement est souvent le sujet d'actualité du siècle. C'est après les catastrophes que l'on prend conscience des dégâts infligés par l'homme à l'environnement. (Bouffard, 2000). Ce dernier génère par ces activités une quantité de plus en plus importante de déchets solides et liquides. La pollution peut-être classé selon la nature du polluant, on parle donc : de la pollution physique, chimique, biologique et les nuisances esthétique (Popescu *et al.* 1998). 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 intègre la chimie, l'écologie et la toxicologie (Truhaut, 1997; Pelletier, 2004). Plusieurs travaux publiés depuis les années 1990 ont mis l'accent sur l'évaluation des impacts des contaminants sur les écosystèmes et sur les risques pour les humains et les organismes de vivre en contact avec des environnements pollués (Landis & Yu, 1995 ; Wright & Welborn, 2002).

Les principales causes naturelles de la pollution de l'atmosphère sont ; le transport éolien des particules du sol et du pollen, les incendies de forêt et les émissions volcaniques, ainsi la pollution de l'air et l'éventualité d'un réchauffement climatique font partie des grands problèmes environnementaux actuels (Ramade, 1992).

La présence d'un polluant dans le sol n'est pas en soi un danger. Le risque apparaît dès lors que ce polluant peut être mobilisé et agit sur l'environnement (faune, flore) ou sur l'homme (Dubey et Dwividi, 1988). Les sols se forment dans la zone d'interface lithosphère-atmosphère ou se développent les organismes vivants de la biosphère. Ils sont caractérisés par différents facteurs microbiologiques, physiques, chimiques et mécaniques ; le sol est le support d'une activité biologique intense. Toutefois, la pollution des sols tend à désorganiser, voire à diminuer cette activité biologique. Cette pollution a une double origine :

1. les activités agricoles via les engrais, les pesticides et les pratiques,
2. la pollution atmosphérique. En effet, les polluants atmosphériques ne séjournent pas indéfiniment dans l'air. Les précipitations et les mécanismes de dépôt sec des particules les ramènent à la surface du sol.

Certaines espèces présentent un intérêt particulier dans le contexte de la surveillance de la qualité des milieux. Ces espèces sont susceptibles d'être utilisées comme indicatrices de

INTRODUCTION

la présence et de la toxicité de certains contaminants, de façon plus globale comme indicateur de la santé de l'écosystème (Lower & Kendall, 1990; Beeby, 2001). Certaines espèces présentent la capacité d'accumuler certains contaminants (bioconcentration) directement à partir de leur milieu de vie (sol, eau, sédiments, ...) ou bien à partir de leur nourriture (bioamplification). La bioaccumulation de polluants par ces organismes permet parfois une mise en évidence plus facile de leur présence dans le milieu car les niveaux de contamination des tissus sont dans certains cas plus importants que ceux des matrices physiques et d'avantages compatibles avec les seuils de détection des méthodes analytiques utilisées (Phillips & Segar, 1986).

On utilise donc la grande sensibilité des méthodes de biosurveillance pour évaluer la dégradation de certains milieux, mais surtout l'évaluation du risque environnemental et l'écotoxicologie (LARBA, 2014 ; BOUMAZA, 2014) pour contrôler la « santé » de milieux de bonne qualité afin d'intervenir rapidement dès l'apparition d'altérations mineures. Parmi ces méthodes on distingue : les biomarqueurs ayant pour but de mettre en évidence de façon précoce une pollution (Van der Oost *et al.*, 2003). Un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, de l'organisme, de la population ou de l'écosystème qui peut être reliée à une exposition ou à des effets toxiques de polluants chimiques environnementaux (Lagadic *et al.*, 1997 ; Galloway & Depledge, 2001 ; Van der Oost *et al.*, 2003). Les différents travaux scientifiques réalisés ont permis de classer les biomarqueurs suivant la spécificité de leur réponse à certaines molécules polluantes ou à un type d'effet. Ainsi, classiquement, les auteurs distinguent les biomarqueurs d'expositions et les biomarqueurs d'effet (Lagadic *et al.*, 1997 ; Kammenga *et al.*, 2000). Ces changements sont plus sensibles que les paramètres mesurés à un niveau supérieur d'organisation biologique tel que l'organe, l'individu ou la population et sont de meilleurs candidats pour tenter d'établir un lien entre la santé des organismes et les niveaux de pollution. Parmi ces biomarqueurs, on peut citer les monooxygénases à cytochrome P450 (Yang *et al.*, 2004) l'induction de l'activité éthoxyrésorufine-O- deethylase (EROD) (Ward *et al.*, 1998; Bisseling *et al.*, 2001; De Boer *et al.*, 2001), la

métallothionéine (Cossan, 2000), les systèmes de régulation du stress oxydant, les marqueurs de dommages à l'ADN (Schröder *et al.*, 2000), les cholinestérases (Habes., 2004 ; Williams & Sova, 1996 ; Grue *et al.*, 1997 ; Najimi *et al.*, 1997), la vitellogénine (Sumpter & Jobling

INTRODUCTION

1995), ou les protéines du stress (HSP 70) (Nover 1991; Ryan & Hightower 1996). D'autres biomarqueurs spécifiques au stress oxydatif sont recommandés par des instances internationales pour la biosurveillance de la qualité du milieu aquatique dont le malondialdéhyde (MDA) qui est issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires lors d'un stress oxydatif important (Dewes *et al.*, 2006; Oruc & Usta, 2007), le glutathion réduit (GSH) impliqué dans le système de défense antioxydant (Regoli & Principato, 1995; Casni *et al.*, 1999; Drarja-Beldi & Soltani, 2003; Souissi *et al.* 2008 ; Sureda *et al.*, 2006) et le glutathion s-transférase (GST).

Il existe dans le monde de 30.000 à 35.000 espèces de mollusques terrestres (Tsai, 2004; Tan & Chan, 2009). Ces espèces sont souvent utilisées pour contrôler la pollution de l'air et du sol et l'eau (Dallinger, 1994 ; LARBA, 2014). Les gastéropodes terrestres sont exposés aux polluants par ingestion des plantes et du sol contaminés, par contact et diffusion à travers la peau et par la respiration. Leur aptitude en tant que bioindicateur de la pollution métallique est largement étudiée, par inhibition de la croissance et de la reproduction (Laskowski & Hopkin, 1996; Gomot, 1997; Mandoz-Escande, 2005) et par l'accumulation des métaux lourds dans leurs tissus (Berger *et al.*, 1993 ; Gomot & Pihan, 2000; Laskowski & Hopkin, 1996). L'accumulation des métaux est influencée par les facteurs environnementaux (saison, type de sol, ...) et les paramètres biologiques des escargots (age, espèces, ...) (Beeby & Eaves, 1983). De plus, l'effet toxique des substances organiques et inorganiques sur les escargots a été évalué par plusieurs chercheurs (Snyman *et al.*, 2000, Beeby & Richmond, 2002, 2003 ; Viard *et al.*, 2004 ; Regoli *et al.*, 2005 ; Achuba, 2008).

Parmi les bioindicateurs terrestre, *Helix aspersa* (Müller, 1774) est le modèle biologique utilisé dans cette étude. 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 éloignement des zones industrielles : Fais, Kais et El-Hamma, plus proches de plusieurs Briqueterie. Ain-El-Touila éloigné de sources de pollution. L'escargot *Helix aspersa* dont sa biologie et écologie est bien étudié (Barker, 2001), est un macroconcentrateur de plusieurs métaux lourds (Dallinger, 1993) 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). De plus, plusieurs travaux ont démontré l'existence d'une relation dose-effet chez l'escargot terrestre *Helix aspersa* à l'égard de plusieurs contaminants (Coourdassier *et al.*, 2000 ; Vaufling *et al.*, 2006 ; LARBA &)

INTRODUCTION

Le présent travail vise à évaluer le niveau de pollution dans quatre sites : Fais, Kais, El-Hamma et Ain El-Touila. L'étude comprend deux parties :

- la première partie traite l'analyse physico-chimique des sols des 4 sites d'étude : (T°C, pH, salinité (ms /cm), humidité (%), matière organique (%), porosité (%)) et calcaire).
- la deuxième partie aborde le dosage de l'acétylcholinestérase l'AChE (dans la tête) et le glutathion (GST) (dans l'hépatopancréas) de l'espèce la plus abondante *Helix aspersa*, pour évaluer l'effet de la pollution sur cette espèce sentinelle.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des sites d'étude :

2.1.1. Kaiss :

Kais est une ville algérienne, située dans le daïra de Kais et la wilaya de Khenchela. La ville compte 34 383 habitants depuis le dernier recensement de la population. Entourée par Remila, El Hamma et Taouzient, Kais est située à 29 km au nord-ouest d'El Mahmal la plus grande ville à proximité. Elle comprend plusieurs Briqueterie. Kais est une daïra à vocation agricole.

2.1.2. Elhamma :

La Daira d'EL Hamma a été créée par le découpage administratif de l'année 1984 d'une superficie de 852 m² répartie sur quatre communes : (Commune d'ELHamma, Commune d'Ensigna , Commune de Baghai, Commune de Tamza) . Le siège de la Daira est distant de 7 km du siège de la wilaya. La Daira d'Elhamma est connue par son caractère agricole par excellence. Ses activités agricoles s'articulent principalement Sur céréaliculture (Baghai et Ensigna) a Daira d'Elhamma est connue par ses stations thermale de Hammam Salhine à Elhamma et Hammam LeKnif à Baghai . Par ailleurs et sur le plan scientifique la commune d'Elhamma abrite le centre universitaire de khenchela.

2.1.3. Fais (Taouzianat) :

La commune de Taouzianat est l'une des commues de la Daïra de Kais .Wilaya Khenchela ; qui est située dans le coté Ouest de la Wilaya et qui est éloignée de 32 km du centre de la Wilaya et de 10 km de la daïra de Kais. Elle comprend plusieurs Briqueterie. est une daïra à vocation agricole. Elle est considérée comme portail d'ouest de la Wilaya à travers la Route Nationale RN 88 reliant Batna – Khenchela.

2.1.4. Ain Touila :

Daïra de Ain Touila créée en 1991. Se situe à 32 km de chef lieu de la wilaya de khenchela (au nord-est) a proximité de la RN 88. Le daïra de Ain Touila est une région agricole se caractérise par deux ensembles géographiques, au nord – ouest une zone montagneuse d'une altitude de 1406 m (DJEBLE TAFRENT) et le ouest de la région sont des hautes plaines drainées par quelque oued du nord au sud ce jettent ver SEBIKHA, le plus

important oued est le oued SEBIKHA- LAGHROUR qui prennent naissance du DJEBLE TAFRENT et se jettent vers SEBIKHA. La ville de Ain Touila est une zone éloignée de toute sources de pollution.

2.1.5 Informations géographique :

	Latitude	Longitude	Altitude
Kaiss	35,494	6,924	934 m
El-hamma	35,463	7,082	999 m
Fais	35,515	6,752	912 m
Ain touila	35,435	7,351	1 129 m

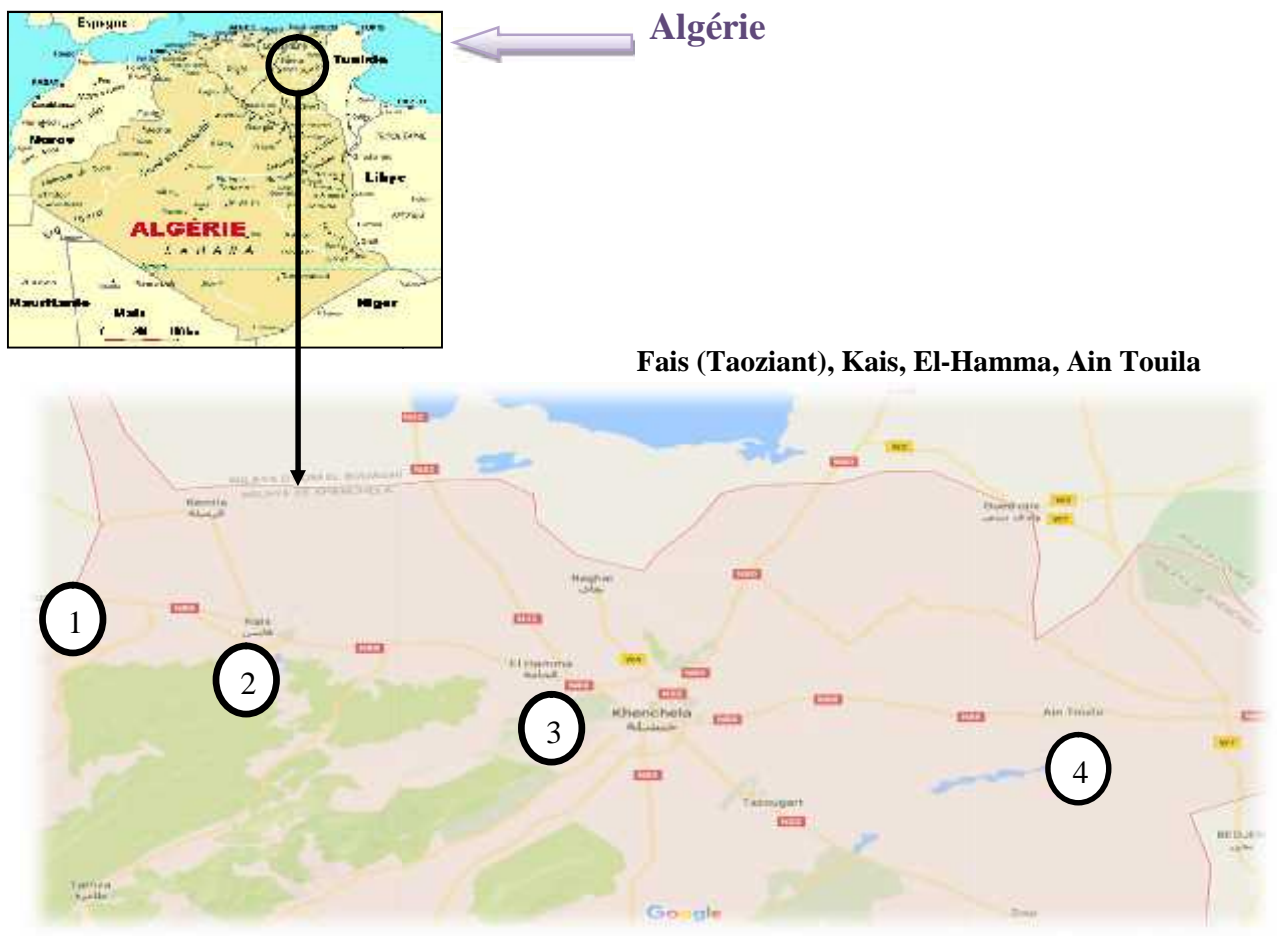


Figure 1 : Localisation géographique des sites d'étude ; 1 : Fais, 2 ; Kais, 3 ; El-Hamma , 4 ; Ain Touila (www.google.com).

2.2. Analyse physico-chimique du sol :

2.2.1. Technique d'échantillonnage et préparation des sols

Les échantillons de sol ont été prélevés manuellement à une profondeur d'environ 0-5 cm à l'aide d'une truelle (Koranteng-Addo *et al*, 2011). Les échantillons ont été prélevés mensuellement de façon aléatoire dans chaque site durant la période de Février à Avril 2017. Les échantillons de sol ont été conservés dans des sacs en polyéthylène et transportés dans le laboratoire. Les échantillons ont été séchés à l'air libre à l'abri des rayons de soleil dans le laboratoire jusqu'à l'analyse.

2.2.2. Température :

La température du sol doit être mesurée par une méthode manuelle, à l'aide d'un thermomètre.

2.2.3. Texture :

Pour déterminer la texture du sol, nous avons utilisé la méthode par saturation qui consiste à mesurer le pourcentage d'humidité du sol (Y) et à le comparer à une échelle qui détermine la texture lui correspondant (Tableau 2).

La texture est mesurée selon la formule suivante :

$$\mathbf{X1 = P2 - P3 \text{ (poids de l'humidité).}}$$

$$\mathbf{X2 = P3 - P1 \text{ (poids du sol sec).}}$$

P1 : la capsule vide.

P2 : une petite quantité de pate (sol mouille) et la mettre dans la capsule.

P3 : correspond au poids de la capsule vide +le poids du sol sec après la sortie de l'étuve.

Ensuite on applique la règle de trois pour calculer le pourcentage d'humidité :

$$\mathbf{X1 \longrightarrow X2 \text{ g de sol sec}}$$

$$\mathbf{Y \longrightarrow 100 \text{ g de sol sec}}$$

Enfin comparer Y au tableau suivant pour déterminer la texture :

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

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

2.2.4. Matière organique :

Détermine selon la méthode d'Anne (1945), la matière organique est calculée à partir de la relation suivante :

$$C\% = (Y-X) \times 0,615 \text{ mg} \times (100/20) \times (100/P) \times (1/1000)$$

Y : la quantité de sel de Mohr utilisée pour titrer le témoin.

X : la quantité de sel de Mohr utilisée pour l'échantillon à doser.

0,615 : facteur d'équivalence entre le sel de Mohr et le carbone (en mg).

100/20 : on utilise 20 ml à partir de 100 ml.

P : poids du sol sec (en g).

$$\% \text{ matière organique} = \% C \times 1,72$$

Tableau 3: Classification des sols d'après leur teneur en matière organique (Gauchers 1968).

% de la matière organique	Appréciation
<1	Extrêmement faible
1-1,5	Très faible
1,5-2,5	Faible
2,5-3,5	Moyen
3,5-4,5	Moyennement élevé
4,5-5	Elevé
>5	Très élevée

2.2.5. PH eau :

Pour déterminer le pH ; tamiser le sol d'analyse avec un tamis de 2mm de diamètre, après tamisage de sol de chaque site (Fais, Kais, Elhamma, Ain touila), peser 5g de sol et

ajouter 25 ml d'eau distillé et laisser le mélange 2 heures sur un agitateur culbuteur. Enfin on mesure le PH à l'aide d'un PH mètre.

Tableau 4: la gamme de pH des sols (Gauchers & Solter, 1981).

pH	Désignation des sols
3 - 4,5	Extrêmement acides
4,5 - 5	Très fortement acides
5 - 5,5	Très acides
5,5 - 6	Acides
6 - 6,75	Faiblement acides
6,75 - 7,25	Neutres
7,25 - 8,5	Alcalins
>8,5	Très alcalins

2.2.6. Conductivité électrique (salinité) :

La conductivité électrique c'est la mesure du degré de la salinité du sol étudié.

La détermination de la conductivité électrique se fait sur extrait de sol (rapport sol/eau=1/5) à l'aide d'un conductimètre. Les valeurs sont composées à une étude de salinité.

Tableau 5: échelle de salinité du sol (Delaunois (1976)

Conductivité électrique (ms/cm)	Salure
0 – 0,6	Non salé
0,6 – 1,4	Peu salé
1,4 – 2,4	Salé
2,4 – 6	Très salés

2.2.7. Calcaire

2.2.7.1. Calcaire total

Peser 10 g du sol, le mettre dans un flacon et ajouter 10 ml d'acide sulfurique et 15 ml d'HCl (0,5 N). Ensuite chauffer le flacon jusqu'à la première goutte de la vapeur et filtrer la solution. On prélève 20 ml de filtra dans un bécher et on ajoute 2 gouttes de phénolphtaléine, titré la mélange par NaOH jusqu'à la couleur rose.

Le calcaire total est calculé selon la formule suivante :

$$\text{CaCo}_3 = \frac{50 \text{ ml} \times 0,5 \text{ N} - X \text{ ml} \times 0,25}{5 \text{ (poids de sol en g)}} \times 5$$

2.2.7.2. Calcaire actif :

Peser 10 g du sol et le verser dans un flacon avec 250 ml d'oxalate d'ammonium (0,2). Agiter 2 heures à l'agitateur mécanique ; on filtre la solution et on prélève 9 ml du filtra avec 1 ml d'acide sulfurique et on ajoute 10 ml d'eau distillé, puis on titre le mélange par le permanganate de potassium jusqu'à coloration rose.

Le calcaire actif est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ teneur de calcaire actif} = (N - n) \times 12,5$$

N : quantité de permanganate de potassium nécessaire pour titré le témoin.

n : quantité de permanganate de potassium nécessaire pour titré un échantillon.

Tableau 6: classification des sols d'après leur teneur en calcaire (Duchauffour 1970).

Calcaire en %	Désignation des sols
0 - 5	Peu calcaire
5 -15	Moyennement calcaire
15 - 30	Calcaire
> 30	Très calcaire

2.3.7. Porosité :

La détermination de la porosité totale de petits agrégats de terre conduit à l'évaluation de la porosité texturale ou l'estimation de la porosité minimale d'assemblage.

La partie de l'espace poral qui est à l'origine de la diminution de la porosité totale des blocs de terre est due aux fissures et aux canalicules est appelée la porosité structurale.

Comprend deux paramètres, densité apparente et la densité réelle.

2.3.7.1. Densité apparente :

Mettre un morceau d'agrégat de la terre dans l'étuve pendant 24 heures, peser l'agrégat après séchage (P_1). Puis on plonge l'agrégat dans une solution de paraffine chaud, laisser au repos 5 à 10 minutes, après peser l'échantillon avec la paraffine (P_2). Puis on replonge l'agrégat dans une éprouvette contenant un volume d'eau distillé 50 ml et on note le changement de volume (V).

La densité apparente est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Densité apparente} = \frac{\text{Masse échantillon}}{\text{Volume échantillon}} \times 100$$

P_1 : poids de l'échantillon

P_2 : poids de l'échantillon + paraffine

V : volume du sol + paraffine

2.2.7.2. Densité réelle :

Dans une fiole de 50 ml mettre 10 g du sol et peser (P_1), puis on complète par l'eau distillée dégazée jusqu'à 50 ml et on les pèse (P_2). La densité réelle calculée par la formule suivante :

$$\text{Densité réelle} = \frac{10}{10 + P_2 - P_1}$$

P_1 : poids de la fiole + l'eau dégazé. P_2 : poids de la fiole + l'eau dégazé + le sol

Tableau 7 : Classification des sols d'après leur porosité (Delaunois, 1976).

Porosité (%)	Désignation des sols
< 10	porosité faible
10-20	porosité assez faible
20-30	porosité assez forte
> 30	porosité forte

2.4. Présentation de l'espèce *Helix aspersa*

Helix aspersa, le Petit-Gris (figure 2) est un escargot qui appartient à l'embranchement des Mollusques, animaux à corps mou et dépourvus de squelette. Il mesure de 28 à 35 mm pour un poids adulte de 7 à 15 g. L'escargot *Helix aspersa* possède une coquille spiralée pouvant contenir tout son corps. Lorsqu'il est en extension, seul le pied apparaît, la masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columellaire. La coquille est sécrétée par le bord du manteau. A la fin de la croissance, l'escargot est dit bordé. *Helix aspersa* est comme tous les escargots a besoin d'une atmosphère humide, en été lorsqu'il fait sec, et en hiver lorsqu'il fait trop froid, cet animal se rétracte à l'intérieur de sa coquille qu'il obture par un voile muqueux (courte inactivité) ou par une fermeture solide nommée épiphragme qui protège l'escargot de la déshydratation en cas d'estivation ou d'hibernation longue. Celui-ci est formé de mucus qui durcit en séchant grâce au calcaire qu'il contient. (Fischer, 1948).



Figure 3 : *Helix aspersa* (Müller, 1774).

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

Règne :	Animalia
Embranchement :	Mollusca
Classe :	Gastéropoda
Sous classe :	Pulmonés
Ordre :	Stylommatophora
Super famille :	Helicacea
Famille :	Hélicidae
Genre :	<i>Helix</i>
Espèce :	<i>aspersa</i>
Sous espèce :	<i>aspersa</i>

2.4.1 Anatomie générale d'un escargot

La plupart des escargots sont hermaphrodites c'est-à-dire qu'ils possèdent à la fois des organes mâles et femelles. Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée qui placée dans la coquille. Le mouvement a lieu grâce à l'expansion et l'extraction de muscles dans le pied. Il y a aussi des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau. Deux paires de tentacules sont placées sur la tête. La paire supérieure porte les yeux. La coquille est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau, cette dernière est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché au columella. Sa contraction permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. A l'intérieur de la coquille, se trouve la cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein, le poumon et l'hépatopancréas.

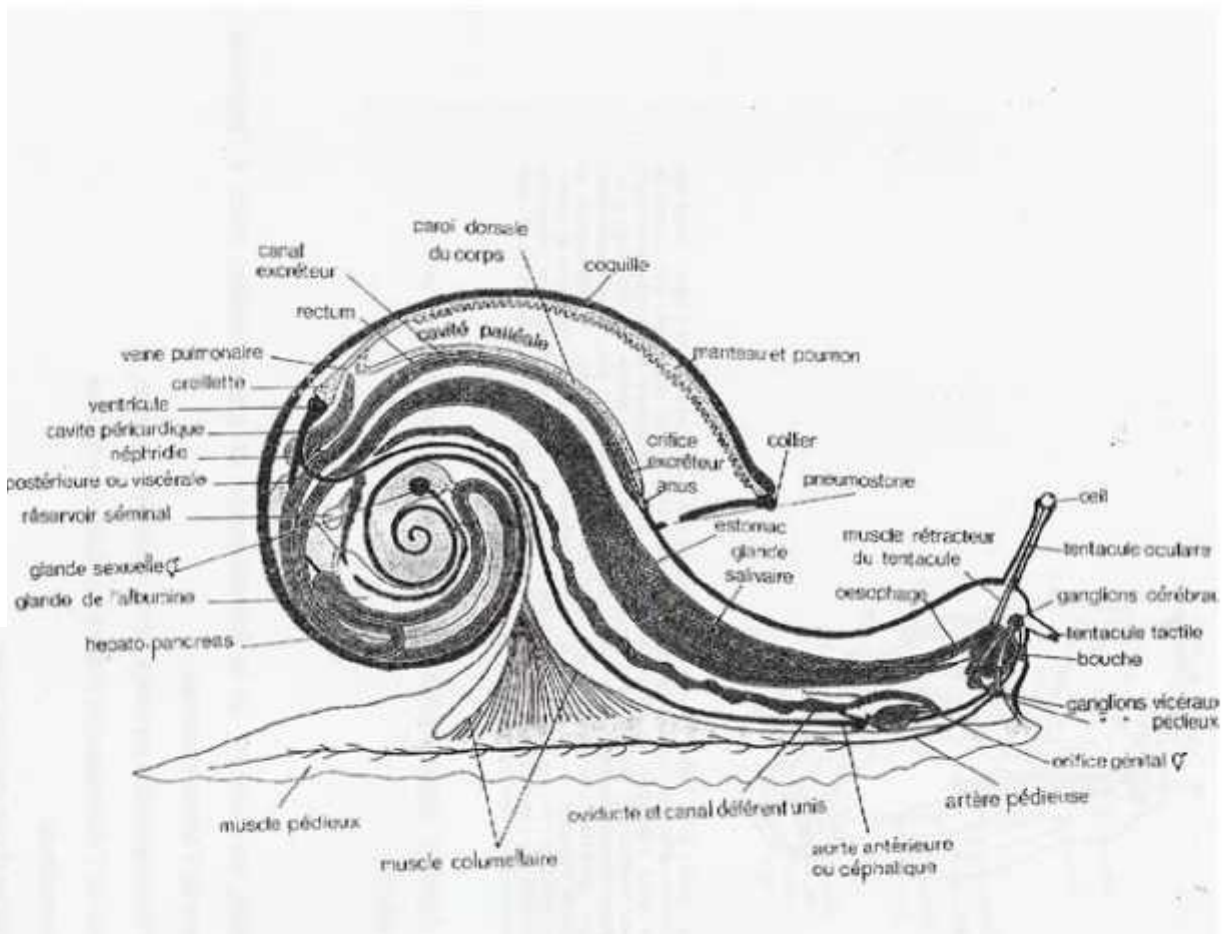


Figure 4. Anatomie interne de l'escargot (James, 1904).

2.4.2. Reproduction de l'escargot

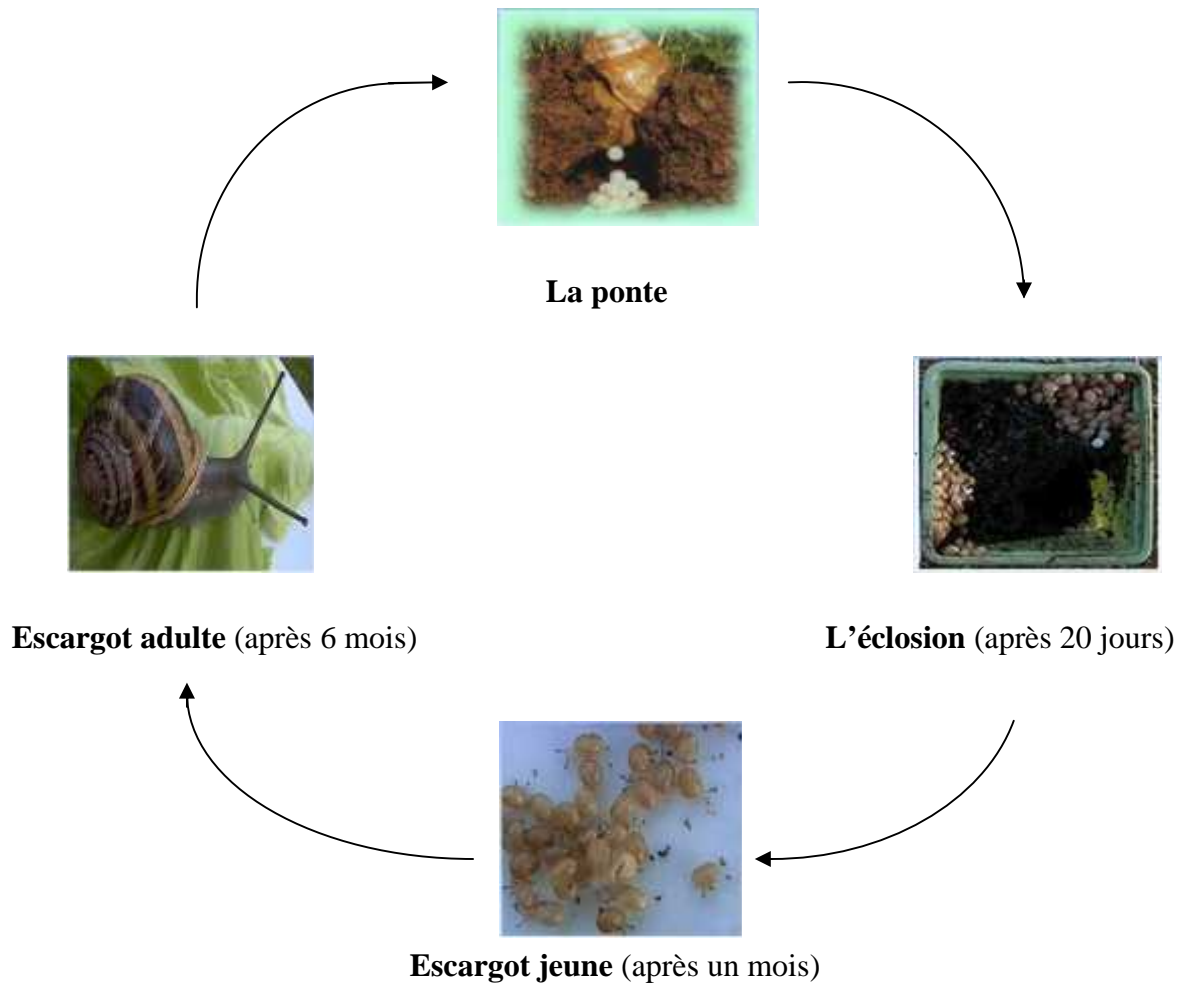


Figure 5. Cycle biologique des escargots

2.5. 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 6. Les différents organes prélevés (la tête et l'hépatopancreas).

2.6. Extraction et dosage des biomarqueurs :

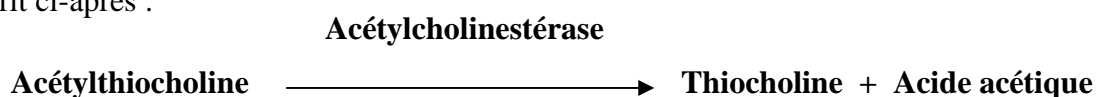
Les échantillons des gastéropodes destinés à l'étude biochimique ont été prélevés au hasard sans tenir compte de la taille et de l'âge. Les dosages ont été effectués sur cinq individus vivants de chaque site. L'animal une fois sacrifié, on procède à la dissection et au prélèvement ; de la glande digestive qui servira pour le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE), et de la tête qui servira pour le dosage de Glutathion Transférase (GSH).

2.6.1. Activités de l'acétylcholinestérase :

Les fragments de la tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38 mg éthylène glycol tris-béta-aminoéthyl éther N N N' N' ou EGTA ; 1ml Triton X 100%, 5,845 g Na cl, 80 ml du Tampon tris 10 Mm, PH 7) à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrason (SONIFER-RB30) puis centrifugés à 5000 tours/min pendant 5 minutes. Le surnageant est alors utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité de l'AChE ou peut être conservé pendant plusieurs mois à 85°C. Un dosage de protéines est alors réalisé sur fraction aliquote du surnageant selon la méthode de Bradford (1976).

L'AChE catalyse l'hydrolyse de l'acétylcholine et libère de la thiocholine plus l'acide acétique, la thiocholine libérée agit avec le 5-5'-dithio bis-2-nitrobenzoate (DNTB) pour donner un produit de couleur jaune dont l'intensité de coloration est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente dans le milieu. La mise au point d'un réactif spécifique des groupements thiols, l'acide dithio-bis-nitrobenzoïque ou (DNTB) a permis la réalisation d'un protocole qui utilise comme substrat de la réaction un dérivé soufré de l'acétylcholine, l'acétylthiocholine, dont l'hydrolyse libère des groupements sulfhydriques quantifiables par spectrophotométrie.

Cette méthode colorimétrique décrit par Ellman *et al* (1961) est la plus utilisée actuellement sur différents types de tissus et d'organismes. Le principe de la réaction est décrit ci-après :



Le dosage s'est déroulé comme suit : 50 µl du surnageant sont additionnés à 50 µl de DTNB (39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃ Na, dans 10 ml du tris 0,1 M, PH 7) et 850 µl du Tampon Tris (0,1 M, PH 7). 3 à 5 minutes sont nécessaires pour épuiser la réaction spontanée.

50 µl du substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) (118 mg d'acétylthiocholine dans 5ml d'eau distillée) sont ajoutés.

La lecture des variations de densité optique de l'échantillon à 412 nm à été réalisée pendant 20 min toutes les 4 minutes contre un blanc ou l'échantillon à été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (50µl). Les résultats obtenus ont été exprimés en µM/min/mg de protéine. L'activité enzymatique est déterminée d'après la formule suivante *d'Ellman* :

$$X = \frac{\text{DO/h}}{13,6 \times 10} \times \frac{1}{\frac{\text{Volume de l'homogénat}}{\text{Volume totale de la cuve}} \times \text{X co}}$$

X : Moles de substrat hydrolysé par heure et par mg de tissu.

1,36 x 10 : Coefficient d'extinction molaire du DNTB.

CO : Concentration de l'homogénat en protéines (mg /g de tissu).

Volume de l'homogénat : 100 µl.

Volume totale de cuve : 1000 µl (50 µl homogénat + 50 µl DNTB +850 Tampon Tris + 50 µl d'acétylcholinestérase).

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

MATERIEL & METHODES

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 un 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 :

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

D₀ : 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.

2.7. Dosage des protéines :

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976), utilisant le bleu brillant de coomassie (G 250, Merk) comme réactif (100mg BBC+ 50ml d'éthanol absolu + 100 ml d'acide orthophosphorique complété à 1000ml par l'eau distillée) et l'albumine de bœuf (BSA, Sigma) comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de BSA (1 mg/ml) (Tableau 1).

Tableau 6 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Les absorbances ont été lues dans un spectrophotomètre Janway 6300 à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

2.8. Analyse statistique :

L'analyse statistique des données est effectuée avec le logiciel MINITAB d'analyse et traitement statistique des données version (Version 16, PA State College, USA)

Les résultats sont présentés en moyenne et en écart type. Les différents tests réalisés sont : analyse de la variance à un deux critère de classification suivi du test de Tukey.

4. DISCUSSION

4.1. Paramètres physico-chimiques

Le sol est la partie superficielle de la croûte terrestre à l'échelle de la planète. Il constitue l'habitat permanent d'une multitude d'être vivant (Davet, 1996) il est composé de matière minérale (inorganique) provenant de l'érosion des roches, et de matière organique ou Humus que contient des produits de décomposition partielle des végétaux (peut dégradables dites réfractaires). La composition du sol et sa fertilité varient en fonction des climats, géologiques et de la végétation (Prescott *et Al.*, 1995). Pendant des décennies, la pédologie s'est beaucoup construite au tour des questions agricoles, de fertilité, de spécialisation, aujourd'hui elle se tourne vers des problèmes de pollution des sols et de l'eau, d'érosion de désertification..., tous les problèmes écologiques de grande actualité qui ont fini par reconnaître que « les sols constituent le fondement de la vie des hommes, des animaux et des plantes, ainsi que le lieu d'une intense activité biologique » (Bonin, 2006). Les résultats d'analyse montrent bien la qualité de sol des 4 sites étudiés aussi bien du point de vue physico-chimique, les normes sont respectées avec cependant une légère augmentation ou diminution dans la valeur du sol étudié.

Les paramètres physico-chimiques analysés dans ce travail peuvent être considérés comme des indicateurs d'évolution. Les études des paramètres physico-chimiques sont d'une importance majeure dans la dynamique des espèces terrestres. En effet ces facteurs sont suivis plus au moins de Février qui permet de mettre en évidence l'impact et l'intensité de ces facteurs de l'environnement sur la biologie des espèces dans leur milieu. La température est un facteur écologique fondamental qui joue un rôle important dans le contrôle du métabolisme et de la répartition biogéographique de l'ensemble des espèces, directement ou en relation avec d'autres facteurs écologiques comme : la salinité, l'humidité, et le pH. Nos résultats révèlent des variations des valeurs de température du sol dans les sites étudiés qui sont variées entre 13 et 15, c'est-à-dire une période froide du moins de Février (Vincke, 1982). Le pH_{eau} indique la concentration en ions H^+ présentes dans l'eau (Permo, 1981). Nos résultats ont montré que les valeurs obtenues en pH_{eau} au niveau des sites étudiés sont basiques $\text{pH} > 7,5$, donc on a un sol basique. Ils sont soit agricoles ou urbains ou reconstitués, mais tous se caractérisent par une teneur importante (>20%) de calcaire.

L'humidité hygroscopique représente la quantité d'eau que peut retenir un sol soumis aux conditions d'assèchement naturelles. C'est la quantité d'eau retenue à la surface externe des particules du sol et en équilibre avec la pression et l'humidité atmosphérique. Les résultats obtenus montrent que cette humidité est comprise entre 55,04 % et 72,96%. Ces valeurs sont en relation avec la texture du sol, car les sols argilo-limoneuse à texture fine retiennent plus d'eau que les sols sableux à structure particulière (BENSLAMA, 2006). La salinité est une mesure physico-chimique qui nous donne une idée sur la concentration des électrolytes dans la solution du sol d'une part et du degré de salinisations des sols d'autre part. Les résultats de notre analyse montre que les sols des sites étudiés ont une conductivité électrique faible à moyenne ($<1000 \mu\text{s/cm}$) ; cela quelque soit la nature du substrat et le type d'utilisation des sites. La matière organique du sol peut être estimée à partir de l'évaluation du carbone organique. A partir de notre résultat, on peut classer les sols d'étude en deux catégories ; ceux qui sont inférieurs à 2% comme celui dans le site de Guelma, se sont des sols pauvres en matière organique : ils sont soit caractérisés par un faible apport ou par une forte activité biologique. C'est dans ces sols que le processus de minéralisation qui domine. La totalité de la matière organique est intégrée dans le sol. Et ceux qui sont supérieurs à 3%, cette classe regroupe quelques sols qui se caractérisent par une forte accumulation de débris organiques. La porosité Comprend deux paramètres ; la densité apparente et la densité réelle. La densité apparente qui varie entre $1,00\text{g/cm}^3$ et $1,80\text{g/cm}^3$ (Kaouritchev, 1970), elle indique l'état ou la condition de sol, elle diminue avec la teneur du sol humus (Duthil J, 1971). La majorité des sols étudiés ont une densité apparente comprise entre $1-1,80\text{g/cm}^3$. La densité réelle exprime la densité des éléments constituant la phase solide du sol, elle est généralement entre $2,5 \text{ g/cm}^3$ et $2,6 \text{ g/cm}^3$. La majorité des sols étudiés ont une densité réelle inférieure à $2,5$, ces sols contiennent beaucoup de MO, 10 stations qui ont $d_r > 2,6$ et qui ont plus de matière minérale, les stations qui restent ont une densité réelle comprise entre $2,5$ et $2,6\text{g/cm}^3$. La majorité de nos sols ont une porosité assez forte entre 10-20% dans les quatre sites d'études. Se sont donc de texture argilo-limoneuse.

4.5. Effet sur les activités enzymatiques

Après leur pénétration dans les organismes, les polluants organiques subissent le plus souvent des transformations métaboliques, catalysées par différents systèmes enzymatiques capables de prendre en charge des substrats de nature variée. Toutes ces

enzymes augmentent l'hydrosolubilité des molécules qu'ils prennent en charge afin d'en faciliter l'élimination de l'organisme. L'activation métabolique de certaines molécules suite à leur métabolisation est cependant possible. Les réactions de biotransformation sont divisées en deux réactions ; phase I et phase II. La première phase (phase I) est assurée par des enzymes qui catalysent l'oxydation et la fonctionnalisation des xénobiotiques. La phase II est réalisée par des enzymes qui catalysent la conjugaison des molécules fonctionnalisées à des substrats endogènes. Le glutathion (GST) tient une place importante parmi les enzymes de la phase II.

Le glutathion est un tripeptide (L-γ-glutamyl-L-Cysteinyl glycine) qui joue un rôle central dans les processus de défense antioxydant intracellulaire (Arrigo, 1999; Sies, 1999). Il a été isolé et nommé pour la première fois par Hopkins en 1921 à partir de la levure du foie et des muscles. Ce tripeptide constitue le composé thiol majeur grâce à son groupement thiol de la cystéine (Yo, *et al.*, 1993 ; Michelet *et al.*, 1995). De plus, le glutathion est un cofacteur de plusieurs enzymes, catalyse la détoxification et l'excrétion de plusieurs composés toxiques. Parmi ces enzymes la glutathion peroxydase (GPx) réduit les hydroxydes en alcools primaires, la glutathion synthétase intervient dans la biosynthèse du GSH, et enfin la glutathion-S-transférase (GST) intervient dans les réactions de conjugaison des électrophiles (Saint-Denis *et al.*, 1998). Diverses recherches ont montré le rôle du GST dans la détoxification des xénobiotiques (reed, 1990 ; Reidy *et al.*, 1990 ; Avci *et al.*, 2005).

Nos résultats révèlent que le taux de GST augmente dans les sites de Fais, Kais et El-Hamma comparativement à celle enregistrées à Ain Touila, cela est peut être dû à une pollution chronique provenant des Briquetrie de ces sites et la direction des vents qui joue un rôle principale dans le transport des polluants et aussi par l'effet des pesticides à cause des activités agricoles.

En accord avec nos résultats l'augmentation du GST a été également observée par Drardja-Beldi & Soltani (2003) dans le corps entier des femelles de *G. affinis* traitées avec le diflubenzuron et par Aissaoui (1998) dans l'hépatopancréas de la même espèce traitée avec le lindane. La diminution du taux de GSH a été observée dans l'hépatopancréas des femelles *Gombusia affinis* traitées avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). La diminution du taux de GSH a été aussi observée au niveau des branchies et de la glande digestive des moules traités avec le mercure et le cuivre (Cansei *et al.*, 1999) ainsi que chez la truite arc-en-ciel exposée à différents niveaux de fuel (Steadman *et al.*, 1991). Le taux de GSH a été réduit chez les rats

traités avec: Le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et le benzopéranone (Della *et al.*, 1994), le zolone (Ouedjaoui 1996) et l'œstrogène à différentes doses (El-Farra *et al.*, 1999). La relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination est rapportée par (Ringwood *et al.*, 1999) chez les juvéniles de la moule, *Crassostrea virginica*, exposées à un mélange de polluants industriels et par Cossu *et al.*, (2000) et Doyette *et al.*, (1997) chez le bivalve, *Unio tumidus*, exposé au cuivre. Cependant, quelques études ont montré une augmentation du taux de GSH tel qu'il a été observée dans le foie de la truite arc-en-ciel traitée avec le cadmium (Ait-Aissa *et al.*, 2003). Cette augmentation du glutathion correspond à un mécanisme précoce de défense cellulaire et serait suffisant pour prendre en charge les premières atteintes cellulaires, évitant ainsi l'apparition d'un stress oxydant plus important. Le taux de GSH augmente ainsi chez les rats traités au méthyl mercure (Woods & Ellis, 1995), chez les poissons exposés au plomb (Thomas & Juedes, 1992) et au chlorothalonil (Gallagher *et al.*, 1992) et chez le bivalve *Mytilus galloprovincialis* traité avec les métaux lourds (Regoli & Principato, 1995).

Contrairement au GST, l'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification des xénobiotiques chez les êtres vivants. Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Dans les jonctions interneuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, ce qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Balida, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Bains, 2000). Nos résultats révèlent que l'activité de l'AChE diminuée au niveau des sites de Fais, Kais et El-Hamma, cette diminution est due à l'effet des polluants préviennent des Briqueterie localisent dans cette zone, et pour le site de Ain Touila on peut expliquer la diminution de l'AChE par le vent qui est le responsable majeur de transport des polluants et aussi par les pesticides préviennent par l'activité agricoles.

La diminution de l'AChE a été observée au niveau de chez *Gambusia affinis* traité avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). L'AChE est essentiellement inhibé par deux classes d'insecticides, les organochlorés et les carbamates (Toutant, 1989 ; Fournier & Mutero, 1994 ; Ecobichon, 1996 ; Tomita *et al.*, 2000 ; Siegfried & Scharf, 2001). Cependant, certaines études ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par d'autres contaminants environnementaux incluant certains agents tensioactifs, les hydrocarbures combustibles et les

métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Dellali *et al.*, 2001). L'inhibition de l'activité de l'AChE peut avoir des conséquences sur le comportement des êtres vivants ; la recherche de la nourriture, la recherche de partenaire sexuel et soin des jeunes (Little, 1990 ; Richmonds & Dutta, 1992 ; Hart, 1993 ; Saglio *et al.*, 1996 ; Khessiba *et al.*, 2001). L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus des organismes aquatiques est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par les pesticides anticholinestérasiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999 ; Dutta & Arends, 2002).

RESULTATS

3. RESULTATS

3.1. Paramètre physico-chimiques de sol dans les différents sites d'étude :

Les résultats des mesures des paramètres physico-chimiques de sol dans les différents sites d'étude sont mentionnés dans le tableau 7. Ces résultats obtenus indiquent que la température dans les quatre sites sont proches, les sols étudiés sont des sols alcalins ($\text{pH} > 7,5$). Les valeurs de l'humidité sont variées entre 55,04 et 72,96 et ceci explique que les sols sont argilo-limoneuses. Dans les sites d'études on enregistre une salinité inférieure à 0,6 (ms/cm) c'est-à-dire les sols ne sont pas salés. Le type de calcaire mesuré au niveau des sites d'étude montre que les sols ont un calcaire actif de type moyennement calcaire, les valeurs varient entre 13,75 et 17,5, et un calcaire total de type calcaire, tous les sols ont la même valeur 24. Les sols étudiés ne sont pas riches en matière organique, les valeurs obtenues varient entre 9,85 et 2,94. La porosité la plus basse enregistrée au niveau de Ain Touila 11,67 c'est une porosité assez faible.

Tableau 7: Paramètres physico-chimiques du sol des 4 sites étudiés pendant les mois de février, Mars et Avril 2017 ($m \pm s$, $n=3$).

Sites Paramètres	Fais	Kais	El-Hamma	Ain Touila
T°C	15,5 ± 0,5	14,5 ± 0,5	14,5 ± 0,5	13,5 ± 0,5
pH eau	7,4 ± 0,14	7,25 ± 0,07	7,19 ± 0,09	6,94 ± 0,07
Humidité	57,24 ± 1,43	55,04 ± 1,95	56,07 ± 2,23	72,96 ± 1,7
Salinité	0,332 ± 0,042	0,215 ± 0,021	0,235 ± 0,049	0,105 ± 0,021
Matière organique	9,394 ± 0,897	9,097 ± 0,381	9,185 ± 0,261	2,945 ± 0,23
Calcaire actif	17,87 ± 0,883	17,5 ± 1,767	17,5 ± 1,767	13,75 ± 1,767
Calcaire total	24,96 ± 0,014	24,93 ± 0,021	24,92 ± 0,035	23,96 ± 0,014
Densité réelle	2,39 ± 0,021	2,60 ± 0,056	2,41 ± 0,021	2,19 ± 0,063
Densité apparente	1,86 ± 0,014	1,92 ± 0,035	1,52 ± 0,021	1,89 ± 0,063
Porosité	13,38 ± 0,31	16,34 ± 0,30	19,85 ± 0,32	11,67 ± 0,39

RESULTATS

3.2. Analyses biochimiques :

3.2.1. Dosage de protéines :

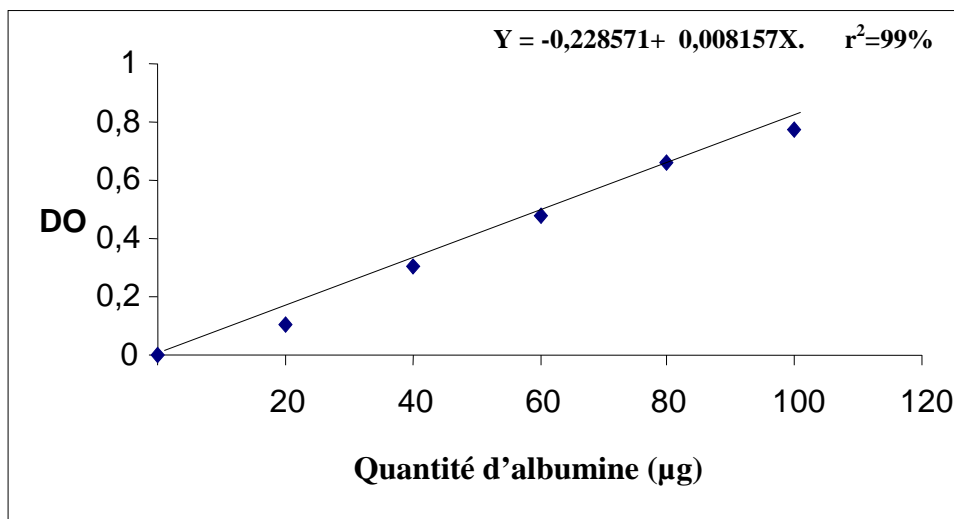


Figure 7. Dosage des protéines et droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (µg).

3.3.2 Dosage 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 mois (Tab. 8 et Fig 8). L'activité de l'AChE passe de $23,384 \pm 1,384$ ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de Ain Touila en mois d'Avril à $12,507 \pm 1,407$ ($\mu\text{Mol}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) chez la population de Fais en mois Février.

La comparaison de l'activité de l'AChE grâce au test de Tukey (Tab. 8) entre les trois mois indique qu'il existe un seul groupe au niveau de tous les sites.

D'un autre coté le test de Tukey entre les sites d'un même mois montre qu'il existe deux classes pendant les trois mois ; classe A regroupe les sites de Fais, Kais et El-Hamma et classe B regroupe le site de Ain Touila.

RESULTATS

Tableau 8. Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol/Min/Mg}$ de protéines), dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).

	Fais	Kais	El-Hamma	Ain Touila
Février	12,507 \pm 1,407 a A	13,513 \pm 1,513 a A	13,573 \pm 1,273 a A	20,414 \pm 0,914 b A
Mars	13,611 \pm 1,611 a A	14,475 \pm 1,475 a A	14,491 \pm 1,191 a A	22,524 \pm 1,047 b A
Avril	13,472 \pm 1,472 a A	14,492 \pm 0,992 a A	14,453 \pm 1,153 a A	23,384 \pm 1,384 b A

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

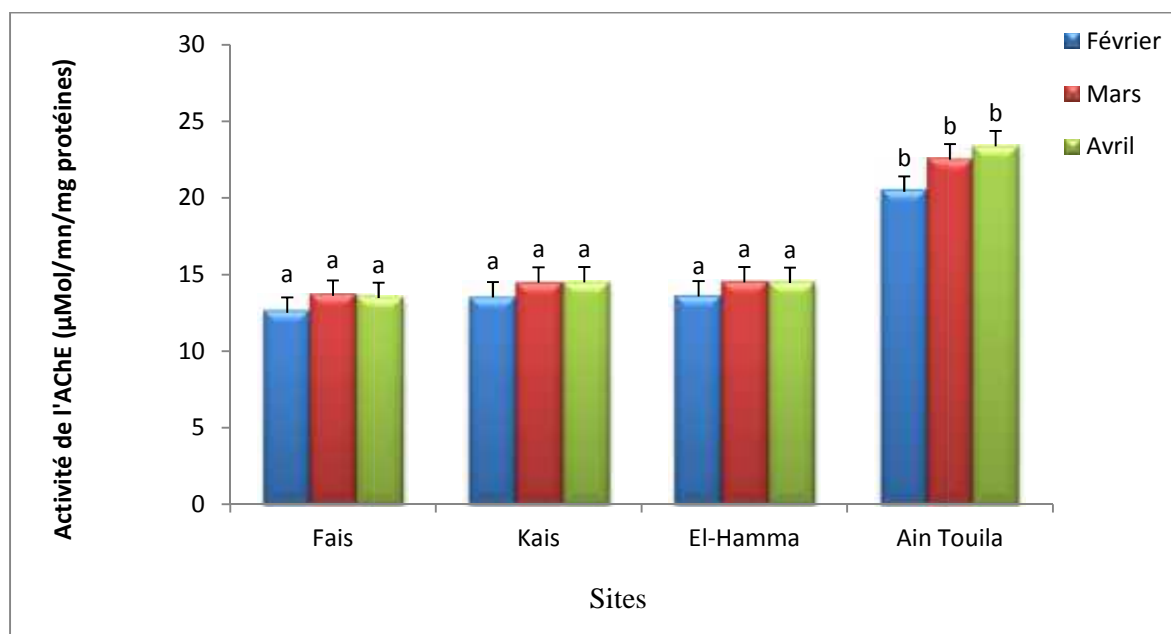


Figure 8. Evaluation de l'activité de l'acétylcholinestérase ($\mu\text{Mol/Min/Mg}$ de protéines) dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).

RESULTATS

Tableau 9. Evaluation de l'activité de l'acétylcholiestérase dans la tête d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites. Analyse de 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	0,05*
Mois	2	8873,17	8873,17	806,65	1243,11	NS
Site*mois	6	298,52	298,52	5,43	8,36	0,05*
Erreur	16	140,16	140,16	0,65		
Total	27	18591,51				

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

L'analyse de la variance a un deux critère de classification indique qu'il existe un effet site un effet site*mois ($P < 0,05$) hautement significatif par contre un effet mois non significatif.

3.4.2. Dosage de glutathion S-transférase :

L'effet de la pollution sur le taux de GST hépatopancréatique à été évalué chez *Helix aspersa*. la détermination du taux de GST à été réalisé par application de la formule d'Habig *et al.*, (1965). Les résultats obtenus sont présentés dans Le tableau 10 et la figure 9.

Le taux de la GST ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) dans les hépatopancréas d'*helix aspersa* est variable dans chaque site entre les mois (Tab. 8 et Fig 8). Le taux de la GST passe de $34,492 \pm 0,992$ ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) chez la population de Kais en mois d'Avril à $25,414 \pm 0,914$ ($\mu\text{Mol/mn/mg}$ de protéines) chez la population de Ain Touila en mois Février.

La comparaison du taux de la GST grâce au test de Tukey (Tab. 10) entre les trois mois indique qu'il existe un seul groupe au niveau de tous les sites.

D'un autre coté le test de Tukey entre les sites d'un même mois montre qu'il existe deux classes pendant les trois mois ; classe A regroupe les sites de Fais, Kais et El-Hamma et classe B regroupe le site de Ain Touila.

RESULTATS

Tableau 10. Taux de glutathion réductase ($\mu\text{Mol/Mg}$ de protéines), dosées dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).

	Fais	Kais	El-Hamma	Ain Touila
Février	32,507 \pm 1,407 a A	33,513 \pm 1,513 a A	33,573 \pm 1,273 a A	25,414 \pm 0,914 b B
Mars	33,611 \pm 1,611 a A	34,475 \pm 1,475 a A	34,491 \pm 1,191 a A	27,524 \pm 1,047 b B
Avril	33,472 \pm 1,472 a A	34,492 \pm 0,992 a A	34,453 \pm 1,153 a A	26,384 \pm 1,384 b B

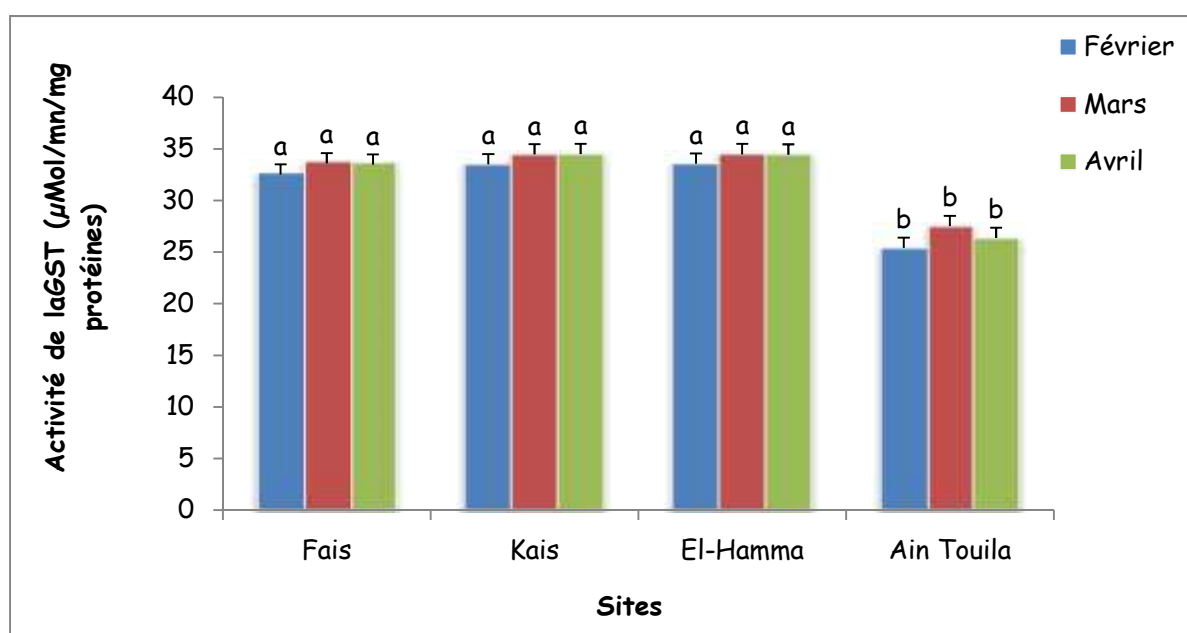


Figure 9: Taux de glutathion réductase ($\mu\text{Mol/Mg}$ de protéines), dosées dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites ($m \pm s$; $n=4$).

RESULTATS

Tableau 11. Taux de GST dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* récoltés dans différent sites.

Analyse de variance à un seul critère de classification

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
Site	3	8279,66	8974,66	1745,93	2689,14	0,05*
Mois	2	7873,17	8521,17	785,65	1187,11	NS
Site*mois	6	312,52	312,52	5,43	8,36	0,05*
Erreur	16	138,16	140,16	0,65		
Total	27	8591,51				

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

L'analyse de la variance a un deux critère de classification indique qu'il existe un effet site un effet site*mois ($P < 0,05$) hautement significatif par contre un effet mois non significatif.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude s'inscrit dans le but d'évaluer la contamination des sols dans quelques biotopes dans la région de Khenchela par un suivi mensuelle de deux biomarqueurs du stress environnemental (GST, AChE) qui s'étend de Février à Avril 2017 chez un mollusque gastéropode *Helix aspersa* (Müller, 1774).

Les propriétés physico-chimiques des sols étudiés dans ce travail indiquent qu'il y a une similarité entre les sites. Ces résultats indiquent que les sols étudiés sont des sols alcalins. Les résultats de texture montrent que les sols étudiés sont des sols argilo-limoneuse. Tandis que Les valeurs de matière organique montrent que les sols étudiés sont des sols riches en matière organique. Les résultats de salinité montrent que les sol sont des sols non salé. Les sols de notre étude sont riche en calcaire (>30). Les valeurs de porosité montrent que les sites étudiés ont une porosité forte.

La mesure des biomarqueurs montre une variation mensuelle ainsi qu'une différence entre les sites. Une forte contamination a été observée au niveau des sites ; Fais, Kais et El-Hamma par une diminution de l'activité de l'AChE et une augmentation de la GST, tandis que la plus faible contamination a été enregistrée à Ain Touila par une augmentation de l'activité de l'AChE et la diminution de la GST. Ce gradient de pollution est en rapport avec les sources de pollution (Briqueterie).

À l'avenir il serait intéressant de :

- ❖ Dosage d'autres biomarqueurs tels que la catalase, la métallothionéine, la glutathion peroxydase.
- ❖ Dosage des métaux lourds dans le sol, ainsi que dans la chaire des escargots.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbes A., 2004. Variation spatio-temporelle de l'activité de trois biomarqueurs du stress environnemental (AchE, GST et LDH) chez *Ruditapes decussatus* et *Cardium glaucum* (Mollusca, Bivalvia) provenant de la lagune El Mellah. Thèse de Magistère en Biologie Animale option Reproduction et Développement. Université d'Annaba.

Achuba, F. I., Peretiemo-Clarke, B. O. and Ebokaiwe, P. 2005 :Pollution induced oxidative stress in African catfish(*Claris heterobanchus*). *European Journal of Scientific Research* **8(2):**62-73.

Aissaoui R., 1998. Contribution à l'étude de la toxicité d'un insecticide organochloré, le lindane: Impact sur quelques organes d'un poisson Téléostéen d'eau douce, *Gombusia affinis*. Mémoire de Magister. Université d'Annaba. Algérie.

Aït-Aïssa S., 2003. Réponses multi-biomarqueurs chez des poissons exposés à des métaux, seuls ou en mélange. Journée de la SFRP section Environnement, Paris, 15 Septembre 2003. Présentation invitée.

and vegetable flour to the snail *Helix Aspersa*: bioaccumulation and effects' *Environmental Research* : 53 (B), 148-153.

Arrigo A.P., 1999. Gene expression and the thiol redox state. *Free Rad. Biol. Med.*, **27**: 936-944

Avci A., Kacmaz M. & Durak I., 2005. Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to petroleum refinery industry. *Ecotoxicol. and environm. Safety.*, **60**: 101-105.

Badilla S., 1995. Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology*, **102**: 105.

Barker, G.M (Ed), 2001.The Biology of Terrestrial Molluscs. CABI

Beeby ,A ., Eaves, S.L.,1983. Short-term changes in Ca, Pb,Zn and Cd concentrations of the garden snail *Helix aspersa* Muller from a central London car park. *Environmental pollutions* **30**,233-244.

Beeby, A; Richmond, L. Do the soft tissues of *Helix aspersa* serve as a quantitative sentinel of predicted free lead concentrations in soil? *Appl Soil Ecol.* **2003;22**:159–165.

Beeby, A; Richmond, L. Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecol Indic.* **2002;1**:261–270

Benslama ; 2005-2006.cours d'écologie, 3^eannée écologie et environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berger B, Dallinger R, Felder E, Moser J. 1993.** Budgeting the biomarqueurs de neurotoxicite´. In Lagadic L, Caquet T, Amiart
- Bocquene G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse de doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes: 250 P.
- Bocquene G., Galgani F., & Walker H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramad F.,(eds), Biomarqueurs en ecotoxicologie –Aspects fondamentaux. Masson, Paris, pp. 209-240.
- Bonin, S. 2006.** Les souhaits des personnes en fin de vie : un inventaire systématique et structuré. Paris
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L.**L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain. INRA. 1990
- BOUFFARD, V. 2000.** Milieux humides artificiels pour l'amélioration de l'efficacité de traitement des eaux usées domestiques d'une petite municipalité. P 150.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgramquantities of protein utilizing the principe of protein –dye binding. *Anal Biochem.*, **72** : 248 – 254.
- Canesi L., Ciacci C ., Piccoli G., Stocchi V., Viarengo A. & Gallo G., 1999.** in vito and in vivo effects of heavy metals on mussel digestive gland hexokinase activity: the role of glutathione. *Comp. Biochem. Physiol.*, **120**: 261-268.
- CHARRIER M .,1981_**Contribution à la biologie et à l'écophysiologie de l'escargot *Helix aspersa* Muller .Doctorat de 3^e cycle de l'Université de Rennes I ,330 p.
- Chevalier, H.** L'élevage des escargots : production et préparation du « Petit-gris » .Ed. Du point vétérinaire. 144 pages. 1992
- Coeurdassier M, Gomot-de Vaufleury A, Badot PM. 2000.** Dose dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in the land snail *Helix aspersa aspersa*. *Environ Toxicol Chem* 19:2571–2578.
- Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A. & Vasseur P., 2000.** Antioxidative biomarkers in freshwater bivalve *Unio tumidus* in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **45**: 106-121.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Daget .J 1976.** les modèles mathématiques en écologie 8 ; P.165-170 en Masson (Paris, New York) .
- Dallinger , R, 1993:** strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. In: Dallinger, R., Rainbow, P. (Eds.), *Ecotoxicology of Metals in invertebrates*. Lewis, Boca Raton, FL, pp.245-289.
- Dallinger , R, 1994:** invertebrate organisms as biological indicators of heavy metals pollution. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 48:27-31.
- Dallinger, R, 1996.** Metallothionen research in terrestrial invertebrate's synopsis and perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology* 113: 125-133.
- Davet.P ; 1996:** vie microbienne et production végétale, Ed/ INRA. France.
- Della M.R.,Villani G.R., Dimartino E., Squillacioti D., Belisario M.A.& station N., 1994.**Glutathione depletion induced in rat liver fraction by seven pesticides. *Bull. Soc. Ital. Boil. Sper.* 70(8-9):185.
- Dellali M., Barelli M.G., Romeo M. & Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinestérase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of bizarta lagoon. *Comp. Biochem. And Physiol. Part C*, **130**: 227-235.
- Doyotte a., Cossu C., Jacquin M.C., Babut m. & Vasseur P., 1997.** Antioxidant enzymes, glutathione or feild exposure in the gills and digestive gland of the freshwater bivalve, *Unio timidus. Aquati. Toxicol.*, **39**: 93-110.
- Drardja-Beldi H. & Soltani N., 2003.** Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non-target species. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, **68(4a)**: 299-304.
- Dubey B.L et dwividi .P 1988.** Projective value of somatic Inkb lot – séries II in case of stammering. *Journal of personality and clinical studies* 8:173-176
- DUCHAUFOR, 1970-** précis de pédologie. Ed Masson et Cie. Paris.
- DUTHIL J, 1971** Elément d'écologie et d'agronomie. Ed.J.B. Baillière et fils. Paris. Dunod.
- Dutta H.M & Arends D.A., 2002.** Brain cetylcholinesterase activity and optomotor behavior in bluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different concentration of diazinon; *Arch. Intern. Physiol. Biochim. Biophys.* 100:331-334.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ecobichon, D.J., 1996. Toxic effects of pesticides. In Klaassen C.D. (ed). Casarett and Doull's Toxicology; the basic science of poisons Mc Graw-Hill, New York, pp: 643-689.

El-Farra M., 1999. The capacity of glutathione enzymatic system and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the detoxification of estrogen hormones and corresponding metabolites. Memoire de magister. Université d'Annaba. Algerie.

Ellman G. L., Courtney K. D., Andres V., & Featherstone R. M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology and Physiology*. **38** : 84-90.

F .RAMADE, 1984-Elément d'écologie fondamentale .Ed MC Grow-hill.Paris.

Fernandez-Vega C., Sancho E. Ferando M.D & Andreu-Mliner E., 1999. Thiobencarb toxicity and plasma AChE inhibition in the euppen eel. *J. Environ. Sci. Health*, **B34**, 64.

Férussac 1821. International trust for zoological Nomenclature, London Royaume- UNI, ISSN 0007

flow of cadmium and zinc through the terrestrial gastropod *Helix*
Fondamentaux. Masson, Paris, France, pp 209–240.

Forget J., Pavillon J.F., Beliaeff B. & Bocquené G., 1999. Joint action of pollutant combination (pesticides and metals) on survival (LC50 Values) and acetylcholinestérase activity of tigiropus brevicornis (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chemes.*, **18(5)**: 912-918.

Fournier D. & Mutero A., 1994. Modification of acetylcholinestérase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comp. Biochem. Physiol.*, **108C**: 9.

GAILLARD J. (1991) Les Mollusques, pp 1-18 Document polycopie du module de la conference sur les animaux venimeux au Museum d'Histoire Naturelle de Paris, juillet 99.

Gallagher E.P., Canada A.T.&Digiulio R.T.,1992 The protective role of glutathinne in chlorothalonil- induced toxicity to channel catfish. *Aqua.Toxicol.*, **23**:155-168.

Galloway T.S & Depledge M.H., 2001. Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology*, **10**: 5-23.

Gimbert F, de Vaufleury A, Douay F, Coeurdassier M, Scheifler R, Badot PM. 2006. Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicodynamic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. submitted for publication.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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 *bull.Acad.Nattle Méd.* :1997,181 ,n°1,59-75,séance du 28janvier 1997 .

Gomot A. 1997. Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Arch Environ Contam Toxicol* 33:209–216

Gomot de Vaufleury, A. and Pihan, F., 2000. Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere* 40, 275 - 284.

Gomot-De Vaufleury, A., 2000. Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, and Pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 46, 41-50.

GRASSE P.P (1960) Traite de zoologie, Editions Masson, Paris Tome V, Fascicule II : Bryozoaires, Brachiopodes, Chétognathes, Pogonophores, Mollusques, pp 1625-1651

GRZIMEK B., FONTAINE M. (1973) Le Monde Animal, Editions Stauffacher S.A., Zurich Volume III : Mollusques Echinodermes pp 19-23, pp 123-134

GRZIMEK B., FONTAINE M. (1973). Räumliche Effekte von Totholzstrukturen bei Landschnecken (Mollusca Gastropoda). *Forst und Holz* 64(2): 22-27

Habig W.H., Jakobby W.B.& Ketly J.N.,1965. Glutathione S-transferase(rat and humain) .*Meth. Enzymol.*,77:218-231.

Hart A.D.M., 1993.Relationship between behaviour and the inhibition of acetylcholinestérase in birds exposed to organophosphorus pesticides. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**: 321-336.

Herbet A., Guilhermino L., Assis H.C.S. & Hansen P.D., 1995. Acetylcholinestérase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift Angewandt Zoologie.*, **3**: 1-5. JC, Ramade F, eds, *Biomarqueurs en Ecotoxicologie, Aspects*

Kammenga J.E., Dallinger R., Donker M.H., Kohler H.R., Simonsen V., Triebkorn R. and Weeks J.M., 2000. Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 164.* G. W. Ware (Eds.). 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, Springer-Verlag. 93-147.

KAOURITCHEV.I., 1983; Manuel pratique de pédologie ;Moscou . 5-10 .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Khessiba U.N., Hoarau P., Magnassia B., Aissa P.& Roméo M., 2001.** Repence biochimique de la moule *Mytilus galloprovincialis* de Bizerte(Tunisie) à exposition du polluant chimique ; *Eviron.Toxicol.Chem.*,40 :222-229.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramade F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Paris, Masson.
- Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramade F., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Paris, Masson.
- LANDIS, W.G. et M.H. YU (1995).** *Introduction to Environmental Toxicology : Impacts of Chemicals upon Ecological Systems*, Boca Raton, FL, Lewis Publishers.
- Laskowski, R., Hopkin, S.P., 1996a.** Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail *Helix aspersa*: implication for predators. *Environmental pollution* 91, 289-297.
- Laskowski, R., Hopkin, S.P., 1996b.** Effect of Zn, Cu, Pb and Cd on fitness in snail (*Helix aspersa*): *Ecotoxicology and Environmental Safety* 34, 59-69.
- Linnaeus 1758.** Accurate relic densities with neutralino, chargino and sfermion coannihilation in MSVGRA JCAP, 0304 P. 156- 170.
- Lionetto, A 2003.** Acetylcholinesterase as biomarkers in environmental biomonitoring caricato , M.E gioradamo and T. Schettino Italy P.91-92
- Little E.E., Archeski R.D.,&Koslovskay V.I., 1990.** Behavioural indicators of sublethal toxicity in the aquatic environment. *Arch, Environ, Contam, Toxicol.*, 19 :380-385 .
- Mandoz-Escande C.,Bréchnignac F.,Colle C., Dubois E., Hugon J.,Jouglet H.,Moutier M. ,Rongier P.,A.,Schu E ,H.,Zanon R , 2005 :**Experimental installation for radioecologie research on defined ecosystems subjected to contamination in controlled condition, 133 :178-191.
- Metals in Invertebrates.** Lewis, Boca Raton, FL, USA, pp 291–313
- Oueldjaoui. A 1996 .**Le role du système enzymatique et glucose-6-phosphate-hydrogénase dans la détoxification de quelques métabolites et pesticides. Mémoire de magister Université d'Annaba, Algerie.
- P.H. Fischer, 1948.** ‘Données sur la Résistance et la Vitalité des Mollusques’, Extrait Jour. Conch., Vol. LXXXVIII, Paris, pp. 100 – 140.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

PRESCOOTT , Harley, Klein ; 1995 :microbiologie. ED Masson.

Ramade F., (1992)., Précis d'écotoxicologie. *Collection d'Ecologie 22 ; Masson, Paris.*, PP. 170-171.

Reed D.J., 1990. Glutathione: toxicological implications. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**: 603-631

Regoli, F; Gorbi, S; Machella, N; Tedesco, S; Benedetti, M; Bocchetti, R. Prooxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields (ELF-EM) in the land snail *Helix aspersa*. *Free Radic Biol Med.* 2005;39:1620–1628. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.004.

Regoli, F; Principato, G. Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals in different field and laboratory conditions: implications for a proper use of biochemical biomarkers. *Aquat Toxicol.* 1995;31:143–164.

Reidy G.F., Rose H.A., Viseton S. & Murray M. ; 1990. Increased glutathion S-transférase activity and glutathione content in an insecticide resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pestic. Biochem. and Physiol.*, **36**: 269-276

Richmonds & Dutta, 1992 ;

Russell L.K., Dehaven J. I and Botts R. P., 1981 ; Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* : 26,634-640.

Saglio P.,Trijasse S .,&Azam D., 1996 ; Behavioural effects of water-born carbofuron in goldfish .*Arch. Environ, Toxicol , Chem*

Sait-Denis M., Labrot F., Narbonna J.F. & Rebera D., 1998. Glutathione, glutathione-related enzymes, and catalase activities in earthworm *Eisenia fetida andrei*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **35**: 602-614

Scheifler R., Gomot de Valfleury A., Badot P.M. (2002) 'Transfer of cadmium from plant leaves

Sies H., 1999. Glutathion and its role in cellular functions. *Free Radic. Biol. Med.*, 27: 916-921

Souissi M., Ouali K., Hadj Moussa W., Rouachdia R., Djabourabi A., & Bensouilah M., 2008. Proportioning of Biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) Indicator of pollution at *Gambusia affinis* (Teleostei Fish) Exposed to Cadmium. *Mar. Ecobiol. Lit. Envi.*

Steadman B.L.,Farag A.&Bergman H.L., 1991. Exposure-related patterns of biochemical indicators in rainbow trout exposed to NO₂ fuel oil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10:365-374.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Thomas.D.J. & Juedes.M.J., 1992.**Influence of lead on the glutathione status of the Atlantic croaker tissues; *Aquatic Toxicology*,23:11-30.
- Tomita T., Hidoh O., & Kono Y., 2001.** Absence of protein polymorphism attributable to insecticide- insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotellix cincticeps*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **30**: 325-333.
- Toutant, J.P, 1989** .Insect acetylcholinesterase : Catalytic properties, tissue distribution and molecular forms.*Prog.Neurobiol.*, 32 : 719-734.
- TRUHAUT, R. (1977).** « Ecotoxicology : Objectives, principles and perspectives », *Ecotoxicology and Environmental Safety*, no 1, p. 151-173.
- Tsai C.L., 2004;** Introduction of slugs in plant quarantine;Council of Agriculture plant protection Series.5 :113-119.
- USSL, 1954.** Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. US Department of Agriculture, Handbook n°60, U.S. Gov. Print. Office, Washington D.C.
- Van der Oost R., Opperhuizen A., Satumalay K., Hcida H., Vermeulon N.P.E., 1996.** Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). I.Bioaccumulation: biota sedimentation of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquat. Toxicol.* **35**: 21-46.
- Vaufleury A, Coeurdassier M, Pandard P, Scheifler R, Lovy C, Crini N,2006.** How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. *Environ Toxicol Chem*;25:797–806.
- Viard 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.
- Vincke J.F, 1982.** Projet regional de developpement de l'aquaculture en Méditerranée.
- Weckberker G. & Cory G., 1988.** Ribonucléotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters*, **40**: 257-264
- Woods J.S. & Ellis M.P., 1995.**Up-regulation of glutathione synthesis in rat kidney by methyl mercury : relation ship to mercury-induced oxidative stress.*Biochem.Pharmacol.*, 5:1719-1724.
- WRIGHT, D.A. et P. WELBORN (2002).** *Environmental Toxicology*, Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- Yo C.L., Lui C.L., Tsai C.Y., Sun K.H., Liano T.S., Lin W.M., Chen H.L. & Yo H.S., 1993.** Prostaglandin E₂ suppresses phytohemagglutinin -induced immune responses of

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

normal human monocular cells by decreasing intracellular glutathione generation, but not due to increased DNA strand breaks or apoptosis. *Agent action*. **40**: 191-199.

Zinkl J.G., Lockhart W.L., Kenny S.A. & Ward F.J., 1991. The effects of cholinestérase inhibiting inecticides on fish. *In " Chemicals in Agriculture"* (P. Mineau, Ed), **Vol. 2**: 233-253.

Résumé

Dans cette étude expérimentale nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact de la pollution des sols de quelques biotopes de la région de kenchela par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa*, (Mollusca, Gasteropoda), escargot très abondant au niveau de quatre sites étudiés.

L'analyse physico-chimique de sols nous révèle que nous sommes en présence de sol à texture argilo-limoneuse, légèrement basique ($\text{pH} > 7,5$) non salin (conductivité $1-0,3 \text{ m mohs/cm}$), qui retiennent peu d'humidité hygroscopique et qui ont une porosité assez forte entre 10-20% dans les quatre sites d'études.

Le dosage des deux biomarqueurs (AChE et GST) révèle que les sites de Fais, Kais et El-Hamma ont le même taux de pollution. Le site de Ain Touila est le site le moins pollué.

Mots clés: *Helix aspersa* ; Biomarqueurs ; Bioindicateur ; Physico-chimie des sols ; AChE ; GST.

Abstract

In this experimental study we were interested in the evaluation of impacts pollution of the grounds of some biotopes of Khenchela by the use of a bioindicator, *Helix aspersa*, (Mollusca, Gasteropoda), snail very abundant on the level of four sites study.

The physicochemical analysis of grounds reveals us that we are in the presence of ground with argilo-muddy texture, slightly basic ($\text{pH} > 7,5$) no saline (conductivity, 1-0,3 m mohs/cm), who retain little hygroscopic moisture and who have a rather strong porosity between 10-20% in the four sites of studies.

The proportioning of two biomarqueurs (AChE and GST) reveals that the sites of Fais, Kais and El-Hamma. Ain Toiula is the site less polluted.

Key words: *Helix aspersa*; Biomarqueurs; Bioindicator; Physicochemistry of the grounds; AChE, GST.

في هذه الدراسة التجريبية اهتمنا بدراسة تأثير تلوث التربة في بعض الأوساط الحيوية على مستوى
في ولاية خنشلة هليكس اسبرسا (رخويات)

تخلص من التحليل الفيزيوكيميائي لها ذات تركيب صلصال- قاعدتها خفيفة
ليست مالحة تعتبر متوسطة الرطوبة و لديها مسامات متوسطة ما بين (10-20%)

الكلمات الرئيسية: التنوع البيولوجي ، الرخويات الأرضية الاوساط الحيوية