



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa -



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département Des êtres vivants

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Santé et environnement

Thème :

**Effet de certains engrais sur une espèce de
gastéropode, *Helix vermiculata* : Biochimie et
biomarqueurs**

Présenté par :

GUEDDOUCHE Malika

Devant le jury :

Dr. TINE DJBBAR F.	M.C.A	Université de Tébessa	Présidente
Dr. TINE S.	M.C.A	Université de Tébessa	Rapporteur
Mme. BOUZERIAA H.	M.C.B	Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 01/06/2017

Note : **Mention :**

Année 2016/2017

Dédicace

Avec un énorme bonheur et une extrême joie je dédie ce modeste travail à tous ceux qui j'aime et que j'apprécie énormément leur aide et leur soutien durant ma vie

A la mémoire de mon défunt père, que Dieu l'accueille en son vaste paradis.

A ma mère pour tous ses sacrifices

A mon frère Aissa, qui m'a soutenu et encouragé tout au long de ma vie estudiantine, son fils Rashed et sa femme, Nawal.

Pour Najete et alla-Eddine, pour ma sœur et mon compagnon Mounira et ses deux filles Nor El-Houda, Sara et son fils Abderrahmane.

À l'esprit de ma sœur ttawes Dieu à son âme Pour mon frère Djamel et son épouse Amina

Pour mes amis: noms, Yesmine, Imène, Nesrine, Shadia, et à Laila.

A la promotion de santé et environnement 2017.

A ma voisine et amie Nassima et Mounia et à toute sont famille. Mon cher Encadreur Dr Tine Samir. A notre professeur Dr. Tine-Djebbar F.

Merci pour votre patience, Vos efforts intenses, et votre disponibilité Permanente

Remerciements

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu qui m'a aidé et Evgueni et les civils par la force et la patience pour terminer ce travail.

A mon frère Issa, qui tendit une main toujours.

A mon frère Djamel, qui m'a beaucoup aidé dans le cadre de la réalisation de cette recherche.

Sincères remerciements aux professeurs DR TINE -DJEBBAR F sur l'effort de suivi permanent et de la patience.

Nos plus vifs remerciements à notre professeur et encadreur DR.TINE Samir.

Un grand remerciement à Dr. BOUZERAA Hayette d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Et de remercier tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Merci 

Malika

Table des matières

	Page
المخلص	
Abstract	
Résumé	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
1. Introduction	01
2. Matériels et méthodes	04
2.1. Matériel biologiques :	04
2. 1. 1. Présentation d'Helix vermiculata :	04
2.1.1. 1. Anatomie :	06
2. 2. Méthodes d'échantillonnage :	08
2. 3. Méthode d'élevage :	09
2. 4. Présentation des engrais et traitement :	10
4. 1. Traitement de la croissance :	12
4. 2 : traitement de biochimie et biomarqueur :	13
4. 3 : traitement de la reproduction :	14
2. 5. Dissection de l'escargot :	15
2.6. Biométrie :	15
2. 7. Extraction et dosage des métabolites :	15
2. 7. 1. Dosage des glucides totaux :	17
2. 7. 2. Dosage des protéines totales :	17
2. 7. 3. Dosage des lipides totaux :	18
2. 8. Dosage des biomarqueurs :	19
2. 8. 1. Dosage des glutathion S-transférases :	19
2. 8. 2. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) :	22
2. 8. 3. Extraction et dosage du lactate déshydrogénase :	22
2. 8. 4. Dosage de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase:	24

2. 8. 5. Extraction et dosage de la vitellogénines et des vitellines:	26
2. 8. 5. 1. Prélèvement de la glande albuminique :	26
9. 8. 5.2. Technique d'extraction :	26
2.9. Analyse statistique :	27
3. Résultats	28
3. 1. Effets sur le comportement :	28
3. 2. Estimation du taux d'alimentation	28
3. 3. Les paramètres morphométriques :	30
3. 3. 1. La mortalité :	30
3. 3. 2. Effets de l'Urée et le NPK sur le poids des gonades d' <i>Helix vermiculata</i> .	32
3. 3. 3. Effets de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas d' <i>Helix vermiculata</i> :	34
3. 3. 4. Effets de le l'Urée et de NPK sur la croissance	35
3. 3. 4. 1. Effet de l'Urée et de NPK sur le poids corporel d' <i>Helix vermiculata</i> :	36
3. 3. 4. 2. Effet de l'Urée et de NPK sur le diamètre de la coquille d' <i>Helix vermiculata</i> :	38
3. 4. Effets de l'Urée et de NPK sur la composition chimique de l'hépatopancréas d' <i>Helix vermiculata</i> .	40
3. 4. 1. Contenu en glucides totaux :	40
3. 4. 2. Contenu en protéines totaux :	42
3. 4. 3. Contenu en lipides totaux :	43
3. 5. Le contenu de la vétélogénine de la glande albuminique d' <i>Helix vermiculata</i> :	45
3. 6. Effets de l'Urée et de NPK sur les biomarqueurs :	47
3. 6. 1. L'activité spécifique des GSTs :	47
3. 6. 2. L'activité spécifique de LDH :	49
3. 6. 3. L'activité spécifique de GPX :	50
3. 6. 4. L'activité spécifique de l'AChE :	51
4. Discussion	54
4. 1. Réponse comportementales :	54
4. 1. 1. La mortalité :	55

4. 1. 2. Taux d'alimentation :	55
4. 2. Réponse physiologique :	56
4. 2. 1. La croissance d' <i>Helix vermiculata</i> :	56
4. 2. 2. Le poids de l'hépatopancréas d' <i>Helix vermiculata</i> :	57
4. 2. 3. Le poids de l'appareil reproducteur d' <i>Helix vermiculata</i> :	58
4. 2. 4. La couleur de la glane albuminique d' <i>Helix vermiculata</i> :	59
4. 3. Effet sur le contenu en vitellogénines :	61
4. 4. Mesures des biomarqueurs :	62
4. 4. 1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs :	63
4. 4. 2. Effet sur l'activité spécifique du GPX :	64
4. 4. 3. Effet sur l'activité spécifique de l'AChe :	65
4. 4. 4. Effet sur l'activité spécifique de la LDH :	66
Conclusion	68
Références bibliographiques	69

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Les doses de l'Urée et de NPK appliquées au cours de nos expérimentations.	11
02	dosage des glucides totaux, réalisation de la gamme d'étalonnage	17
03	Dosage des protéines totales : réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
04	Dosage des lipides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.	19
05	Effet de l'Urée et de NPK sur la quantité d'aliment ingérés (g) par les escargots ($m \pm \text{sem.}$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	29
06	Effet de l'Urée et de NPK sur la mortalité corrigée (%) chez les escargots ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	31
07	Effet de l'Urée et de NPK sur l'indice gonadique (%) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	32
08	Aspect du système reproducteur chez les escargots subadultes traités par l'Urée et le NPK (Gueddouche, 2017).	34
09	Effet de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas (g) des escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	35
10	Indice de poids et diamètre d' <i>Helix vermiculata</i>	36
11	Effet de l'Urée et de NPK sur le poids des escargots (g) subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	37
12	Effet de l'Urée et de NPK sur le poids des escargots (g) subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	39
13	Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en glucide totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	41

14	Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	42
15	Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	44
16	Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en vétélogénine ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	45
17	Aspect de la glande albuminique chez les escargots subadultes témoins et traités par l'Urée et le NPK (Gueddouche, 2017).	46
18	Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	48
19	Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de LDH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	49
20	Effet d'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GP _x ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	51
21	Effet d'Urée et NPK sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules))	52

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Morphologie externe d' <i>Helix vermiculata</i>	05
02	Morphologie de la coquille de l'espèce <i>Helix vermiculata</i>	05
03	Morphologie de la coquille de l'espèce <i>Helix vermiculata</i>	06
04	Anatomie interne d'un escargot	07
05	Diaphragme obstruant l'ouverture de la coquille (1 cm – 4.08 mm).	08
06	Photo satellitaire de Djebel-El Guelb (www. Earth. Com).	08
07	Présentation du site d'étude, Djebel El-Guelb.	09
08	Elevage d' <i>Helix vermiculata</i> au laboratoire.	09
09	Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement.	12
10	Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement de la biochimie et biomarqueur.	13
11	Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement de la reproduction.	14
12	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko <i>et al.</i> , 1967).	16
13	Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig <i>et al.</i> , 1974).	21
14	Extraction et dosage des lactates déshydrogénases (Hill <i>et al.</i> , 1954).	23
15	Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman <i>et al.</i> , 1961).	25
16	Extraction des vitellogénines et des vitellines par Descamps, (1996) à partir de Fabre <i>et al</i> (1990).	26
17	Effets de l'Urée et de NPK sur la quantité d'aliments ingérés (g) par les escargots après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, n=15 répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative).	29
18	Effets de l'Urée et de NPK sur la mortalité corrigée (%) chez les escargots après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, n=5 répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative).	31
19	Effets de l'Urée et de NPK sur l'indice gonadique (%) chez les escargots subadultes après une période de traitement de un mois et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, n=5 répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; ** Différence hautement significative).	33

20	Effets de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas (g) des escargots subadultes après une période de traitement de un moins et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).	35
21	Effets de l'Urée et de NPK sur le poids corporel (g) des escargots subadultes après une période de traitement de un moins et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n=15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative ; NS : Différence non significative).	38
22	Effets de l'Urée et de NPK sur le diamètre (cm) des escargots subadultes après une période de traitement de un moins et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n=15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative ; NS : Différence non significative).	40
23	Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux moins ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).	41
24	Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux moins ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).	43
25	Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux moins ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$); ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).	44
26	Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en vétélogénine ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$) chez les escargots subadultes après une période de traitement de un moins et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$); ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).	46

27	Effets de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$)).	48
28	Effets de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de la LDH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$)).	50
29	Effets d'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GP_x ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$) ; ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).	51
30	Effets d'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots subadultes après une période de traitement de un mois et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (* Différence significative ($p<0,05$) ; ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).	53

LISTE DES ABREVIATIONS

ACh: Acétylcholine

AChE: Acétylcholinestérase.

ASS: Acide Sulfosalicylique.

BBC: Bleu brillant de coomassie.

BSA: SerumAlbumin Bovin.

CAT: Catalase.

CDNB: 1-Chloro, 2,4-Dinitrobenzène.

cm: centimètre.

CO₃HNa : Bicarbonate de sodium.

EDTA: Ethylène diamine tétra-acétique.

EGTA : Acide éthylène glycol-bis, -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique.

ERO: Espèces réactives de l'oxygène.

Fig. : Figure.

g: Gramme.

GPx: Glutathion peroxydases.

GSH : Glutation réduit.

GSSG: Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé).

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

M : Mole.

mg: Milligramme.

min: Minute.

ml : Millilitre.

mM : Millimolaire.

NADPH : Nicotinamide –adénine dinucléodide phosphate réduit.

NAP : Naphtalène

NaCl : chlorure de sodium.

nm : Nanomètre.

NPK : Azote, phosphate, potassium.

pH: Potentiel hydrogène.

SOD: Superoxydismutase.

t/mn: Tours/minute.

TCA: Acide Trichloracétique.

%: Pourcentage.

°C: Degré Celsius.

µg: Microgramme.

µl: Microlitre.

µM: MicroMol.

Trs : tours

1V/1V : deux solutions avec un même volume

m : moyenne

SEM : écart- moyen

n : nombre de répétitions

p : coefficient de signification

Introduction

1. INTRODUCTION

Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Cependant, les pertes en rendement des produits agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux mauvaises herbes pouvaient atteindre un seuil important (Oerke et Dehne, 1997).

En Algérie, l'utilisation des insecticides, des fertilisants, des engrais, et autres produits phytosanitaires s'accroît avec le développement de l'agriculture (Bouziani, 2007). Les fertilisants minéraux ou organiques (lisiers, boues de stations d'épuration) sont dispersés à la surface des sols afin d'accroître les rendements des végétaux cultivés. Les principes de leur usage est fondé sur la constatation que l'on emporte avec la récolte une certaine quantité de nutriments : phosphore, azote, potassium, et dans une moindre mesure, soufre, magnésium et autres oligoéléments (François, 2012).

Parmi les engrais chimique les plus utilisées, nous citerons le nitrate de calcium, le nitrate d'ammonium, le sulfate d'ammonium et l'Urée (Ces deux dernies sont transformés en nitrates par les bactéries nitrifiantes présentes dans les sols) (François, 2012).

Des quantités considérable de ces fertilisants sont utilisées chaque année en agriculture. La consommation mondiale d'engrais chimiques à été multipliée par 21 entre 1946 et 2007, année où elle a atteint la valeur record de 168.5 millions de tonnes. A l'opposé, on a assisté au début des années 1990 à une stagnation voire à un recul de la consommation qui est retombé au – dessous de $140 \cdot 10^6$ t ($137 \cdot 10^6$ t en 1991). Cela à résulté en grande partie des mesures prises dans les pays développés pour lutter contre la pollution des eaux en particulier par les nitrates (François, 2012).

Mais l'application intensive de ces derniers provoque une accumulation des micropolluants minéraux ou organiques, diminution de teneur en matière organique, dégradation de la qualité des eaux superficielles provoquant un appauvrissement quantitatif et qualitatif des populations de champignons endomycorhiziens (Cheverry, 1994).

L'utilisation des invertébrés comme bioindicateurs de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques (Phillips, 1977) et terrestres (Eijsackers, 1983). Selon la définition générale de Spellerberg (2005), un indicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans lequel elle vit (Hopkin, 1993 ; Edward et *al.*, 1996). Il

existe deux types de bioindicateurs, bioindicateur d'accumulation stocke un polluant issu de son environnement et un bioindicateur d'effet ou d'impact réagit à une ou plusieurs substances issues de son environnement, introduites par épandage de déchets, pratique agricoles ou contamination industrielles (Joëlle, 2005).

Les mollusques, grâce à leur capacité d'accumulation, ont été les premiers organismes sentinelles utilisés dans les programmes de surveillance de la contamination chimique des écosystèmes (Siest *et al.*, 1988). Parmi ces derniers, l'escargot qui à été largement utilisé en tant que organisme renseignent sur l'état et le fonctionnement d'un écosystème (Joëlle, 2015).

L'escargot est en contact avec divers contaminants qu'il absorbe par voie transcutanée, par voie digestive ou respiratoire (Gomot *et al.*, 2000). Il peut accumuler dans sa coquille des minéraux (magnésium) ou des métaux lourds (plomb) (Beeby *et al.*, 2011).

Notre étude entre dans cette thématique et vise à évaluer les réponses d'une espèce bioindicateur d'escargot de pollution, *Helix vermiculata* à deux types d'engrais (Urée et NPK). Plusieurs paramètres ont été étudiés :

- 1- Aspect morphométrique par la détermination de l'évolution du poids corporel, diamètre de la coquille, poids de l'hépatopancréas et de l'appareil reproducteur des témoins et traités pendant 2 mois.
- 2- Aspect biochimique par la détermination du taux des glucides, lipides et protéines au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata* des séries témoins et traitées.
- 3- Détermination du taux de la vitellogénines au niveau de la glande d'albumine après 2 mois de traitement.
- 4- Dosage des biomarqueurs de neurotoxicité, Acétylcholinestérase et de détoxification tels que, Glutathions -S- Transférases, glutathion peroxydase (GP_X) et lactates déshydrogénases (LDH).

*Matériels et
méthodes*

2. MATERIEL ET METHODES

2. 1. Présentation d'*Helix vermiculata*

La position systématique de cette espèce est la suivante

Règne : Animalia

Embranchement : Mollusca

Classe : Gastéropoda

Ordre : Stylomatophora

Super famille : Hélicacae

Famille : Hélicidae

Sous famille : Helicinae

Genre : Helix

Espèce : *Helix vermiculata*

Helix vermiculata est un escargot comestible connu aussi sous le nom scientifique d'*Eobania vermiculata* (Muller, 1974). Sa coquille est aplatie, chagrinée, déprimée globuleuse très convexe en dessus (Kerny, 1999), de couleur blanc jaunâtre avec 4 à 5 bandes marron foncé, par fois interrompues ou fusionnées. (Rémy, 1930). Cette coquille, est épaisse avec 5 à 6 trous dont le dernier et grand arrondi et descendant à l'extrémité, suture peu profondes (Figure 2). L'ombiliquée est complètement obturé par le bord inférieur du péristome. (Kerny, 1999).

Le péristome de la coquille de cette espèce est fortement épaissi et blanc (péristome réfléchi). Le diamètre de la coquille de cette espèce peut atteindre environ 30 m (Chevalier, 1983).



Figure 1 : Morphologie externe d'*Helix vermiculata* (Gueddouche, 2017).



Figure 2 : Morphologie de la coquille de l'espèce *Helix vermiculata* (Gueddouche, 2017).



Figure 3 : Morphologie de la coquille de l'espèce *Hélix vermiculata* (Gueddouche, 2017).

2.1.1. Anatomie

Le tube digestif commence par le bulbe buccal, et par une forte masse musculaire, la radula. L'œsophage reçoit les conduits de deux glandes salivaires. Quant aux canaux de l'hépatopancréas (qui est une volumineuse glande digestive) ils se déversent dans l'estomac (Gaillard, 1991) (Fig. 4).

L'escargot possède un système nerveux comprend deux ganglions cérébroïdes, situés au dessus de l'œsophage. Deux colliers partent de ces ganglions : l'un rejoint les ganglions pédieux, l'autre, plus externe, les ganglions pleuro-viscéraux et viscéraux. Les organes des sens sont les yeux, les tentacules sensorielles portés sur la tête et les statocystes situés dans le pied (Gaillard, 1991).

Les gastéropodes possèdent un appareil circulatoire constitué par un cœur. Celui-ci se trouve dans le tiers postérieur du corps et commande la circulation du liquide sanguin (appelé hémolymphe, car il correspond à la fois au sang et à la lymphe des Vertébrés). Il n'existe pas de vaisseaux sanguins proprement dits, par conséquent l'hémolymphe circule dans les interstices des organes de la cavité viscérale (Grzimek & Fontaine, 1973). Pour se déplacer, l'escargot se fie peu à sa vue. Il utilise le plus souvent ses cornes inférieures pour tâter le terrain, flairer sa nourriture et détecter les dangers. L'escargot utilise son pied élargi en un disque reptateur pour déplacer. Ce pied qui est en fait un énorme muscle capable de se contracter et de s'allonger n'autorise qu'un déplacement vers l'avant.

L'escargot sécrète différents types de mucus pour aider son déplacement. Cette bave est composée de nombreux éléments chimiques comme de l'allantoïne, du collagène, de l'élastine. La bave permet à l'escargot de mieux glisser sur des surfaces accidentées et de mieux s'accrocher sur des surfaces planes ou verticales (www.aujardin.info).

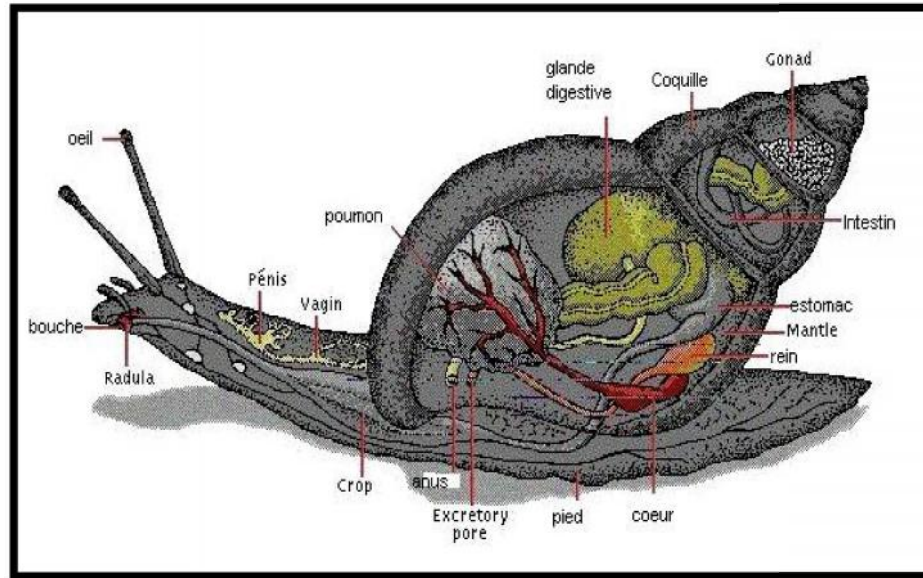


Figure 4 : Anatomie interne d'un escargot (www.aujardin.info).

En hiver quand les températures sont basses, il se terre à quelques centimètres de la surface ou bien il ferme sa coquille à l'aide d'un mucus calcaire que sécrète par le foie et qui se durcit à l'air; cet opercule s'appelle l'épiphragme (Fig. 6). En été aussi, quand les températures augmentent il obstrue son ouverture pour estiver et évité la dessiccation.



Figure 5 : Diaphragme obstruant l'ouverture de la coquille (1 cm – 4.08 mm).

2. 2. Méthodes d'échantillonnage

Dans notre étude, l'échantillonnage a été effectué au niveau de Djebel El-Guelb situé à 24 Km à l'Ouest de la ville d'El Auinet (Figure 7).

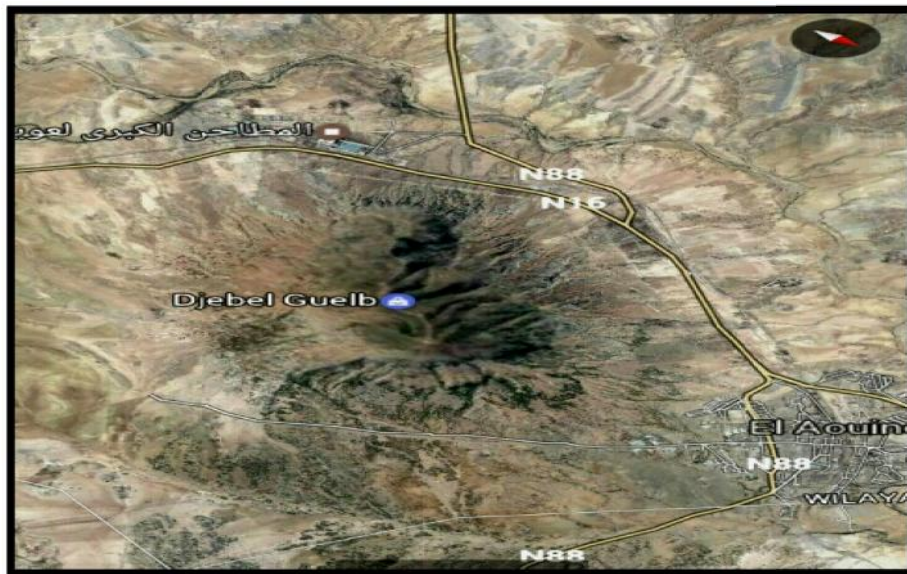


Figure 06 : Photo satellitaire de Djebel-El Guelb (www. Earth. Com).

La collecte des escargots est réalisée manuellement et de manière aléatoire, durant la période étalée du mois de janvier jusqu'au mois d'avril. Une fois les escargots collectés, ils seront triés au laboratoire selon les différentes phases de développement : les jeunes éclos, les juvéniles, les subadultes et les adultes. Le site d'étude (Djebel-El Guelb) est caractérisé

par une couverture (figure 8) végétale herbacée variée, qui devient dense au printemps et l'Atriplex est la plus dominante dans la région.



Figure 07 : Présentation du site d'étude, Djebel El-Guelb.

2. 3. Méthode d'élevage

L'élevage des escargots se fait au laboratoire de biologie animale, dans des boîtes en plastiques (Longueur : 14 cm, largeur : 12 cm, hauteur : 15 cm) recouvertes d'un tulle afin d'assurer une bonne aération. Il est maintenu à une température de $20 \pm 2^\circ$ et une humidité de (31%). Pour maintenir une humidité adéquate, une éponge humide a été déposée au fond des boîtes. Le nettoyage des boîtes est effectué chaque trois jours (Daumer *et al.*, 2007).



Figure 08 : Elevage d'*Helix vermiculata* au laboratoire.

2. 4. Présentation des engrais et traitement

Dans cette étude on applique deux types d'engrais : le NPK et l'Urée.

- Urée

L'Urée contenant 46 % d'azote, c'est l'engrais azoté Solide le plus concentré ; commercialisée sous forme granulée. Dans le sol, l'Urée s'hydrolyse en carbamate puis en carbonate d'ammonium sous l'action d'une enzyme microbienne : l'Uréase comme suit :



La transformation s'opère normalement en quelques jours ; et l'ammonium du carbonate est normalement transformé en nitrate. L'urée est utilisable pratiquement sur toutes les cultures.

- NPK

Le NPK est un engrais solide complet, riche en soufre. Sa composition et ses caractéristiques sont les suivants :

- ✚ Azote ammoniacale (NH₄) : 15%.
- ✚ Anhydride phosphorique (P₂O₅) : 15%.
- ✚ Oxyde de potassium (K₂O) : 15% sous forme sulfate de potassium.
- ✚ Anhydride sulfurique (SO₃) : 20%.
- ✚ Humidité : 0.50 % maximum.
- ✚ Granulométrie : 95 % entre 1-4 mm.

Le NPK peut être utilisé sur toutes les cultures, au moment de la plantation, au semis et en couverture.

Pour chaque traitement, les escargots sont répartis en 5 lots : un lot témoin non traité et quatre lots traités par 4 doses de deux types d'engrais différents ; D1 de l'Urée= 300 mg, D2 de l'Urée= 600 mg, et D1 de l'NPK= 800 mg, D2 de l'NPK= 1600 mg. Ce traitement est répété après chaque trois jours pendant deux mois pour le traitement de la croissance et de la biochimie et biomarqueur, et un mois et 15 jours pour le traitement de la reproduction.

Après chaque trois jour, le nettoyage des boites d'élevage est effectué. La nourriture apportée est renouvelée, qu'elle soit contaminée ou non. Ce nettoyage est fait, autant que possible à heure fixée (Cosson et *al.*, 1998).

Deux types d'engrais ont été appliqués, l'Urée et le NPK, chacun avec deux doses : Dose recommandée (Tableau 1) et une dose recommandée x2 sur 10 individus / lot. Le traitement est répété chaque trois jour pendant deux mois selon le schéma expérimental suivant :

Tableau 1 : Les doses de l'Urée et de NPK appliquées au cours de nos expérimentations.

Traitement		
Doses	Urée	NPK
Dose recommandée (D1)	300 mg	800 mg
Dose recommandée x2 (D2)	600 mg	1600 mg

2. 4. 1. Traitement de la croissance

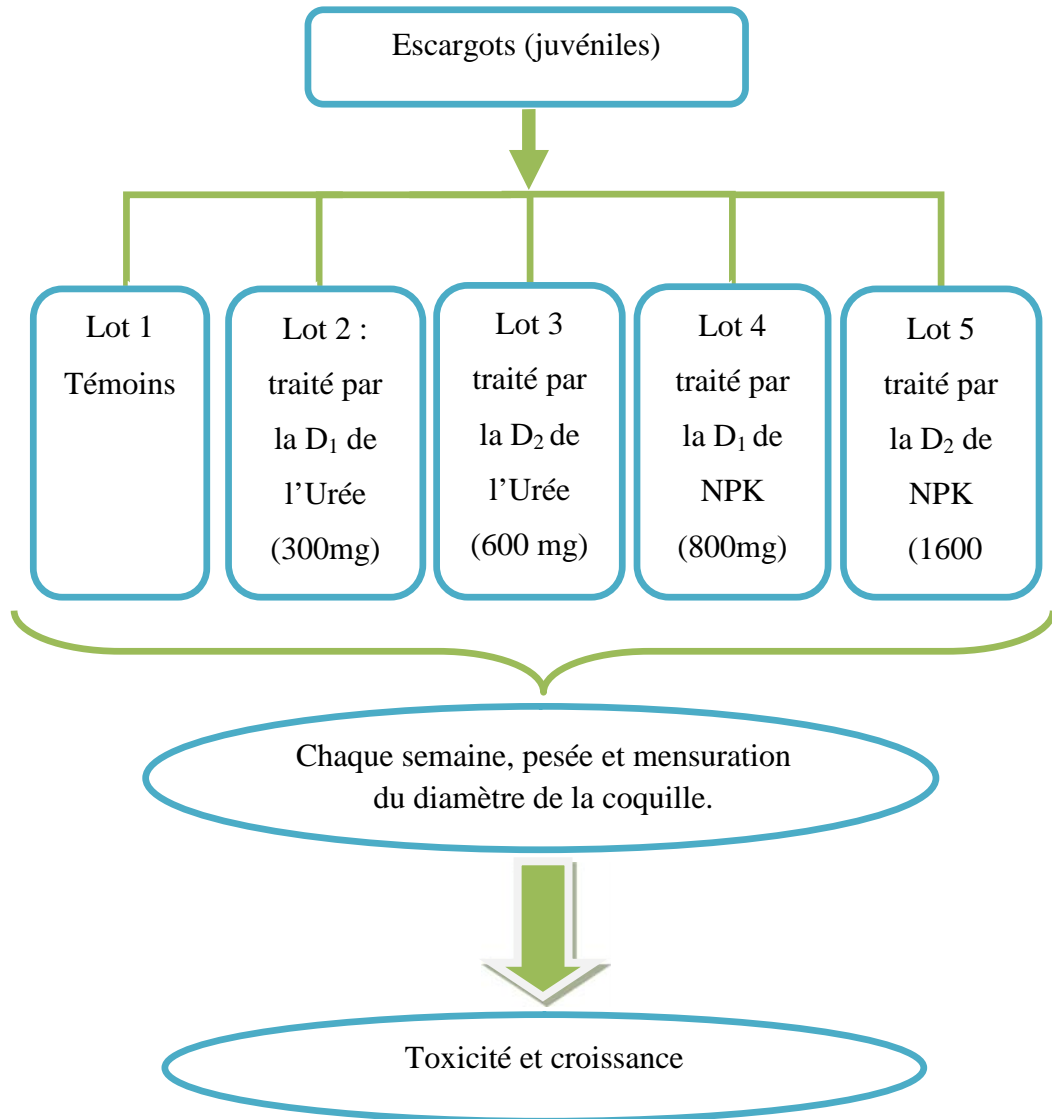


Figure 09 : Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement.

2. 4. 2 : traitement de biochimie et biomarqueur

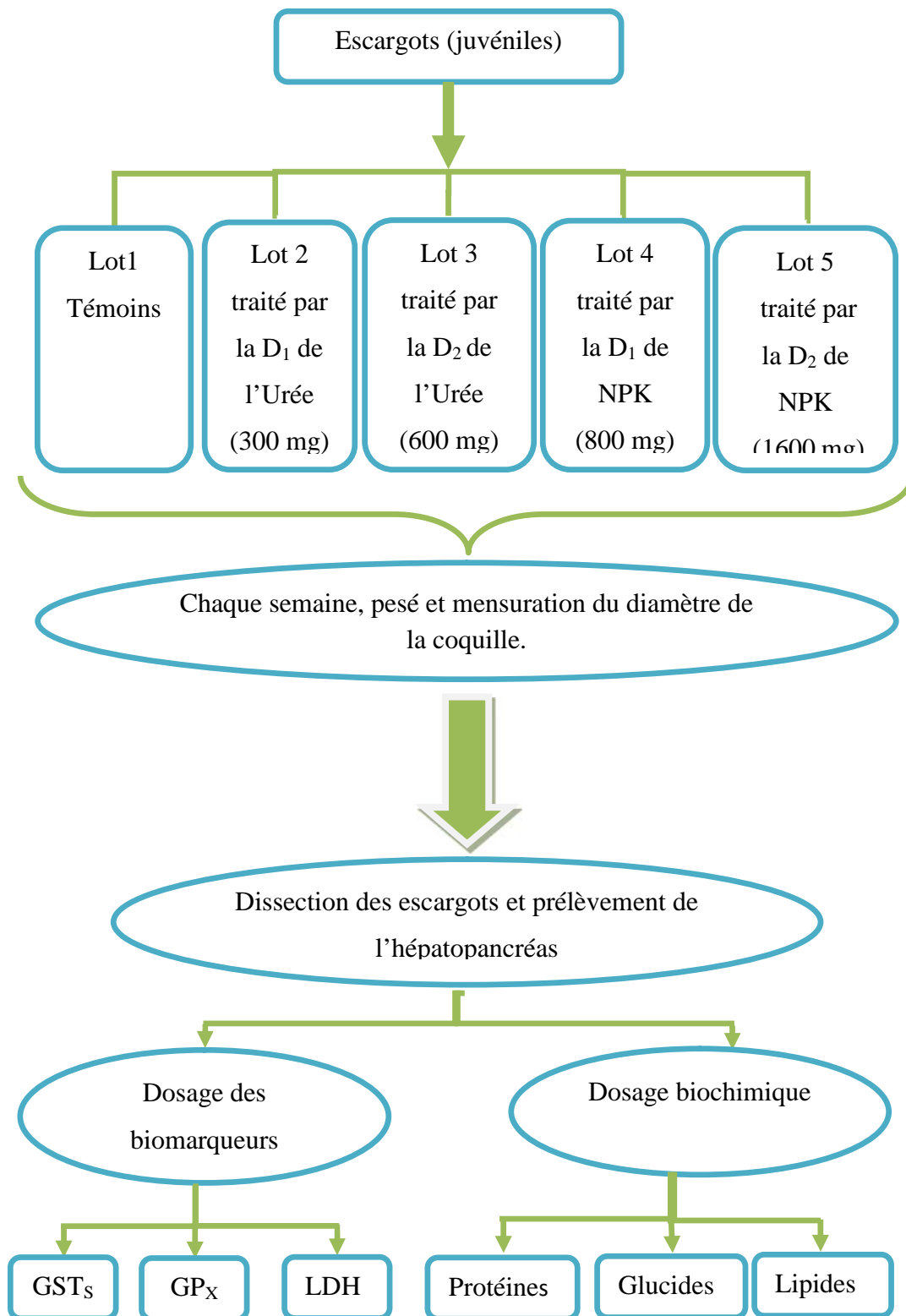


Figure 10 : Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement de la biochimie et biomarqueur.

2. 4. 3 : traitement de la reproduction

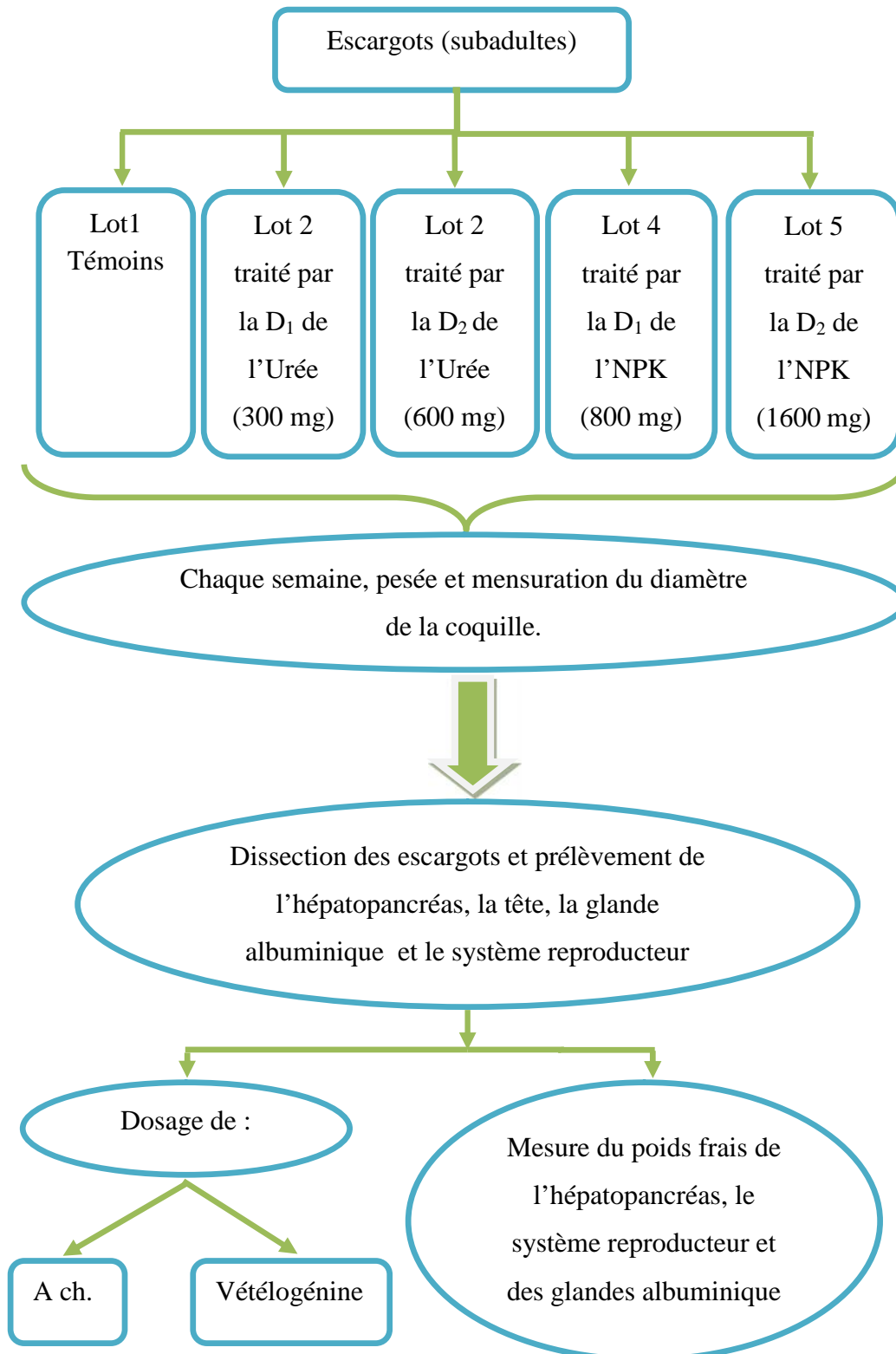


Figure 11 : Schéma représentatif du protocole expérimental pour le traitement de la reproduction.

2. 5. Dissection de l'escargot

La dissection des escargots a été effectuée selon le protocole présenté par Beaumont et Cassier (1970). Pour cela nous avons placé l'animal dans un récipient bien rempli d'eau refroidie après ébullition et hermétiquement fermé. La mort de l'animal survient au bout de 24 à 48 heures par asphyxie et s'accompagne de l'extension de l'animal.

Après la mort de l'animal, et à l'aide de gros ciseaux on découpe la coquille en suivant la ligne de spire, du péristome vers le sommet; pour le dernier tour, et pour enlever le reste de la coquille, on utilise de grosses pinces.

L'animal est placé dans la cuvette à dissection, et à l'aide d'une épingle enfoncée dans le pied de l'escargot, on immobilise l'animal la tête orienté vers le manipulateur et le pied vers le coté opposé pour qui au puisse prélever l'hépatopancréas, la glande albuminique, la tête et l'appareil reproducteur.

2. 6. Biométrie

Plusieurs paramètres biométriques ont été pris en considération à savoir : le poids des individus, le poids de l'hépatopancréas, le poids des gonades et le diamètre de la coquille des individus témoins et traités avec l'Urée et le NPK. La pesé est réalisée à l'aide d'une balance de précision, alors que le diamètre de la coquille est déterminé grâce à un pied à coulisse.

2. 7. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al* (1966), et les principales étapes sont résumées dans la Figure 13. Les échantillons (les portions de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata*) sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchâteau & Florin, (1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon Bradford (1976).

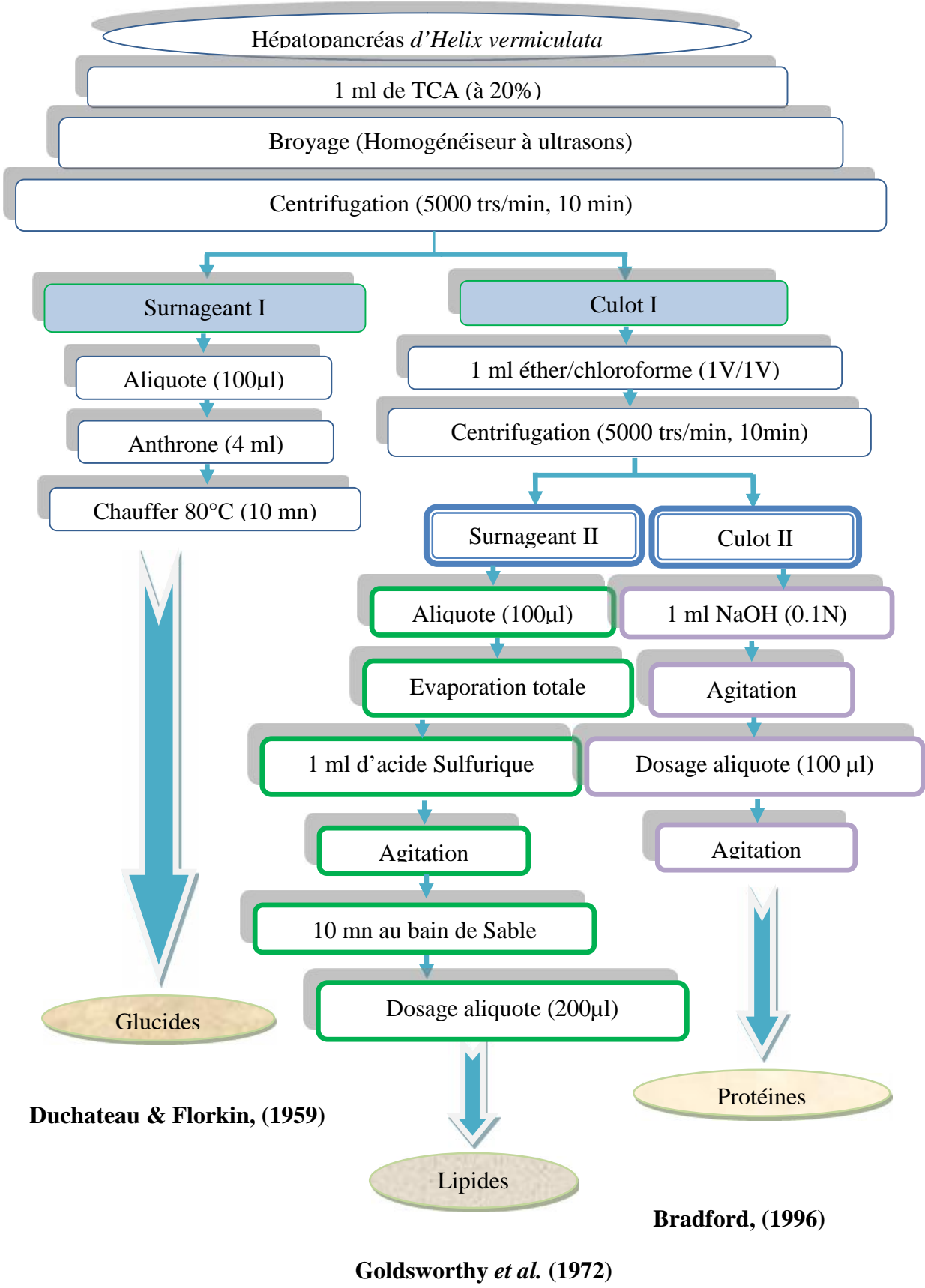


Figure 12: Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko et al., 1967).

2. 7. 1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml). (Tableau1).

Tableau 02 : Dosage des glucides totaux, réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2. 7. 2. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commissie (BBC) G 250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1mg/ml. (Tableau 2).

Tableau 03 : Dosage des protéines totales : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2. 7. 3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972), en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 μl des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 25 °C. Après refroidissement, on prend 200 μl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table, tournesol (99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

Tableau 04 : Dosage des lipides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère des lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Vanilline (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

2. 8. Dosage des biomarqueurs

Les portions de l'hépatopancréas des séries témoins et traitées à l'Urée et le NPK ont fait l'objet d'un dosage de l'acétylcholinestérase (AChE), des glutathion S-transférases (GST_S), Glutathion peroxydases (GP_X) et du lactate déshydrogénase (LDH). Par ailleurs, le contenu en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminé, afin de pouvoir calculer les différentes activités spécifiques des enzymes.

2. 8. 1. Dosage des glutathion S-transférases

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèse intracellulaire. Les GSTs jouent un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques ; elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique et excrétés au niveau de la bile et des urines (Habig *et al.*, 1974).

Les portions de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata* témoin et traités, sont pesés puis broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1 M, pH 6). L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs (Fig. 14).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Habig *et al.* (1974), il consiste à faire réagir 200 μl du surnageant, avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 μl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

$$X = \frac{\Delta D_o / mn}{9,6} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

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

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

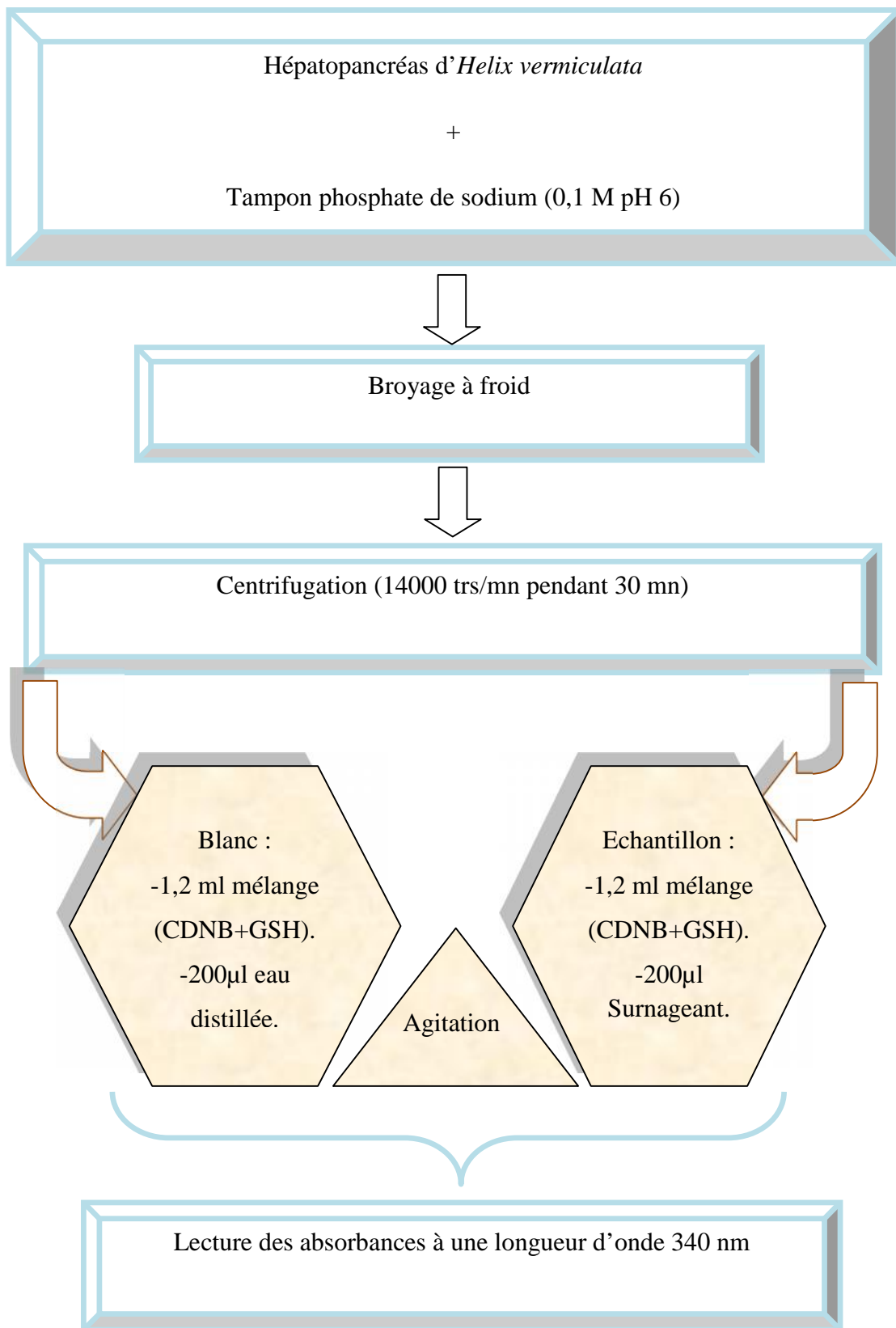


Figure 13: Extraction et dosage des glutathion S-transférases (Habig *et al.*, 1974).

2. 8. 2. Dosage de l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du GPx est mesurée par la méthode de Floche et Gunzler (1984), en utilisant l' H_2O_2 comme substrat.

Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml du Tampon phosphate (pH 7,8) et centrifugés à 3000 trs/min pendant 10 min. 200 μl du surnageant récupéré est additionné à 400 μl de GSH (0.1 mM) et 200 μl du Tampant phosphate (0.067 M). 200 μl d' H_2O_2 (1.3 mM) ont ajoutés pour initier la réaction, pendant 10 min, puis la réaction est arrêtée par addition de 1ml de TCA (1%). Après le dépôt du mélange dans de la glace pendant 30 min, il subit une centrifugation (3000 trs/min pendant 10 min) puis 480 μl de surnageant est placé dans une cuve auquel on ajoute 2.2 ml de Na_2HPO_4 (0.32 M) et 320 μl de DTNB (1 mM). La lecture des absorbances est effectuée au spectrophotomètre dans les 5 minutes à une longueur d'onde de 412 nm.

La détermination (calcul) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

- ✚ Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.
- ✚ Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit \longrightarrow DO_b
- ✚ Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit \longrightarrow DO_e

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue)= DO_e-DO_b

$$X = \frac{(DO_e - DO_b) \times 0.04}{DO_b} = \text{quantité de GSH réduite disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1 ml.}$$

2. 8. 3. Extraction et dosage du lactate déshydrogénase

Les portions de l'hépatopancréas préalablement pesés sont homogénéisées dans 1 ml de tampon Tris/HCL (0,1 M, pH 7,2) puis centrifugées (3000 trs/min, pendant 5 min. Le surnageant récupéré (source d'enzyme) sera conservé au congélateur à -80°C jusqu'au moment du dosage.

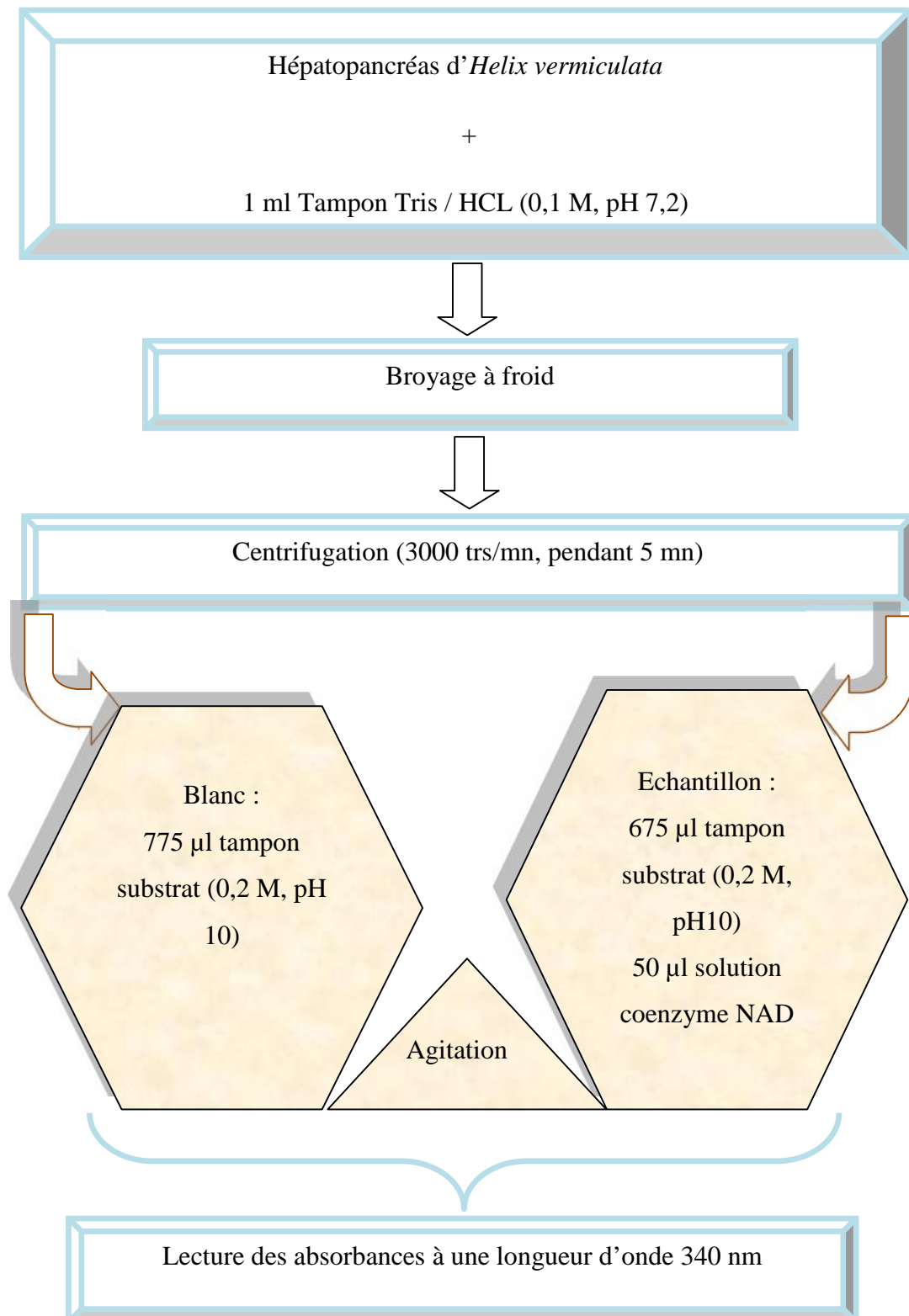


Figure 14 : Extraction et dosage des lactates déshydrogénases (Hill *et al.*, 1954).

2. 8. 4. Dosage de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase est une enzyme très courante chez les animaux, elle catalyse la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique.

Les têtes d'*Helix vermiculata* sont prélevées puis pesées, elles sont ensuite homogénéisées dans 1ml de la solution détergente D [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, - aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)] qui solubilise les membranes. Après centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme (Fig.16).

Le dosage de l'activité spécifique de l'AChE est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al* (1961), sur une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 100 μ l de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), et 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] après 3 à 5 minutes, 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 mn pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 μ l de solution détergente remplace les 100 μ l de surnageant .

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{1.36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (μ M/min/mg de protéines).

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

1,36 x 10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

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

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

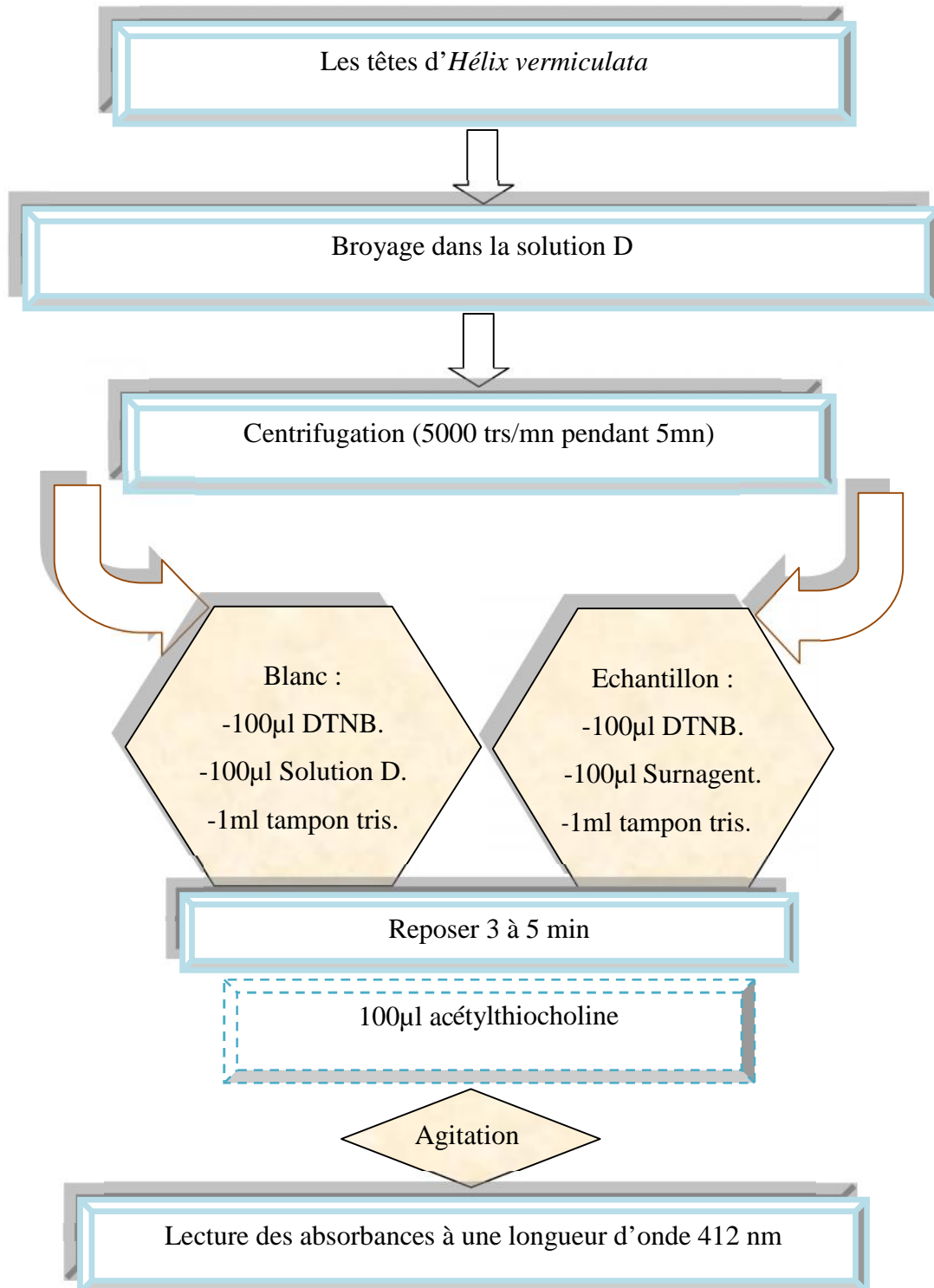


Figure 15 : Extraction et dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961).

2. 8. 5. Extraction et dosage de la vitellogénines et des vitellines

2. 8. 5. 1. Prélèvement de la glande albuminique

Les glandes albuminiques prélevées à été posées est mettent, et dans des tubes eppendorf il est additionnées de 500 μ l de tampon complet Tris-HCl-NaCl à pH = 7.4 et conservées à 4 °C jusqu'au dosage des vitellogénines.

2. 8. 5. 2. Technique d'extraction

Une fois, les glandes a albumines prélevées, elles sont mis dans un tube eppendorf avec 500 μ l de Tampant Tris – HCl – NaCl (pH 7,4) puis broyées aux ultrasons pendant 30 secondes à 2 répétitions. L'homogénat est centrifugé à 5000 trs/min pendant 10 minutes. Il en résulte 3 couches distinctes, une couche surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitellogénines. Cette dernière est récupérée à l'aide d'une simple seringue médicale, déposée dans un autre tube eppendorf, puis maintenue au congélateur jusqu'au dosage (Fabre *et al.*, 1990).

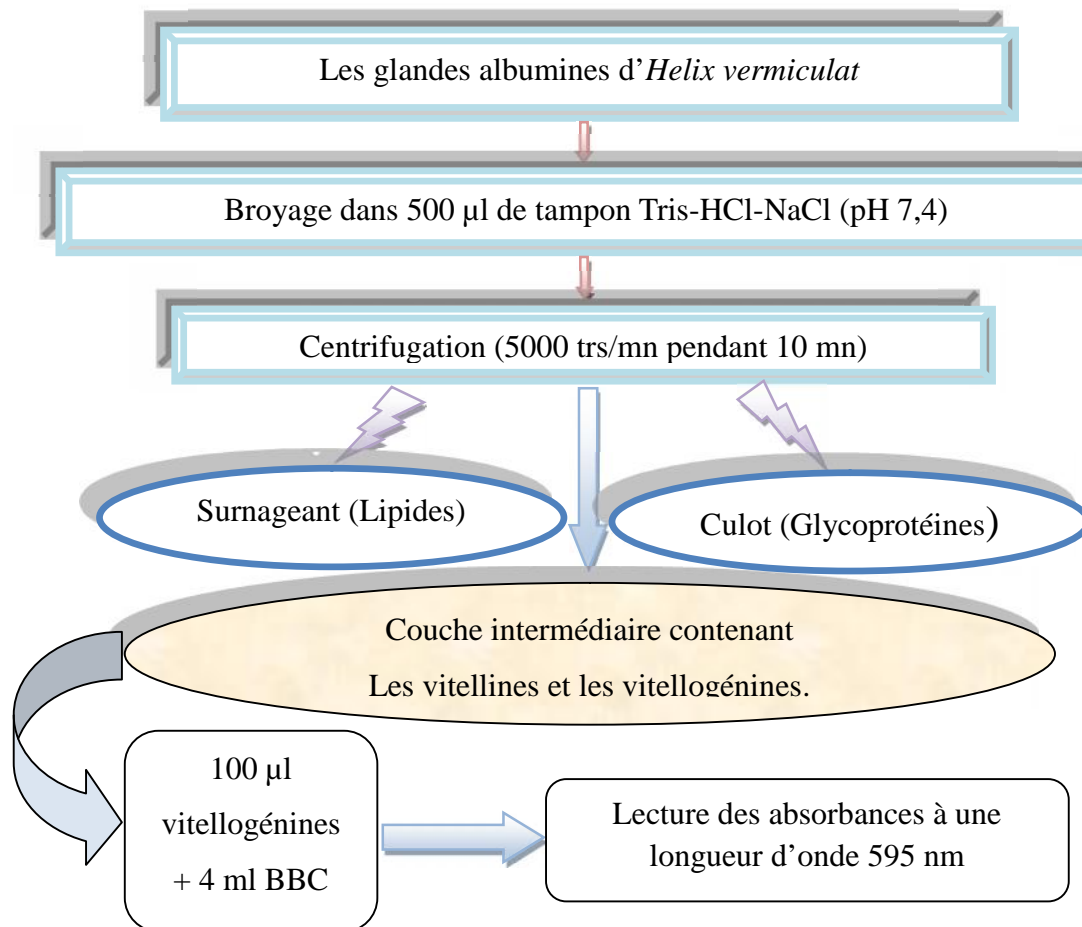


Figure 16 : Extraction des vitellogénines et des vitellines par Descamps, (1996) à partir de Fabre *et al* (1990).

2. 9. Analyse statistique

Les moyennes \pm SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test de student, l'analyse de la variance à un critère de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les échantillons pour toutes les expérimentations (Minitab).

Résultats

3. RESULTATS

3. 1. Effets sur le comportement

Pendant la durée de l'expérience, les escargots traités par l'Urée et le NPK ont montré une série de symptôme. On signale que les escargots ne sont pas attirés par la nourriture de façon dose-dépendante comparé aux escargots témoin. Ce comportement dû principalement à la perte de chimioréception. Dans les lots qui contiennent la dose recommandé D1 (300 mg) de l'Urée et la dose recommandé D1 (800 mg) de NPK, les escargots ont montré une activité similaire relativement à celle des escargots témoins. Tandis que, dans les lots qui contiennent la dose recommandé x2 D2 (600 mg) de l'Urée et la dose recommandé x2 D2 (1600 mg) de NPK et à partir la deuxième semaine, l'activité des escargots est diminuée, et elles sont en position haute sur le couvercle. Les escargots qui perte sont activité locomotrices se positionnent au sommet des lots, elles sont généralement fuient les nourritures.

3. 2. Estimation du taux d'alimentation

La quantité de la laitue consommée par les escargots qui sont traités par l'Urée et le NPK est mesurée chaque trois jour au cours du période de l'expérience. Le résultat est représenté dans le tableau 5 et la figure 17. On remarque une diminution significative ($p < 0.05$) de la quantité d'aliment ingérés par les escargots traités par la dose recommandé D1 et la dose recommandé x2 D2 de l'Urée, et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la quantité d'aliment ingérés par les escargots traités par la dose recommandé D1 et la dose recommandé x2 de NPK comparativement à la série témoin.

Le teste t de Student révèle une diminution significative ($p < 0.05$) de la quantité d'aliment ingérés (g) par les série traités par la dose recommandé D1 ($p = 0.01$) et la dose recommandé x2 D2 de l'Urée ($p = 0.019$), et une diminution hautement significative ($p < 0.01$) de la quantité d'aliment ingérés par les séries traités par la dose recommandé D1 ($p = 0.008$) et la dose recommandé x2 D2 ($p = 0.007$) de NPK. De plus, aucun effet dose à été signalé.

Tableau 05 : Effet de l'Urée et de NPK sur la quantité d'aliment ingérés (g) par les escargots ($m \pm \text{sem.}$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	19.67±2.22 a	7.42±1.23 b	6.09±0.59 b	8.67±1.16 c	9.1±1.26 c

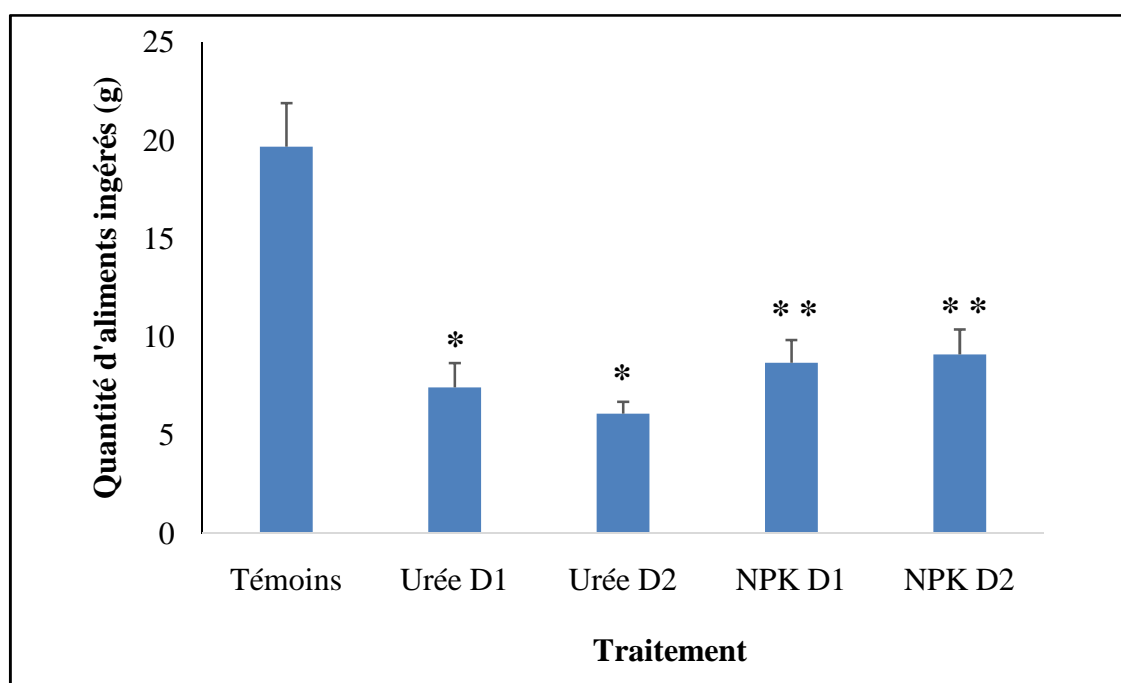


Figure 17 : Effets de l'Urée et de NPK sur la quantité d'aliments ingérés (g) par les escargots après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative).

3. 3. Les paramètres morphométriques

3. 3. 1. La mortalité

Au cours des essais, le contrôle de la vitalité des individus d'*Hélix vermiculata* est effectué chaque semaine de teste, les individus morts sont évacués des enceintes d'essai. En générale, la mort d'un individu est facile à déterminer : le pied flasque et jaunâtre est le plus souvent l'escargot sorti de la coquille. La sole pédieuse n'adhère à aucune surface. Ainsi, le corps de l'escargot devient luisant et très visqueux, c'est un indice de la liquéfaction des tissus. L'escargot mort dégage une odeur nauséabonde. Pour assurer la mort de l'individu, on fait une stimulation du pied à l'aide d'une aiguille ou d'une paire de pinces brucelles. Lorsque aucune réaction on conclut la mort de l'individu.

Le résultat est mentionné dans le tableau 06 et la figure 18. La mortalité corrigée (%) marque une augmentation significative ($p < 0.05$) chez les séries traités par la dose recommandée D1 de l'Urée et D1 de NPK, et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez les séries traités par la dose recommandée x2 D2 de l'Urée et D2 de NPK comparativement au série témoin.

Le teste t de Student révèle une augmentation significative ($p < 0.05$) de la mortalité corrigée (%) chez les séries traités par la dose recommandée D1 ($p = 0.038$) de l'Urée et par la dose recommandée D1 ($p = 0.038$) de NPK, et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) chez les séries traités par la dose recommandée x2 D2 ($p = 0.004$) de l'Urée et par la dose recommandée x2 D2 ($p = 0.003$) de NPK. Comparativement à la série témoin. On signale un effet dose ($p = 0.008$).

Tableau 06: Effet de l'Urée et de NPK sur la mortalité corrigée (%) chez les escargots ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	0.00±0.00 a	16.67±4.44 b	53.33±4.44 c	33.33±8.89 b	56.67±4.44 c

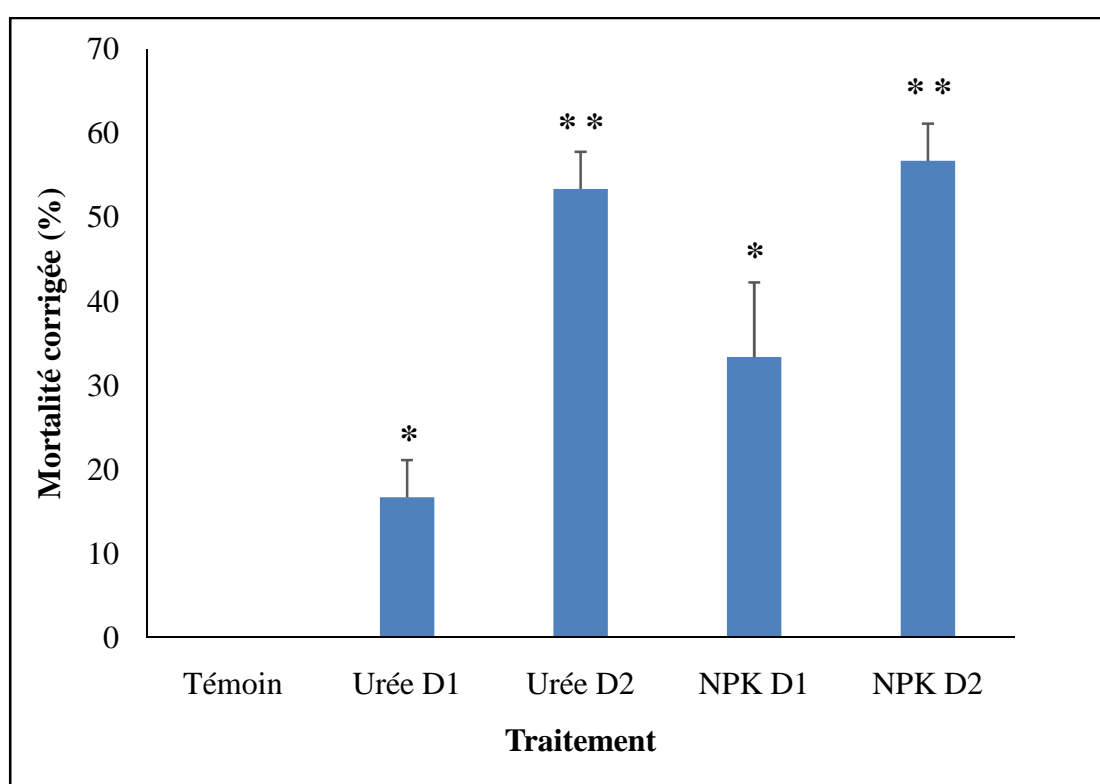


Figure 18 : Effets de l'Urée et de NPK sur la mortalité corrigée (%) chez les escargots après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative).

3. 3. 2. Effets de l'Urée et le NPK sur le poids des gonades d'*Helix vermiculata*

Le tableau 07 représente l'indice gonadique (%). On note une augmentation non significative ($p > 0,05$) de poids des gonades chez les individus traités par la dose recommandée D1 de l'Urée et les doses (D1 recommandée et la dose recommandée x2 D2 de NPK), et une augmentation hautement significative ($p < 0,01$) chez les individus traités par la dose recommandée x2 D2 de l'Urée en comparaison avec les individus témoins.

Le test t de Student révèle une augmentation hautement significative de l'indice gonadique (%) ($p < 0,01$) chez les individus traités par la dose recommandée x2 D2 de l'Urée ($p = 0,005$) comparativement aux témoins, après une période de traitement de un mois et 15 jours. On note un effet dose ($p = 0,05$).

Tableau 07: Effet de l'Urée et de NPK sur l'indice gonadique (%) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	1.43±0.33 a	1.83±0.17 a	2.76±0.41 b	3.52±1.13 a	2.27±0.67 a

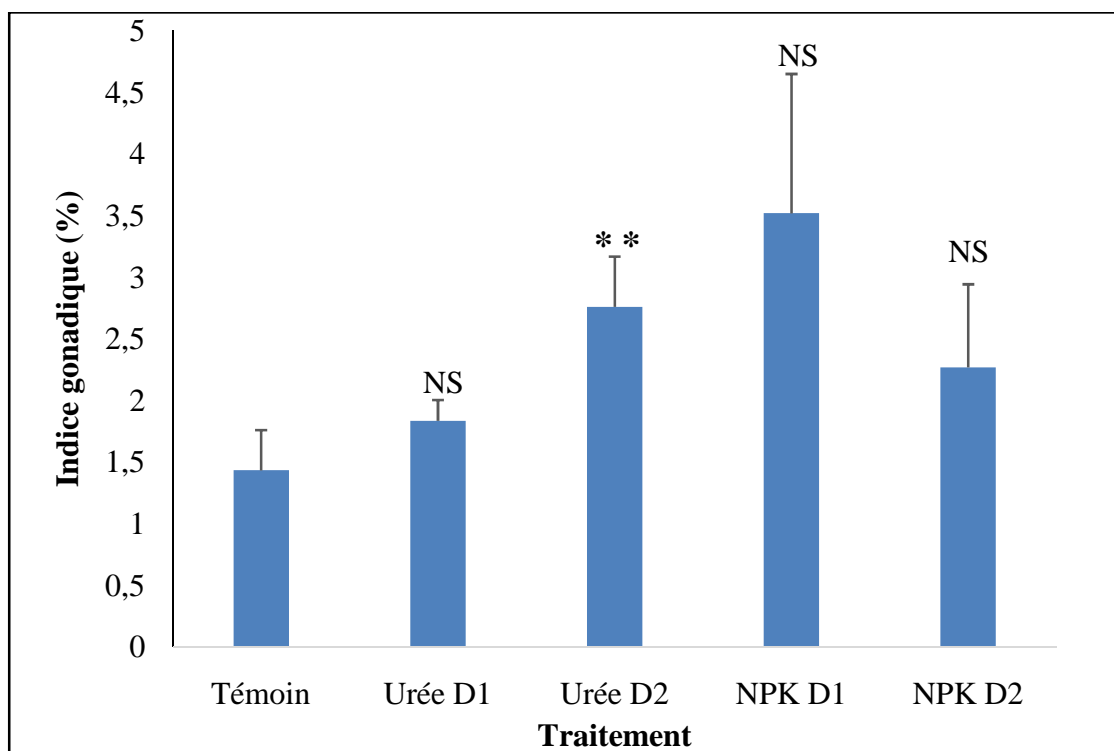







Figure 19 : Effets de l'Urée et de NPK sur l'indice gonadique (%) chez les escargots subadultes après une période de traitement de un mois et 15 jours ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; ** Différence hautement significative).

Tableau 08: Aspect du système reproducteur chez les escargots subadultes traités par l'Urée et le NPK (Gueddouche, 2017).

		Traitement				
Dose	Témoin	UREE D1	UREE D2	NPK D1	NPK D2	
	X 9.5	X 8.5	X 10	X 9.5	X 9	
Aspect						

3. 3. 3. Effets de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata*

Les résultats présentés dans le tableau 09 et la figure 20. Le poids de l'hépatopancréas des escargots subadultes traités par les deux doses de l'Urée et le NPK est en diminution non significative ($p > 0,05$) par rapport aux témoins. De plus, aucun effet dose n'a été signalé au cours des temps testés.

La comparaison des valeurs moyennes ne montre aucune différence entre les individus témoins et traités.

Tableau 09: Effet de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas (g) des escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	1.23 ± 0.13 a	1.09 ± 0.01 a	0.98 ± 0 a	0.86 ± 0.06 a	0.67 ± 0.06 a

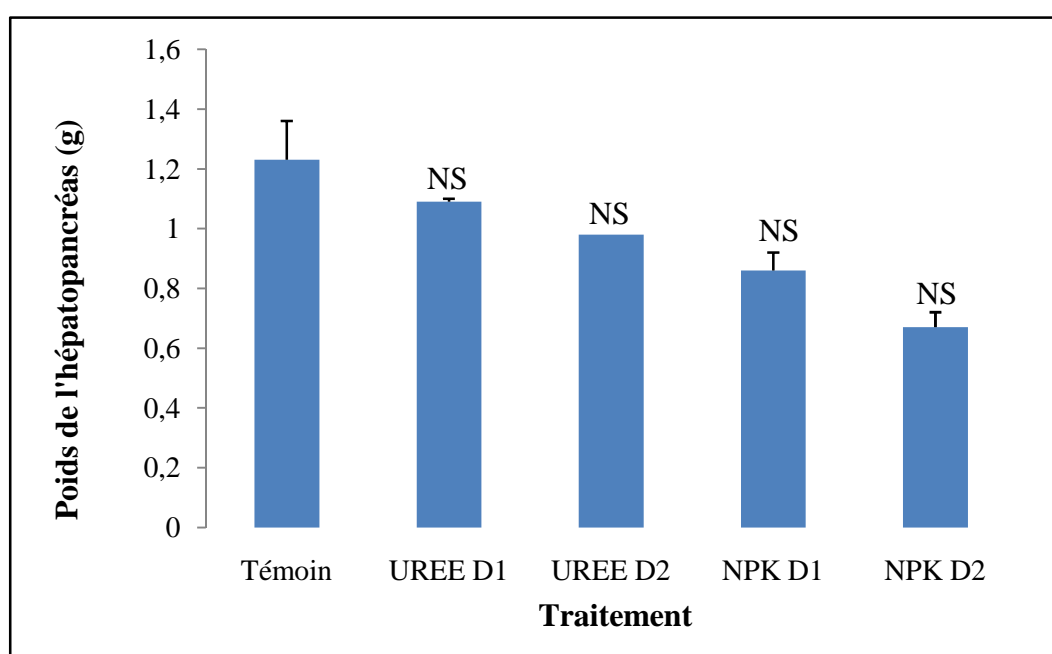


Figure 20 : Effets de l'Urée et de NPK sur le poids de l'hépatopancréas (g) des escargots subadultes après une période de traitement d'un mois et demi ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).

3. 3. 4. Evolution de la croissance d'*Helix vermiculata*

Au bout de 4 semaines de traitement, le pourcentage d'inhibition de la masse moyenne des groupes Urée D1, D2 et NPK D1, D2 calculé (Tab. 5) est de 82.42, 97.7, 65.32, 64.88 et 77.36 respectivement. Le pourcentage d'inhibition du diamètre coquillère moyen est de 98.21, 64.88, 78.21 et 97.44 respectivement. Après 8 semaines de traitement, le pourcentage

d'inhibition de la masse moyenne des mêmes groupes est de 77.14, 7.64, -68.37 et -06.03 respectivement. Le pourcentage d'inhibition du diamètre coquillère moyen était de 99.29, 23.13, 8.33 et -3.96 respectivement.

Tableau 10 : Effets de l'Urée D1, D2 et de NPK D1, D2 sur le poids et le diamètre coquillère moyens des escargots juvéniles et subadultes d'*Helix vermiculata*.

Temps	Témoïn		UREE D1		UREE D2		NPK D1		NPK D2	
	Poids	Diamètre	Poids	Diamètre	Poids	Diamètre	Poids	Diamètre	Poids	Diamètre
0 Semaine	5,26 ± 0,85	2,29 ± 0,12	5,25 ± 1	2,28 ± 0,15	5,32 ± 0,33	2,29 ± 0,07	5,29 ± 0,43	2,3 ± 0,07	5,23 ± 0,57	2,3 ± 0,1
1 ^{er} Semaine	0	0	96,32	81,25	11,13	97,78	61,65	90,63	94,21	51,04
2 ^{ème} Semaine	0	0	99,52	96,43	98,98	91,67	75,66	73,33	26,53	90
3 ^{ème} Semaine	0	0	61,3	95,56	39,16	96,43	29,61	88,89	92,26	87,78
4 ^{ème} Semaine	0	0	82,42	98,21	97,7	64,88	65,32	78,21	77,36	97,44
5 ^{ème} Semaine	0	0	95,76	81,25	-19,23	98,72	79,37	90	60,81	96,43
6 ^{ème} Semaine	0	0	89,3	90,91	75,2	91,94	-1,43	-32,29	99,47	98,33
7 ^{ème} Semaine	0	0	8,23	91,67	-180,83	11,03	-50,84	-65,38	-61,89	-76,67
8 ^{ème} Semaine	0	0	77,14	99,29	7,64	23,13	-68,37	8,33	-6,03	-3,96

% IPm : % d'inhibition du poids moyen,

% IDm : % d'inhibition du diamètre moyen.

3. 3. 4. 1. Effet de l'Urée et de NPK sur le poids corporel d'*Helix vermiculata*

L'évolution du poids frais moyen des escargots sous l'effet de l'Urée et de NPK durant les huit semaines de traitement présente une certaine similitude. A la fin de l'expérience, le poids frais moyen des escargots traités avait tendance à diminuer d'une façon significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au poids frais moyen des escargots témoins.

Ainsi, le poids frais moyen des escargots traités au Urée et au NPK a une tendance à augmenter d'une façon non significative ($p > 0,05$) durant la première semaine de traitement. A partir de la deuxième jusqu'à septième semaine d'exposition, il y a une diminution non significative ($p > 0,05$) du poids frais moyen des escargots, sauf pendant la deuxième semaine et à la dose D2 de NPK, on note une augmentation très hautement significative ($p < 0.001$) du poids frais des escargots et une diminution significative ($p < 0.05$) du poids frais moyen des escargots traités par la dose D1 de l'Urée. Cette diminution du poids touche également les escargots traités par les doses ; D1 et D2 de l'Urée, de façon significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$) durant la septième semaine, et les escargots traités par les

doses ; D1 et D2 de l'Urée, D2 de NPK d'une façon significative ($p < 0.05$) et hautement significative ($p < 0.01$), durant la huitième semaine de traitement.

Tableau 11 : Effet de l'Urée et de NPK sur le poids des escargots (g) juvéniles et subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n = 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules) et comparaison des moyennes entre les séries (lettres majuscules)).

Temps Echantillon	1 ^{ier} Semaine	2 ^{ème} Semaine	3 ^{ème} semaine	4 ^{ème} Semaine	5 ^{ème} semaine	6 ^{ème} semaine	7 ^{ème} Semaine	8 ^{ème} Semaine
Témoin	5.24±0.58a A	5.42±0.88a A	5.34±0.58a B	5.37±0.68a C	5.48±0.61a C	4.91±0.81a C	5.39±0.62 C	5.23±0.57a B
Urée D1	4.73±0.92a C	4.64±0.81b C	4.77±0.84a B	4.63±0.79a A	4.62±0.69b A	4.6±0.63a A	4.66±0.68b A	4.16±1.15b B
Urée D2	5.38±0.37a C	5.06±0.41a C	5.12±0.45a B	4.68±0.67a A	4.8±0.66a A	4.66±0.64a A	3.59±1.82c A	3.26±1.96c B
NPK D1	5.61±0.72a C	5.52±0.63a C	5.47±0.53a B	4.99±0.82a A	5.13±0.88a A	4.61±1.07a A	4.81±1.81a A	4.48±1.8a B
NPK D2	5.58±0.68a C	5.44±0.64d C	5.33±0.67a B	5.13±1.05a A	4.89±1.06a A	4.66±0.90a A	4.37±1.8a A	3.66±2.2b B

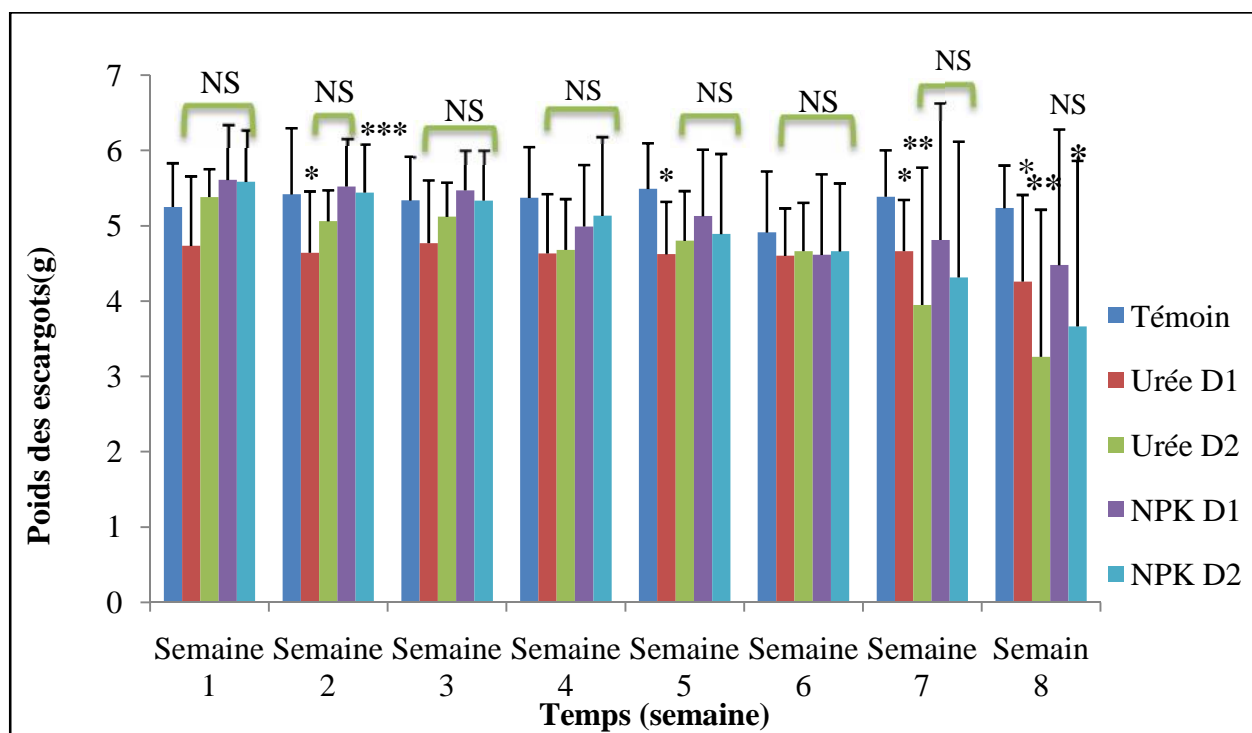


Figure 21 : Effets de l’Urée et de NPK sur le poids corporel (g) des escargots juvéniles et subadultes après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative ; *** Différence très hautement significative ; NS : Différence non significative).

3. 3. 4. 2. Effet de l’Urée et de NPK sur le diamètre de la coquille d’*Helix vermiculata*

A la fin de l’expérience, le diamètre coquillière moyen des escargots traités diminue d’une façon non significative ($p>0,05$) et de façon significative ($p<0,05$) par rapport aux escargots du groupe témoins. Cette diminution était significative ($p<0,05$) chez les individus traités par les doses les plus fortes ; D2 de l’Urée et D2 de NPK. Pendant les trois premières semaines, le diamètre de la coquille des escargots marque une augmentation parfois non significative ($p>0,05$) et autre fois significative ($p<0,05$) chez les individus traités par les doses ; D1 de l’Urée, D2 de l’Urée et de NPK, et de façon hautement significative ($p<0,01$) chez les individus traités par les doses ; D1 et D2 de NPK. A partir de la quatrième semaine de traitement. Cette augmentation devient non significative ($p>0,05$) au cours de quatrième, cinquième et sixième semaine. L’exposition aux D1 et D2 de l’Urée et de NPK n’affecte pas

le diamètre coquillère moyen durant les quatre semaines de traitement à partir de la quatrième semaine jusqu'à la septième semaine.

Tableau 12 : Effet de l'Urée et de NPK sur le poids des escargots (g) subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n= 15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

	1 ^{ier} Semaine	2 ^{ème} semaine	3 ^{ème} semaine	4 ^{ème} semaine	5 ^{ème} semaine	6 ^{ème} Semaine	7 ^{ème} semaine	8 ^{ème} Semaine
Témoin	2.2±0.1a C	2.26±0.1a C	2.25±0.09a B	2.26±0.13a A	2.27±0.12a A	2.15±0.26a A	2.28±0.12a A	2.27±0.137a A
Urée D1	2.27±0.13a C	2.28±0.1b C	2.26±0.12a B	2.25±0.12a A	2.26±0.12a A	2.28±0.12a A	2.3±0.11a A	2.05±0.41a A
Urée D2	2.32±0.07b C	2.33±0.07a C	2.32±0.05a B	2.20±0.22a A	2.22±0.22a A	2.21±0.22a A	1.74±0.87a A	1.63±0.98b A
NPK D1	2.37±0.07c C	2.39±0.05c C	2.35±0.08b B	2.27±0.23a A	2.3±0.24a A	2.14±0.43a A	1.9±0.76a A	1.88±0.75a A
NPK D2	2.33±0.1c C	2.35±0.1b C	2.33±0.12a B	2.23±0.26a A	2.25±0.25a A	2.25±0.26a A	1.89±0.76a A	1.65±0.99b A

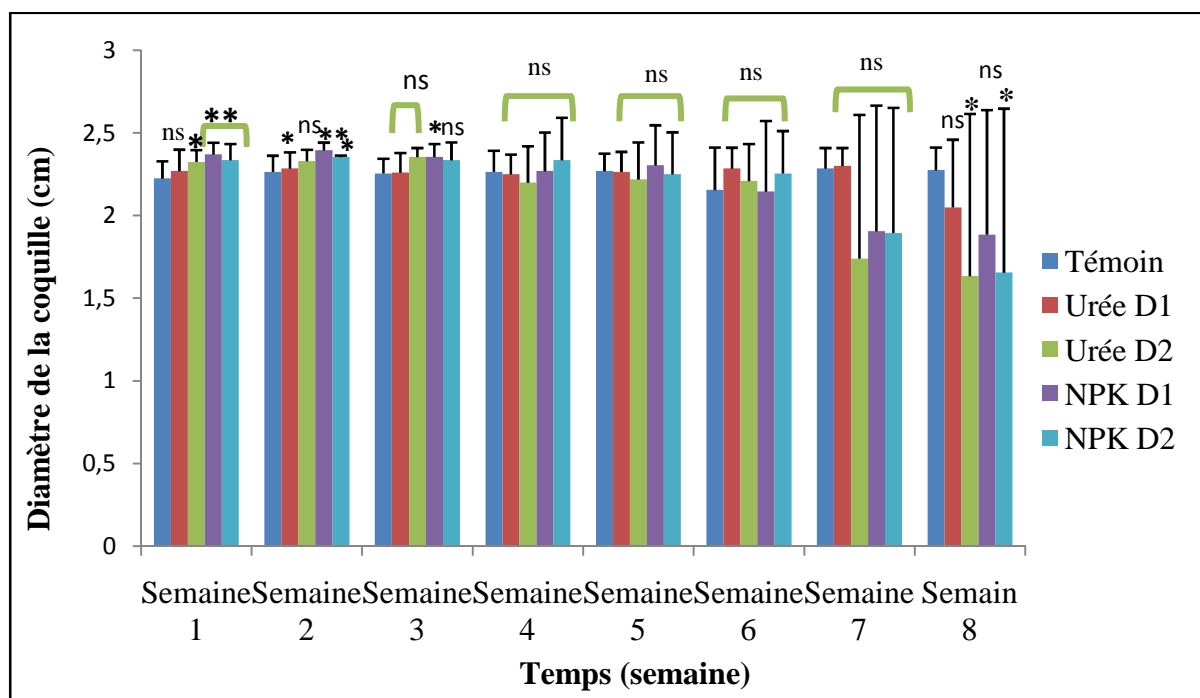


Figure 22 : Effets de l’Urée et de NPK sur le diamètre (cm) des escargots juvéniles et subadultes après une période de traitement de deux mois ($m \pm sem.$, $n=15$ répétitions comportant chacune 10 individus). (* : Différence significative ; ** Différence hautement significative ; NS : Différence non significative).

3. 4. Effets de l’Urée et de NPK sur la composition chimique de l’hépatopancréas d’*Helix vermiculata*.

Les deux dose de l’Urée ; D1 (300 mg), D2 (600 mg) et de NPK ; D1 (800 mg), D2 (1600 mg) ont été appliquées sur les escargots pendant une période de traitement de deux mois. L’effet de ces engrais à été évalué sur le contenu en glucides, protéines et lipides après la période de traitement.

3. 4. 1. Contenu en glucides totaux

Le contenu en glucide ($\mu g/mg$ de tissu analysé) marque une augmentation non significative ($p>0,05$) chez les individus juvéniles traités par l’Urée et le NPK par rapport au témoin. Aucun effet dose n’a été signalé au cours des temps testés.

La comparaison des valeurs moyennes ne montre aucune différence entre les individus témoins et traités. Ne signale aucun effet dose (Tableau. 13 et fig. 23).

Tableau 13 : Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en glucide totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m± sem.	19.6±3.71 a	20.95±6.6 a	24.06±2.25 a	27.97±5.33 a	25.37±1.99 a

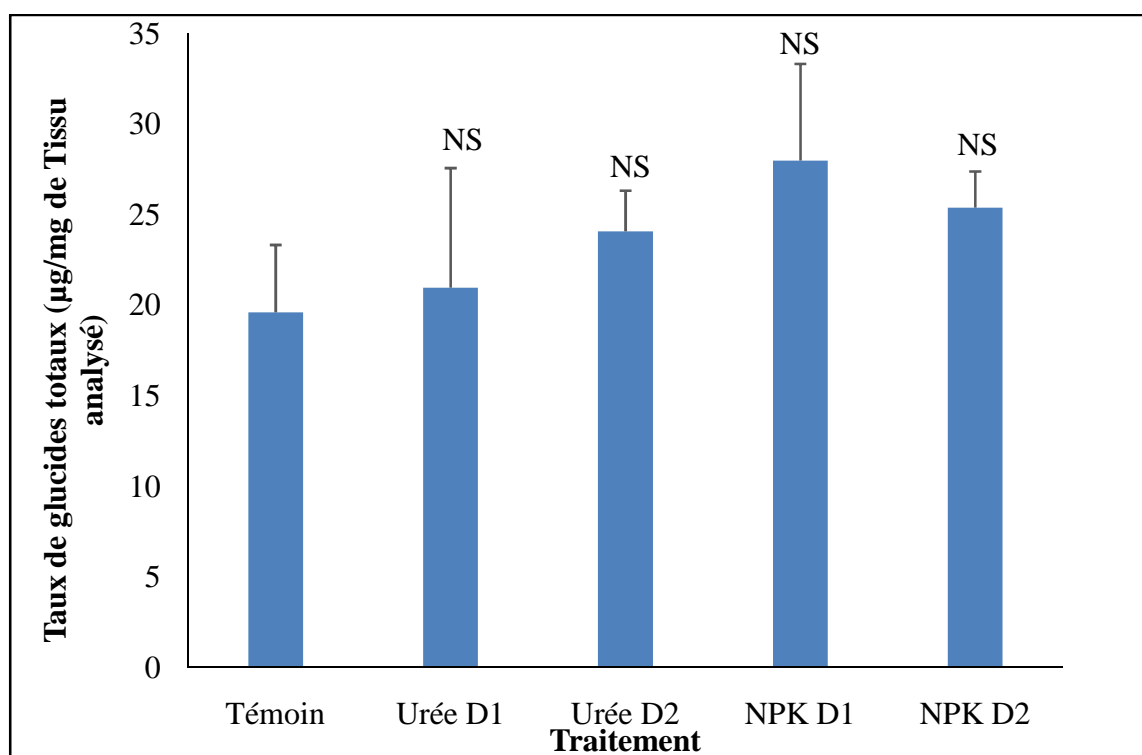


Figure 23 : Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).

3. 4. 2. Contenu en protéines totaux

Le tableau 14 et la figure 24 présente les résultats du dosage des protéines. Le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) marque en une diminution non significative ($p>0,05$) chez les individus traités par rapport au témoin.

Le teste t de Student révèle une diminution non significative ($p>0,05$) du contenu en protéines chez les escargots juvéniles traités par l'Urée et le NPK par rapport aux témoins au cours de la période de traitement. De plus, ne signale aucun effet dose.

Tableau 14 : Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	6.4±2.26 a	5.22±1.87 a	4.73±1.61 a	4.18±1.28 a	1.78±0.38 a

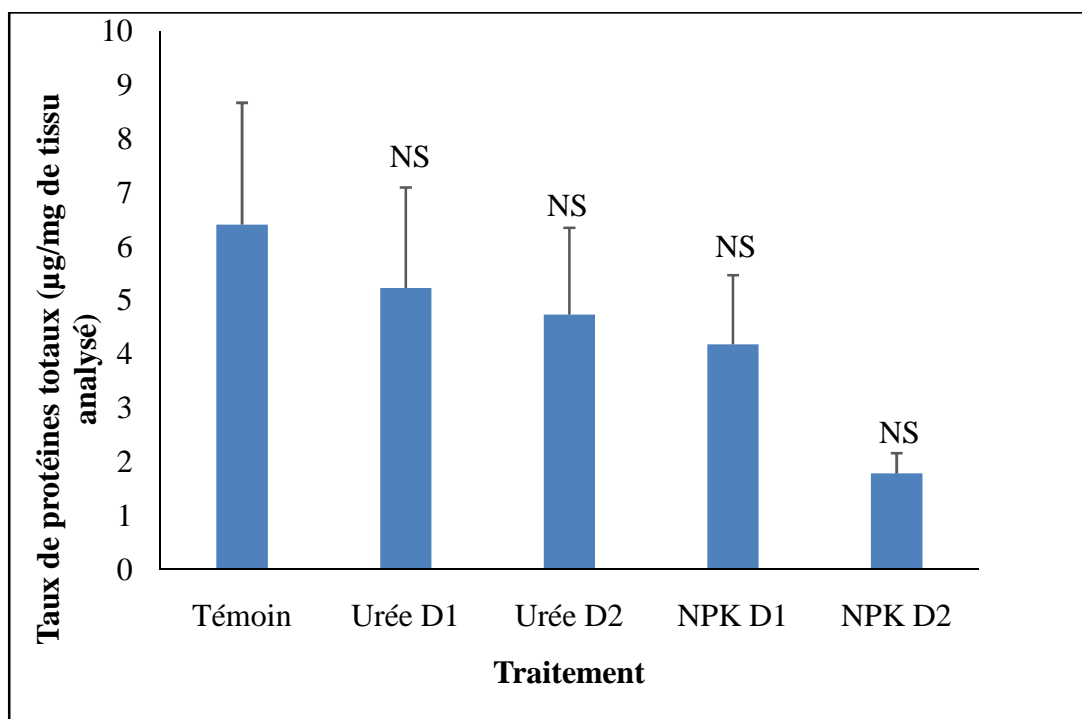


Figure 24 : Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative).

3. 4. 3. Contenu en lipides totaux

Les résultats présentes dans le tableau 15 et la figure 25, où on observe une augmentation non significative ($p > 0,05$) du contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les individus traités par la dose recommandé D1 (300 mg) de l'Urée. Par contre, chez les individus traités par la dose recommandé x2 D2 (600 mg) de l'Urée, et la dose recommandé D1 (800 mg) de NPK, l'augmentation du contenu en lipides est significative ($p < 0,05$) et hautement significative ($p < 0,01$), chez les individus traités par la dose recommandé x2 D2 (1600 mg) de NPK.

Le test t de Student révèle une augmentation significative de contenu en lipides totaux ($p = 0,04$) chez les individus traités par la dose recommandé x2 D2 (600 mg) de l'Urée, et ($p = 0,03$) chez les individus traités par la dose recommandé D1 (800 mg) de NPK. Tandis que, on signal une augmentation hautement significative ($p = 0,008$) chez les individus traités par la dose recommandé x2 D2 (1600 mg) de NPK comparativement aux témoins. On note un effet dose ($p = 0,034$) et ($p = 0,039$).

Tableau 15 : Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	15.07±1.52 a	18.93±2.83 a	29.01±3.53 b	18.04±1.45 b	23.49±1.16 c

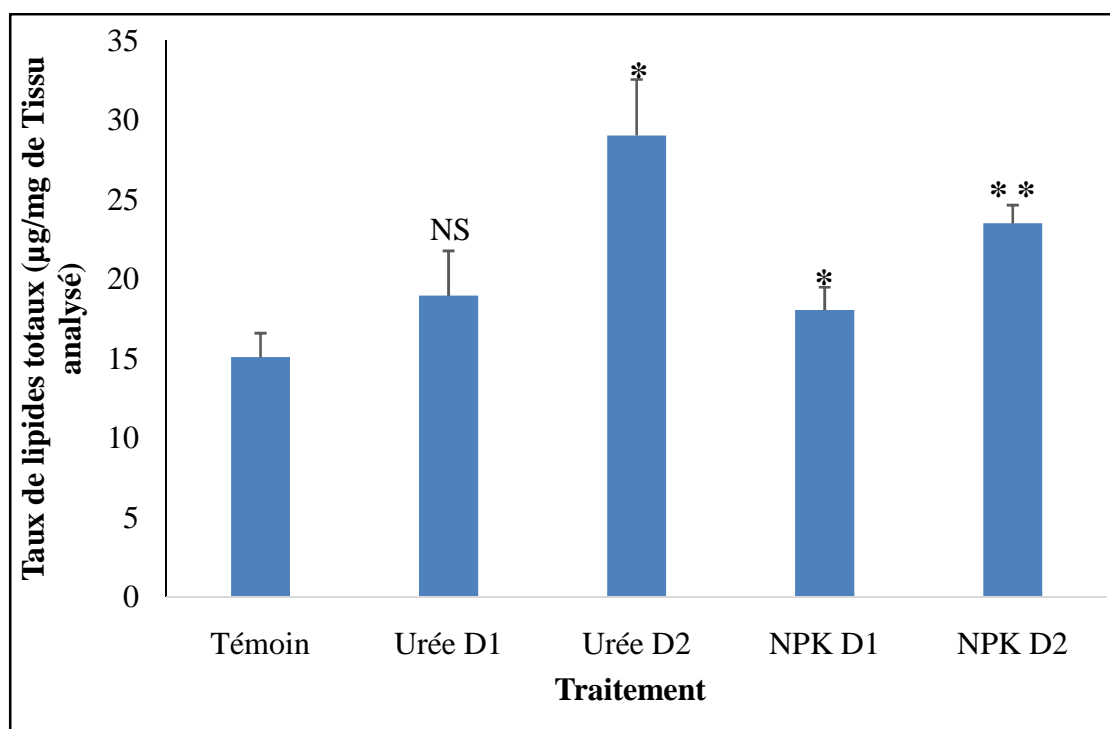


Figure 25 : Effets de l'Urée et de NPK sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu analysé) chez les escargots juvéniles après une période de traitement d'un mois et demi ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p < 0,05$); ** Différence hautement significative ($p < 0,01$)).

3. 5. Le contenu de la vétélogénine de la glande albuminique d'*Helix vermiculata*

Le tableau en dessous présente le contenu de la vétélogénine ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$). En comparaison avec les témoins, on note une diminution significative ($p < 0,05$) chez les individus traités par la dose recommandée D1 (300 mg) de l'Urée et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) chez les individus traités par la dose recommandée x2 D2 (600 mg) de l'Urée. Tandis que, chez les individus traités par les deux doses D1 (800 mg) et D2 (1600 mg) de NPK, on remarque une diminution non significative ($p > 0,05$) de contenu de la vétélogénine.

Le teste t de Student révèle une diminution significative de la contenu en vétélogénine chez les escargots traités par la dose recommandée D1 (300 mg) de l'Urée ; $p = 0.046$, et une diminution hautement significative chez les individus traités par la dose recommandée x2 D2 (600 mg) de l'Urée ; $p = 0.003$. De plus, ne signale aucun effet dose.

Tableau 16 : Effet de l'Urée et de NPK sur le contenu en vétélogénine ($\mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	99.62±11.95 a	50.96±2 b	31.20 ± 9.47 c	73.22±11.57 a	30.48 ±16.49 a

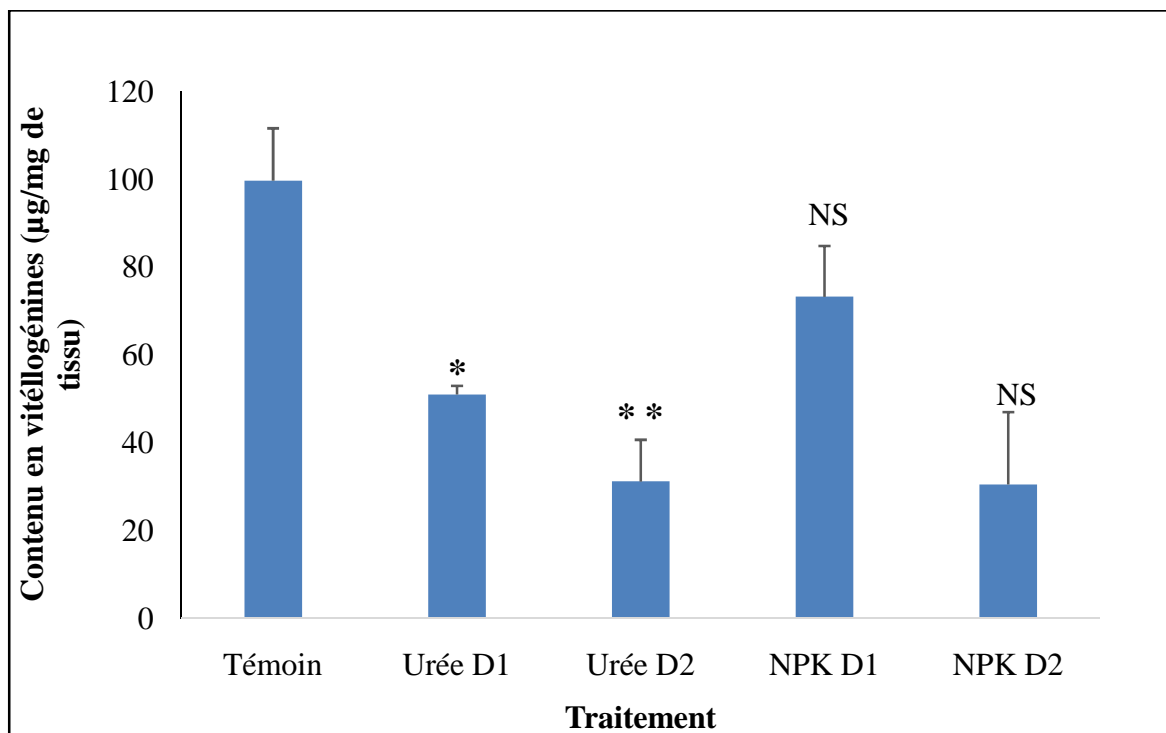


Figure 26 : Effets de l’Urée et de NPK sur le contenu en vitélogénine (µg/min/mg) chez les escargots subadultes après une période de traitement d’un mois et demi ($m \pm sem.$, $n= 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$); ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).

Tableau 17 : Aspect de la glande albuminique chez les escargots subadultes témoins et traités par l’Urée et le NPK (Gueddouche, 2017).

Dose	Traitement				
	Témoin	UREE D1	UREE D2	NPK D1	NPK D2
Aspect	X 2.4	X 2	X 2.6	X 1.9	X 2.9

Les escargots disséqués de chaque modalité de traitement et témoin présentent une certaine hétérogénéité. Le tableau au dessus mentionne l'aspect de la glande albuminique des escargots. On remarque une différence de couleur entre les glandes albuminiques ; la glande des témoins et des escargot traités par la dose recommandée x2 de l'Urée D2 est de couleur jeune claire, la glande des escargot traités par la dose recommandée D1 de l'Urée est à un couleur jeune, les escargot traité par la dose recommandée D1 de NPK possèdent un glande de couleur presque marron, par contre on remarque un glande albuminique de couleur jeune fiançais chez les escargot traité par la dose recommandée x2 D2 de NPK.

3. 6. Effets de l'Urée et de NPK sur les biomarqueurs

Pour apprécié l'impact de l'Urée et de NPK sur la neurotoxicité, on réalise le dosage d'un site cible, l'acétylcholinestérase (AChE), le glutathion peroxidase (GP_x), le glutathion- S- transférase, lactate déshydrogénase (LDH), chez *Helix vermiculata* après deux périodes de traitement ; période de huit semaines et période de six semaines.

Durant les deux périodes de traitement, on applique sur les juvéniles et les subadultes d'*Helix vermiculata* deux doses différentes pour chaque molécule (Urée, NPK). Les résultats ont été exprimés par rapport à la quantité de protéines (mg) obtenues à partir d'une courbe de référence.

3. 6. 1. L'activité spécifique des GSTs

Chez les individus témoins et traités, l'activité spécifique des glutathions-S-transférases à été estimée par application de formule de Habig et *al.* (1974). Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). Ils sont présentés dans le tableau 18 et la figure 27 , où on note une augmentation non significative ($p>0,05$) de l'activité spécifique de GST chez les individus traités par la dose recommandée D1 (300 mg) et la dose recommandée x2 D2 (600 mg) de l'Urée, et une augmentation significative ($p<0,05$) de l'activité spécifique de GST chez les individus traités par la dose recommandée D1 (800 mg) et la dose recommandée x2 D2 (1600 mg) de NPK ($p=0.24$ et $p=0.25$) comparativement aux individus témoins. On note un effet dose ($p=0.02$).

Le test t de Student révèle une augmentation significative de l'activité spécifique de GST après une période de traitement de deux mois, chez les individus traités par Les deux dose de NPK appliquées ((dose recommandée D1) 800 mg : $p=0.024$ et (dose recommandée x2 D2)

1600 mg : $p=0.025$) comparativement aux individus témoins. Un effet dose à été signalé ($p=0.016$).

Tableau 18 : Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n= 5$ répétitions 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	4,92 ±0,52 a	10,48 ±1,68 a	10,5 ±2,01 a	13,13 ±1,12 b	13,27 ±1,52 b

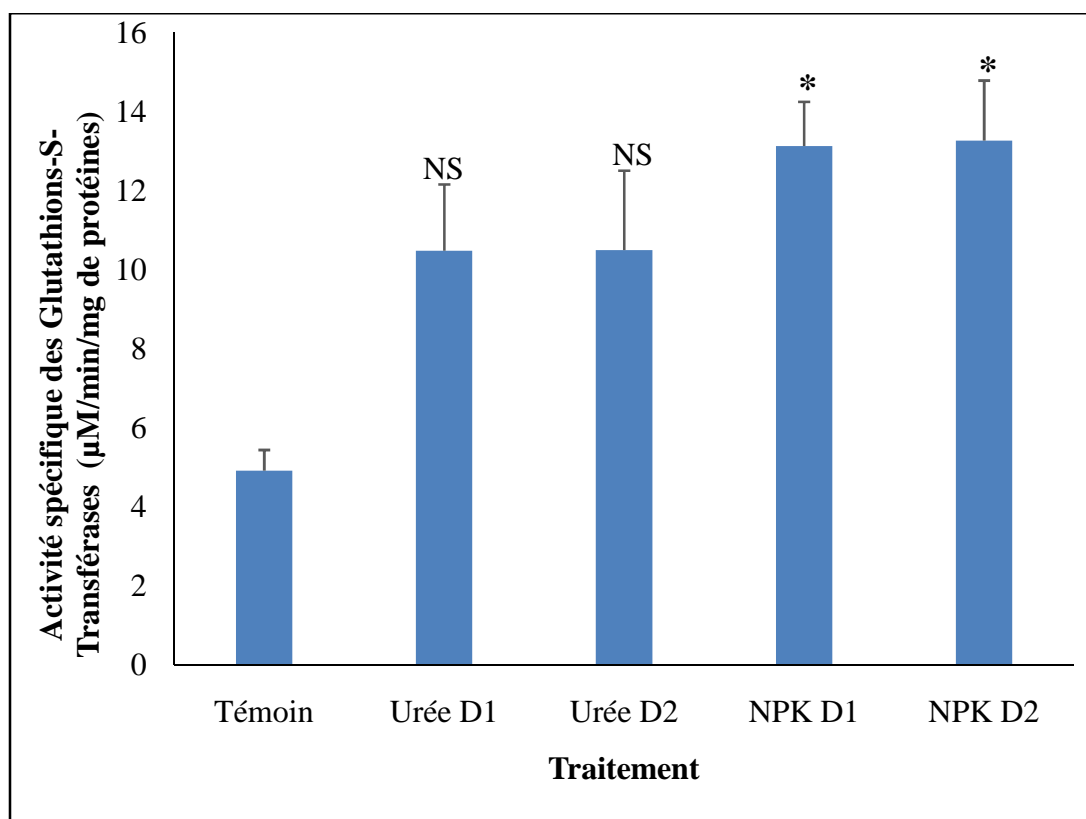


Figure 27 : Effets de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétition comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p<0,05$)).

3. 6. 2. L'activité spécifique de la LDH

Les activités spécifiques de la LDH à été estimées chez les individus témoins et traités. En comparaison avec les individus témoins, nous constatons une augmentation non significative ($p > 0,05$) aux dose recommandé D1 (300 mg) de l'Urée, et une augmentation significative ($p < 0,05$) aux doses : (D2 (600mg) de l'Urée ; $p = 0.016$), la dose recommandé (D1 (800 mg ; $p = 0.036$) et (D2 (1600 mg ; $p = 0.035$) de NPK.

Le teste t de Student révèle une augmentation significative de l'activité spécifique de LDH aux dose recommandé x2 D2 ((600 mg de l'Urée ; $p = 0.016$) et aux dose recommandé (D1 (800 mg ; $p = 0.036$, dose recommandé x2 D2 (1600 mg) ; $p = 0.035$) de NPK. On note un effet dose ($p = 0.05$).

Tableau 19 : Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de LDH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	0,01±0 a	0.01±0 a	0.01± 0 b	0.01±6.07E-05 b	0.01±6.98E-05 b

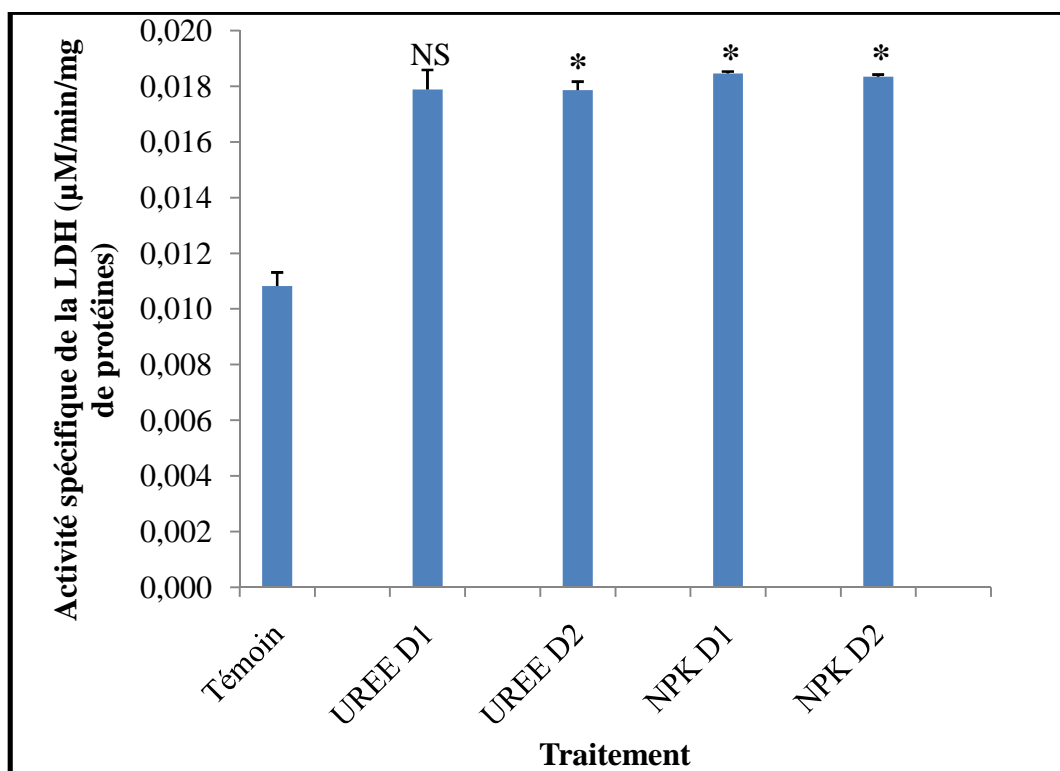


Figure 28 : Effets de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de la LDH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative ($p < 0,05$)).

3. 6. 3. L'activité spécifique de GP_x

La figure 20 et le tableau 29 représente l'effet d'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GP_x . Nous remarquons une augmentation significative ($p < 0,05$) à la dose recommandée D1 (300 mg) d'Urée ; $p = 0,032$ et une augmentation non significative ($p > 0,05$) à la dose recommandée x2D2 (600 mg) d'Urée, une augmentation hautement significative aux doses (D1 (800 mg) ; $p = 0,004$ et D2 (1600 mg) ; $p = 0,003$) de NPK comparativement avec les individus témoins.

Le test t de Student relève une augmentation significative ($p < 0,05$) de l'activité spécifique de GP_x chez les individus traités par la dose recommandée D1 (300 mg) d'Urée ; $p = 0,032$ et une augmentation hautement significative aux doses recommandées de NPK, D1 (800 mg) ; $p = 0,004$ et D2 (1600 mg) ; $p = 0,003$ en une comparaison avec les individus témoins. On note un effet dose ($p = 0,001$, $p = 0,003$, $p = 0,013$, $p = 0,024$, $p = 0,016$).

Tableau 20 : Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GP_x (μM/min/mg de protéines) chez les escargots juvéniles (m ± sem., n= 5 répétitions comportant 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	1.32±0.004 a	0.151±0.006 b	0.163±0.012 a	0.22±0.008 c	0.246±0.011 c

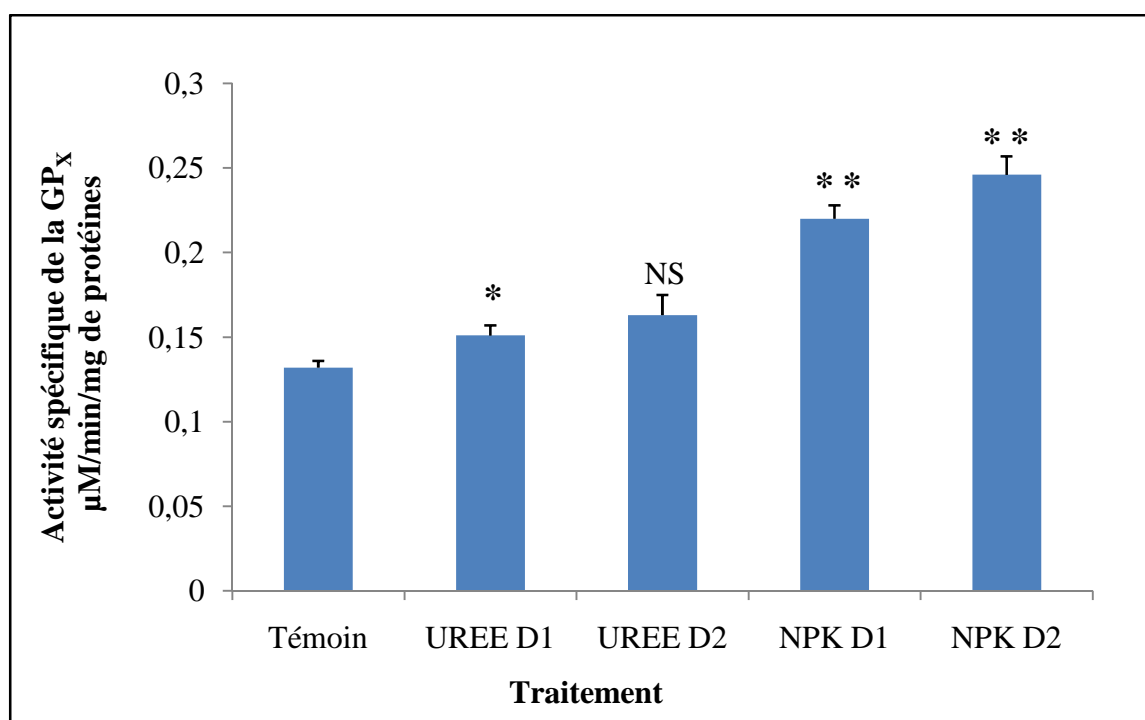


Figure 29 : Effets d'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de GP_x (μM/min/mg de protéines) chez les escargots juvéniles après une période de traitement de deux mois (m ± sem., n=5 répétitions comportant chacune 3 individus). (NS : Différence non significative ; * Différence significative (p<0,05) ; ** Différence hautement significative (p<0,01)).

3. 6. 4. L'activité spécifique de l'AChE

L'activité de l'AChE a été estimée chez les escargots témoins et traitée par L'application de la formule d'Ellman *et al.* (1961). Les résultats relatifs à l'activité spécifique de l'AChE

sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéine ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Le tableau 21 et la figure 30 mentionne les résultats du dosage. On observe une diminution significative ($p < 0,05$) du contenu en protéines totaux chez les individus traités par la dose recommandée D1 (300 mg) d'Urée et une diminution hautement significative ($p < 0,01$) chez les individus traités par les doses ; D2 (600 mg) d'Urée, D1 (800 mg) et D2 (1600 mg) de NPK. On note un effet dose ($p = 0.000$) et ($p = 0.008$).

Le test t de Student révèle une diminution significative ($p = 0.041$) chez les escargots traités par la dose recommandée D1 (300 mg) d'Urée et une diminution hautement significative ($p = 0.001$) chez les individus traités par la doses recommandée x2 D2 (600 mg) de l'Urée et les doses D1 (800 mg) et D2 (1600 mg) de NPK comparativement aux témoins. On note un effet dose ($p = 0.000$) et ($p = 0.008$).

Tableau 21 : Effet de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots subadultes ($m \pm \text{sem.}$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (Comparaison des moyennes pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Echant	Témoin	Urée D1	Urée D2	NPK D1	NPK D2
m±sem.	1.32±0.004 a	0.151±0.006 b	0.163±0.012 a	0.22±0.008 c	0.246±0.011 c

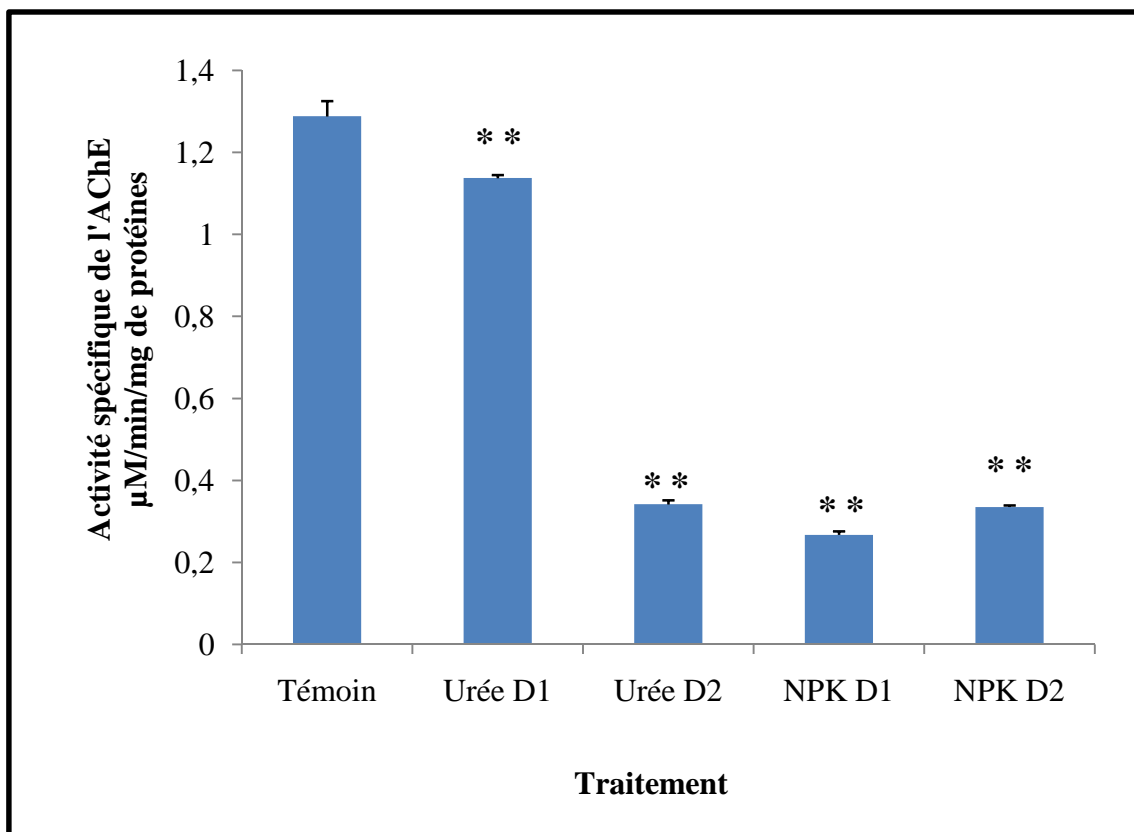


Figure 30 : Effets de l'Urée et de NPK sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les escargots subadultes après une période de traitement d'un mois et demi ($m \pm \text{sem.}$, $n=5$ répétitions comportant chacune 3 individus). (* Différence significative ($p<0,05$) ; ** Différence hautement significative ($p<0,01$)).

Discussion

4. DISCUSSION

La contamination des sols à une double origine : par les apports de pesticides et d'engrais dans les agrosystèmes, et par le lessivage des polluants atmosphériques (gaz et poussières) par les pluies. Les Gastéropodes terrestres se déplacent à la surface du sol où ils consomment des végétaux et de la terre, mais certaines phases de leur cycle biologique (repos, abri, ponte, développement embryonnaire, hibernation) se passent dans le sol dont ils absorbent des contaminants. Leur vaste répartition, la facilité de leur récolte, leur capacité importante de bioaccumulation et leur régime phytophage ont amené plusieurs chercheurs à considérer les Gastéropodes terrestres comme les indicateurs de pollution (Le Bras, 2007).

Les Gastéropodes survivent bien sur des sites contaminés en métaux, ainsi, *H. pomatia* est considérée comme l'un des concentrateurs les plus efficaces de métaux traces des habitats terrestres pollués. Cette résistance résulte de la capacité que présentent ces invertébrés terrestres de retenir et d'inactiver les métaux toxiques soit par compartimentation intracellulaire et excrétion, soit par liaison avec des protéines dont les métallothionéines qui se lient fortement aux métaux (surtout le cadmium) et permettent leur stockage durant de longues périodes. (Le Bras, 2007).

4. 1. Réponse comportementales

Les doses appliquées de l'Urée et de NPK ont un effet inhibiteur sur le comportement locomoteur et nutritif des juvéniles et adultes d'*Helix vermiculata* qui suggère un éventuel comportement dû principalement à la perte de chimioréception surtout chez les individus traités par les fortes doses ; D2 de l'Urée et de NPK. En effet, plusieurs travaux ont rapporté les effets inhibiteurs du thiaméthoxam sur le comportement locomoteur des insectes (Bingham *et al.*, 2008) et des abeilles (Aliouane *et al.*, 2009) le comportement des rats (Rodrigues *et al.*, 2010). De la même manière, les effets inhibiteurs de la téfluthrine ont été également rapportés chez les rats (Righi et Palermo-Neto *et al.*, 2005). De plus, les néonicotinoïdes et les pyréthrianoïdes sont des substances neurotoxiques, ayant des effets délétères sur le système nerveux, mais d'autres systèmes peuvent aussi être affectés par ces molécules (Glickman et Lech, 1982; Palermo-Neto *et al.*, 2003; Datta et Kaviraj, 2003).

Les effets léthargiques d'OPs dont le diméthoate ont été observés chez les gastéropodes notamment chez les juvéniles ainsi que chez les adultes de *Helix aspersa* (Schuytema *et al.*, 1994; Coeurdassier *et al.*, 2001). Chez les individus juvéniles, les effets comportementaux significatifs sont observés aux plus fortes concentrations testées pendant les 4 semaines de

test. Cependant, chez les adultes, le diméthoate provoque une inactivité marquée des escargots, surtout pendant les 2 premières semaines d'exposition.

4. 1. 1. La mortalité

Lorsque des organismes vivants sont soumis à des changements de leur environnement, ils sont soumis à un stress intense, entraînant la mort des organismes sans que ces derniers ne puissent réagir particulièrement lorsque leurs enzymes de détoxifications sont déplétées, ce stress peut être moins intense, permettant alors à l'organisme de déployer une batterie de réponses, à travers l'activation de leurs mécanismes de détoxification, afin de lutter, de survivre et dans certains cas, de s'acclimater à ce nouveau paramètre (Lagadic *et al.*, 1997).

L'augmentation du taux de mortalité corrigé chez les escargots traités par la dose recommandé D1 de l'Urée et la dose recommandé D1 de NPK est significative. Cette augmentation est hautement significative chez les séries traitées par les doses D2 de l'Urée et de NPK comparativement aux témoins. En fait, il existe un effet de l'Urée et de NPK sur la mortalité des escargots.

La faible mortalité des escargots observée dans cette étude pour la dose D1 (Urée) (16.05 %) est supérieure à celle (5%) observée dans l'expérience de Gomot (1997), de Scheiffler *et al.* (2002), ainsi que celle de (4.3 %) et enfin celle (3 à 7 %) de Viard *et al.* (2004). Par contre elle est moins que celle trouvée par Bourbia (2013).

La mortalité des escargots observée dans l'expérience de Schuytema *et al.* (1994) après exposition des escargots *Helix aspersa* à 5mg/Kg de carbaryl pendant 14 jours est (13%). Tandis que, les mêmes auteurs n'ont pas montré d'effets létaux chez la même espèce d'escargots exposés via l'alimentation jusqu'à des concentrations de 5000 mg kg⁻¹ après ingestion de glyphosate. En effet, la mortalité des escargots dépend de l'espèce testée et de sa sensibilité vis-à-vis des substances testées.

4. 1. 2. Taux d'alimentation

La quantité de la nourriture semble jouer un rôle primordial (Scheiffler *et al.*, 2002; Viard et Pihan, 2004). Au cours de la période de traitement, la quantité d'aliment ingéré par les escargots est en diminution, notamment à celles traités par les deux doses de NPK. Cette diminution peut être expliquée par la perte de la chimioréception.

4. 2. Réponse physiologique

4. 2. 1. Effet sur La croissance

4. 2. 1. 1. Effet sur l'évolution du poids frais d'*Helix vermiculata*

Les escargots exposés par contacte au Urée, et NPK apparaissent assez sensibles à ses deux engrais aux conditions de laboratoire. Ainsi, les doses de l'Urée et de NPK inhibent la prise de poids des escargots à partir de la deuxième semaine de traitement, sans pour autant limiter l'accumulation possible de ses molécules dans leurs organes. Toutefois, dans les cas extrêmes, l'inhibition de la prise de poids peut être due à la répulsion de la nourriture, et donc au jeune prolongé des escargots.

En effet, Schuytema *et al.* (1994), ont rapporté que la réduction significative ($p < 0.05$) du poids (total, coquillère et des tissus mous) des escargots traités avec l'aminocarbe, le méthyle parathion et le paraquat est liée à la nature et à la dose du pesticide administré. Aussi Coeurdassier *et al.* (2001) ont observé une diminution dose-dépendante de la croissance et de la survie des escargots induite par le diméthoate, et l'exposition par la voie épithéliale induit la plus forte toxicité. Dans la même optique, Gomot-de Vaufleury et Bispo (2000) se sont intéressés aux effets de l'ingestion à partir d'un sol contaminé avec du pentachlorophénol, du trichlorophénol et du naphthalène ou de la pulvérisation de son lixiviat sur la croissance de *Helix aspersa aspersa* et *Helix aspersa maxima* exposés pendant 28 jours. Une forte inhibition de la croissance est observée chez *Helix aspersa aspersa* alors qu'elle ne l'est qu'aux plus fortes concentrations chez *Helix aspersa maxima*. Les deux sous espèces sont moins sensibles à l'exposition cutanée et n'a aucun effet sur la croissance de *Helix aspersa maxima*. En plus, El-Wakil et Attia (1999) ont montré que l'ingestion de dimiline n'a pas d'effet létale sur les adultes de l'escargot *Theba pisana* à 10 000 µg, alors que l'exposition des juvéniles pendant 35 jours à 1000 µg de dimiline provoque une inhibition de croissance significativement plus importante.

Selon Gomot (1997), le mécanisme impliqué dans l'inhibition de croissance des escargots nourris avec de la nourriture contaminée est difficile à identifier. Il pourrait s'agir d'une inhibition de synthèse d'une hormone de croissance essentielle à la croissance des escargots.

4. 2. 1. 2. Effet sur l'évolution du diamètre des coquilles d'*Helix vermiculata*

En présence d'un polluant, et pour connaître la croissance d'*Helix vermiculata*, on étudie l'évolution de diamètre de la coquille entre les individus témoins et traités. Les résultats de

notre expérimentation révèlent une diminution de diamètre de la coquille en présence de l'Urée et de NPK. Cette diminution pourrait s'expliquer par une interférence possible de l'Urée et/ou de NPK dans le métabolisme du calcium (Ca). En effet, le Ca joue un rôle important dans le développement du corps entier des escargots et en particulier celui de la coquille. Ceci a été montré chez *Helix aspersa* (Gomot *et al.*, 1989) et chez *Achatina fulica* (Irlande, 1991). Ces auteurs expliquent cet effet par une augmentation de l'épaisseur et de la masse de la coquille. La coquille est constituée principalement par du carbonate de calcium et une matrice organique appelée le chonchiolin (Heller et Magaritz, 1983). Ainsi, Gimbert *et al.* (2008) ont démontré une diminution de 30% de la masse de la coquille des escargots exposés à un sol artificiel contaminé par le cadmium. Cependant, Jordaens *et al.* (2006) n'ont pas trouvé de relation significative entre la pollution des sols par les ETM (Cd, Cr, Pb et Zn) et la solidité des coquilles des escargots *Cepea nemoralis* prélevés *in situ*. (Grara *et al.*, 2015) mis en évidence une diminution de diamètre de la coquille des escargots *Helix aspersa* après exposition au ZnO à une concentration de 1000 µg/g à une durée de 21 jours.

4. 2. 2. Effet sur le poids de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata*

Certains organes du corps contiennent des enzymes chargées de catalyser une série de réactions permettant de détoxiquer l'organisme des composés nocifs présents.

La biotransformation des molécules xénobiotiques hydrophobes assurée par des mécanismes permettant une augmentation de la hydrosolubilité de ces substances et faciliter son excrétion. Chez les mollusques, ce processus se déroule principalement au niveau de la glande digestive (hépatopancréas) (Michel, 1993). Nos résultats montrent une diminution non significative du poids de l'hépatopancréas des escargots.

Autre études marquent une augmentation remarquable du poids de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* traités pourrait être due à l'accumulation du carbofuran et leur métabolites au niveau des hépatocytes en vue d'une détoxification ou d'un effet d'induction enzymatique (Wayland *et al.*, 1991) (le carbofuran est concentré principalement dans le foie). Cette résultat est similaire aux résultats chez les lapins traités par les doses (2, 3, 5 et 8 mg/kg/j) d'un insecticide carbamate : le Manèbe (Mallem *et al.*, 2007).

Dans notre étude, on peut citer que les deux doses de l'Urée et de NPK n'affectent pas le poids de l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata*.

4. 2. 3. Effet sur le poids de l'appareil reproducteur d'*Helix vermiculata*

Des variations survenues dans les résultats du poids de l'appareil reproducteur d'*Helix vermiculata*, les trois doses D1 de l'Urée, D1 et D2 de NPK n'affectent pas l'appareil reproducteur des escargots. Tendus que, l'appareil reproducteur des escargots traités par la dose D2 de l'Urée est augmenté significativement en comparaison au série témoin.

Des insecticides et des perturbateurs endocriniens sont responsables de perturbations des processus métaboliques et hormonaux liés à la reproduction de gastéropodes aquatiques (Wilbrink *et al.*, 1992; Jumel *et al.*, 2000). Les effets délétères sur la reproduction peuvent concerner des perturbations de la gamétogénèse (Russell *et al.*, 1981), du développement des organes reproducteurs (Caquet et Lagadic, 1998; Gomot-de Vaufleury et Keroas, 2000) ou encore du développement embryonnaire (Ravera, 1991). Les mécanismes biochimiques et physiologiques responsables de tels effets restent à identifier. La croissance et le développement de l'appareil reproducteur. La fertilité apparaît comme le paramètre le plus affecté, notamment chez les escargots exposés pendant le développement embryonnaire. Le même constat est effectué chez les escargots exposés au mélange Reglone-Agral (R-A), avec un effet plus marqué sur la reproduction.

Quelques auteurs ont étudié les effets du glyphosate sur la reproduction d'autres invertébrés terrestres. Santos *et al.* (2010) ont déterminé une EC50 de 0,33 mg kg⁻¹ chez *F. candida* exposé pendant 28 jours, donc à une concentration 10 fois inférieure à celle utilisée ici. Chez *E. foetida*, Casabe *et al.* (2007) ont montré une inhibition de la fertilité à des concentrations similaires aux nôtres. Cependant, deux autres études sur cette même espèce ne montrent pas d'effet à 8 mg kg⁻¹ (Yasmin et D'Souza 2007) et déterminent une EC50 de 28,79 mg kg⁻¹ après 8 semaines d'exposition (EC 2002b). Chez les vertébrés, Howe *et al.* (2004) ont pu mettre en évidence un effet du Roundup® à des concentrations de 1,8 mg l⁻¹ sur les gonades d'amphibiens. Ces animaux non hermaphrodites présentaient à la fois des gamètes mâles et des gamètes femelles dans leur gonade, révélant leur ambisexualité primaire et démontrant un dysfonctionnement dans le contrôle neuro-endocrine de la différenciation sexuelle et de la gamétogénèse. Il semblerait également que la sex-ratio soit déséquilibrée en faveur des femelles (Howe *et al.* 2004). La mise en évidence d'effets perturbateurs de la gamétogénèse est très difficile chez les organismes hermaphrodites. La nature et l'abondance des gamètes dans les acini évoluent au cours du temps et peuvent même être variables d'un acinus à l'autre (Gomot et Gomot 1985; Bride *et al.* 1986).

Le poids de l'appareil reproducteur des escargots n'affectent pas par les différents traitements, sauf chez les individus traités par la dose recommandée x2 de l'Urée. On note une augmentation hautement significative de l'appareil reproducteur.

4. 2. 4. Effet sur la glande albuminique d'*Helix vermiculata*

La couleur de la glande à albumen d'*Helix vermiculata* présente une certaine hétérogénéité. La glande à albumen des escargots témoins est traités par la dose recommandé x2 D2 de l'Urée est de couleur jeune claire, et chez celles traités par la dose recommandée D1 de l'Urée est de couleur jeune, et de couleur jeune fiançais chez le série traitées par la dose recommandée x2 D2 de NPK. Alors que les individus traités par la dose recommandée D1 de NPK, la glande à albumen est très petite et de couleur presque marron.

Il a également été observé chez un autre gastéropode pulmoné terrestre, *Archachatina marginata ovum*, que la couleur blanchâtre des glandes à albumen correspond à des escargots jeunes n'ayant pas encore pondue tandis que la couleur jaune citron est observée chez des escargots matures prêts à pondre (Egonmwan 2007). En conclusion, l'Urée et le NPK agissent sur l'aspect et la couleur de la glande à albumen. Ces effet peut être due à une stresse chimique.

4. 2. Effet sur les compositions biochimiques

Les paramètres biochimiques et enzymatiques chez les organismes exposés aux contaminants toxiques ont été utilisés comme biomarqueurs et peuvent constituer un importante outil de diagnostic pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques (Forbes *et al.*, 1997; McLoughlin *et al.*, 2000).

Les glucides sont des molécules organiques joue un role plus importante dans la fabrication d'énergie. Ils possèdent un role de réserve énergétique dans le fois et les muscles (le glycogène) (Menaceur, 2015).

Quand les escargots sont exposés au stresse chimique, les réserves d'hydrates de carbone sont épuisées pour satisfaire les demandes énergétiques (Arasta *et al.*, 1996).

El-Wakil et Radwan (1991). Padmaja et Rao (1994) ont d'ailleurs suggérés que la diminution du taux de glycogène dans les tissus de l'escargot d'eau douce *Bellammyadissimillis* (Müller), exposé à l'Endosulfan, le Méthyl parathion, le Quinalphos et le Nuvan peut être due à l'utilisation du glycogène pour générer l'énergie nécessaire pour

faire face à l'hypoxie provoquée par ces pesticides. La déplétion en glycogène des tissus hépatiques peut être également interprétée comme une réponse non spécifique au stress chimique avec cependant des conséquences sur la mobilisation à long terme des réserves énergétiques et ainsi sur la sensibilité au stress et la susceptibilité des individus aux maladies (Schwaiger *et al.*, 1997).

L'augmentation de taux des glucides dans l'hépatopancréas des escargots traités par l'Urée et NPK est non significative comparativement aux témoins. En fait, il n'existe pas vraiment de règle générale qui permet d'expliquer ou de prédire la toxicité associée à un mélange donné de produits chimiques. Ainsi, il n'a pas d'effet de l'Urée et de NPK sur le métabolisme des glucides. La diminution des réserves de glycogène est une réponse notée chez plusieurs gastéropodes pulmonés.

Chez *L. palustris* exposée à l'hexachlorobenzène en mésocosme, Baturu *et al.* (1995) observent une stimulation de l'activité enzymatique d'hydrolyse des polysaccharides et une réduction de la teneur en glycogène dans le manteau et la masse viscérale. Pour la même espèce exposée à des alkylphénols en mésocosme, Jumel et Lagadic (2000) rapportent une augmentation de la demande énergétique des animaux qui se traduit par une mobilisation rapide des réserves de glycogène du manteau et une diminution de la teneur en protéine et de la masse de la glande à albumen. Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Mahler *et al.*, 1968).

Chez les escargots traités par les deux doses de l'Urée et de NPK, on note une diminution non significative de protéines totales comparées aux escargots témoins (aucun effet sur le métabolisme des protéines), et une augmentation non significative des lipides totaux chez les escargots traités par la dose D1 de l'Urée. Tendus que, on signale une augmentation significative des lipides totaux chez les individus traités par les doses ; D2 de l'Urée, D1 et D2 de l'NPK comparativement au témoin. Les lipides constituent le carburant énergétique privilégié proposé aux tissus en cas de besoins après les hydrates de carbone, mais les protéines sont principalement impliqués dans l'architecture de la cellule. Pendant les périodes de stress chronique, ils constituent aussi une autre source d'énergie (Padmaja et Rao, 1994). Dans des conditions de stress, les escargots ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier la substance toxique. Lorsque les escargots ont une quantité limitée de glucides et de lipides, la source d'énergie alternative pour répondre à la demande accrue d'énergie est les

protéines (Moussard, 1999). En outre, ces résultats sont semblables à ceux de Radwan *et al.*, (2008).

L'augmentation significative du taux des lipides aux D2 de l'Urée et D1 D2 de l'NPK peut être due au stress chimique causé par les composés testés. En effet, Eissa *et al.* (2002) ont rapporté que l'effet nocif de composés chimiques pourrait être attribué à l'augmentation de l'utilisation de l'énergie et/ou à l'altération des organites des cellules (des escargots traités) et qu'ils peuvent interférer avec la synthèse des protéines.

Chez les escargots, l'albumen sécrété par la glande à albumen entoure les ovocytes fécondés, et constitué les réserves nutritives pour le développement embryonnaire (Gomot de Vaufleury, 2001).

4. 3. Effet sur le contenu en vitellogénines

Chez les individus traités par l'Urée et le NPK, le contenu en vitellogénines dans la glande à albumen est diminué de façon significative chez les individus traités par la dose D1 de l'urée et de façon hautement significative chez les individus traités par la dose D2 de l'Urée. Autre études, montre que l'altération de la vitéllogénèse a été également rapportée chez plusieurs espèces d'insectes traités par divers molécules régulateurs de croissance. Le pyriproxifène, analogue de la JH, affecte la biochimie des ovaires en diminuant les taux de protéines ovariens chez un Lépidoptère *Plodia Interpunctella* (Ghasemi *et al.*, 2010).

Des expériences réalisées par Soltani *et al.* (1999) ont montré que le TFM, un dérivé des benzoylphénylurées, affecte le taux ovarien des protéines chez *G. affinis*. Les travaux menés in vivo et in vitro sur l'incorporation ovarienne de la leucine traitée ont montré que le DFB inhibe la synthèse protéique dans les ovaires de *T. Molitor* traduisant ainsi son impact sur la vitéllogénèse (Soltani-Mazoni & Soltani, 1995), mais aussi les concentrations en protéines hémolymphatiques chez un Coléoptère *Ténébrion Molitor* (Aribi *et al.*, 2001, 2006). De la même manière le tubufenozide et le methoxyfenozide, agonistes des ecdystéroïdes affectent la vitéllogénèse chez *Cydia pomonella* (Sun *et al.*, 2003). De plus, il a été montré que le traitement de *Spodoptera exigua* et *Leptinotarsa decemlineata*, avec le RH-0345 et le RH-5992, induisait après une augmentation transitoire, une diminution des concentrations de protéines hémolymphatiques avant la mort des individus traités (Smaghe *et al.*, 1996). Ceci peut être dû à l'effet de ces mimétiques des ecdystéroïdes qui provoquent une inhibition de l'alimentation Les travaux de Boulahbel *et al.* (2015) ont montrés une réduction de contenu

ovarien en protéines chez *Drosophila melanogaster* traitée par l'azadirachtin et la 20-hydroxyecdysone. L'azadirachtine affecte également la vitellogénèse chez *Bombus terrestris* (Barbosa *et al.*, 2014).

L'application d'une hormone végétale l'acide gibbérellique affecte la composition biochimique ovarienne chez un Orthoptère *Locusta migratoria* (Abdellaoui *et al.*, 2015). Les travaux de Delimi *et al.* (2015) ont montrés une réduction dans le contenu en protéines ovariens chez *Ephestia kuehniella* traités par des huiles essentiel, extrait d'un plant *Artemisia herba alba*.

La réduction des taux de métabolites ovariens après traitement aux deux engrais utilisés, pourrait s'expliquer par une diminution de la synthèse des vitellogénines dans la glande à albumen ou encore par une perturbation des processus de captation de ces molécules par les ovocytes. Le facteur alimentation peut également jouer un rôle non négligeable dans la perturbation de l'ovogenèse et de la vitellogénèse.

4. 4. Mesure des biomarqueurs

La contamination des sols à une double origine : par les apports de pesticides et d'engrais dans les agrosystèmes, et par le lessivage des polluants atmosphériques (gaz et poussières) par les pluies. Les Gastéropodes terrestres se déplacent à la surface du sol où ils consomment des végétaux et de la terre, mais certaines phases de leur cycle biologique (repos, abri, ponte, développement embryonnaire, hibernation) se passent dans le sol dont ils absorbent des contaminants. Leur vaste répartition, la facilité de leur récolte, leur capacité importante de bioaccumulation et leur régime phytophage ont amené plusieurs chercheurs à considérer les Gastéropodes terrestres comme les indicateurs de pollution (Le Bras, 2007).

Les Gastéropodes survivent bien sur des sites contaminés en métaux, ainsi, *H. pomatia* est considérée comme l'un des concentrateurs les plus efficaces de métaux traces des habitats terrestres pollués (Le Bras, 2007).

Les escargots constituent un élément de réseau trophique qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beedy, 1985 ; Laskowski et Hopkin, 1996b ; Scheifler *et al.*, 2002a), pour ces caractéristiques, ils sont reconnues comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger & Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999) utilisés dans la biosurveillance des écosystèmes terrestres.

L'utilisation des paramètres biochimiques, appelés biomarqueurs, comme indicateurs de la qualité des écosystèmes est devenu courant dans le monde scientifique. 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 ; Mc Laughlin *et al.*, 2000 ; Sturn *et al.*, 2000).

Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs concernent l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier pour mettre en évidence l'exposition à un ou plusieurs contaminants (Badiou, 2007).

Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion-S-transférase. Les enzymes du système de détoxification sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition.

4. 4. 1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Les glutathion S-transférase (GSTs) ont un rôle important dans la détoxification des substances xénobiotiques ou endogènes en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène et la synthèse de l'acide mercapturique qui est ensuite facilement excrétable (Jakoby & Habig, 1980 ; Habig *et al.*, 1974), les GSTs sont également impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèse intracellulaire (Vontas *et al.*, 2000). 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).

Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse (George, 1994).

L'activité spécifique de la GST chez les individus d'*Helix vermiculata* traités par la dose recommandée D1 et la dose recommandée x2 de l'Urée a marqué une augmentation non

significative. Tendus que, on marque une augmentation significative chez les individus traités par la dose recommandée D1 et la dose recommandée x2 D2 de NPK.

Notre résultats est similaire à des résultats notées, chez cette même espèce après l'administration de l'acide borique par voie orale (Habes *et al.*, 2006) ou encore, un pyréthrinoides, la cypermethrine (Valles *et al.*, 2000). L'augmentation de l'activité spécifique des GSTs a été également enregistrée chez *B. germanica* traités au propoxur (Lee *et al.*, 2000). Valles *et al.* (2000) montrent une forte corrélation entre l'induction de l'activité des GSTs et la résistance de *B. germanica* aux différents groupes de pesticides. Chez *B. germanica*.

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 (*Thebapisana*) à un pesticide (Carbamate) et aussi chez l'espèce *Helix aspersa* exposé aux insecticides (Radwan et Mohamed., 2013).

L'accroissement de l'activité spécifique de la GST peut provenir soit d'une modification de la conformation de l'enzyme la rendant plus efficace soit d'une production accrue de protéine, pouvant parfois représenter jusqu'à 14% des protéines totales d'un individu (Cédric, 2008).

4. 4. 2. Effet sur l'activité spécifique du GP_X

Les GP_X sont directement impliquées dans la lutte contre les ERO, puisqu'elles constituent la voie majeure de dégradation des peroxydes. Elles réduisent ces molécules, générant en parallèle du GSSG ROOH+2GSH→ROH+GSSG+H₂O. Les GP_X assurent une fonction anti-oxydante complémentaire aux autres antioxydants non-enzymatiques (otocop3hérol, acide ascorbique) et enzymatiques (SOD, CAT) (Maiorino *et al.*, 1991).

La GP_X est l'un des systèmes de défense antioxydant très puissant, il réduit l'H₂O₂ en H₂O et protège l'organisme contre l'effet cancéreux de cette substance (Zhu *et al.*, 2010).

Notre résultat révèle que les escargots traités par les deux doses de l'Urée et de NPK sont subissent à une augmentation significative chez les individus traités par la dose recommandé D1 de l'Urée et une augmentation hautement significative chez les individus traités par la dose recommandé et la dose recommandé x2 de NPK, ces résultats en accord avec les travaux de (Kavithal *et al.*, 2013) qui on trouvé que la nanoparticule de cadmium à une dose de 100 et 120 ppm/Kg à augmenté l'activité de GP_X chez l'invertébré Mud Carb (*Schylla*

olivacea). Cet effet pourrait être du à l'augmentation du stress oxydatif qui renforce l'activité des enzymes antioxydants chez les animaux (Halliwell and Chirico, 1993).

Le résultat de notre travail et aussi accord avec les travaux de (Zhu *et al.*, 2010) qui utilisant l'oxyde de titane (5 et 10 mg/L) sur *Daphnia magna*, qui montre une augmentation progressive de l'activité spécifique de GP_X en fonction de la concentration de NP_S.

4. 4. 3. Effet sur l'activité spécifique de l'AChE

L'acétylcholinestérase appartenant à la famille des hydrolases, a été découverte en 1938 par Nachmanshn. C'est la mieux connue en tant que cible des organophosphorés et des carbamates qui ont une structure analogue à l'acétylcholine. Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (Haubruge & Amichot, 1998).

L'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification chez les êtres vivants. Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme : dans les jonctions inter-neuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), qui permet la transmission du message nerveux d'une cellule à l'autre. (Le Bras, 2007). L'inhibition de cette enzyme par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, ce qui conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Badilla, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Bainsy, 2000). les insecticides organophosphorés et les carbamates sont considérés comme les plus puissants inhibiteurs spécifiques de cholinestérase (Cassanelli *et al.*, 2006; Alout *et al.*, 2007). Mais des mélanges complexes d'hydrocarbures ont été aussi cités dans la mesure de dépressions de l'AChE (Payne *et al.*, 1996).

Chez les mollusques terrestres, Rorke & Gardner (1974) ont rapporté qu'une forte inhibition de l'activité AChE dans l'hémolymphe de *H. aspersa* est causée par un carbamate ou par l'oxon matière active du fénitrothion (organophosphoré).

Les composés insecticides très toxiques, de la classe des organophosphorés, sont des inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase (wikipedia, 2010).

Les résultats de l'étude de Coeurdassier *et al.* (2001), ont montré que les inhibitions mesurées étaient de plus de 75%, cela pourraient expliquer la léthargie observée des escargots (*H. aspersa*). De nombreux auteurs ont également signalé que les organismes peuvent survivre à une forte inhibition de l'AChE activités (>80%) (Bocquené *et al.*, 1997).

Des effets neurotoxiques de substances organiques non-molluscicides ont été évalués, notamment par Rorke *et al.* (1974) qui observent une inhibition de 90% de l'activité des cholinestérases dans l'hémolymphe de *Helix aspersa* provoquée *in vitro* par une solution de 10-4g/L fenitro-oxon (OPs) ou de physostigmine (carbamate). Le fenitrothion et le diethylphénylphosphate (OPs) ne provoquent aucune inhibition des cholinestérases à la concentration de 10-3g/L (Coeurdassier *et al.*, 2002). L'inhibition de l'activité AChE, chez *Helix aspersa*, a été également rapportée après traitement topique au méthomyl, au carbofuran, au chlorpyrifos et au paraquat (Salama *et al.*, 2005). En effet, ces auteurs ont démontré que les deux carbamates, le carbofuran et le méthomyl étaient plus puissants vis-à-vis de l'inhibition de l'AChE que les deux organophosphorés le chlorpyrifos et le paraquat. Chez *Pomacea Paula*, Mora *et al.* (2000) montrent une inhibition de l'activité des AChE qui est corrélée à la concentration en carbaryl dans le même organe.

Chez *Helix aspersa*, Coeurdassier *et al.* (2001) ont également démontré que l'activité AChE est inhibée de 10% après 7 jours d'exposition au diméthoate à des concentrations très proches de celles recommandées pour l'épandage en champ. L'inhibition de l'activité AChE, connue pour être relativement spécifique de l'exposition aux OPs et aux carbamates, est également provoquée, à un degré moindre, par d'autres composés organiques naturels, synthétiques et des ions métalliques (Mora, 1998).

Certaines études ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par d'autres contaminants environnementaux incluant les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Dellali *et al.*, 2001).

4. 4. 4. Effet sur l'activité spécifique de la LDH

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme cytoplasmique hydrolytique de la famille des oxydo-réductases (Kaplan & Pesce, 1996) qui joue un rôle important dans le cycle glycolytique (Senthil Nathan *et al.*, 2006) en catalysant la réaction réversible et la transformation du lactate en pyruvate (Benoist *et al.*, 2003) et l'oxydation du NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) en NADH₂ (nicotinamide adénine dinucléotide réduit) (Vassault, 1983; Tietz, 1987). Les niveaux de la LDH sont utilisés chez les espèces étudiées dans le domaine toxicologique et en biologie clinique et dans l'indication de l'exposition à un stress chimique (Wu & Lam, 1997; Diamantino *et al.*, 2001 ; Das *et al.*, 2004) pour le diagnostic des lésions cellulaires et tissulaires (Tietz, 1987 ; Asztalos *et al.*, 1990 ; Gupta *et*

al., 1991). La LDH est également utilisée comme biomarqueur de pollution (Chen *et al.* 2001; Long *et al.*, 2003).

La mesure de l'activité LDH a été largement utilisée en biologie clinique comme diagnostic des lésions cellulaires et tissulaires (Tietz, 1987 ; Asztalos *et al.*, 1999 ; Gupta *et al.*, 1991)

Nos résultats ont révélé une augmentation de l'activité spécifique de la LDH. Le traitement avec l'Urée et le NPK révèle une augmentation de l'activité spécifique de la LDH dans l'hépatopancréas d'*Helix vermiculata* comparativement aux témoins. La différence de l'augmentation entre les séries témoins et traités pourrait expliquer une réaction de l'organisme face à l'entrée d'un xénobiotique, de par le stress chimique induit par ces deux molécules. En effet, la stimulation de la LDH suggère que le produit final de la glycolyse, le pyruvate, est préférentiellement utilisé pour la production du lactate dans le but de subvenir à l'importance et la rapide demande d'énergie causée par le stress toxique (Begum & Vijayarghavan, 1999).

En revanche, Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Long *et al.* (2003), qui signalent une augmentation suivie d'une diminution de l'activité LDH hépatique chez la moule, *Mytilus edulis* exposée à différentes concentrations d'hydrocarbures. Selon Ribeiro *et al.* (1999), l'activité LDH est altérée par les insecticides organophosphorés et organochlorés. L'augmentation de l'activité LDH après traitement a été enregistrée chez *Blattella germanica* traité avec l'acide borique (Sifi, 2002) et chez *Macquaria novemaculeata* après exposition au pétrole brut (Cohen *et al.*, 2001).

les travaux de Kilani-Morakchi (2007) ont montré une augmentation de cette enzyme à 24 heures, suivi d'une inhibition après 48 heures de traitement des adultes de *B. germanica* par l'acide borique par voie orale ; cette réduction pourrait s'expliquer par une baisse du métabolisme glucidique conduisant probablement à un affaiblissement de l'organisme et lié à la diminution ou à l'arrêt de l'alimentation vu la désorganisation de la structure de l'intestin (Habes *et al.*, 2006). L'azadirachtine antagoniste des ecdystéroïdes inhibe l'activité spécifique de la lactate déshydrogénase chez *Cnaphalocrocis medinalis* (Senthil Nathan *et al.*, 2006). Cependant, un inhibiteur de la synthèse de la chitine le diflubenzuron ou encore un pyréthrianoïde, l'ambush entraînent l'augmentation de cette activité chez *Tribolium castaneum* (Saleem & Schakoori, 1987). Des résultats similaires ont été rapportés par Azmi

et al. (2002) après le traitement des larves de *Culex fatigans* avec un organochloré (DDT), un organophosphoré (le malathion) et un pyrétroïde (la cyfluthrine).

Conclusion

Conclusion

Le principal objectif de notre travail de thèse était d'étudier les effets de deux engrais, l'Urée et le NPK appliquées par contact, chaque molécule à deux doses. L'escargot terrestre *Helix vermiculata*, utilisé comme espèce bioindicateur de la contamination des sols. Les expérimentations ont été menées sur le comportement, certains paramètres morphométriques, le contenu de la vitellogénines au niveau de la glande à albumen, la biochimie de l'hépatopancréas, la mesure de quelques biomarqueurs du stress oxydant (AChE, GST, LDH et GP_X), et la croissance des juvéniles.

Les deux engrais testés entraînent des altérations comportementales, comme la diminution de l'activité et de la prise alimentaire aux plus fortes concentrations. Ainsi, ces molécules perturbent les performances individuelles en modifiant l'acquisition de l'énergie. En plus, ces altérations comportementales sont accompagnées par une réduction significative des paramètres physiologiques tels que le poids frais moyen des escargots et le diamètre de la coquille. Ces perturbations physiologiques peuvent entraîner, par conséquent, des effets délétères sur la reproduction telle que le développement des organes reproducteurs. Les mécanismes biochimiques et physiologiques responsables de tels effets restent à identifier.

D'un autre côté, la composition biochimique de l'hépatopancréas est également affectée par les engrais testés, avec une augmentation significative des lipides.

Une diminution de contenu en vitellogénines.

En plus, l'Urée et le NPK exercent une action neurotoxique chez les juvéniles d'*Helix vermiculata* se traduisant par une inhibition de l'activité AChE. Ces perturbations nerveuses peuvent expliquer, au moins en partie, les diminutions observées de la durée des prises alimentaires et de la quantité d'aliment ingéré. Les deux engrais induisent également le système de détoxification par le biais d'une augmentation des activités de la GST, LDH et celle de la GP_X. Ses modifications sont probablement liées à une augmentation de la libération d'espèces réactives de l'oxygène en présence des engrais.

En fin, nous pouvons confirmer que l'Urée et le NPK induit des perturbations au niveau biochimiques et physiologiques.

En vue de l'importance de l'utilisation des engrais, il serait intéressant de pour suivre la recherche afin de bien connaître leurs mécanismes d'action, car ce travail reste préliminaire et peu indicatif.

Résumé

Résumé

Le travail exposé dans cette mémoire a pour but d'évaluer les effets de deux engrais, l'Urée et le NPK sur un invertébré bioindicateur, l'escargot *Helix vermiculata* dans des conditions de laboratoire.

Des escargots juvéniles et subadultes ont été exposés par contact pendant 8 semaines à des feuilles de laitue fraîche imbibées d'engrais. Les effets des deux engrais, ayant des modes d'action différents ont été comparés. La croissance, la nutrition, la viabilité et la mortalité des escargots juvéniles et subadultes sont notées d'une façon hebdomadaire pendant la période de traitement.

Nous avons cherché à évaluer les effets d'un éventuel stress oxydatif au niveau de l'hépatopancréas et au niveau des têtes des escargots, et ce par le suivi de l'activité de certains biomarqueurs enzymatiques : la GST, LDH, AChE et GPx, Nous avons également mesuré le taux des compositions biochimiques (Glucides, protéines et lipides) au niveau de l'hépatopancréas, on détermine aussi le taux de la vitellogénines au niveau de la glande à albumen, ainsi que quelques paramètres morphométriques (poids de l'hépatopancréas et de l'appareil reproducteur, aspect de la glande à albumen), et des paramètres comportementaux.

Nos résultats montrent une augmentation non significative de contenu en glucides et une diminution de contenu en protéines. Alors que, le contenu en lipides marque une augmentation significative et parfois non significative. Le contenu en vitellogénines marque aussi une diminution significative et parfois non significative.

La croissance d'*Helix vermiculata* (poids et diamètre de la coquille) marque des variations pendant les huit semaines de traitement.

Une induction de l'activité des enzymes antioxydantes telles que la GST, GPx et LDH, parallèlement à une augmentation du taux de GST, LDH et de la GPx, à une diminution du taux de l'AChE. Ceci a été observé aussi bien au niveau de la glande digestive. D'un autre côté nous avons également mis en évidence aussi un effet morphométrique de l'Urée et de NPK traduit par une diminution non significative du poids de l'hépatopancréas et une augmentation non significative et parfois significative de l'indice gonadique d'*Helix vermiculata*.

L'examen comportemental a révélé une perturbation des séries des symptômes comme la perte de la chimioréception et l'augmentation du taux de la mortalité corrigée chez les séries traitées.

Mots clés : *Helix vermiculata*, Urée, NPK, glucides, protéines, lipides, vitellogénines, glande à albumen, stress oxydative, GST, GP_x, LDH, AChE.

The aim of this graduation note is to evaluate the effects of two fertilizers, Urea and NPK on a bioindicator invertebrate, the *Helix vermiculata* snail under laboratory conditions.

Juvenile snails and subadult were exposed by contact for 8 weeks to lettuce leaves soaked in fertilizer. The effects of the two fertilizers, having different modes of action, were compared. Growth, nutrition, viability and mortality of juvenile and subadult snails are noted weekly during the treatment period.

We sought to evaluate the effects of oxidative stress on hepatopancreas and snail heads by monitoring the activity of certain enzymatic biomarkers: GST, LDH, AChE and GPx, We also measured the level of biochemical compositions (carbohydrates, proteins and lipids) in the hepatopancreas, we also determine the level of vitellogenins in the albumen gland, as well as some morphometric parameters (weight of the hepatopancreas And the reproductive tract, aspect of the albumen gland), and behavioral parameters.

Our results show a non-significant increase in carbohydrate content and a decrease in protein content. While, the lipid content marks a significant and sometimes not significant increase. The vitellogenin content also marks a significant and sometimes insignificant decrease.

The growth of *Helix vermiculata* (weight and diameter of the shell) marks variations over the eight weeks of treatment.

Induction of the activity of antioxidant enzymes such as GST, GPx and LDH, along with an increase in the GST, LDH and GPx levels, decreased the level of AChE. This has been observed both in the digestive gland. On the other hand, we also demonstrated a morphometric effect of Urea and NPK, which is reflected by a non-significant decrease in the weight of the hepatopancreas and a non significant and sometimes significant increase in the *Helix gonad index vermiculata*.

Behavioral examination revealed a disruption of symptom series such as loss of chemoreception and an increase in the corrected mortality rate in the treated series.

Key words: *Helix vermiculata*, urea, NPK, carbohydrates, proteins, lipids, vitellogenins, albumen gland, oxidative stress, GST, GPX, LDH, AChE.

لعمل الواردة في هذه المذكرة يهدف إلى تقييم الآثار المترتبة على اثنين من الأسمدة واليوريا والنيروجين على المؤشرات بيولوجية للحزون *Helix vermiculata* في ظروف المختبر.

وقرب البالغ القواقع الأحداث تعرضوا عن طريق الاتصال لمدة 8 أسابيع في أوراق الخس الطازجة غارقة الأسمدة. وتمت مقارنة آثار كل من الأسمدة مع وسائل مختلفة للعمل. وأشار النمو والتغذية والاستدامة وفيات القواقع الأحداث وقرب البالغ أسبوعيا أثناء فترة العلاج.

سعيًا لتقييم الآثار المترتبة على الأكسدة ممكن في بنكرياس كبدي وعلى رؤساء القواقع، ومن خلال مراقبة نشاط بعض المؤشرات الحيوية انزيم GST: ، LDH، أستيلكولينستراز وغبكس، ونحن أيضا قياس نسبة التراكيب الكيميائية الحيوية (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) في بنكرياس كبدي، فإنه يحدد أيضا معدل vitellogenins في الغدة زلال وبعض المعلمات المظهرية (بنكرياس كبدي الوزن والجهاز التناسلي، الجانب من غدة الزلال) والمعايير السلوكية.

نتائجنا تظهر زيادة غير كبيرة في محتوى الكربوهيدرات وانخفاض في محتوى البروتين. وفي حين أن مضمون الدهون هو زيادة كبيرة، وأحيانا غير الهامة. يصادف vitellogenins المحتوى أيضا انخفاضا كبيرا، وأحيانا غير ملحوظ.

نمو اللوب الدودي الشكل (وزن وقطر ثل) الاختلافات العلامة التجارية خلال ثمانية أسابيع من العلاج.

تحريض نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل GST ، غبكس و LDH بالتوازي مع زيادة في معدل GST ، LDH وغبكس، إلى انخفاض معدل أستيلكولينستراز. وقد لوحظ ذلك في كل من غدة في الجهاز الهضمي. من ناحية أخرى علينا أيضا أن يسلط الضوء عليها تأثير المورفولوجية من اليوريا وأسفرت NPK في خفض nonsignificant في وزن بنكرياس كبدي وزيادة nonsignificant وكبيرة في بعض الأحيان في مؤشر الغدد التناسلية اللوب الدودي الشكل.

وكشف الفحص السلوكي سلسلة تعطيل أعراض مثل فقدان استقبال كيميائي وزيادة معدل وفيات تصحيحه في سلسلة المعالجة.

كلمات البحث: اللوب الدودي الشكل، واليوريا، NPK، والكربوهيدرات، والبروتين، والدهون، vitellogenins، الغدة زلال، الأكسدة، GST، GPX، LDH، أستيلكولينستراز.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques :



- **Abdellaoui K., Ben Halima-Kamel M., Fatma A., Soltani N., Aribi N., Ben Hamouda M. H., 2015.** Effects of gibberellic acid on ovarian biochemical composition and ecdysteroid amounts in the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera, Acrididae). *Int. J. Pest Manag*, 61(1), 68-72.
- **Aliouane Y., El Hassani AK., Gary V., Armengaud C., Lambin M., Gauthier M., 2009.** Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behaviour. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 28(1): 113–122.
- **Alout H., Berthomieu A., Hadjivassilis A., Weill M., 2007.** A new amino-acid substitution in acetylcholinesterase 1 confers insecticide resistance to *Culex pipiens* mosquitoes from Cyprus. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 37(1): 41-47.
- **Amiard-Triquet, C., Altmann, S., Amiard, J.C., Ballan-Dufrançais, C., Baumard, P., Budzinski, H., Crouzet, C., Garrigues, J.P., His, E, Jeantet, A.Y., Menasria, R., Mora, P., Mouneyrac, C., Narbonne, J.F. and Pavillon, J.F., 1998.** Fate and effects of micropollutants in the Gironde estuary, France: a multidisciplinary approach. *Hydrobiologia*, 373/374: 259-279.
- **Arasta T., Bais V.S., Thakur P., 1996.** Effect of Nuvan on some biological parameters of Indian catfish, *Mystus vittatus*. *Journal of Environmental Biology*. 17: 167-169.
- **Aribi N., Lakbar C., Smaghe G., Soltani N., 2001.** Comparative action of RH-0345 and pyriproxyfen on moulting hormone production and protein analysis in mealworm pupae. *Med. Fac. Landuww. Univ. Gent*, 66/a, 445-454.
- **Aribi N., Smaghe G., Lakbar S., Soltani-Mazouni N., Soltani N., 2006.** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol*, 84, 55-62.
- **Asztalos B., Nemcsok J., Benedeczky L., Gabriel R., Szabo A., Refaie O. J., 1990.** The effects of pesticides on same biochemical parameters of crap (*Cyprinus carpio* L.)

in: Ribeiro S., Guilhermino L., Soussa J. P. and Soares A. M. V. M., (Ed). Novel bioass based on acetylcholinesterase and lactate dehydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 44, 287- 293.

- **Azmi M. A., Ahmad I., Naqvi S.N.H., Akhtar K., 2002.** Level of lactate dehydrogenase (LDH) in resistant and susceptible strains of culicine mosquitoes of the Karachi Region after treatment with DDT, malathion and cyfluthrin. *Turk. J. Zool*, 26(1), 97-100.



- **Badilla, S., 1995.** Regulation and research issues related to cholinesterase inhibition. *Toxicology*, 102: 105.
- **Badiou A., 2007.** Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'abeille, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, FRA.
- **Bainy, A.C.D., 2000.** Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*, 191: 163-168.
- **Baturo W., Lagadic L., Caquet T., 1995.** Growth, fecundity and glycogen utilization in *Lymnaea palustris* (Mollusca: Gastropoda) exposed to atrazine and hexachlorobenzene in freshwater mesocosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 14: 503-511.
- **Beaumont A. et Cassier P., 1981.** Biologie animales des protozoaires et épithélioneuriens. Tome 01, 3^{ième} édition. Dound, pp 472.
- **Beedy, A, 1985.** The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology*, 22: 267-275.
- **Beeby A, Richmond L., (2011).** Magnésium and the déposition of lead in the Shell of three populations of the garden snail *Cantareus aspersus*. *Environ Pollut*. 2011 Jun; 159(6):1667-72. Epub 2011 Mar 21 (résumé archive).

- **Begum G., Vijayaraghavan S., 1999.** Effect of Acute Exposure of the Organophosphate Insecticide Rogor on Some Biochemical Aspects of *Clarias batrachus* (Linnaeus). *Envir. res*, 80(1), 80-83.
 - **Benoist J. F., Alberti C., Leclercq S., Rigal O., Jean-Louis R., de Baulny H. O., Porquet D., Biou D., 2003.** Cerebrospinal fluid lactate and pyruvate concentrations and their ratio in children: age-related reference intervals. *Clin. Chem*, 49(3), 487-494.
 - **Berger, B., et Dallinger, R., 1993.** Terrestrial snail as quantitative indicators of environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25 : 65-84.
 - **Bingham G., Gunning R.V., Delogu G., Borzatta V., Field L.M., Moores G.D., 2008.** Temporal synergism can enhance carbamate and neonicotinoid insecticidal activity against resistant crop pests. *Pest Management Science*. 64: 81-85.
 - **Bocquené, 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.
 - **Bocquené, G., Galgani, F., Walker, C.H., 1997.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In Lagadic L, Caquet T, Amiart JC, Ramade F, eds, *Biomarqueurs en Ecotoxicologie, Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris, France, 209–240.
 - **Boulahbel B., Aribi N., Kilani-Morakchi S., Soltani N., 2015.** Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *Afric. Entomol*, 23(1), 224-233.
 - **Bouziani M., 2007.** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de médecine et de la santé. *Santémaghreb*. [consulté le, 11/12/2011]. <http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm>.
 - **Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, 72 : 248 - 254.
- ⤵
- **Caquet T., Lagadic L., 1998.** Conséquences d'atteintes individuelles précoces sur la dynamique des populations et la structuration des communautés et des écosystèmes. In

Utilisation de Biomarqueurs pour la Surveillance de la Qualité de l'Environnement (eds L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard et F. Ramade), Lavoisier TEC & DOC, Paris. 265-298.

- **Carpenter D.O., Swann J.W., Yarowsky P.J., 1977.** Effect of curare on responses to different putative transmitters in *Aplysia* neurons. *Journal of Neurobiology*. 8(2): 119-132.
- **Casabe N, Piola L, Fuchs J, Oneto ML, Pamparato L, Basack S, Gimenez R, Massaro R, Papa JC et Kesten E., (2007).** "Ecotoxicological assessment of the effects of glyphosate and chlorpyrifos in an Argentine soya field." *Journal of Soils and Sediments* 7(4): 232-239.
- **Cassaneli S., Reyes M., Rault M., Manicardi G.C., Sauphanon B., 2006.** Acetylcholinesterase mutation in an insecticide resistant population of the godling moth *Cydia pomonella* (L.). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 36: 642-653.
- **Cédric P., 2008.** Interactions entre insecticides non pyréthriinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat, Université de Montpellier I, Formation doctorale : Parasitologie. 65 p.
- **Chevalier H., 1983.** Les escargots comestibles commercialisent en Europe occidentale. Informatique technique des services vétérinaires : l'escargot et l'héliciculture. Paris, France, pp 31.
- **Chevallier H., 1992.** L'élevage des Escargots. Production et Préparation du Petit-gris. 2ème édition. Edition du point vétérinaire, Maisons-Alfort. Paris. 144 p.
- **Cheverry C., 1994.** La dégradation chimique des sols en Bretagne. Etude et Gestion des sols, 1, pp 17-26.
- **Choukis., 2005.** Etude biométrique de deux espèces d'escargot méditerranéen : *Helix aspersa maxima* (Muller, 1974) et *Rumina decollata* (Linnaeus, 1758) vivant dans la région de Tébesa. Pp. 7-11.
- **Cœurassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D. and Badot, P.M. (2001)** *The garden snail (Helix aspersa) as bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth and*

acétylcholinestérase activity. Environmental Toxicology and Chemistry, 20, pp. 1951-1957.

Г

- **Chen K., Liu Q., Xie L., Sharp P. A., Wang D.I.C., 2001.** Engineering of a mammalian cell line for reduction of lactate formation and high monoclonal antibody production. *Biotechnol. Bioeng*, 72(1), 55-61.
- **Chen Z.Z., Newcomb R., Forbes E., McKenzie J., Batterham P., 2001.** The acetylcholinesterase gene and organophosphorus resistance in the Australian sheep blowfly. *Lucilia cuprina. Insect. Biochem. Mol. Biol*, 31, 805-816.
- **Cœurdassier, M., Gomot-De Vaufleury, A. and Badot, P.M. (2002)** Laboratory and field methods to use terrestrial land snails as bioindicator of pollution. 23rd SETAC North-America Congress, 16-20 November 2002, Salt Lake City, Utah, États-Unis.
- **Cœurdassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C. and Badot, P.-M. (2002)** *Is the epithelial cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails.* Ecotoxicology and Environmental Safety, 53, pp. 425-431.
- **Cohen A.M., Nugegoda D. & Gagnon M.M., 2001.** Metabolic respons of fish following exposure to two different oil spill remediation technics. *Ecotoxicol. Environ. Safety.*, 48: 306-310.
- **Cortet, J., Gomot-de Vaufleury, A., Pointso-Blaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D., 1999.** The use of invertebrate soil fauna in monitoring polluants effects. *European Journal of Soil Biology*, 35: 115-134.
- **Cosson R. and Amiard J.C., 1998.** Utilisation des métallothionéines comme biomarqueurs d'exposition aux métaux. In L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard et F. ramade (eds), *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*, Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp. 77-103.

Д

- **Daguzan J., 1983.** L'escargot et l'héliciculture. Informatique technique des services vétérinaires. Malacologie muséum. Paris, pp 165.

- **Das P. C., Ayyappan S., Jena J. K., Das, B. K., 2004.** Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquacult. Res*, 35(2), 134-143.
- **Datta M., Kaviraj A., 2003.** Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to freshwater catfish *Clarias gariepinus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 70 (2): 296-299.
- **Daumer M.L, Beline F, Guiziou F, Sperandio M.** Influence of pH and Biological Metabolism on Dissolved Phosphorus during Biological Treatment of Piggery Wastewater. *Biosystems Engineering.*, 96:3 (2007) 379–386.
- **Dellali, M., Barelli, M.G., Romeo, M., & Aissa, P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *mytilus galloprovincialis* in the biomonitoring of bizarta lagon. *Comp. Biochem. And Physiol.*, Part C, **130** : 227-235.
- **Delimi A., Taibi F., Fissah A., Gherib S., Bouhkari M., Cheffrou A., 2015.** Bio-activité des huiles essentielles de l'Armoise blanche *Artemessia herba alba*: effet sur la reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 82-90.
- **Duchateau G. & Florkin M., 1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.



- **EC (2002b).** Review report for the active substance glyphosate. Finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 29 June 2001 in view of the inclusion of glyphosate in Annex I of Directive 91/414/EEC. European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General. Directorate E Food Safety: plant health, animal health and welfare, international questions. E1 - Plant health.
- **Edward, C.A., Subler, S., Chen, S.K., Bogomolov, D.M., 1996.** Essential criteria for selecting bioindicator species, processes, or systems to assess the environmental impact of chemicals on soil ecosystems. In : Van Straalen, N.M., Krivolutsky, D.A., (Eds). *Bioindicator Systems for Soil Pollution*. Kluwer, Amsterdam, The Netherlands, 67-84.

- **Egonmwan RI**, (2007). "Gross morphology and ultrastructural study of albumen gland of the land snail *Archachatina marginata ovum* (Pfeiffer) (Pulmonata: Achatinidae)." *Pakistan Journal of Biological Sciences* **10**(2): 322-325.
- **Eijsackers, H.**, 1983. Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, **3**: 307-316.
- **Eissa S.H., Rizk E.T., Abou-Shafey A.E., Mona M.H., Atlum A.**, 2002. Toxicological effect on *Euphorbia peplus* water suspension on heamocytes of the fresh water snails, *Biomphalariaalexandrina* and *Lanistes carinatus*. *Proc LCBS*. 2: 417-447.
- **Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. & Featherstone R.M.**, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acétylcholinestérase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7**: 88 – 95.
- **El-Wakil H.B., Attia A.M.**, 1999. Effect of selected insecticides on terrestrial snails *Eobania vermiculata* (Müller) and *Theba pisana* (Müller) with respect to some morphological changes in Egypt. *Journal of Environmental Sciences and Health B*. 34: 47-60.
- **El-Wakil H.B., Radwan M.A.**, 1991. Biochemical studies on the terrestrial snail *Eobania vermiculata* (Müller) and *Thebapisana* ((Müller) treated with some pesticides. *Journal of Environmental Science Health*. B34: 47-60.

F

- **Fabre, M.C., Descamps, M. & Baert, J.L.** 1990. Identification and Partial Characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulata* LATREILLE (Myriapoda Chilopoda). *In Proceedings of the 8th International Conference on Myriapodology*, Innsbruck, Austria. Ber. nat.-ined. Verein Innsbruck. 117-121.
- **Floche., Gunzler, W.A.**, (1984). Analyse of glutathione peroxidase, *Methods Enzymol.*105, 114-121.
- **Forbes V.A., Forbes T.L., Rivière J.-L.**, 1997. Écotoxicologie: théorie et applications. Editions Quae, Paris. 424 p.
- **Forjet, J., Pavillon, J.F., Beliaeff, B., & Bocquené, G.**, 1999. Joint action of pollutant combination (pesticides and metals) on survival (LC50 Values) and

acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chemes.*, **18(5)** : 912-918.

- **François R**, 2012. Eléments d'écologie, Ecologie appliquée : Action de l'homme sur la biosphère, 7^{ème} édition. Editions Dound, Paris. Pp, 199-202.



- **Gaillard, J.**, 1991. Les mollusques, document photocopié du module de la conférence sur les animaux venimeux au Muséum d'Histoire Naturelle de Paris, juillet 1999. 1-18.
- **George S.G.**, 1994. Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. In Malins, D.C., Ostrander, G. K. *Aquatic. Toxicology, Molecul. Biochem and Cell. Perspect.* Lewis, Boca Raton, FL, pp. 37-85.
- **Ghasemi A., Sendi J., Ghadamyari M., 2010.** Physiological and biochemical effect of Pyriproxyfen on Indian meal moth *Plodia Interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Plan.t Protec. Rese*, 50(4), 416-422.
- **Gimbert F., Mench M., Coeurdassier C., Badot P.-M. de Vaufleury A.**, 2008. Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. *Environmental Pollution*. 152: 736-745.
- **Glickman A.H., Lech J.J.**, 1982. Differential toxicity of transper-methrin in rainbow trout and mice. II. Role of target organ sensitivity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 66: 162-171.
- **Goldworthy A.C., Mordue W. & Guthkelch J.**, 1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18** : 306-314.
- **Gomot P et Gomot L.**, (1985). "Action de la photopériode sur la multiplication spermatogoniale et la reproduction de l'escargot *Helix aspersa*." Bulletin de la Société zoologique de France **110**: 445-459.
- **Gomot A., Gomot L., Boukraa S., Bruckert S.**, 1989. Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa* - an expérimental study of the absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*. 55: 1-7.
- **Gomot A.**, 1997a. Dose-dépendent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 33: 209-216.

- **Gomot-de Vaufleury, A. and Pihan, F.** (2000) *Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace éléments.* Chemosphere, 40, pp. 275-284.
 - **Gomot-de Vaufleury A., Bispo A.,** 2000. Method for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails. 1. Sublethal effects on growth. *Environmental Sciences and Technology.* 34: 1865-1870.
 - **Gomot-de Vaufleury A., Keroas I.,** 2000. Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa.* *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 64: 434-442.
 - **Gomot-de Vaufleury A.,** 2001. Regulation of growth and reproduction. *The biology of terrestrial molluscs.* Barker GM. Oxon, CABI: 331-355.
 - **Gomot A.,** 1997a. Dose-dépendent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 33: 209-216.
 - **Grara N., Bouloudenine M, Khaldi F, Zenir Z, Abdelmadjid S.** 2015. Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement *Environ. Sci.* 6 (9) 2596-2603.
 - **Grzimek, B., Fontaine, M.,** 1973. *Le Monde Animal*, Edition stauffacher S.A., Zurich volume III : Mollusques Echinodermes 19-23, 123-134.
 - **Gupta R. C., Goad J. T., Kadel W. L.,** 1991. *In vivo* alterations in lactate deshydrogenases (LDH) and LDH isoenzymes patterns by acute carbofuran intoxication. *in:* Ribeiro B., Guilhermino L., Sorsa J. P. and Soares A. M. V. M., (Ed). Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Ecotox. Envir. Safety.*, 44, 287-293.
- ¶**
- **Habes D., Kelani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P., Soltani N.,** 2006. Boric acid toxicity of the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84, 17-24.

- **Habig W.H., Pabst M.J. & Jakoby W.B.**, 1974. Glutathione S-Transférases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**: 7130-7139.
- **Halliwell and Chirico S.** 1993. Lipid peroxidation : its Mechanisms, measurement, and significance. *The American journal of clinical nutrition.* 57 : 715-724.
- **Howe CM, Berrill M, Pauli BD, Helbing CC, Werry K et Veldhoen N** (2004). "Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species." *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**(8): 1928-1938.
- **Haubruge E. & Amichot M.**, 1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **2** (3): 161-174.
- **Heller J., Magaritz M.**, 1983. From where do land snails obtain the chemicals to build their shells? *Journal of Molluscan Studies.* 49: 116-121.
- **Herbert, A., Guilhermino, L., Assis, H.C.S., and Hansen, P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift angewandt zoologie*, **3**: 1-5.
- **Hill B. R., Lévi C.**, 1954. *In: practical clinical enzymology.* J. King., 1965. *Group Pathology Departement, North Lonsdale Hospital.* D. VANNOS TRAND Compuny LTD London. Pp 21.
- **Hopkin, S.P.**, 1993. In situ biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems. In : Calow P (Ed). *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell, Oxford, 397-427.
- **Houame S.**, 2004. Inventaire des espèces d'escargots « mollusques gastéropodes ». Dans la région de Tébessa. Mémoire d'ingénieur. Centre universitaire de Tébessa, pp 65.
- **Howe CM, Berrill M, Pauli BD, Helbing CC, Werry K et Veldhoen N** (2004). "Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species." *Environmental Toxicology and Chemistry* **23**(8): 1928-1938.

J

- **Irlande M.P.**, 1991. The effect of dietary calcium on growth, shellthickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. *Comparative biochemistry and Physiology*. 98 A: 111-116.

I

- **Jakoby, W. B., & Habig, W. H. (1980)**. Glutathione transferases. *Enzymatic basis of detoxication*, 2, 63-94.
- **Joëlle, M.**, 2015. L'adaptation des escargots. Lycée Jules- Hordouin Mansart de Saint Cyr l'école (académie de Versailles), pp 7.
- **Jordaens K., Wolf H., Vandecasteele B., Blust R., Backeljau T.**, 2006. Associations between shell strength, shell morphology and heavy metals in the land snail *Cepaea nemoralis* (Gastropoda, Helicidae). *Science of the Total Environmental*. 363: 285-293.
- **Jumel A., Lagadic L.**, 2000. Metabolism of polysaccharides in *Lymnaea palustris* (Mollusca, Gastropoda) exposed to 4-nonylphenol and nonylphenol dodecylethoxylate in mesocosms. *Third SETAC World Congress. Global Environmental Issues in the 21th Century: Problems, Causes and Solutions*. Brighton, Angleterre.

K

- **Kavithal R., Deepa R., Sivagnanam S., Padmajal., M.** 2013. Cadmium Nanoparticle Induced Histological and Biochemical changes in Hepatopancreas of Mud Crab *Scylla olivacea*, *Journal of Academia and Industrial Research*. (2) : 205-209.
- **Kerny M.P. et Cameron R.A.D.**, 1999. Guide des escargots et limaces d'Europe. Identification et biologie de plus de 300 espèces. Adaptation française : Alain Bertrand, 1999. Ed. Delachaux et Niestlé S. A, Lausanne (Suisse). Paris, pp 28.
- **Kilani-Morakchi S.**, 2007. Effets de trois groups de pesticide sur différents aspects physiologiques des adultes de *Blattella germanica*: Reproduction, biomarqueurs enzymatiques et hydrocarbures cuticulaires. Thèse de Doctorat. *Université d'Annaba. Algérie*, 137 p.

I

- **Lagadic, L., Caquet, T. & Amiard, J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. In Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux (eds L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard & F. Ramade), Masson, Paris, p. 1-9.
- **Laguerre C., Sanchez-Hernandez J.C., Köhler H.R., Tribskorn R., Capowiez Y., Rault M., Mazzia C., 2009.** B-type esterases in the snail *Xeropicta derbentina*: An enzymological analysis to evaluate their use as biomarkers of pesticide exposure. *Environmental Pollution*. 157 (1): 199-207.
- **Lalmi N. et Mahrez S., 2006.** L'effet de la photopériode sur la croissance d'une espèce d'escargot méditerranéen : *Helix vermiculata* dans la région de Tébessa. Mémoire de D.E.S., U.C.L.T : pp 26.
- **Laskowski, R. et Hopkin, S.P., 1996b.** Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail *Helix aspersa* : implications for predators. *Environmental pollution*, **91**: 289-297.
- **Le Bras, G., 2007.** Ecotoxicologie & Méthodes d'investigation - Les bioindicateurs, Version 2.0 – 2000-2007. 33 p.
- **Lee C. Y., Hemingway J., Yap H. H., Chong N. L., 2000.** Biochemical characterization of Insecticide resistance in the German cockroach, *Blattella germanica*, from Malaysia. *Med. Vet. Entomol*, 14(1), 11-18.
- **Long S.M., Ryder K.J., Holdway D.A., 2003.** The use of respiratory enzymes as biomarkers of petroleum hydrocarbon exposure in *Mytilus edulis plumulatus*. *Ecotox. Envir. Safe*, 55, 261-270.



- **Mahler H. & Cordes E., 1968.** Biological Chemistry, Harper and Row.
- **Maiorino M, Chu FF, Ursini F, Davies KJA' Doroshov JH, Esworthy RS (1991)** Phospholipidhydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines *J BiolChem* 266:7728-
- **Mallem L., Keck G., Franck M. and Boulakoud M., 2007.** Effets du Manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin. *Revue Méd. Vét.*, 158, p 8-9, 452-457.
- **Mazzia C., Capowiez Y., Sanchez-Hernandez J.C., Köhler H.-R., Tribskorn R., Rault M., 2011.** Acetylcholinesterase activity in the terrestrial snail *Xeropicta*

derbentina transplanted in apple orchards with different pesticide management strategies. *Environmental Pollution*. 159(1): 319-323.

- **McLoughlin N., Yin D., Maltby L., Wood R.M., Yu H.,** 2000. Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19: 2085-2092.
- **Mebarkia M.,** 2006. Etude de la croissance relative et précision des stades de développement de trois espèces d'escargots comestibles : *Hélix aspersa*, *Hélix melanostoma* et *Hélix vermiculata*, dans la région de Tébessa. Mémoire de D.E.S., U.C.L.T : pp 26.
- **Menaceur N.** 2015. Effet du carbofuran sur quelques paramètres biologiques chez un gastéropode « *Helix aspersa* ». Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de MASTER En Toxicologie fondamentale. Université de Tébessa. P 40.
- **Michel X.,** 1993. Contribution à l'étude des interactions entre les contaminants chimiques organiques et les organismes marins : bases moléculaires et applications à la biosurveillance de l'environnement côtier. *Thèse de l'Université de Bordeaux I*, n° d'ordre 993.
- **Mora P.,** 1998. Caractérisation des cholinestérases de trois mollusques bivalves : *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis* et *Corbicula fluminea*. Contribution au développement d'un biomarqueur de contamination des milieux marins et dulçaquicoles. Rapport de Thèse N° 1912, Université Bordeaux I, Bordeaux. 260 p.
- **Mora B.R., Martinez-Tabche L., Sanchez-Hidalgo E., Hernandez G.C., Ruiz M.C.G., Murrieta F.F.,** 2000. Relationship between toxicokinetics of carbaryl and effect on acetylcholinesterase activity in *Pomacea patula* snail. *Ecotoxicological Environmental Safety*. 46: 234-239.
- **Moussard C.,** 1999. La biochimie, Biochimie structurale et métabolique, Médecine, Pharmacie, Sciences. De Boek&Larciers.a., Bruxelles. 294 p.

ℵ

- **Nateche S. et Trade I.,** 2005. Etude biométrique de deux espèces d'escargots méditerranéennes : *Hélix melanostoma* et *Hélix vermiculata* dans la région de Tébessa. Mémoire d'ingénieur d'état, U.C.L.T : pp 87.



- **Oerke E, Dehne H., 1997.** Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 203-215.
- **Ozmen, M., Sener, S., Mete, A., Kucukbay, H., 1999.** *In vitro* and *in vivo* acetylcholinesterase inhibition effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**: 241-246.



- **Padmaja J.R., Rao M.B., 1994.** Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid and protein contents in tissues of the freshwater snail, *Bellammyadissimillis* (Müller). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53: 142-148.
- **Payne J.F., Mathieu A., Melvin W., Fancey L.L., 1996.** Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Fields trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin*. 32: 225-231.
- **Palermo-Neto J., De Oliveira M.C., de Souza W.R., 2003.** Effects of physical psychological stressors on behavior macrophage activity and Ehrlich tumor growth. *Brain Behavior Immunity*. 17: 43-54.
- **Perrier R., 1930.** La faune de la illustrée IX Mollusques Bryozoaires- Brachiopodes Protocordés Amphioxus- Tuniciers, Delagrave, pp 87.
- **Phillips, D.J.H., 1977.** The use of biological indicator organisms to monitor trace métal pollution in marine and estuarine environements. A review. *Environmental Polution*, **13**: 281-317.
- **Pimentel, D., 1995.** Amounts of pesticides reaching Target Pest: Environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, **8**: 17-29.



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

- **Radwan M.A., Essawy A.E., Abdelmeguid N.E., Hamed S.S., Ahmed A.E.,** 2008. Biochemical and histochemical on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pesticides Biochemistry and Physiology*. 90: 154-167.
- **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.
- **Ravera O.,** 1991. Mini-review: influence of heavy metals on the reproduction and embryonic development of freshwater pulmonates (Gastropoda, Mollusca) and cladocerans (Crustacea, Arthropoda). *Comparative Biochemistry and Physiology C*. 100: 215-219.
- **Ribeiro S., Guilhermol L., Sousa J.P. & Soares A.M.,** 1999. Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate toxicity of chemical soil isopods. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 44: 287-293.
- **Righi D.A., Palermo-Neto J.,** 2005. Effects of type II pyrethroid cyhalothrin on peritoneal macrophage activity in rats. *Toxicology*. 212: 98-106.
- **R.N.O.,** 1995. Surveillance du milieu marin. Ministère de l'Environnement. 32p.
- **Rodrigues K.J.A., Santana M.B., Do Nascimento J.L.M., Picanço-Diniz, D.L.W., Maués L.A.L., Santos S.N., Ferreira V.M.M., Alfonso M., Durán R., Faro L.R.F.,** 2010. Behavioral and biochemical effects of neonicotinoid thiamethoxam on the cholinergic system in rats. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 73: 101-107.
- **Rorke, M.A., Gardner, D.R.,** 1974. Lethality and behavioural symptoms produced by some organophosphorous compounds in the snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 11: 417–424.
- **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: 634- 640.



- **Salama A.K., Osman K.A., Saber N.A., Soliman S.A., 2005.** Oxydative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8: 92-96.
- **Saleem, M. A., Schakoori, A. R., 1987.** Joint effects of Dimilin and Ambush on enzyme activities of *Tribolium castaneum* larvae. *Pestic. Biochem. Physiol*, 29(2), 127-137.
- **Santos MJG, Soares AMVM et Loureiro S., (2010).** "Joint effects of three plant protection products to the terrestrial isopod *Porcellionides pruinosus* and the collembolan *Folsomia candida*." *Chemosphere* 80(9): 1021-1030.
- **Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, A., Toussaint, M.L., Badot, P.M., 2002a.** Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*, **48**: 571-579.
- **Schuytema G.S., Nebeker A.V., Griffis W.L., 1994.** Effects of dietary exposure to forest pesticides on the brown garden snail *Helix aspersa* Muller. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 26 (1): 23-28.
- **Schwaiger J., Wanke R., Adam S., Pawert M., Honnen W., Triebkorn R., 1997.** The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. 6: 75-86.
- **Senthil Nathan S., Kalaivani K., Murugan K., 2006.** Effect of biopesticides on the lactate dehydrogenase (LDH) of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotox. Envir. Safety*, 65(1), 102-107.
- **Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall. & Feidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19** : 415-528.
- **Siest G, Batt AM. Fournel-Gigleux S, Galteau MM, Wellman-Bednawska M, Minn {Amar Costesec A., (1988)** Induction of plasma and tissue enzymes by drugs: significance in toxicological Studies. *Xenobiotica* 18:21-34.

- **Sifi K.**, 2002. Evaluation des effets d'un xénobiotique, l'acide borique sur la structure du tube digestif, l'inhibition d'un site cible, l'acétylcholinestérase, et l'activité d'une enzyme de detoxification, la lactate déshydrogénase (LDH) chez *Blattella germanica*. Thèse magister, univ. Annaba : 105p. Silbergeld E.K., 1993. Neurochemical approaches as indicators of environmental.
 - **Smagghe G., Ealen H., Verschelde E., Richter K., Degheele D., 1996.** Differential effects of nonsteroidal ecdysteroid agonists in Coleoptera and Lepidoptera: Analysis of evagination and receptor binding in imaginal discs. *Insect Biochem. Mol. Biol*, 26, 687- 695.
 - **Soltani-Mazouni N. & Soltani N.**, 1995. Effet du diflubenzuron en traitement In vivo and in vitro sur la morphométrie de *Tenebrio Molitor*. *Fac. Landbouww. Univ. Gent*. 60 (35) : 961-967.
 - **Soltani N., Rehim N., Drardja H., Bendali F., 1999.** Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts sur deux espèces larvivores non visées. *Ann. Soc. Entomol. Fr*, 35, 59-64.
 - **Spellerberg, I.F.**, 2005. Monitoring ecological change. Second Edition, Cambridge University Press, Cambridge, England, 410 p.
 - **Sun X., Song Q., Barrett B., 2003.** Effect of ecdysone agonists on vitellogenesis and the expression of EcR and USP in codling moth (*Cydia pomonella*). *Arch. Insect. Biochem. Physiol*, 52(3), 115-129.
- P
- **Valles S. M., Dong K., Brenner R. J., 2000.** Mechanisms responsible for cypermethrin resistance in a strain of German cockroach, *Blattella germanica*. *Pestic. Biochem. Physiol*, 66, 195-205.
 - **Vassault A., 1983.** Lactate deshydrogenase. *in*: Ribeiro S., Guilhermino L., Sousa J. p., Soares A.M.V.M, (Ed). Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopos. *Ecotox. Envir. Safety*, 44, 287-293.
 - **Vontas J. G., Enayati A. A., Small G. J., Hemingway J., 2000.** A simple biochemical assay for glutathione S-transferase activity and its possible field

application for screening Glutathione S-transferase-based insecticide resistance. *Pestic. Biochem. physiol.*, 68(3), 184-192.

W°

- **Wayland J. and Edward R.**, 1991. Hand book of pesticide Toxicology. Vol III, Classes of pesticide. Academic Press, Inc., San Diego, California, USA., biological fluids. Free Radicals Biology and Medicine 24, 480-493 chromatographic assay for determining oxyradical scavenging capacity of antioxidants and.
- **Weiss K.R., Brezina V., Cropper E.C., Heierhorst J., Hooper S.L., Probst W.C., Rosen S.C., Vilim F.S., Kupfermann I.**, 1993. Physiology and biochemistry of peptidergic cotransmission in: *Aplysia. Journal of Physiology.* 87: 141-151.
- **Wilbrink M, Van De Marbel NC, Vermeulen NPE.**, 1991. Glutation S-Transferase activity in the digestive gland of the pond snaiLymnaeastagnalis. *CompBiochimPhysiol* 99 : 185-189.
- **Wilbrink M., Zijl R., Roubos E.W., Ter Maat A., De Vlieger T.A., Vermeulen N.P.E.**, 1992. Effects of 2,2'-dichlorobiphenyl on egg laying in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology C.* 102: 3-9.
- **Wu R.S.S., Lam P.K.S.**, 1997. Glucose-6-phosphate and lactate deshydrogenase in the green. lipped mussel (*Perna viridis*): possible biomarkers for hypoxia in the marine environnement. *in: Ribeiro S., Guilhermino L., Sousa J. p., Soares A.M.V.M, (Ed).* Novel bioassay based on acetylcholinesterase and lactate deshydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopos. *Ecotox. Envir. Safety.*, 44, 287-293.

Y

- **Yasmin S et D'Souza D.**, (2007). "Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79(5): 529 532.

Z

- **Zhu., Chang Y., Chen Y .S.** 2010. Toxicity and bioaccumulation of Ti O₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. 88-91.

WEBOGRAPHIE:

www.aujardin.info.

http:// www.wikipedia.com.

www. Earth.