

4. DISCUSSION

La préservation de la qualité des sols est devenue au même titre que la protection des milieux aquatiques et aériens. Pour ce la, il est indispensable d'utiliser des espèces bioindicatrices qui reflètent la qualité des sols en utilisant les gastéropodes terrestres, qui font l'objet de plusieurs recherches, ces derniers ont une forte sensibilité aux variations physicochimiques de leur milieu, notamment la température (Bride *et al.*, 1993). Les fréquences électromagnétiques (Regoli *et al.*, 2005) et à toute forme de pollution urbaine (Regoli *et al.*, 2006), également vis-à-vis des xénobiotiques variés tels que les hydrocarbures (Ismart *et al.*, 2002) ou encore les éléments traces métalliques (Manzl *et al.*, 2004). On s'intéresse de l'espèce *Helix aspersa* car elle possède toutes les caractéristiques d'être une espèce sentinelle de la pollution des sols. D'une autre part, une mesure des variations des biomarqueurs de stress environnemental est élaborée (AChE et GSH) respectivement au niveau de la tête et l'hépatopancréas de l'escargot pendant la période d'expérimentation (Novembre 2008 à Avril 2009) l'hiver et le printemps, avec un inventaire des espèces malacologiques présentées dans les cinq sites d'étude et des analyses physicochimiques des sols, afin de réaliser une évaluation complète de la pollution des sols.

4.1. Inventaire des Gastéropodes

Des études sur le terrain ont été réalisées pour étudier l'utilisation des escargots terrestres comme biomoniteurs (Martin et Coughtrey, 1982 ; Berger et Dallinger, 1993 ; Gomot de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Beeby et Richmond, 2002).

Les escargots présentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (Dallinger *et al.*, 2001), ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (Barker, 2001), ils possèdent des capacités de bioaccumulations importantes pour de nombreux polluants métalliques (Dallinger et Wieser, 1984a ; Brooks *et al.*, 1992 ; Gomot et Pihan, 1997 ; Menta et Parisi, 2001 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002 ; Viard *et al.*, 2004) et organiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Sverdrup *et al.*, 2006). Ainsi, ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance, de reproduction, mortalité) (Laskowski et Hopkin, 1996a ; Gomot, 1997 ; Swaileh et Ezzughayyar, 2001 ; Gomot-de Vaufleury et Bispo, 2000 ; Notten *et al.*, 2006) et biochimiques (Coeurdassier *et al.*, 2001 ; Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006) quand ils sont exposés aux contaminants, ils constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beeby, 1985 ; Laskowski et Hopkin, 1996b ; Scheifler *et*

al., 2002a), pour ces caractéristiques, ils sont reconnues comme des indicateurs écologiques pertinents (Berger et Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999) utilisés dans la biosurveillance des écosystèmes terrestres : sol ; d'évaluer le diagnostic environnemental de l'état biologique de sol et de son degré de perturbation. De ce fait, il est indispensable de faire un inventaire des récepteurs écologiques (gastéropodes) présents, de leur exposition et des effets qu'ils subissent.

L'Est algérien se caractérise par un climat méditerranéen. L'inventaire des gastéropodes, indique la richesse en espèces malacologiques, au niveau des cinq sites. Une dominance de l'espèce *Helix aspersa*, a été remarquée. Le taux représente cette espèce est de 21% à El Kala, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni ; et 16% à Guelma. Cette espèce de grande saveur culinaire, est connue pour être indigène aux rivages de la méditerranée (Chevalier, 1992). En accord notre résultats avec celui de Boudechiche (2007), avec une dominance de l'*Helix aspersa* avec ses variétés au niveau du Parc National d'El Kala. Aussi l'inventaire fait à Tlemcen Damerdji (2008) qui montre une diversité des gastéropodes avec une dominance d'*Helix aspersa*.

La famille des Hélicidae est présentée par les helix : *aperta*, ou l'escargot vert avec un taux élevé de 21% au niveau du site Sidi Ammar, cet escargot préfère une forte humidité de l'aire, ainsi des taux similaires à Guelma et Néchmaya (14%), et des taux proches à El Kala et El Bouni (18-19%) ; d'après nos observation durant les deux saisons , on peut conclure que cette espèce peut être utilisée comme une espèce bioindicatrice telle que *Helix aspersa* grâce à ses caractéristiques de bioindication ; l'espèce *Otala lactea* avec un taux variable entre (6-12%) respectivement dans les cinq sites. La famille des Hygromidae présentée par l'espèce *Helicella virgata* avec un taux important (15-18%) au niveau des sites Guelma, Néchmaya ,qui sont des zones presque sèches , et entre (9-11%) au niveau des sites Sidi Ammar, PNEK et El Bouni et Trochidae *elegans* (16%) à Néchmaya.

La famille des Cochlicellidae, *Cochlicella barbara* a un taux important (18-21%) dans les sites : PNEK, Sidi Ammar et El Bouni par rapport aux sites Néchmaya et Guelma (6-10%) ; de plus la famille des Subulinidae (*Rumina decollata*) avec un taux presque proche dans les cinq sites (3-6%) et la famille des Enidae présentée par *Zebrina detrita* au niveaux des sites PNEK et Guelma (10-14%). La famille des Milacidae présentée par *Milax gagates* et *Milax nigricans* (3-5%) dans les différents sites.

Cette prédominance d'espèces à coquilles foncées (*Helix aspersa*, *Helix aperta*, *Otala lactea*) a été constatée, ce qui confirme la supposition de Chevalier (1992) définissant l'action

du milieu, frais et humide sélectionnant les variétés foncées et le milieu chaud et sec, sélectionnant les variétés claires.

Les variations des taux des espèces entre les sites, la présence de certaine espèce dans un site et leur absence dans un autre pourrait être attribuée à l'influence des conditions du milieu, notamment les facteurs climatiques qui jouent un rôle fondamental influençant la croissance des mollusques, la reproduction, la distribution (la température et l'apport hydrique insuffisants résultent des troubles de la croissance ; l'éclairement (l'intensité lumineuse reçue par les animaux, la durée d'éclairement et la qualité de la lumière) (Wikipédia, 2010), ainsi d'autre facteur environnemental c'est le rayonnement qui influence la coloration des coquilles (Damerджи et Benyoucef, 2006) et la persistance des polluants. Des facteurs pédologiques physicochimiques, décrivant la nature du sol, essentiellement des trois paramètres principales : le pH du sol, un pH neutre ou très voisin de la neutralité renferme ou non du calcaire, apparaît être le meilleur sol d'élevage des escargots ; la teneur en matière organique et l'humidité du substrat ; la disponibilité des végétations utilisées comme nourritures pour les escargots ; la densité animale et la charge biotique (Wikipédia, 2010).

4.1.1 Biométrie des espèces

Nos résultats révèlent que la moyenne la plus élevée du poids a été enregistrée au niveau d'El Kala chez *Helix aspersa* ($10,94 \pm 5,27$ g) et les autres moyennes pondérales sont entre (7,72-10,57 g). D'après ces poids, on peut caractériser la taille des escargots *Helix aspersa* par une taille nemoralis (taille moyenne) selon la classification du Chevalier (1977), ainsi en accordant les résultats des tailles trouvés par Boudechiche (2007) dans le PNEK. Le diamètre maximal a été marqué au niveau du PNEK ($33,51 \pm 9,55$ mm) compris entre (35 et 39 mm) selon Chevalier (1977) et dans les autres sites de (27,41-32,80 mm), et la hauteur de 24,64 dans le PNEK ; tandis que la moyenne pondérale la plus faible a été enregistrée à Néchmaya chez l'espèce *Cochlicella barbara* (0,079 g) et un diamètre de $3,35 \pm 1,09$ mm et une hauteur de $5,12 \pm 2,86$ mm. Cette espèce est caractérisée par sa petite taille par rapport aux autres espèces.

4.2. Indices écologiques

La richesse spécifique des Gastéropodes est estimée de 10 espèces à Guelma, Néchmaya et El Kala, et 9 espèces dans les autres sites, elle est estimée de 8 espèces à

Tlemcen (Damerdj, 2008). La richesse moyenne, la valeur maximale est obtenue à El Kala de 508 et minimale à Néchmaya de 391,87.

La fréquence centésimale (**F**) varie d'un site à l'autre en fonction des conditions climatiques des régions ; mais elle est en général, moins de 25 % dans les cinq sites ce qui explique qu'elles sont des espèces très rares. La constance (**C**), *Helix aspersa* et *Helix aperta* présentent un pourcentage de 100 % dans les cinq zones ; ce qui explique que ce sont des espèces omniprésentes ; ces deux espèces présentent une biomasse significative et des pouvoirs adaptatifs aux différents climats et sols ; une variation de la constance a été observée pour les autres espèces entre les cinq sites.

L'indice de diversité de Shanon – Weaver (**H'**) varie entre 2,70 à Sidi Ammar et 3,05 au PNEK. Cet indice est faible de 0,26 à Tlemcen (Damerdj, 2008).

L'équitabilité (**E**) est entre 0,85 et 0,90 donc $E < 1$; ce qui signifie que les peuplements des gastéropodes ne sont pas en équilibre. L'équitabilité tend vers 0, elle est inférieure à 0.5 dans l'étude réalisé à Tlemcen, les effectifs des espèces sont différents (Damerdj, 2008). Plusieurs travaux sont s'intéressés de l'inventaire des gastéropodes : au niveau du romarin, Damerdj *et al.* 2005 trouvent que la richesse spécifique des gastéropodes est de 18 espèces réparties entre 3 familles, celles des Sphincterochilidae, des Helicidae et des Subulinidae.

Adjani (1998) a reconnu 13 espèces malacologiques alors que Bouhellou (1998) a observé 18 et que Kassemi (2001) rencontre 19 espèces dans différentes régions de Tlemcen.. Sur le *Calycotome spinosa* (Genêt) on dénombre 21 espèces de gastéropodes (Damerdj et Djedid, 2003). Khelil (1984) avait noté une seule avec *Leucochroa candidissima*. Dans son essai d'écologie quantitative sur les invertébrés de la Sansouire camarguaise, Bigot (1965) indique que la richesse spécifique est estimée de 8. Les facteurs abiotiques et biotiques restent importants dans la variation de la taille des coquilles de *Sphincterochila candidissima* (Damerdj, 2001).

4.3. Dosage des biomarqueurs

La préservation de la qualité des sols est une préoccupation majeure des sociétés humaines, l'utilisation des paramètres biochimiques appelés biomarqueurs, comme indicateurs de la qualité des écosystèmes ; Ces biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental et peuvent être chimiques, physiologiques ou biologiques (WHO, 1993) ; leur validité tient à trois caractéristiques principales: spécificité, sensibilité et préciosité (Amiard-Triquet *et al.*, 1998). L'inhibition ou l'induction *in vivo* des

biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur les organismes (Ozmen *et al.*, 1999 ; Melonghlin *et al.*, 2000; Sturn *et al.*, 2000). La capacité d'un organisme de s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropique dépend principalement des mécanismes de la détoxification de divers composés endogènes (Jakanov, 2001). Les biomarqueurs peuvent être regroupés en trois catégories: les biomarqueurs d'exposition, d'effet et de sensibilité.

Après leur pénétration dans les organismes, les polluants subissent le plus souvent des transformations métaboliques, catalysées par différents systèmes enzymatiques capables de prendre en charge des substrats de nature variée. Toutes ces enzymes augmentent l'hydrosolubilité des molécules qu'ils prennent en charge afin d'en faciliter leur élimination dans l'organisme. L'activation métabolique de certaines molécules suite à leur métabolisation est cependant possible. Les réactions de biotransformation sont divisées en deux réactions ; phase I et phase II. La première phase (phase I) est assurée par des enzymes qui catalysent l'oxydation et la fonctionnalisation des xénobiotiques. La phase II est réalisée par des enzymes qui catalysent la conjugaison des molécules fonctionnalisées à des substrats endogènes. Le GSH tient une place importante parmi les enzymes de la phase II.

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

Nos résultats déterminés au cours des deux saisons (hiver et printemps) suggèrent que le taux de GSH est maximum en hiver dans les cinq sites (El Kala, Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni) puis, il diminue progressivement dans le printemps. Cette variation entre saisons peut s'expliquer par des variations des facteurs environnementaux comme la température, l'hygrométrie, l'humidité, la durée du jour et l'alimentation, qui agissent principalement sur l'activité de l'escargot. En hiver, les facteurs environnementaux sont

défavorables (l'escargot soumis à un stress environnemental) donc, il entre en hibernation, ses activités physiologiques sont réduites, son métabolisme est ralenti, dans ce cas il n'est pas en contact continu avec son milieu ; une réduction des périodes d'exposition aux contaminants existant dans l'environnement, donc une faible accumulation des xénobiotiques a été constatée chez les escargots. En printemps, les facteurs environnementaux seront favorables pour reprendre ses activités physiologiques. Des longues périodes d'exposition, favorisent une importante accumulation des polluants par l'escargot. De nombreux facteurs influencent l'accumulation des métaux dans les escargots, comme les espèces d'escargots, le poids, la taille, l'état physiologique et la composition du régime (Williamson, 1979, 1980 ; Gomot et Pihan, 1997). Cela entrave l'utilisation et l'acceptation des escargots comme biomoniteurs (Beeby et Richmond, 2002). En général, les escargots terrestres ont le pouvoir d'accumuler des métaux, de stocker des volumes importants dans ses organes (Dallinger *et al.*, 2001). Les effets toxiques des métaux chez les escargots peuvent être dus à l'absorption de la nourriture ou à partir du sol, ou par l'intermédiaire de l'alimentation à travers la peau du pied (Coeurdassier *et al.*, 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002).

Gimbert (2006) suggère que la saison (automne et Printemps) est un facteur environnemental influence le transfert du métal du sol vers l'escargot, en agissant sur les concentrations internes en Cd et le flux d'absorption avec une diminution de la masse d'organisme en Automne, en relation avec la diminution de la photopériode, la température, les précipitations et l'hygrométrie. En général, l'accumulation des xénobiotiques, essentiellement les ETM, existant dans le sol, au niveau des organes d'escargots, est un facteur clé permet d'expliquer les variations des taux des biomarqueurs dosés dans certains organes.

De plus, le taux de glutathion mesuré durant les deux saisons est faible dans les sites Guelma, Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni, comparativement au site PNEK, qui présente un taux élevé. Cette diminution peut se traduire par une pollution provenant de la zone industrielle : Arcelor Mattal et Férrovial pour le site d'El Bouni, qui est considéré comme le site le plus pollué, aussi le site de Sidi Ammar. Les activités métallurgiques ont des apports diffus d'origine lointaine (poussières, aérosols) pouvant parcourir des centaines de kilomètres à partir de leur sources avant de se déposer (Godin *et al.*, 1985 ; Merian *et al.*, 2004) ; ou soit des apports ponctuels localisés d'origine proche liée aux activités industrielles de longues durées (Baize, 1997). La diminution du taux du GSH au niveau de Néchmaya et Guelma est exprimée par la direction des vents qui jouent un rôle dans le transport des polluants des zones industrielles précédentes et aussi par l'effet des engrais (Cd dans les engrais phosphatés ;

Hamon *et al.*, 1998) utilisés pour améliorer les propriétés du sol. Les émissions atmosphériques liées au trafic routier et à l'incinération de l'ordure ménagère (Denison et Silbergeld, 1998) influencent sur les sites de Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouin. Guelma est le site le moins pollué comparativement aux sites Néchmaya, Sidi Ammar et El Bouni, car il est éloigné des zones polluées. Le PNEK est le site le moins pollué comparativement aux autres sites.

L'escargot intègre les polluants essentiellement les ETM *via* différentes voies d'exposition : digestive par ingestion de nourriture (plantes, particules de sols) (Gomot *et al.*, 1989) ; cutanée par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (Coeurdassier *et al.*, 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002); respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules atmosphériques (Ismert *et al.*, 2002, Regoli *et al.*, 2006).

Les ETM ont une forte affinité *vis à vis* des groupements thiol du GSH et forment des complexes avec ses entités chimiques (Viarengo et NOH, 1993 ; Viarengo, 1994). Ces groupements thiol agissent comme un tampon antioxydant, la synthèse de GSH en présence de cadmium serait un mécanisme de protection dans le quel le métal se fixe aux groupements thiol du GSH, provoquant ainsi les dommages cellulaires (Hatcher *et al.*, 1995 ; Shukla *et al.*, 2000).

Plusieurs mécanismes ont été proposé pour expliquer le passage des ions métalliques à travers les membranes biologiques : diffusion passive sous forme libre ou sous forme de complexes organométalliques liposolubles (Ireland, 1982 ; Hopkin, 1989), canaux et pompes ioniques, passage facilité par des transporteurs membranaires (Simkiss et Taylor, 1989 ; Rainbow et Dallinger, 1993), structures épithéliales particulières comme les "Channel Cells" (Campion, 1961 ; Martin et Deyrup-Olsen, 1986).

Les fortes capacités d'accumulation des ETM chez les escargots sont liées à l'efficacité des systèmes de détoxification impliquant des structures de séquestration et de compartimentation intracellulaire (métallothionéines (MTs) et granules) mais aussi à leur capacités limitées à excréter certains métaux, conditionnés notamment par la nécessité d'éviter les pertes excessives d'eau (Dallinger *et al.*, 2001). Ces MTs, exprimées dans différents tissus où elles accomplissent des fonctions spécifiques à chaque métal (Dallinger *et al.*, 1993, 1997 ; Berger *et al.*, 1993, 1995).

Les effets des métaux sont exprimés à tous les niveaux d'organisation biologique (Römbke et Moltmann, 1996). Au niveau cellulaire, par exemple, l'excès de métaux dans les plantes peut modifier la perméabilité des membranes, ou de diminuer l'activité enzymatique et de synthèse (Bargagli, 1998). Au niveau individuel, la pollution de métal peut affecter la

croissance, la reproduction et de survie (Römbke et Moltmann, 1996). Ces effets d'influencer la dynamique des populations de l'espèce, et peut affecter l'abondance et la diversité des plantes et des animaux (Hopkin, 1989). En définitive, l'ensemble des écosystèmes peut être affectés par la pollution en métaux lourds.

En accord avec nos résultats la diminution du GSH a été également observée par Atilia (2009) dans l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par le cadmium, Boucenna (2010) dans l'hépatopancréas chez la même espèce traitée par les poussières métalliques, encore chez *H. aspersa* comme une réponse à l'effet électromagnétique (Régoli *et al.*, 2005) ; et à la toxicité des cadmium et zinc est observée chez *Achatina fulica* (Chandran *et al.*, 2005). Une diminution du niveau de GSH a été observée au niveau de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* traité par les pesticides : carbofuran et paraquat respectivement à des doses : 125 µg/escargot et 230 µg/escargot, mais une augmentation du niveau de GSH signalée chez les escargots traités par les pesticides : le methomyl (60 µg/escargot) et le chlorpyrifos (225 µg/escargot) (Salama *et al.*, 2005). La diminution du taux de GSH a été observée par Drardja-Beldi & Soltani (2003) dans le corps entier des femelles de *G. affinis* traitées avec le diflubenzuron et par Aissaoui (1998) dans l'hépatopancréas de la même espèce traitée avec le lindane. Aussi, cette diminution du GSH a été reportée dans l'hépatopancréas des femelles *G. affinis* traitées avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). La diminution du taux de GSH a été aussi notée chez la truite arc-en-ciel exposée à différents niveaux de fuel (Steadman *et al.*, 1991). Le taux de GSH a été réduit chez les rats traités avec : Le dichlorodiphényl-trichloroéthane (DDT) et le benzopéthane (Della *et al.*, 1994), le zolone (Ouedjaoui, 1996) et l'œstrogène à différentes doses (El-Farra *et al.*, 1999). La relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination est rapportée par (Ringwood *et al.*, 1999) chez les juvéniles de la moule, *Crassostrea virginica*, exposés à un mélange de polluants industriels et par Cossu *et al.* (2000) et Doyette *et al.* (1997) chez le bivalve, *Unio tumidus*, exposé au cuivre. Cependant, quelques études ont montré une augmentation du taux de GSH tel qu'il a été observée dans le foie de la truite arc-en-ciel traitée avec le cadmium (Ait-Aissa *et al.*, 2003). Cette augmentation du glutathion correspond à un mécanisme précoce de défense cellulaire et serait suffisant pour prendre en charge les premières atteintes cellulaires, évitant ainsi l'apparition d'un stress oxydant plus important. Le taux de GSH augmente ainsi chez les rats traités au méthyle mercure (Woods & Ellis, 1995), chez les poissons exposés au plomb (Thomas & Juedes, 1992) et au chlorothalonil (Gallagher *et al.*, 1992) et chez le bivalve *Mytilus galloprovincialis* traité avec les métaux lourds (Regoli & Principato, 1995).

Gabriella *et al.* (2005) montrent que l'activité catalase dans hépatopancréas a diminué (de 30-40%) durant l'été (estivation), mais aucun changement n'est intervenu dans les activités de Glutathion réductase, le glutathion S-transférase et de Glucose-6-phosphate déshydrogénase dans le pied et l'hépatopancréas. Les niveaux de GSH ont été augmentés (par 54%) dans les muscles du pied pendant l'estivation, mais sont demeurés inchangés en hépatopancréas. En contraste avec l'hiver, les marqueurs du stress oxydatif (peroxydation des lipides, des protéines de carbonyle, et le GSSG / GSH-eq ratio) sont inchangées pendant l'estivation (Gabriella *et al.*, 2005). Ces résultats suggèrent que *H. aspersa* est une espèce sentinelle contrôlant la régulation du métabolisme de radicaux libres dans les différentes saisons (Gabriella *et al.*, 2005).

Contrairement au GSH, l'acétylcholinestérase ne joue aucun rôle dans la détoxification des xénobiotiques chez les êtres vivants, c'est une enzyme nécessaire au fonctionnement normal du système nerveux sensori-moteur et surtout au fonctionnement de la plaque motrice (Payne *et al.*, 1996). Cette enzyme est impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Dans les jonctions interneuronales et neuromusculaires, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine (ACh), ce qui permet au système de revenir à son état de repos. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux toxiques entraîne une accumulation du médiateur chimique dans l'espace synaptique, maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort (Balida, 1995 ; Bocquené, 1996 ; Baily, 2000).

Nos résultats révèlent que l'activité de l'AChE mesurée au niveau de la tête d'*H. aspersa* est maximale dans l'hiver, mais elle diminue en printemps, également dans les cinq sites d'étude. Cette diminution peut s'expliquer par l'effet du facteur saison, comme on notant précédemment pour le GSH et le rôle des variations climatiques et environnementales entre les deux saisons, qui influencent principalement la physiologie et l'activité de l'escargot. En hiver, lors des facteurs environnementaux défavorables, l'escargot répond à ce stress environnemental par l'hibernation, où l'exposition aux polluants du milieu est réduite, la durée d'exposition agit sur la capacité d'accumulation des xénobiotiques et leur transfert vers l'escargot ; Chapman *et al.* (2003) définissent l'exposition comme la coïncidence dans l'espace et dans le temps d'un récepteur (espèce identifiée) et d'un stressor (contaminant) qui entrent en contact et interagissent. Elle est exprimée comme une concentration, ou une dose (Suter II, 1993) et doit être examinée à l'échelle du site ou du parcelle (selon le temps),

considérant la variabilité spatiale de la contamination (Kooistra *et al.*, 2001), elle dépend donc à la fois de la physico-chimie du milieu et de la biologie de l'organisme considéré (Van Straalen et Van Gestel, 1998). A cet égard, une faible accumulation des contaminants particulièrement les ETM pendant l'hivernation de l'hiver se traduit par une forte activité de l'AChE en hiver et une faible activité en printemps.

En comparant l'activité de l'AChE dans les cinq sites, celle-ci est très faible au niveau des sites El Bouni et Sidi Ammar à cause d'une pollution d'origine industrielle (complexe Arcelor Mettal et Ferroviaire) et le trafic routier. En passant au site Néchmaya et Guelma où l'activité de l'AChE est augmentée respectivement, mais elle reste faible par rapport au site PNEK; cette diminution de l'activité de l'AChE est due au transport des polluants des zones polluées (Sidi Ammar et El Bouni) vers les sites : Néchmaya et Guelma grâce aux vents. De plus, le trafic routier et les activités agricoles qui rejettent plusieurs polluants essentiellement, le plomb. Dans les tissus de l'escargot *Achatina Achatina* l'absorption atomique du plomb par spectrophotométrie augmente avec l'augmentation de l'intensité de la circulation routière (Ebenso et Ologhobo, 2008); Viard *et al.* (2004) suggèrent que le plomb semble être le meilleur métal pour évaluer la contamination des transports routiers. Les métaux Zn, Cu, Cd et Pb sont largement reconnus comme un élément constitutif de différents engrais et de pesticides (Alloway, 1990; Baker, 1990; Kiekens, 1990). Une forte activité de l'AChE au niveau du site El Kala affirme que ce site est le moins pollué par rapport des autres sites.

L'activité de l'AChE mesurée au niveau de tube digestif chez *H. aspersa* exposé au Nickel est considérablement réduite même au plus faible concentration de Nickel (Dolezych *et al.*, 2010). Une inhibition de l'activité de l'AChE a été reportée chez *H. aspersa* traité par les pesticides, les carbamates : methomyl (60 µg/escargot), carbofuran (125 µg/escargot) et les organophosphorés : chlorpyrifos ou le bipyridium (225 µg/escargot) et le paraquat (230 µg/escargot); les carbamates sont les plus toxiques pour les escargots (Salama *et al.*, 2005). La diminution de l'AChE a été observée au niveau de la tête chez *G. affinis* traitée avec le cadmium (Souissi *et al.*, 2008). L'AChE est essentiellement inhibé par deux classes d'insecticides, les organochlorés et les carbamates (Toutant, 1989; Fournier & Mutero, 1994; Ecobichon, 1996; Tomita *et al.*, 2000; Siegfried & Scharf, 2001). Cependant, certaines études ont mis en évidence l'inhibition de l'activité de l'AChE par d'autres contaminants environnementaux incluant certains agents surfactants, les hydrocarbures combustibles et les métaux lourds (Herbert *et al.*, 1995; Bocquené *et al.*, 1997; Forget *et al.*, 1999; Dellali *et al.*, 2001). L'inhibition de l'activité de l'AChE peut avoir des conséquences sur le comportement des êtres vivants; la recherche de la nourriture, la recherche de partenaire sexuel et soin des

jeunes (Little, 1990 ; Richmonds & Dutta, 1992 ; Hart, 1993 ; Saglio *et al.*, 1996 ; Khessiba *et al.*, 2001). L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus des organismes aquatiques est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par Les pesticides anticholinestérasiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999 ; Dutta & Arends, 2002) .

4.4. Les paramètres physicochimiques du sol :

Le sol est la partie superficielle de la croûte terrestre à l'échelle de la planète. Il constitue l'habitat permanent d'une multitude d'être vivant (Davet, 1996). C'est un système complexe composé d'une phase liquide, d'une phase solide et d'une phase gazeuse en interface avec l'atmosphère, la lithosphère et l'hydrosphère (Rivière, 1998).

Un sol est défini par sa texture (proportion relative des différents constituants minéraux et organiques, tels que sable, limon, argile, complexe argilo-humique, microflore et microfaune) et sa structure qui représente l'organisation spatiale de ces différents constituants, (matière organique ou humus qui contient les produits de décomposition partielle des végétaux, matière inorganique provenant de l'érosion des roches (Rivière, 1998).

La composition du sol et sa fertilité varient en fonction climatiques, géologiques et de la végétation (Prescott *et al.*, 1995). La pédologie s'intéresse des problèmes agricoles, de fertilité, érosion, désertification ainsi de pollution des sols car les sols constituent le fonctionnement de la vie des hommes, des animaux et des plantes, ainsi que le lieu d'une activité biologique (Bonin, 2006).

Le polluant présent dans le site pollué va migrer dans le sol en se distribuant dans les différentes phases qui le constituent. Se volatiliser dans l'atmosphère et contaminer les cours d'eau. Les déplacements des produits dans les sols sont déterminés par deux phénomènes principaux d'une part, les échanges entre la phase solide-immobile et la phase gazeuse et aqueuse-mobile, et d'autre part, les déplacements des phases mobiles (Rivière, 1998). L'ensemble de ces phénomènes détermine la persistance des produits dans le sol. Le transfert ne se fait pas uniquement entre milieux abiotiques : le transfert vers la biomasse (plantes et animaux).

Plusieurs caractéristiques physico-chimiques des sols sont importantes pour expliquer et prévoir le comportement des polluants : la porosité, la teneur en air et en eau, la densité, la perméabilité, la composition granulométrique, distribution des dimensions particulières à partir des trois catégories, argile, limon et sable, la teneur en carbone organique (matière

organique), la capacité d'échange de cations, le pH, le potentiel redox (Rivière, 1998), de plus les minéraux argileux, qui déterminent la capacité d'échange cationique dans les sols, l'âge de la contamination du sol, tous ces facteurs influent la biodisponibilité des ETM dans le sol (Scheiffler, 2002). Les paramètres cités précédemment peuvent être considérés comme des indicateurs d'évaluation, ayant une importance majeure sur la dynamique des espèces terrestres.

Le transfert des métaux dans différents compartiments de la chaîne alimentaire est influencé par de nombreux facteurs : le type de métal, qui est une variable importante dans toutes les voies de transfert ; la spéciation des métaux, un facteur important qui détermine le transfert des métaux du sol aux plantes et aux escargots, ainsi les caractéristiques des sols, notamment le pH, la teneur en matière organique et en argile, qui influencent fortement la spéciation des métaux et donc la biodisponibilité des métaux dans le sol (Salomons et Forstner, 1984) ; de plus les concentrations des métaux dans les escargots dépendent de certains facteurs tels que les espèces d'escargots (Gomot et Pihan, 1997), l'alimentation, la saison (Williamson, 1979), l'âge, le poids et l'état physiologique (Williamson, 1980). Les concentrations des métaux libres dans la solution du sol étaient fortement déterminées par le pH eau du sol et le total des concentrations dans le sol en métal (Sauvé *et al.*, 1997 ; GE *et al.*, 2000). Plusieurs travaux de recherche sont intéressés de ses paramètres physico-chimiques des sols, essentiellement la teneur en matière organique, le pH, qui affectent la biodisponibilité des ETM dans le sol (Portail, 2005).

Dans le sol, les éléments traces métalliques se répartissent essentiellement dans la phase solide; argile, oxydes de fer et de manganèse et matière organique sont les principaux compartiments concernés. Dans le cas de sols calcaires, les carbonates de calcium sont les constituants majeurs intervenant dans la fixation des éléments-traces métalliques. La majorité des expériences de longue durée montrent que c'est essentiellement l'horizon de surface (0 - 15 cm) qui peut s'enrichir en éléments-traces métalliques, dans notre étude l'horizon de surface des sols prélevés est de (0-20 cm).

La biodisponibilité c'est la part de la quantité totale d'un ETM présent dans un compartiment environnemental spécifique, dans un laps de temps donné, est disponible pour être assimilée par un organisme à partir de son environnement immédiat (exposition cutanée) et/ou par ingestion de nourriture (voie digestive) (Peijnenburg et Jager, 2003). Grâce à sa complexité (Sauvé *et al.*, 2000), la biodisponibilité est un concept comportant trois types de processus distincts (Hamelink *et al.*, 1999 ; Peijnenburg *et al.*, 1997) :

- la disponibilité environnementale.

- la disponibilité biologique ou biodisponibilité.
- la biodisponibilité toxicologique.

La biodisponibilité est susceptible de varier significativement au cours du temps en raison de l'évolution des phénomènes physicochimiques au niveau du sol et des stades de développement des organismes, elle est spécifique d'un contaminant donné pour un organisme donné (Peijnenburg, 2002 ; Van Straalen, 2005), aussi d'étudier les cibles biologiques représentant différents niveaux trophiques. Gimbert *et al.* (2006) suggèrent que plus faible la biodisponibilité de Cd dans le sol, donc le terrain est responsable de la baisse transfert vers les escargots par rapport aux 20 du sol de l'ISO, ainsi quelque soit la concentration de cadmium dans le sol, Les concentrations à l'équilibre dans les viscères ont été de 0,7 ($\pm$ 0.1), 11.3 ($\pm$ 2.4), 73.3 ($\pm$ 4.8) et 6,3 ($\pm$ 1,3) mg Cd-1 masse sèche pour 0 ISO, ISO 20, ISO 100 et ME4 pour des escargots *Helix aspersa* soumis à trois différentes concentrations de cadmium dopés dans un sol artificiel ISO (norme ISO 0, 20 et 100 mg Cd kg⁻¹) et à un sol sur le terrain (ME4) contaminés par l'industrie de 20 mg Cd kg⁻¹.

La concentration en ETM dans la solution du sol est régulée par des phénomènes d'adsorption, solubilité contrôlés par les conditions environnementales. L'un des principaux facteurs influençant la spéciation des ETM est l'acidité (pH) du sol (Gimbert, 2006), une augmentation du pH modifie la partition phase solide-phase liquide des cations vers la phase solide entraînant généralement une diminution de leur mobilité et de leur disponibilité (Alloway, 1995). Un autre facteur de contrôle est la quantité de cations susceptible d'entrer en compétition disponible de sites de sorption, associée à la matière organique et à la capacité d'échange cationique (CEC) d'un sol (Lock et Janssen, 2001 ; Lock *et al.*, 2000) mais aussi la quantité de cations susceptible d'entrer en compétition pour les sites de complexation sur la phase solide du sol (Weltje, 1998). La partition des ETM entre les différentes phases de sorption est supposée à l'équilibre.

La biodisponibilité joue un rôle fondamental dans la toxicité des polluants, elle varie avec les propriétés physicochimiques des sols et influence sur la solubilisation, précipitation, absorption, désorption, oxydoréduction, hydrolyse, complexation des substances polluantes (Portail, 2005).

Nos résultats révèlent que le pH eau des sols des cinq sites est $> 7,5$ donc, ces sols ont un pH eau alcalin. Plusieurs travaux de recherche affirment que la biodisponibilité des polluants dans le sol dépend du pH, la plupart des ETM sont plus mobiles en conditions acides qu'en conditions alcalins car la liaison des ETM à la phase solide du sol (par différents mécanismes : adsorption, précipitation...) augmente avec le pH (Alloway, 1995).

L'augmentation artificielle du pH des sols (par chaulage) est une technique utilisée pour diminuer la mobilité des ETM. Ainsi, une expérience récente a montré que le chaulage *in situ* (faisant passer le pH de 4,5 à 5,1 6,3 et 7,0) réduisant significativement la solubilité du Cd et du Zn (Knight *et al.*, 1998). Dans une autre étude concernant 30 sols forestiers et agricoles de Hollande, Römken et Salomon (1998) observent des concentrations en Cd et en Zn solubles plus importantes dans les sols forestiers que les sols agricoles et attribuent cette différence aux pH plus faibles des sols forestiers. De nombreuses expériences ont confirmé l'effet du pH du sol sur la solubilité du Cd et du Zn et son influence faible ou nulle sur le Cu (Bengtsson *et al.*, 1986 ; Crommentuijn *et al.*, 1997 ; Oste *et al.*, 2001a).

Par son action sur la solubilité et la forme des ETM, le pH est l'un des paramètres fondamentaux qui contrôlent la biodisponibilité des ETM pour les plantes (Morel, 1997), qui absorbent les ETM dans la solution du sol.

De nombreuses études ont montré une augmentation de la biodisponibilité des ETM à pH faible mais des contre-exemples existent, au moins pour le Cd (He et Singh, 1994). Chez les invertébrés du sol, les facteurs de bioaccumulation de Cd, de Pb et de Zn chez les annélides augmentent d'un facteur cinq lorsque le pH des sols auxquels ils sont exposés est réduit de 6,5 à 4,5 (Ma, 1982 ; Ma *et al.*, 1983). L'effet du pH est moins marqué pour les collemboles. En effet, Crommentuijn *et al.* (1997) n'observent pas de tendance claire à la diminution de la bioaccumulation du Cd avec l'augmentation du pH chez *F. candida* exposés à des matrices ISO dont le pH est modifié. De même, les EC50 du Cd, du Cu, du Pb et du Zn n'augmentent pas avec l'augmentation du pH chez *F. candida* (Sandifer et Hopkin, 1996).

La teneur en matière organique (MO) du sol peut être estimée à partir de l'évaluation du carbone organique, dans notre travail la teneur en matière organique est > 5%, se sont des sols très riches en matière organique, avec une quantité très importante au niveau des sites El Kala (7,69%) suivi par les sites : Guelma, Néchmaya, mais elle est faible à El Bouni comparativement aux autres sites MO<5%. Ceci est caractérisé par un faible apport ou par une forte activité biologique, c'est dans ces sols que le processus de minéralisation qui domine. Une grande variabilité existe entre sols dans la quantité et la nature de la MO. En général, les sites chargés négativement portés par les groupements phénol ou carboxyle de la MO permettent une complexation des ETM. La diminution des teneurs en MO dans les sols conduit à une augmentation des concentration en ETM solubles pour le Cd (Crommentuijn *et al.*, 1997). De même, la matière argileuse grâce à leur charge négative de surface influe sur les caractéristiques chimiques des sols, et notamment sur la capacité d'échange. Une étude récente indique que la production des cocons de vers de terre augmente avec l'augmentation

de la matière organique du sol (Basta, 2008), et les propriétés chimiques du sol affectent la bioaccumulation du Pb, Zn, Cd et As chez le vers de terre soumis à des sols contaminés à 2000 mg/kg (Basta, 2008). Chez les oligochètes, des expériences de manipulation des teneurs et/ou de la nature de la matière organique et la matière argileuse montrent que la toxicité du Cd et du Zn (exprimée en DL50) pour *Enchytraeus albidus* varie beaucoup en fonction de ces paramètres (Lock et Janssen, 2001a ; Lock *et al.*, 2000). L'augmentation des teneurs en matière organique et matière argileuse diminue généralement la toxicité de ces deux ETM. La biodisponibilité du Cu est très dépendante des teneurs et de la nature en Mo, l'augmentation des teneurs en MO d'un facteur deux réduit la toxicité du Cu (exprimé en LC50) pour l'oligochète *Octolasion cyaneum* (Jäggy et Streit, 1982).

Autre paramètre décrivant le sol : c'est la porosité, elle comprend deux paramètres : la densité apparente et la densité réelle ; la densité apparente indique l'état ou la condition de sol, elle diminue avec la teneur du sol humus (Duthil, 1971) ; la densité réelle exprime la densité des éléments constituant la phase solide du sol. Nos résultats indiquent que les sols se caractérisent par une porosité assez faible (10-20%), au niveau du Guelma, le sol a une porosité faible.

L'humidité hygroscopique (texture) représente la quantité d'eau que peut retenir un sol soumis aux conditions d'assèchement naturelles, c'est la quantité d'eau retenue à la surface externe des particules du sol et en équilibre avec la pression et l'humidité atmosphérique, le pourcentage de l'humidité décrit la texture du sol, dans notre travail, le pourcentage de l'humidité du sol compris entre 45-75% dans les sites (El Kala, Guelma, Néchmaya et El Bouni) donc ces sols ont une texture argilo-limoneuse selon la classification de Gauchers (1968) qui retiennent plus d'eau que les sols sableux à structure particulaire (Ben Slema, 2006) à l'exception du site Sidi Ammar qui présente un pourcentage d'humidité proche de 45% (41,66%) donc de texture limono-argileuse. L'effet de la variation d'humidité des sols sur la biodisponibilité des ETM a également été étudié. Les résultats sont contradictoires. Aucun effet de la variation de l'humidité sur l'accumulation du Cu n'a été mis en évidence chez le vers de terre *Lumbricus rubellus* (Marinussen et Van der Zee, 1997). La variation de l'humidité de la matrice ISO n'affecte pas les concentrations Cd soluble et ne modifie ni la toxicité du Cd ni sa bioaccumulation chez *F. candida* (Van Gestel et Van Diepen, 1996). Les variations des autres facteurs : la température qui joue un rôle indirect en activant la vie biologique du sol et la production de substances acides, susceptibles de mobiliser les micro-éléments dont les métaux. Les variations de la température influencent

fortement la bioaccumulation du Cu chez *L. rubellus* exposé à des sols contaminés en parcs extérieurs (Marinussen et Van der Zee, 1997). L'aération du sol permet l'immobilisation des métaux car elle favorise la formation d'oxyde de fer et de manganèse insolubles, sur lesquels se fixe une fraction notable d'éléments-traces métalliques. La biodisponibilité dépend aussi très fortement des espèces végétales et même de la variété. (Wikipédia, 2010). Le potentiel d'oxydoréduction, qui affecte majoritairement les éléments majeurs mais également certains ETM ; les réactions d'oxydoréduction peuvent avoir une action importante sur certains éléments dont la toxicité varie beaucoup avec la forme chimique (Scheifler, 2002).

La conductivité électrique, ou salinité est une mesure de physicochimique qui nous donne une idée sur la concentration des électrolytes dans la solution du sol d'une part et du degré de salinisations des sols d'autre part.

Les résultats obtenus montrent que les sols ont une faible conductivité électrique à moyenne (0-0,6 ms/cm) se sont des sols non salés (USSL, 1981) ce qui favorise la survie des Gastéropodes et des végétations sur ses sols.

Les analyses de calcaire, renseignent que les sols contenant du calcaire, un calcaire actif (31-39,74%) ces valeurs sont >30% donc ce calcaire actif de type très calcaire et un calcaire total (24,90-24,94) de type calcaire (15-30%) dans les cinq sites, ceux-ci revient au nature du substrat et la composition des roches. La présence du calcaire dans le sol joue un rôle important dans les équilibres ioniques.

D'après les analyses des sols selon la norme AFNOR, les sols étudiés contenant différents métaux et oxydes, le métal le plus abondant est le fer total dans les cinq sites, ceux-ci revient aux conditions géopédologique des roches mères, de plus les activités agricoles et industrielles qui utilisent le fer comme matière primaire et les rejets successifs, ainsi le lessivage des sols par les eaux qui transportent les métaux d'un site à l'autres, on prend l'exemple de Oued Sébouse qui transportent les déchets des industries vers toutes les zones d'irrigation.

L'évaluation de l'accumulation des ETM chez *Helix aspersa* reposait sur la mesure des concentrations internes après une durée d'exposition généralement 28 jours (coeurdassier *et al.*, 2000 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002 ; Scheifler *et al.*, 2002b). Gimbert *et al.* (2006) montrent qu'il est indispensable d'étudier la cinétique d'accumulation du Cd dans la chaîne alimentaire sol-plante-escargot afin de permettre une évaluation précise et sensible de transfert du Cd à l'escargot. La biodisponibilité des ETM doit également être évaluée pour différentes espèces (Van Straalen *et al.*, 2005). Dans la lignée des travaux de Cainbow (2002) et Van Straalen *et al.* (2005), on a souligné les aspects biologiques et dynamiques de la

biodisponibilité des ETM pour l'escargot *H. aspersa*, il est nécessaire d'étudier la cinétique de transfert et l'amélioration de l'évaluation de la bioaccumulation et des effets des ETM et de faire progresser les procédures d'évaluation de leur biodisponibilité par l'étude des transfert du Cd, Pb, et du Zn du sol vers l'escargot *Helix aspersa* (Gimbert *et al.*, 2007), et expliquer la relation sol-plante-escargot.

Les plantes répondent à la contamination du sol en présentant des concentrations en Cd dans les parties aériennes dépendantes de la concentration en Cd dans le sol. Les escargots présentent des flux d'absorption corrélés à la fois aux concentrations en Cd dans les parties aériennes du sol et aux des plantes. Les concentrations des métaux (Cu, Zn, Cd, et Pb) chez *Ceapaea nemoralis* montrent une relation positive avec les concentrations des métaux dans les feuilles des plantes (*Urtica dioica*) (Martje Notten, 2005). Les vers de terre influencent les transferts de métaux du sol aux escargots (Coeurdassier *et al.*, 2006). Donc, L'accumulation des polluants dépend également de leur biodisponibilité dans le sol, plus forte la biodisponibilité, plus fort le transfert vers les plantes et les escargots. Une inhibition de la croissance de 5 à 10% après et une diminution du nombre de ponte sont observés chez *Helix aspersa* après 70 et 80 jours d'exposition à un sol contaminé à 20 et 100 mg.Cd kg⁻¹ (Gimbert *et al.*, 2007). Ainsi, chez le vers de terre *Eisenia fetida* exposés à des mélanges des métaux (Cd, Cu, Zn, Pb) dans les ELD ® et de l'OCDE arti ® sol, La charge corporelle chez les vers exposés à tous les sols contaminés augmente au cours des durées de l'expérience, plus haut le taux d'accumulation pour les vers ont été exposés à des sols les plus pollués (Spurgeona et Hopkinb, 1998).