

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques
Option : Ecotoxicologie Animale

Intitulé

Evaluation de l'effet répulsif de l'huile essentielle du
Ocimum basilicum a l'égard de *Cantareus aspersus*
(Gastropoda : Pulmonata).

Présenté Par : BOULKASRANE Chaïma
GHEFFAR Mohamed Reda

Membre de Jury :

Mme. LAIBE Imen (MCA)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. ZAIDI Nedjoua (Pr)	Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. BOUCETA Sabrine (MCA)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2021/2022



Remerciements

*En tout premier lieu, je remercie Allah le Tout-Puissant,
De m'avoir donné la force et le courage pour dépasser toutes les
Difficultés afin de réaliser ce travail.*

*Un grand remerciement à Dr. LAIBE I, qui nous a fait l'honneur et
l'incommensurable plaisir de présider notre travail.*

*Je tiens à remercier Dr. BOUCETTA S, qui nous a ravi et enchanté par sa présence en
tant qu'examineur de cette thèse, qu'elle trouve ici toutes nos expressions
respectueuses.*

*Nos plus vifs remerciements à notre encadreur Pr. ZAIDI N, Ses
Qualités scientifiques mais également humaines ont été pour nous un
Exemple tout au long de ce parcours scientifique. Sa disponibilité, y
Compris les week-ends, et sa totale confiance en nous sont pour
Beaucoup dans la réussite de travail.*

*A nos parents et tous nos frères et sœurs de leur soutien et leur grande affection et les
grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à ceux qui ont contribué de loin ou de près à
la réalisation de ce travail.*

**On fait la science avec des faits, comme on fait une maison avec des pierres : mais une
Accumulation de faits n'est pas plus une science qu'un tas de pierres n'est une maison.**

Henri Poincaré (philosophe français).

Dédicaces

Afin d'être reconnaissant envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé

À réaliser ce travail de recherche, je dédie ce mémoire :

A la mémoire de ma défunte mère, DJOUAL Chahrazed, qui était la raison de mon arrivée ici a cause de sa maladie, que Dieu lui fasse miséricorde

A mon père, Belkacem, qui m'a élevé, éduqué, protégé, sacrifié et me couvert de beaucoup d'amour

Et encouragé à aller si loin dans mes études.

A ma belle-mère, mon frère et ma sœur : Yamina, Abd El-ghafour, Chames El-doha.

Je vous remercie énormément.

A mon chère binôme Reda, nous avons passé des agréables moment ensembles.

Bonne chance à nous.

Chaima.

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédié ce modeste travail :

*A mes deux plus chers au monde, ma mère Djerou Leila et mon
père Ali, pour tout*

*Votre amour, votre soutien et votre stimulante fierté. Les mots sont
faibles pour*

*Exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je
vous porte.*

*A mon cher frère Youcef et ma chère sœur Chaïma que dieu les
protège.*

A toute ma famille.

*A ma chère binôme Chaïma qui m'a offert la joie, l'amitié et des
moment inoubliables.*

Bonne chance à nous.

Reda.

Résumés

Résumé :

Afin de déterminer l'effet répulsif de l'huile essentielle d'une plante très abondante dans le Nord-est Algérien, *Ocimum basilicum* sur l'escargot le plus abondant en Algérie, *Cantareus aspersus*, des essais toxicologiques et des dosages biochimiques ont été réalisés dans les conditions de laboratoires. La méthode utilisée pour déterminer la toxicité de l'extrait est le traitement par application topique. L'effet répulsif a été examiné sur trois biomarqueurs du stress environnemental, la vitellogénine dans l'ovotestis et la catalase et les protéines dans le pied des adultes de cette espèce.

Les résultats de l'étude toxicologique montrent une corrélation positive entre les mortalités (observée et corrigée) et les doses testées de l'huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum*. Les concentrations CL25 et CL50 déterminées à partir de la droite de régression exprimant la mortalité en fonction de des doses de l'extrait sont respectivement : 373,578 mg/Kg et 694,615 mg/Kg

Les dosages biochimiques montrent que, dans nos conditions expérimentales, le taux de vitellogénine dans l'ovotestis, l'activité de la catalase (CAT) et de protéine dans le pied des escargots ont été affectées par le traitement avec l'huile essentielle des feuilles de la plante utilisée (*Ocimum basilicum*). En effet, une augmentation significative du taux de vitellogénine et de protéine, ainsi qu'une diminution significative de l'activité de la catalase (CAT) ont été observées chez les individus traités pendant 24 heures.

Mot clé :

Ocimum basilicum, *Cantareus aspersus*, huile essentielle, biopesticide, effets répulsifs.

المخلص:

من أجل تحديد التأثير الطارد للزيت العطري لنبات وفير للغاية في شمال شرق الجزائر *Ocimum basilicum* على الحلزون الأكثر وفرة في الجزائر *Cantareus aspersus* تم إجراء اختبارات السمية و المقاييسات البيوكيميائية . في ظل ظروف معملية. الطريقة المستخدمة لتحديد سمية المستخلص هي المعالجة بالتطبيق الموضعي. تم فحص تأثير الطارد على ثلاثة من المؤشرات الحيوية للإجهاد البيئي، فيتيلوجينين في البويضات والكاتالاز و البروتين في قدم البالغين من هذا النوع. أظهرت نتائج الدراسة السمية وجود علاقة ارتباط موجبة بين الوفيات (الملاحظة والمصححة) والجرعات المختبرة من الزيت العطري لنبات الريحان.

تم تحديد تركيزات CL25 و CL50 من خط الانحدار الذي يعبر عن الوفيات كدالة لجرعات المستخلص على الترتيب: 373.578 مجم / كجم و 694.615 مجم / كجم .

تظهر التحاليل البيوكيميائية أنه في ظل ظروفنا التجريبية، تأثر نشاط فيتيلوجينين في البويضات ونشاط الكاتالاز (CAT) و البروتين في قدم الحلزون بالمعالجة بالزيت العطري من أوراق النبات (*Ocimum basilicum*). في الواقع، لوحظت زيادة كبيرة في مستويات فيتيلوجينين و البروتين ، فضلا عن انخفاض كبير في نشاط الكاتالاز (CAT) في الأيونات التي عولجت لمدة 24 ساعة.

الكلمات المفتاحية:

Ocimum basilicum ، *Cantareus aspersus* ، الزيت الاساسي، الاثار الطاردة، المبيدات الحيوية.

Abstract:

In order to determine the repellent effect of the essential oil of a very abundant plant in the North-East of Algeria, *Ocimum basilicum* on the most abundant snail in Algeria, *Cantareus aspersus*, toxicological tests and biochemical assays were carried out. under laboratory conditions. The method used to determine the toxicity of the extract is treatment by topical application. The repellent effect was examined on two biomarkers of environmental stress, vitellogenin in ovotestis and catalase in the foot of adults of this species.

The results of the toxicological study show a positive correlation between the mortalities (observed and corrected) and the doses tested of the essential oil of the plant *Ocimum basilicum*. The CL25 and CL50 concentrations determined from the regression line expressing mortality as a function of the doses of the extract are respectively: 373.578 mg/Kg, and 694.615 mg/Kg.

Biochemical assays show that, under our experimental conditions, vitellogenin level in ovotestis and catalase (CAT) and proteins activity in snail foot was affected by treatment with essential oil from the leaves of the plant. used (*Ocimum basilicum*). Indeed, a significant increase in vitellogenin levels, as well as a significant decrease in catalase (CAT) activity were observed in individus treated for 24 hours.

Keyword :

Ocimum basilicum, *Cantareus aspersus*, essential oil, repellent effect, biopesticide.

Liste des figures

Figure	Page
Figure 1: Morphologie externe de l'escargot	03
Figure 2 : anatomie des escargots	04
Figure 3 : le pneumostome d'escargot	05
Figure 4 : schéma de l'appareille digestif des escargots	06
Figure 5 : schéma de l'appareille génitale de l'escargot	07
Figure 6 : Cycle de développement des escargots	08
Figure 7 : des escargots dans leurs habitat	08
Figure 8 : Le basilic	10
Figure 9 : <i>Cantareus aspersus</i>	13
Figure 10 : Site de prélèvement de l'espèce, Jardin botanique (service commun de recherche : pôle de vulgarisation botanique) de l'université de Skikda	14
Figure 11 : Elevage des escargots	15
Figure 12 : <i>Ocimum basilicum</i>	15
Figure 13 : préparation de la plante	17
Figure 14 : montage utilisé pour l'hydrodistillation	18
Figure 15 : la dissection des escargots et la boîte de dissection	19
Figure 16 : Courbe de référence exprimant la mortalité corrigée en fonction des doses de l'huile essentielle d' <i>O. basilicum</i> appliqué sur l'escargot adulte (<i>Cantareus aspersus</i>).	24
Figure 27 : Taux de vitellogénine dans les ovotestis chez les l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposé à l'huile essentielle de la plante <i>O. basilicum</i> .	25
Figure 18 : Activité spécifique du CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposé à l'huile essentielle de la plante <i>O. basilicum</i> .	26
Figure19 : le taux de protéine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposé à l'huile essentielle de la plante <i>O. basilicum</i> .	27

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1 : Principaux composés de HEs de basilic	11-12
Tableau 2 : Dosage de la catalase	20
Tableau 03 : Rendement (%) de l'huile essentielle d' <i>Ocimum basilicum</i> .	22
Tableau 04 : Effet de l'huiles essentielle d' <i>O. basilicum</i> appliqué sur des escargots adultes (<i>Cantareus aspersus</i>) sur la mortalité observée (n = 3).	22
Tableau 05 : Effet de l'huile essentielle d' <i>O. basilicum</i> appliqué sur des escargots adultes (<i>Cantareus aspersus</i>) sur la mortalité observée (n = 3). ANOVA à deux facteurs contrôlés : temps et dose.	23
Tableau 06 : Effet de l'huile essentielle d' <i>O. basilicum</i> appliqué sur des escargots adultes (<i>Cantareus aspersus</i>) sur la mortalité corrigée (n = 3).	23
Tableau 07 : Effet des huiles essentielles d' <i>O. basilicum</i> appliqué sur des escargots adultes (<i>Cantareus aspersus</i>) sur la mortalité corrigée (n = 3).	23

Liste des abréviations :

HEs : Huiles essentielles.

CAT : Catalase.

VET : Vitellogénine.

BBC : Bleu Brillant de Coomassie.

Sommaire

I. Introduction.....	1
II. Synthèse bibliographique	3
1. Généralité sur les gastropodes	3
1.1 Nom et synonymes des escargots	3
1.2. Morphologie de l'escargot	3
1.2.1. Morphologie externe	3
Le pied	3
La masse viscérale	4
La tête	4
Le mentaux	4
La coquille	4
1.2.2. Organisation interne	4
Appareil respiratoire	5
Appareille circulatoire	5
Appareille digestif	5
Le système nerveux	6
Appareille génitale	6
Appareille excréteur	7
Appareille sensorielle.....	7
1.3. Cycle de vie de l'escargot	7
1.3.1. Reproduction	7
1.3.2. La ponte	7
1.3.3. Incubation, éclosion	8
4. Ecologie des escargots	8
1.4.1. Habitat	8
1.4.2. Rythme de vie	9
Activité journalière	9
Activité saisonnière	9
2. Généralité des huiles essentielles	9
2.1. Caractéristique des huiles essentielles	9
2.1.1 Propriété physique	9
2.1.2 Composition chimique	9
2.2. La variabilité de HEs	10
2.3. Méthode d'extraction des HEs	10
3. Généralité sur la plante (<i>Ocimum basilicum l.</i>)	10
3.1. Etude botanique de la plante (<i>Ocimum basilicum l.</i>)	10
3.1.1. Nom et synonymes de basilic	10
3.1.2. Utilisation de la plante (<i>Ocimum basilicum l.</i>)	11

3.1.3. Les effets toxicologiques de la plante	11
3.2. HEs de basilic	11
II. Matériel et Méthodes	13
1. Le modèle biologique	13
1.1. Techniques d'échantillonnage et d'élevage	13
1.1.1. Site de collecte de l'espèce.....	13
1.1.2. Élevage des escargots.....	14
2. Le matérielle végétatif	14
2.1. Préparation de la plante	15
Récolte	15
Identification	15
Lavage	15
Séchage	15
Broyage	15
Tamisage	15
2.2. Protocoles d'extraction des HEs de la plante	16
2.3. Détermination du rendement d'extraction.....	17
3. Etude toxicologique	17
4. Etude biochimique	18
4.1. Traitement	18
4.2. Dissection et prélèvement des organes	18
4.3. Extraction et dosage des vitellogénine	18
4.4. Dosage de la catalase.....	19
4.5. Extraction et dosage des protéines totales	19
4.6. Traitements statistiques des données.....	20
IV. Résultats	21
1. Rendement de l'huile essentielle.....	21
2. Toxicologie des huiles essentielles d' <i>O. basilicum</i> à l'égard de l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> ..	21
2.1. Mortalité observée.....	21
2.2. Effet de L'HE d' <i>O. basilicum</i> sur les biomarqueurs.....	23
2.2.1. Effet sur le taux de vitellogénine	23
2.2.2. Effet sur le taux de catalase	24
2.2.3 Effets sur le taux de protéines totales	25
V. Discussion	27
Rendement de l'huile essentielle	27
Etude toxicologique.....	27
Etude biochimique	28
VI. Conclusion et perspectives	30

Introduction

I. Introduction

L'Algérie présente une grande variété d'espèces d'escargots qui présentent une très grande biomasse par rapport à la communauté des invertébrés du sol (Hamdi-Ourfella, *et al.*, 2016). Ces espèces, qui se nourrissent de végétaux et d'organismes morts, sont considérées comme l'un des ravageurs les plus redoutés en agriculture. Ils détruisent toutes les plantes et fleurs telles que : les feuilles, légumes, les salades, les choux, et même les racines des plantes et les tubercules. De plus, les souillures et l'odeur indésirable provoquée par ces escargots empêchent les hommes d'utiliser ces plantes contaminées (El-Okda, 1984 ; Kassab & Daoud, 1964). Et par conséquent ces cultures perdent leur commercialisation et donc leur potentiel d'exportation dans de nombreux pays (Baker & Hawke, 1990 ; Ittah & Zisman, 1992).

Les agriculteurs utilisent une gamme étendue de molluscicides conventionnels pour limiter les dégâts causés par les ravageurs. Ces produits sont très toxiques pour la santé de l'homme et son environnement (résistance des ravageurs, contamination de l'environnement et des écosystèmes, perte de la biodiversité) et moins efficace contre ces organismes nuisibles. Ces effets ont beaucoup contribué à augmenter l'intérêt porté à d'autres molécules plus efficaces et moins toxiques, les biopesticides.

Les biopesticides sont des organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de limiter ou de supprimer les ennemis des cultures (Thakore, 2006). Selon leur nature, ils peuvent être classés en trois grandes catégories : les biopesticides animaux, les biopesticides microbiens et les biopesticides végétaux (Chandler *et al.*, 2011 ; Leng *et al.*, 2011). Ils présentent plusieurs avantages qui ne peuvent pas être négligés tels que :

- Produits peu toxiques et basés sur des ressources naturelles
- Diminution de l'utilisation des pesticides chimiques et par conséquent la diminution de la pollution environnementale et de problèmes de santé
- Ils se dégradent rapidement dans l'environnement (Deravel *et al.*, 2013).

La flore Algérienne présente une richesse incontestable des plantes médicinales et aromatiques : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques (Sahi, 2016). De cette richesse nous pouvons obtenir des centaines de plantes aromatiques contenant des huiles essentielles qui sont des substances odorantes et volatiles. En effet, les huiles essentielles ont des utilisations variées tant à l'échelle industrielle que traditionnelle : pharmacologie, phytothérapie, cosmétique, parfumerie, colorants, pesticides.

Les effets indésirables des limaces et des escargots et l'utilisation souvent limitée à quelques dizaines d'années des molluscicides conventionnels ainsi que leur effet néfaste sur l'homme et son environnement ont beaucoup contribué à augmenter l'intérêt porté aux pratiques traditionnelles à base de substances naturelles. C'est dans ce cadre que se place le travail de mémoire de Master. L'objectif de notre étude de recherche est de poursuivre les travaux entrepris du Laboratoire LOPAFZC depuis 2020,

sur la valorisation des substances naturelles d'origine végétale de la région Est-Algérien, en particulier de la région de Skikda, dans l'industrie pharmaceutique et l'agriculture et de chercher un molluscicide phytosanitaire à base naturelle qui peut remplacer les produits chimiques conventionnels.

Ce travail vise à :

- Calculer le rendement en huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum*.
- Déterminer la CL25 et la CL50 de l'huile essentielle d'une plante aromatique très répandue en Algérie, *Ocimum basilicum* sur un gastéropode terrestre, l'escargot *Cantareus aspersus*
- Evaluer l'effet de l'extrait sur la composition biochimique de l'ovotestis et l'activité de la catalase dans le pied de cette espèce nuisible aux cultures.

Synthèse

bibliographique

II. Synthèse bibliographique

1. Généralité sur les gastropodes :

Les gastropodes ont été établis par le biologiste George Cuvier en 1797, ils ont défini comme des mollusques avec un corps mou, qui se termine avec une petite tête portant quatre tentacules, une masse viscérale en forme d'hélice. Le poumon de l'escargot est formé des branchies plumeuses présentes dans la cavité de mentaux. Ils portent une coquille spirale calcifiée, parfois peut être perdue (Ameur, 2021).

1.1 Nom et synonymes des escargots :

- **Nom commun** : escargot
- **Nom scientifique** : *Cantareus aspersus*
- **Nom vernaculaire** : el-halazoune, babbouche, boujaghlel (Zaafour, 2014).

1.2. Morphologie de l'escargot :

1.2.1. Morphologie externe :

Pour l'organisation des gastropodes externe (figure 01) on distingue trois parties ; le pied, la masse viscérale et la tête.

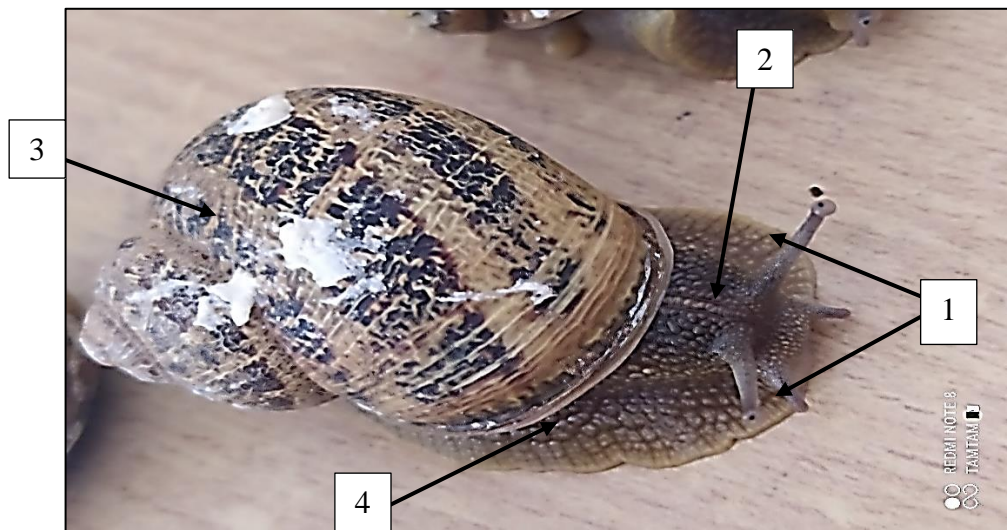


Figure 03 : Morphologie externe de l'escargot (Originale, 2022).

1- Les tentacules ; 2-La tête ; 3- La coquille ; 4- Le pied

Le pied :

C'est lui qui caractérise les gastropodes, il est mou, allongé, musculeux et riche en cellules glandulaires muqueuses.

Synthèse bibliographiques

La masse viscérale :

Envelopper par le mentaux, elle contient des parties importantes de tube digestif, l'appareil génitale et la partie supérieure de muscle columellaire.

La tête :

Elle est développée et bien détailler dont il porte ; une bouche, quatre tentacules dont les deux inférieures sont sensorielles et l'un des deux autres supérieures porte un œil et l'autre porte un organe olfactif. En arrière de la bouche se trouve le canal génital.

Le mentaux :

Comporte plusieurs sortes de tissu l'un est l'épithélium interne qui n'est pas calcifié, puis il y a une zone constituée de tissu conjonctif, des muscles palléaux et des fibres nerveuses, le troisième tissu est un épithélium calcifiant externe.

La coquille :

Une forme spirale en calcaire enroulé autour d'un axe. Elle présente plusieurs tours collés les uns aux autres nommé les sutures. La coquille présente une ouverture à coté de péristome. C'est presque 1/3 de poids frais de l'escargot. A l'aide d'elle qu'on peut identifier les espèces des escargots (taille, forme, épaisseur...). La coquille est un moyen de défense contre le prédateur ou bien pour la protection contre les facteurs atmosphérique. Si l'ouverture de la coquille est vers la droite ont dit dextre, mais si l'ouverture est à gauche elle est senestre.

1.2.2. Organisation interne :

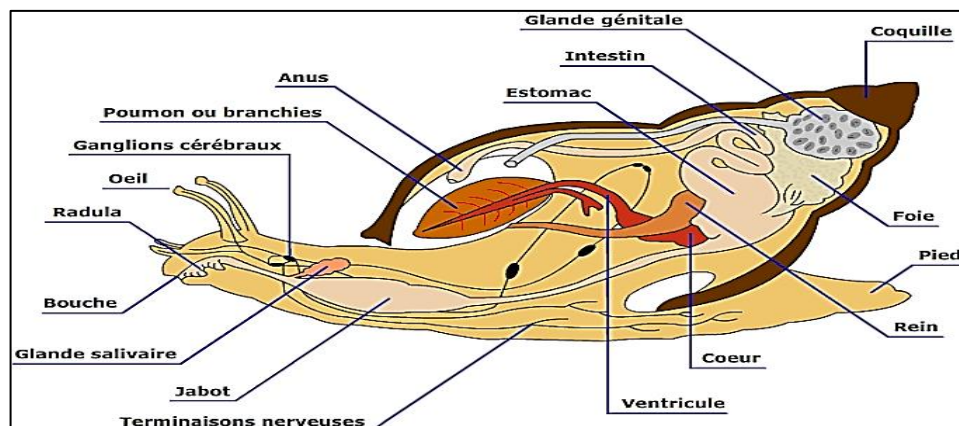


Figure 02 : anatomie des escargots (www.pdfprof.com).

Synthèse bibliographiques

Appareil respiratoire :

De leur nom ; les gastropodes possèdent un système de respiration pulmoné, ou le poumon est présent dans la cavité de mentaux. La respiration se fait par un orifice appelé le pneumostome (figure 03) situé au niveau de péristome.



Figure 03: le pneumostome d' escargot (originale, 2022).

1-Pneumostome

Appareille circulatoire :

Un système ouvert composé par un cœur avec un oreillette et un ventricule. Le sang est appelé l'hémolymph qui irrigue tous les organes, cette circulation est assurée par des contraction musculaires.

Appareille digestif :

Prend la forme U (figure 04) à cause de la torsion du corps. Constitué d'une bouche qui contient une langue rappeuse c'est la radula, puis on a deux glandes salivaires, puis œsophage suivie d'un estomac prolongé par un intestin qui entoure l'hépatopancréas et à la fin se termine par l'anus qui situé en avant (Immessaoudene, et *al.*, 2018).

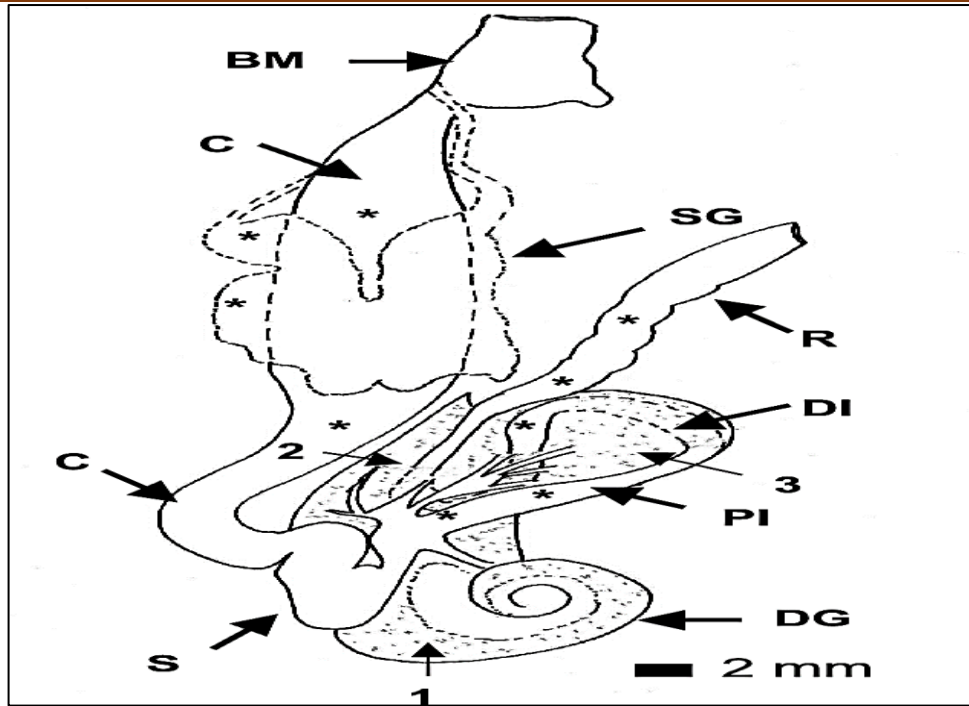


Figure 04 : schéma de l'appareil digestif des escargots (Zaafour, 2014).

(BM) masse buccale, (C) corps, (S) estomac, (SG) glandes salivaires, (PI) intestin proximale, (DI) intestin distale, (R) rectum, (DG) glande digestive ; les points ou les nombres montre aussi les glandes salivaires.

Le système nerveux :

Le système nerveux central, formé de deux ganglions supérieur œsophagien. Le système nerveux sympathique est composé d'un pair de ganglions buccaux reliés au ganglions cérébroïdes avec deux cordons nerveux (Ameur, 2021).

Appareil génitale :

L'escargot est hermaphrodite mais il a une appareil génital complexe (figure 05), composé d'un :

- Un ovotestis qui forme les ovules et les spermatozoïdes.
- Un canal pour l'évacuation des deux gamètes.
- Une glande d'albumine pour l'élaboration de vitelline.
- Un ovospermiduct.

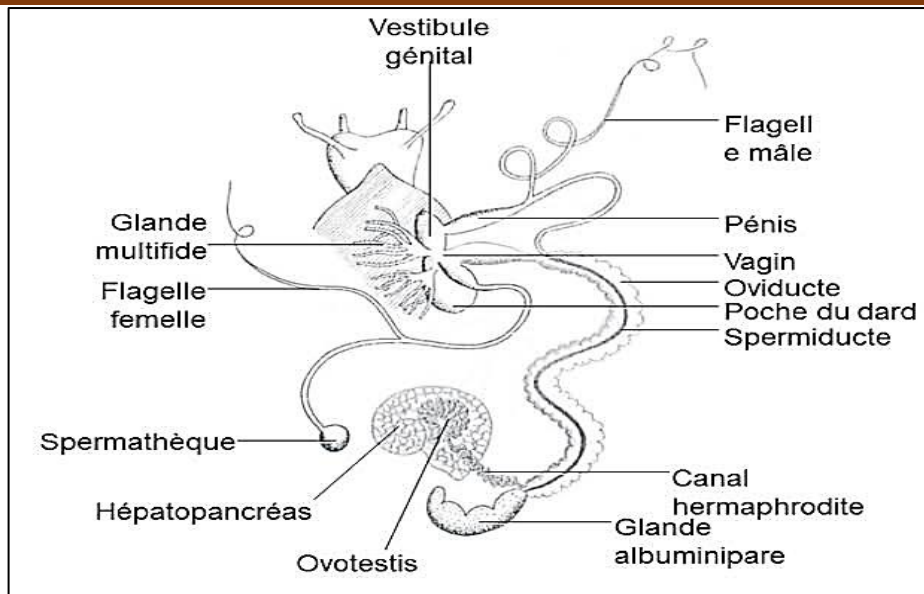


Figure 05 : schéma de l'appareil génital de l'escargot (www.2.ulb.ac.be).

Appareil excréteur :

L'excrétion est assurée par le rein qui se termine par un canal qui débouche directement à l'extérieure près de l'anus et le pneumostome, leurs urines est excrété sous forme d'acide urique solide.

Appareil sensorielle :

Le système sensoriel des gastropodes pulmonés se fait par des organes spécialisés qui sont : les statocystes, les yeux, les cellules tactiles. Ces derniers sont présents sur tout le corps surtout au niveau de la tête et les bordure du pied (Immessaudene, et *al.*, 2018).

1.3. Cycle de vie de l'escargot :

1.3.1. Reproduction :

Se fait du mois de mai jusqu'au septembre suivi de deux pontes ; la première au printemps et l'autre en automne. L'escargot est hermaphrodite mais il possède une reproduction sexuée (figure 06). Donc l'accouplement dure de quatre à douze heures de nuit ; il sert à l'échange des spermatozoïdes entre eux (Chabanechaouche, et *al.*, 2017).

1.3.2. La ponte :

Après environ 20 jours de reproduction tous les individus pondent leurs œufs dans un trou creusés de 4 à 5 cm dans un sol humide (figure 06).

Synthèse bibliographiques

1.3.3. Incubation, éclosion :

La durée de l'incubation est de 21 à 25 jours après la ponte, après il y aura une éclosion (figure 06). et on obtient des naissains (Auclerc, 2019).

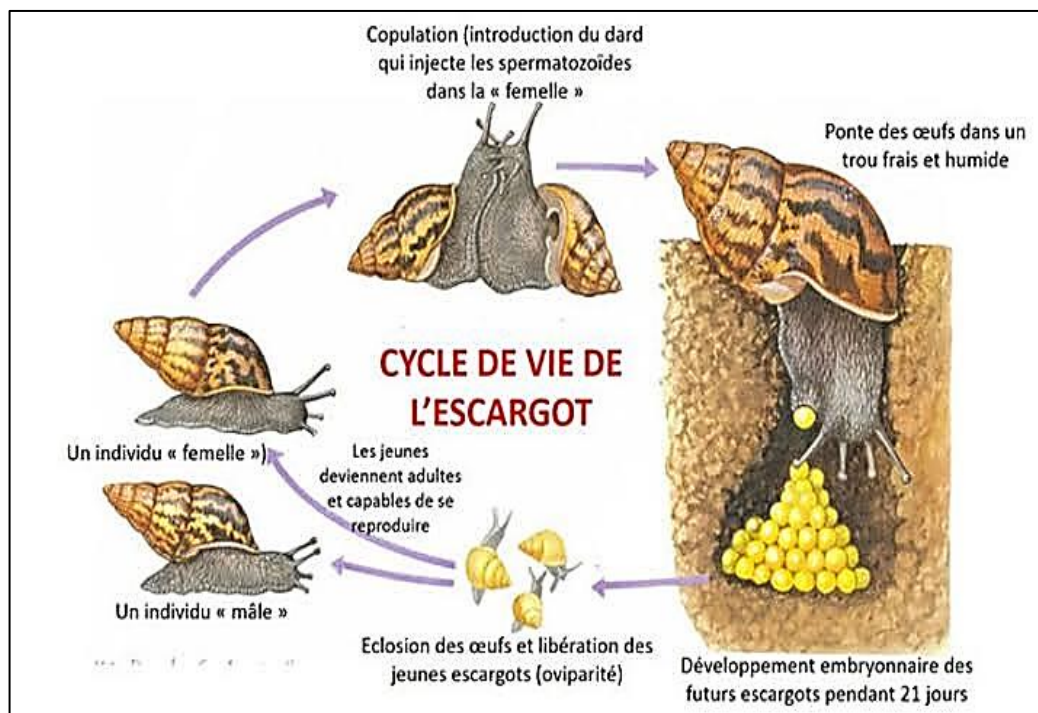


Figure 06 : Cycle de développement des escargots (ww.elmerlickamul.wixsite.com).

4. Ecologie des escargots :

1.4.1. Habitat :

C'est le sol en premier lieux (figure 07), mais il y a des facteurs qui favorise leur présence dans ces milieux, tel que le sol qui soit : humide, frais, non acide, riche en calcium. Donc leur habitat soit dans : le bois, les roches, les jardins... (Chabanechaouche, et *al.*, 2017).



Figure 07 : des escargots dans leurs habitat (originale, 2022).

1.4.2. Rythme de vie :

Les gastropodes pulmoné ont le sang-froid, donc il s'adapte avec les variations de température ça qui nous donne deux types d'activité ; l'un est journalière et l'autre est saisonnière.

Activité journalière :

Sous l'action de la photopériode les escargots sortent la nuit de leurs coquilles pour toute activité par exemple pour la nourriture ou bien la reproduction. Donc l'escargot sort lors ce que fait frais, lors ce qu'il pleut ou bien dans les premières heures de matin.

Activité saisonnière :

Selon les variations thermiques saisonnières les escargots subit deux états physiologiques :

Hibernation :

C'est une vie ralentie, dont le métabolisme est diminué ; l'escargot ferme l'ouverture de sa coquille par un épiphragme pou limité les pertes d'eau.

Estivation :

C'est l'adaptation au saison sèche, un rythme de vie semi-ralenti dont la respiration et les mouvements cardiaques sont à l'énorme mais le réserve d'eau et d'Energie est rapide (Skendrani, 2015).

2. Généralité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des petites gouttelettes, présentes dans les différentes parties des plantes et surtout au niveau des feuilles. La quantité d'essence est petit par rapport à la masse végétatif de la plante. Les huiles essentielles sont très volatiles.

2.1. Caractéristique des huiles essentielles :

2.1.1 Propriété physique :

- Solubles dans les solvants organiques.
- Degrée d'ébullition de 160 à 240 c°.
- La densité varie de 0,75 à 0.99.
- De couleur transparente ou bien d'une couleur jaune pales.

2.1.2 Composition chimique :

Ce sont des mélanges complexes, constitués de composé aromatique dérivés du phénylpropane.

Synthèse bibliographiques

2.2. La variabilité de HEs :

Est due de plusieurs facteurs tel que :

- L'origine botanique de la plante, leur cycle végétatif et leur facteur génétique.
- L'influence du procédé d'obtention des huiles essentielles.
- La nature de sol ainsi que les conditions climatiques, tel que la température et la photopériode.
- Les problèmes phytosanitaires tels que les maladies ou les ennemis (Bekhechi, et *al.*, 2010).

2.3. Méthode d'extraction des HEs :

Il y a plusieurs méthodes et qu'on peut les classer en deux :

- les ancienne méthodes tel que ; Hydrodistillation, Hydro-diffusion, Entraînement à la vapeur d'eau, Extraction par des solvants organique, Expression à froid, Enfleurage.

- les méthodes récentes tel que ; Extraction assistée par ultrason, Extraction par fluide supercritique, Extraction par détente instantané contrôler, La turbo hydrodistillation, Extraction associer par micro-onde.

3. Généralité sur la plante (*Ocimum basilicum l.*) :

Les Lamiaceae ou bien Labiacées sont des plantes dicotylédones, comprend presque 238 genres et 7170 espèces, dont le genre *Ocimum* est inclus dedans (Hamdane, et *al.*, 2018).

3.1. Etude botanique de la plante (*Ocimum basilicum l.*) :

Le basilic (figure 08), est de formes de touffes dense, leur taille varie de 20 à 50 cm, leurs feuilles sont ovale pointu d'une couleur vert brillant, et les fleurs doit être rose ou bien blanche (Leiutaghi, 1996). Cette plante aromatique est abondante pendant tout l'année, la raison de récolte est en juillet à août. Elle se trouve partout dans le monde, beaucoup plus dans les régions tropicales.

3.1.1. Nom et synonymes de basilic :

Nom commun : basilic, basilique royale, pesto...

Nom scientifique : *Ocimum basilicum l.*

Nom vernaculaire : hbeq, rihan. (Chenni, 2016).



Figure 08 : Le basilic (originale ,2022).

3.1.2. Utilisation de la plante (*Ocimum basilicum* L.) :

Cette plante royale est connue depuis le XV^{ème} siècle, très utilisé par les Indiens et les Iraniens dans leurs repas, surtout aux salades ou bien comme un épice pour ces plats. Pas seulement dans la cuisine, le pesto est aussi utilisé pour ces propriétés médicinales. Il est exploité comme un antioxydant contre le vieillissement cellulaire, pour les toniques digestifs pour les maladies cardiaque, aussi pour la fièvre et la fatigue, c'est un bon calmant des différentes douleurs musculaires, pour les maux de gorge, pour les rhumes...etc. Le basilic est riche surtout en vitamine A, B et en minéraux (Doctissimo, 2017).

3.1.3. Les effets toxicologiques de la plante :

Malgré tous ces bienfaits, l'*Ocimum basilicum* présente des effets secondaires, il a le pouvoir d'abaisser la glycémie, c'est un anticoagulant, il peut diminuer la fertilité de certains animaux qui le consomme c'est pour ça qu'il est à éviter pour les femmes enceintes (Jacqueline, 2018). Cette toxicité est due par la présence de l'estragol qui est un facteur cancérigène qui touche le foie, c'est une substance génotoxique qui altère les gènes directement (Aoudahi, 2010).

3.2. HEs de basilic :

Utilisé depuis des milliers d'année par les indiens comme un produit médicinal ou bien comme un produit de beauté. Il est obtenu par hydrodistillation, la partie utilisée est les feuilles. L'HEs obtenu est de couleur jaune pâle, et leur odeur est fraîche, piquante et herbacée (Silly, 2012).les principaux composés de HEs de basilic sont mentionnés dans le tableau suivant :

Synthèse bibliographiques

Tableau 01 : Principaux composés de HEs de basilic (Gilly, 2005).

Hydrocarbures terpénique	
(Z)- β -ocimène	Traces à 0.1%
(E)- β -ocimène	Trace à 0.7%
Mycène	0.1 à 0.6%
Lionène	Traces à 3.6%
β -élémyène	Traces à 2.1%
Germacrène	Traces à 1%
β -pinène	Traces à 1%
α -bergamotène	0.1 à 2.6%
β -caryophyllène	0.1 à 6.5%
Alcools	
Linalol	Traces à 54%
α -terpinéol	Traces à 3%
Bornéol	Traces à 2.7%
T-cardinol	Traces à 5.3%
Aldéhydes	
Anisaldéhyde	Traces à 2%
4 méthoxycinnamaldéhyde	1 à 4 %
Cétone	
Camphre	0.2 à 2%
Esters	
Acétate de bornyle	0.2 à 1.4 %
(E)-cinnamate de méthyle	Traces à 68.6%
(Z)-cinnamate de méthyle	Traces à 11.2%
Éthers	
1.8-cinéole	1.5 à 12%
Phénols	
Chavicol	0.1 à 3%
Méthyl chavicol	Traces à 85%
Eugénol	Traces à 27.8%

Matériels

et

Méthodes

II. Matériels et Méthodes

1. Le modèle biologique :

Le modèle biologique utilisé dans notre étude est l'escargot *Cantareus aspersus* (figure 09), un gastéropode terrestre très abondant dans la région de Skikda (Zaidi, et *al.*, 2021). Selon Bonnet et Vrillon (1990) la position systématique de cette espèce est la suivante :

Règne : Animalia.

Embranchement : Mollusca.

Classe : Gastropoda.

Ordre : Stylommatophora.

Famille : Helicidae.

Genre : Helix.

Espèce : *Cantareus aspersus* (Müller, 1774).



Figure 09 : *Cantareus aspersus* (Originale, 2022).

1.1. Techniques d'échantillonnage et d'élevage

1.1.1. Site de collecte de l'espèce

Les adultes (poids moyen : $3,35 \pm 0,13$ g) de l'escargot *Cantareus aspersus* ont été collectés au hasard du jardin botanique (service commun de recherche : pôle de vulgarisation botanique) de l'université de Skikda (Figure 10), située dans la Daïra d'El-Hadaïek (Latitude :36.8256, longitude :6.88826, 36° 49' 32'' Nord ,6°53'18'' Est. Wilaya de Skikda). Ce site est bénéficié d'un climat humide et Sub-humide, La pluviométrie annuelle dans cette région est de 700 mm/an avec des précipitations moyennes annuelles qui varient entre 800 et 1200 mm de pluie.



Figure 10 : Site de prélèvement de l'espèce, Jardin botanique (service commun de recherche : pôle de vulgarisation botanique) de l'université de Skikda (originale,2022).

1.1.2. Élevage des escargots

L'élevage est réalisé dans des boîtes en plastiques transparentes perforées (40x20x15cm) pour l'entrer d'oxygène, chaque boîte contient une boue d'éponge humide pour assurer la présence d'humidité, et une boîte de pétrie qui contient de la nourriture (la farine de blé). L'essai est conduit sous une photopériode de 14 h de lumière (figure 11). Les boîtes sont nettoyées régulièrement chaque 2 jours (Coeurdassier *et al.*, 2001). Une période d'adaptation de 7 jours dans les conditions de laboratoire a permis d'éliminer les escargots présentant des anomalies ou malformations apparentes.



Figure 11 : Elevage des escargots (originale, 2022).

2. Le matériel végétatif :

La plante utilisée dans cette étude est l'*Ocimum basilicum* (figure12), la position systématique de la plante choisie est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphyte.

Division : Magnoliophyta.

Classe : Magnoliopsida.

Ordre : Lamiales.

Famille : Lamiaceae.

Genre : *Ocimum*.

Espèce : *Ocimum basilicum* (Linné, 1753).



Figure 12 : *Ocimum basilicum* (Chenni, 2016).

2.1. Préparation de la plante :

Récolte : La plante a été récoltée au mois de mars de la région de Oulad Attia Skikda (latitude 36.9944, longitude : 6.33413, 36°59'40'' Nord, 6°20'29'' Est).

Identification : l'identification de la plante a été effectuée au niveau des laboratoires d'Agronomie de la faculté des sciences, université de Skikda en utilisant la Quezel, & Santa, (1962, et 1963) et Andreas (1998).

Lavage : La plante a été bien lavée avec de l'eau pour débarrasser toutes les dépôts des polluants.

Séchage : La plante a été séchée dans l'étuve à 40°C pendant 2 jours jusqu'à la stabilisation de leur poids afin d'obtenir une meilleure extraction (figure 13).

Broyage : Après séchage la plante a été broyée à l'aide d'un mortier (figure 13).

Tamisage : Le résidu de broyage a été tamisé par un Tamis de 80 µm (figure 13).



Figure 13 : préparation de la plante (originale, 2022).

1- Récolte, 2- séchage, 3- broyage, 4- tamisage.

2.2. Protocoles d'extraction des HEs de la plante :

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de la plante *Ocimum basilicum* est réalisée par la méthode d'hydrodistillation (Figure 14) selon le protocole suivant :

- Chauffer un ballon contenant 80 g de poudre végétale et 800 ml de l'eau distillé à une température 100°C.
- Les cellules végétales, sous l'effet de la chaleur libèrent leurs huiles.
- Les huiles et les vapeurs d'eau vont s'élever pour atteindre le réfrigérant.
- Le distillat obtenu se compose de deux couches, l'eau et les huiles.
- L'huile essentielle apparait en dessus (l'huile est moins dense que l'eau).
- Evacuer l'eau et récupérer l'huile essentielle à l'aide d'une ampoule à décanter.



Figure 14 : montage utilisé pour l'hydrodistillation (originale,2022).

1- chauffe ballon, 2- ballon, 3- élévateur, 4- montage de Clevenger.

2.3. Détermination du rendement d'extraction :

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est donné par la formule suivant :

$$\text{RHE (\%)} = M'/M \times 100.$$

RHE : Rendement en huile essentielle (%).

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

3. Etude toxicologique :

La méthode suivie pour déterminer l'effet de HEs de *Ocimum basilicum* est le *traitement* par application topique (Hussein *et al.*, 1994). L'huile de la plante est préparée dans un solvant approprié pour les huiles essentielles, le Tween 80 (Adokoh *et al.*, 2019). Les concentrations testées sont : 100, 200, 500 et 800 mg/l. 100 μ l de chaque dose est appliquée sur toute la surface du corps de l'escargot à l'aide d'une micropipette. Les escargots témoins ont été traités par le tween. Les individus morts ont été prélevés chaque 24h durant 96h. Les données ont été analysées à l'aide d'un logiciel (Graph Pad Prism, version 5.03).

4. Etude biochimique :

4.1. Traitement :

Pour déterminer l'effet d'huiles essentielles de la plante sur le taux de vitellogénine dans l'ovotestis et l'activité de la catalase dans le pied des escargots adulte. Les adultes de cette espèce ont été traité par les HES dilués dans le Tween à deux concentrations : 373.570 mg/l et 694.610 mg/l correspond respectivement à la CL25 et la CL50 contre les escargots adultes de cette espèce (résultats la première partie de cette étude).

4.2. Dissection et prélèvement des organes :

Après l'anesthésie et la dissection sous binoculaire, l'ovotestis et une partie de pied d'escargot (témoins et traités) est prélevée à l'aide d'un ciseau chirurgical et une pince (figure 15). Les échantillons sont pesés avec une balance de précision (Sartorius H10). Puis conservé à 4°C jusqu'au dosage biochimique.



Figure 15 : la dissection des escargots et la boîte de dissection (originale 2022).

4.3. Extraction et dosage des vitellogénine :

L'extraction des vitellogénine est réalisée selon la méthode de Descamps, 1996 in Fabre et *al.*, 1990. Il en résulte 3 couches distinctes, une couche de surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitellogénine. Les échantillons sont extraits dans une solution mère de Tris-HCl, consistant à diluer 3,02 g de tris (0,5 M) dans 300 ml d'eau distillée, puis ajuster cette solution à un pH de 7,4 avec de l'HCl concentré et la compléter à 500 ml d'eau distillée. Pour réaliser le tampon complet : diluer 2,9 g de NaCl (0,5 M) dans 10 ml de la solution mère de Tris-HCl compléter à 100 ml d'eau distillée. Le dosage des vitellogénine s'effectue avec un

réactif de bleu brillant de Coomassie (BBC). Le dosage est réalisé comme suit : Prendre 100 µl de la couche intermédiaire obtenue après centrifugation, y additionner 4 ml de BBC, bien agiter puis passer à la lecture des densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme. Les résultats sont exprimés en µl/mg de tissu.

4.4. Dosage de la catalase :

L'activité de la Catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Greenwald (1985). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7). L'homogénat est centrifugé à 10000 trs/min pendant 15 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage est réalisé selon le tableau suivant :

Tableau 02 : Dosage de la catalase

	Surnageant (ml)	Tampon phosphate (ml)	Solution H ₂ O ₂
Blanc	0	0,5	0,5
Echantillon	0,1	0,4	0,5

La lecture des absorbances est effectuée à une longueur d'onde de 240 nm. L'activité spécifique est déterminée par la formule suivante :

$$CAT \text{ (}\mu\text{M/min/mg de protéines)} = \frac{\Delta D_0 / \text{min} \times l}{0,043 \times V} / \text{mg de protéines}$$

ΔD_0 : absorbances de l'échantillon

0,043: coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

V : volume du surnageant : 0,1 ml.

4.5. Extraction et dosage des protéines totales :

L'extraction des protéines contenus dans l'ovotestis des escargots a été réalisée selon la méthode de Shibko *et al.*, (1966). La glande, prélevés sur des escargots témoins et traités à différents temps (0, 24, 48 et 96 heures) après traitement, ont été conservées dans 1ml d'acide trichloracétique (TCA 20%). Après broyage et centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn), le surnageant I est récupéré et au culot, on ajoute 1 ml d'un mélange chloroforme/méthanol (1V/1V). Une deuxième centrifugation (5000 tours/min, 15 min) est réalisée et le culot sera repris dans 1ml de NaOH (0,1 N) pour l'estimation des protéines totales. Le dosage des protéines totales d'escargot a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976) avec de bleu brillant de Coomassie. La réaction de BBC avec le groupement (-NH₂) nous donne

une couleur bleue. Le dosage est réalisé selon le mode opératoire suivant : prendre 100 μ l de l'échantillon puis ajouter 4 ml de BBC, et bien agiter puis lire la densité optique dans un spectromètre à une longueur d'onde de 595 nm.

4.6. Traitements statistiques des données :

Les données sont représentées par la moyenne \pm l'écart type établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisé dans les figures et les tableaux. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel MINITAB version 16. Les moyennes des séries témoins et traitées ont été comparées deux à deux en utilisant le test «t» de Student avec un seuil de signification $P = 0,05$. La quantification des vitellogénine est réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage dont l'équation exprime les absorbances en fonction de la quantité. Les résultats des paramètres toxicologiques et biochimiques ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un (traitement) et à deux critères (traitement et temps) de classification.

Résultats

IV. Résultats :

1. Rendement de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huiles essentielle des feuilles de notre plante *Ocimum basilicum* a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). Le rendement des HEs a été calculé par le rapport entre le poids de HEs d'*O.basilicum* extraire et le poids sec de la poudre végétale utilisée. Pour 9 extractions, le rendement en huile obtenue à partir des feuilles de la plante est mentionné dans le tableau 03. Les échantillons d'*Ocimum basilicum* utilisés dans cette étude ont fourni un rendement de 0,2 g de l'huile essentielle.

Tableau 03 : Rendement (%) de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum*.

Plante	Masse de la matière végétale (g)	Masse de HEs extraite (g)	Rendement
<i>Ocimum basilicum</i>	1280	3,2	0,2

2. Toxicologie des huiles essentielles d'*O. basilicum* à l'égard de l'escargot *Cantareus aspersus* :

2.1. Mortalité observée :

L'extrait est utilisé aux doses 100, 200, 500 et 800 mg/Kg sur des adultes de l'escargot *Cantareus aspersus*. La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 04 avec des taux variant de 0,333 (100 mg/Kg) à plus de 5,333 g/L (800 mg/Kg). L'analyse statistique des données révèle un effet dose hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 04 : Effet de l'huiles essentielle d'*O. basilicum* appliqué sur des escargots adultes (*Cantareus aspersus*) sur la mortalité observée (n = 3).

Concentration (mg/L)	Temps (heure)			
	24	48	72	96
Témoin	0	0	0	0
100	0,333	0,333	0,333	0,333
200	1	1	1	1
500	1,666	1,666	1,666	1,666
800	5,333	5,333	5,333	5,333

Tableau 05 : Effet de l'huile essentielle d'*O. basilicum* appliqué sur des escargots adultes (*Cantareus aspersus*) sur la mortalité observée (n = 3). ANOVA à deux facteurs contrôlés : temps et dose.

Source	DL	SC	CM	F	P
Temps	3	0,000	0,000	0,00	1,000
Dose	4	221,333	55,333	138,33	0,000
Interaction	12	0,000	0,000	0,00	1,000
Erreur	40	16,000	0,400		
Total	59	237,333			

Tableau 06 : Effet de l'huile essentielle d'*O. basilicum* appliqué sur des escargots adultes (*Cantareus aspersus*) sur la mortalité corrigée (n = 3).

Concentration (g/L)	Temps (heure)			
	24	48	72	96
Témoin	0	0	0	0
100	4,162	4,162	4,162	4,162
200	12,50	12,50	12,50	12,50
500	20,82	20,82	20,82	20,82
800	66,66	66,66	66,66	66,66

La droite de régression exprimant la mortalité corrigée en fonction des doses de l'huile essentielle de la plante utilisée (Figure 16). Le coefficient de détermination (R=89,0) révèle une liaison positive entre les mortalités et les doses testées. Les concentrations CL25 et CL50 déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement : 373,578 mg/Kg et 694,615 mg/Kg.

Tableau 07 : Effet des huiles essentielles d'*O. basilicum* appliqué sur des escargots adultes (*Cantareus aspersus*) sur la mortalité corrigée (n = 3).

Dose (mg/L)	0	100	200	500	800
Mortalité corrigée	0	4,162	12,50	20,82	66,66

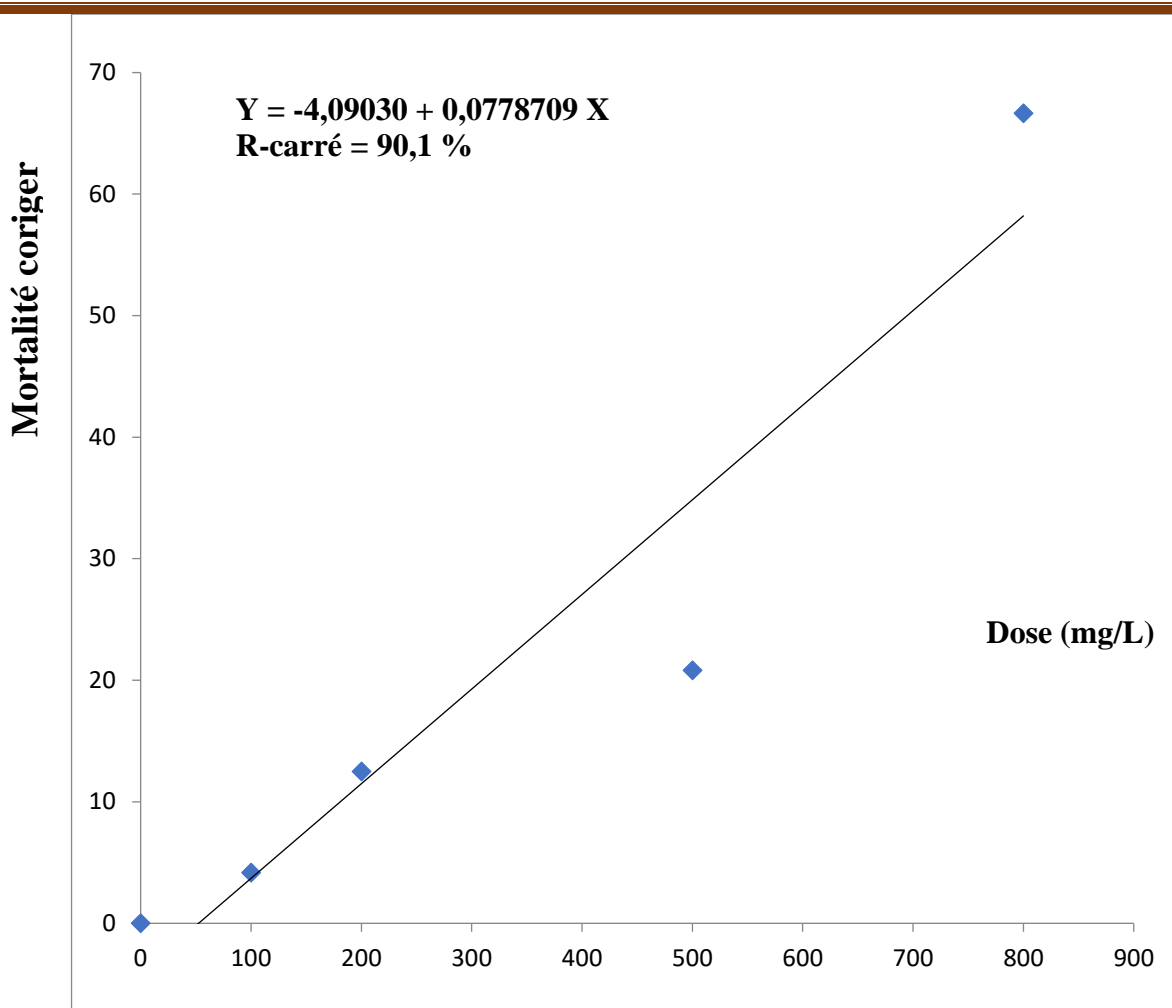


Figure 16 : Courbe de référence exprimant la mortalité corrigée en fonction des doses de l’huile essentielle d’*O. basilicum* appliqué sur l’escargot adulte (*Cantareus aspersus*).

2.2. Effet de L’HE d’*O. basilicum* sur les biomarqueurs :

L’effet de l’HE de des feuilles d’*O. basilicum* à deux doses 373,578 mg/Kg et 694,615 mg/Kg (DL25 et DL50 respectivement) a été évalué sur deux biomarqueurs du stress environnementale chez les adultes de l’escargot *Cantareus aspersus*. Le taux de vitellogénine, l’activité spécifique de la catalase et le taux de protéine ont été déterminés à différents temps 0, 24, 48, 96 heures de traitement.

2.2.1. Effet sur le taux de vitellogénine :

L’induction taux de vitellogénine chez les adultes *Cantareus aspersus* témoins et traités avec de l’HE de des feuilles d’*O. basilicum* à deux doses DL25 et DL50 est représentée dans la Figure 17. Les résultats montrent que l’effet de l’extrait de cette plante, est significatif ($p < 0,05$) sur le taux de vitellogénine après 24 heures de traitement. En effet et sous l’effet du traitement, ce biomarqueur atteint

des valeurs maximales de $7,18 \pm 2,46$ et $9,90 \pm 2,08$ g/mg de tissu après 24 heures respectivement pour la DL25 et DL50.

L'ANOVA à un critère de classification (dose) montre un effet dose non significatif après 48, 72 et 96 heures de traitement. De plus, L'ANOVA à deux critères indique des effets temps significatif ($p=0,004$) et des effets traitement ($p= 0,084$) et traitement-temps ($p= 0,074$) non significatif.

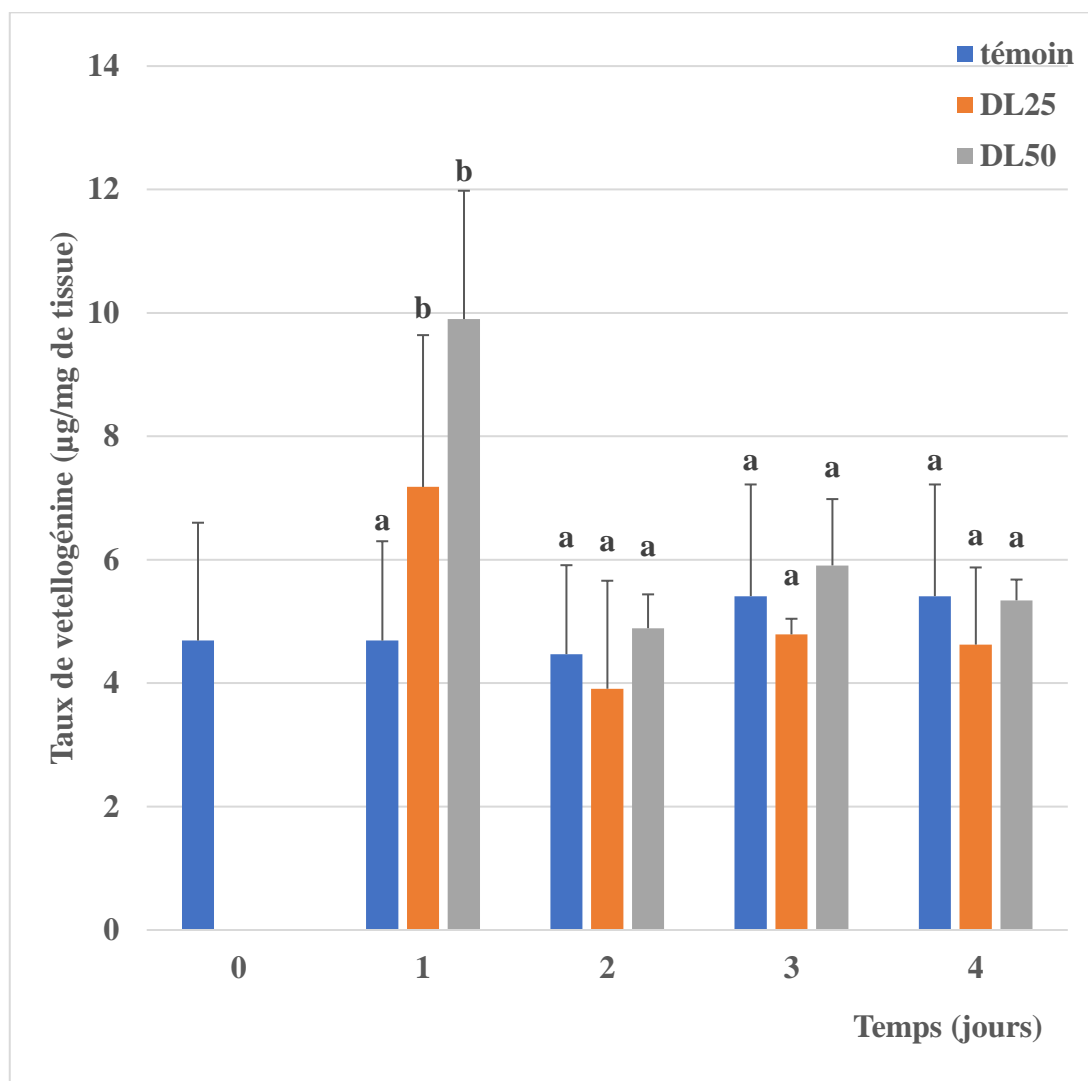


Figure 17 : Taux de vitellogénine dans les ovotestis chez les l'escargot *Cantareus aspersus* exposé à l'huile essentielle de la plante *O. basilicum* (DL25 et DL50) ($m \pm s$; $n=4-5$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p<0,05$).

2.2.2. Effet sur le taux de catalase :

Le traitement des adultes de *Cantareus aspersus* avec l'huile essentielle de la plante *O. basilicum* (DL25 ET DL50) provoque une diminution marquée de l'activité spécifique de la CAT dès le premier jour de traitement (Fig. 18). La comparaison des activités moyennes des escargots traités par rapport aux témoins indique des différences significatives ($p< 0,05$) après 24 heures et hautement significatives ($p< 0,001$) après 48, 72 et 96 jours de traitement par la DL25 et la DL50. L'augmentation de l'activité

spécifique de la CAT dépend de manière hautement significative ($p < 0,001$) du traitement, de temps et de l'interaction traitement-temps.

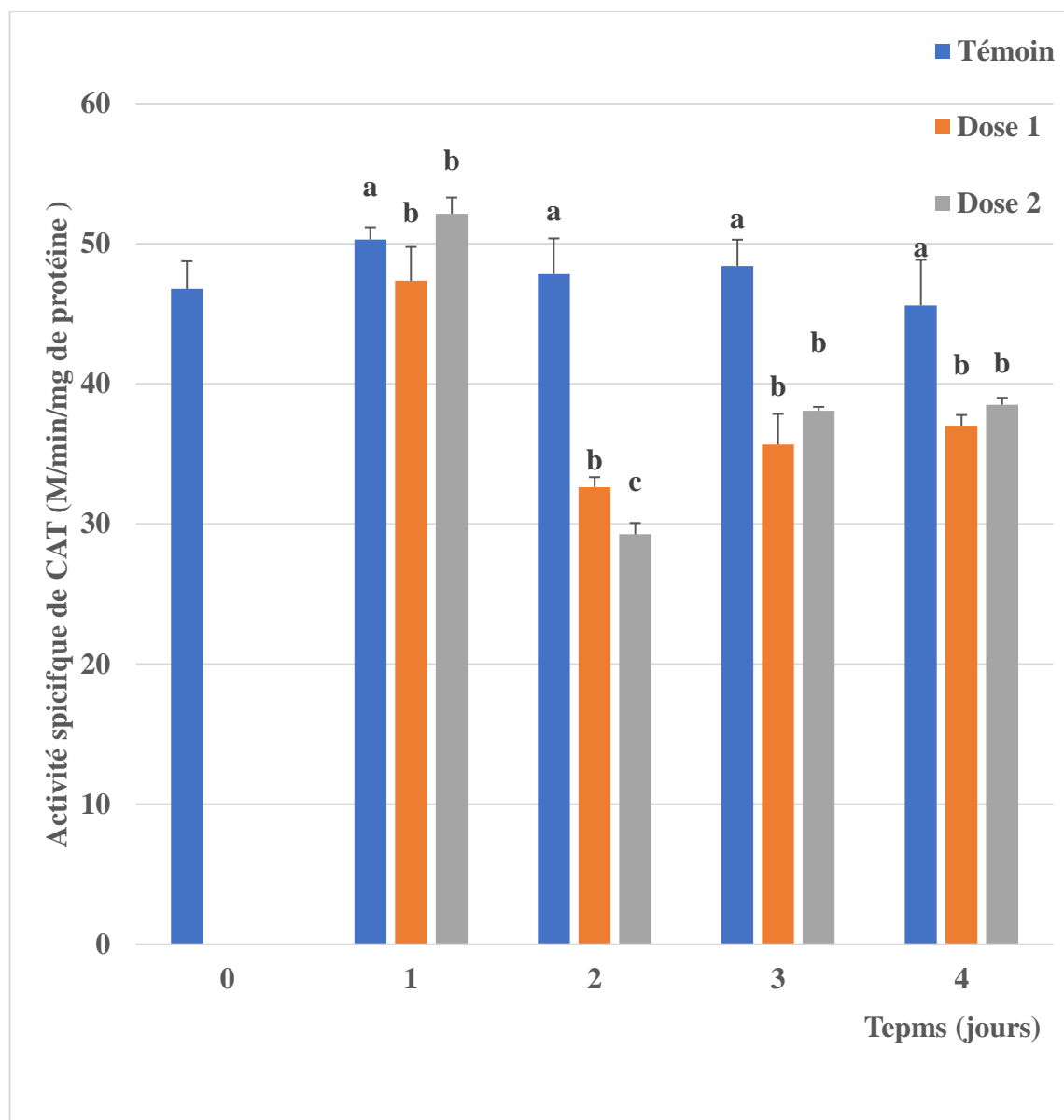


FIG 18 : Activité spécifique du CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les l'escargot *Cantareus aspersus* exposé à l'huile essentielle de la plante *O. basilicum* (DL25 et DL50) ($m \pm s$; $n=4-5$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$).

2.2.3 Effets sur le taux de protéines totales :

Chez les escargots témoins, le taux de protéines ne présente pas des variations significatives ($p > 0,05$) au cours de la période de traitement. Chez les adultes traités, l'effet de l'huile essentielle du basilic, appliqué a deux doses (DL25 et DL50), est significatif ($p < 0,05$) à partir de 48 heures de traitement (figure 19). Cependant auc'une différence significative n'a été noté entre les doses utilisées. En effet, et sous l'effet du traitement, le taux de protéines atteint la valeur maximale de $2,0833 \pm 0,0750$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu et $2,2303 \pm 0,0490$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu après 48 heures avec la DL25 et la DL50

respectivement. L'ANOVA à deux critères indique des effets traitement significatif ($p < 0,001$) et des effets temps ($p < 0,001$) et traitement-temps ($p = 0,01$) significatif.

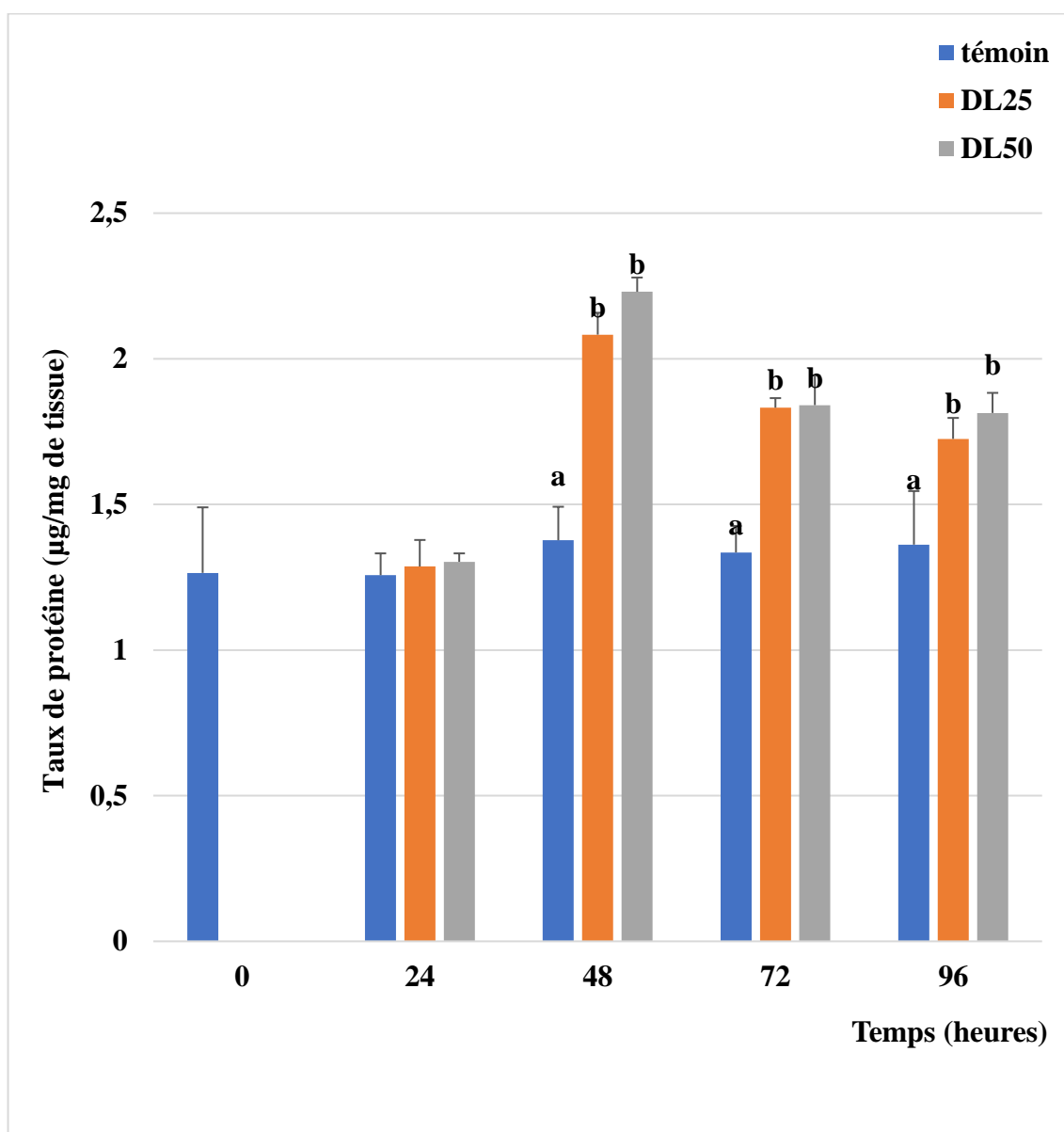


Figure19 : le taux de protéine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les l'escargot *Cantareus aspersus* exposé à l'huile essentielle de la plante *O. basilicum*. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$)

Discussion

V. Discussion :

Les escargots peuvent causer des dégâts considérables par leurs dommages sur les plantes et les coûts non négligeables de leur contrôle dans les productions agricoles. De plus, organismes nuisibles peuvent être des vecteurs pour plusieurs maladies parasitaires tel que les bilharzioses et les schistosomiasis (Youcefi, 2012). Les molluscicides sont émis à l'environnement pour la protection des cultures contre ces espèces. Le manque de sélectivité et l'usage pas forcément abusif mais cependant inconsidéré de ces substances introduit plusieurs effets néfastes à l'écosystème. Ces produits peuvent endommager le système immunitaire des organismes, agit aussi sur la qualité de sol et bien sur la santé de l'être humain (Werf, et *al.*, 1997). Notre travail vise à évaluer l'effet répulsif de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* à l'égard de l'escargot le plus abondant dans la région de Skikda, *Cantareus aspersus*.

Rendement de l'huile essentielle :

Le rendement moyen en huile essentielle de notre plante a été déterminé en fonction de la matière végétale sèche des feuilles de la plante. Le rendement de d'*Ocimum basilicum* est 0,2%. Nos résultats sont similaires avec les résultats obtenus par Teuscher *et al.*, (2005). En effet, ces chercheurs ont signalé que le rendement de l'HE d'*O. basilicum* issue des feuilles séchées est entre 0,2 à 2,7%. De plus, Yayi et *al.* (1998). Signalent que le rendement de cette plante est entre 0,1 à 0,4% en Bénin. Par contre, notre rendement est faible par rapport à celui signalé au Maroc (0,8%) par Berrade et *al.*, (1987). Le rendement des HEs des plantes dépend de plusieurs facteurs tels que : les paramètres environnementales et climatique, la qualité de sol, le degré de maturité, les facteurs génétiques, type de culture et le mode de récolte de la plante plus le mode d'extraction utilisé (Mnayer, 2014). Cette différence dans les résultats est probablement due à la période de récolte. Notre plante a été récoltée durant le mois de mars, ou la plante n'était pas encore mature. Selon (Belkamel, et *al.*, 2008) le rendement des HEs sera au maximum dans la période de pleine floraison.

Etude toxicologique :

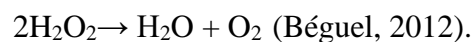
La toxicité aiguë permet de déterminer la dose létale 50, définir et établir la relation entre les effets observés les doses administrés et aussi de déterminer les risques d'utilisation des fortes doses (Brika, et *al.*, 2002). La dose létale (DL50) est définie par la quantité d'une substance administré une seule fois et qui permet la mort de la moitié (50%) de la population étudiée. Elle nous permet de connaître le potentiel toxique (à court terme) des substances pendant 96h (toxicité aiguë). Dans cette étude la toxicité aiguë (96 h) de l'huile essentielle a été testée sur l'escargot terrestre *C. aspersus* en utilisant le traitement par application topique (Salama *et al.*, 2005 ; Radwan & Mohamed, 2013). L'estimation des

doses létales montre que les taux de mortalité dépendent aux doses testées. L'étude d'*Ocimum basilicum* chez un lépidoptère de denrées stockées montre qu'il y a une relation directe avec la dose et le nombre de mortalité (Baizid, 2016). La première réponse été la sécrétion de la bave d'escargot lors de traitement. Ces réponses ont été enregistrées chez la même espèce après traitement avec l'extrait alcaloïdiques des feuilles de la plantes *Arum maculatum*. Les données toxicologiques montrent que l'HEs de la plante est toxiques à cause des principes actifs (linalol, estragol, eugénol, méthyle-chavicol).

Etude biochimique :

La vitellogenèse représente le processus de stockage de réserves, au sein de l'ovocyte, pour le développement du futur embryon. La vitellogénine a été classé comme un biomarqueur des perturbateur endocrinien (PE) (Asmane, et al., 2021). La réponse de la vitellogenèse est liée à l'état de maturité sexuelle des espèces, dont l'exposition aux toxiques en période de reproduction n'a pas d'effet à cause de saturation de l'induction vitellogénique (Allen, et al., 1999). Dans ce travail, les résultats montrent que l'HEs de la plante *O.basilicum* utilisé à deux doses : 373,578 g/l et 694,615 g/l, correspondant à la DL25 et DL50 respectivement contre les adultes de cette espèce, provoque une perturbation du taux de vitellogénine dans l'ovotestis. De plus l'effet de la dose la plus élevée est plus marqué durant les premières 24h. ce taux diminuer après 72h. Cette perturbation permet de détectée et signalé les dommages induit par l'huile essentielle de notre plante.

Le pied de l'escargot présente l'appareil locomotive qui peut se contracte facilement à l'aide des muscles, il contient aussi des glandes de mucus surtout dans la partie antérieure (Zaafour, 2014). La catalase est une enzyme antioxydante elle assure la détoxification suite à une attaque oxydante et qui permettre la conversion de deux molécules de H_2O_2 en H_2O et O_2 selon la formule suivante :



Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont générées par divers polluants organiques et métalliques via différents mécanismes localisés dans le cytoplasme et les organites cellulaires (Lemaire et al., 1994 ; Lopes et al., 2001). Au sein de ces mêmes compartiments intracellulaires, les ROS peuvent y être piégées et métabolisées par diverses protéines enzymatiques et non enzymatiques (Di Giulio et al., 1989 ; Lemaire et al., 1994). L'augmentation de la production de ROS peut induire ou inhiber l'activité et la synthèse de ces composés antioxydants dont l'étude.

La catalase (CAT) est une enzyme cytosolique inductible dont la fonction est de protéger les systèmes biologiques contre les ROS (Roméo et al. 2000). Il s'agit d'une hémoprotéine tétramérique qui, avec un atome de fer par sous unité, a une masse d'environ 240 kDa. Cette enzyme catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Digiulio et al., 1989 ; Orbea et

al., 2002). La catalase une enzyme antioxydante complémentaire de la GPx contre la peroxydation induite par le peroxyde d'hydrogène (Cossu *et al.*, 1997). La catalase est très utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif (Van der-oost *et al.*, 2003 ; Napierska & Barsiene, 2009). Nos résultats montrent que l'extrait de la plante *O.basilicums* utilisés à deux doses 373,578 g/l et 694,615 g/l (DL25et DL50 respectivement) diminue significativement l'activité spécifique de la catalase après les différents temps d'exposition. La dose la plus élevée semble avoir un effet plus marqué sur cette diminution après 48 heures de traitement comparativement à la dose la plus faible ou l'activité la plus faible a été enregistrée après 72 heures de traitement. La diminution de l'activité spécifique de la CAT dans cette étude exprime la réponse de l'organisme à l'augmentation de la génération de ROS avec les deux insecticides. L'induction de l'activité de la CAT constitue la première étape de défense contre les ROS (Pandey *et al.*, 2001). La diminution de l'activité de la CAT chez les escargots a été rapportée par l'étude de stress oxydatifs des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa* (Garara, *et al.*, 2012). Et par (Besnaci, *et al.*, 2022). Et dont l'activité de CAT a subi une diminution sous l'action des nanoparticules.

Les protéines sont des macromolécules qui présentent plus de 50% de poids sec des êtres vivants. Ce sont des composés organiques, présent dans toutes les cellules, formé tous de mêmes acides aminés (Jean, 2002). Les protéines jouent un rôle très important au niveau de formation des muscles aussi peut impliquer plusieurs processus comme la réponse immunitaire, la digestion enzymatique le renouvellement des tissue et assure le transport d'oxygène dans l'organisme (Ciriac, 2013). Nous avons constaté une augmentation du taux des protéines dès les premiers jours de traitement par les deux doses.

Ces résultats prennent le même chemin de ceux de plusieurs autres auteurs qui ont lié cette augmentation au stress chimique (Zaafour, *et al.*, 2014). Pour combattre ce stress les escargots ont besoins d'Énergie c'est à cause de sa que la protéine soit stimulée par le catabolisme.

Conclusion

VI. Conclusion et perspectives :

L'agriculture est l'un des principaux secteurs d'activités qui contribue au développement socio-économique des populations. Les espèces nuisibles telles que les limaces et les escargots peuvent provoquer certaines années de graves pertes commerciales, notamment en cas d'attaque précoce sur jeune plant. L'utilisation des molluscicides conventionnels dans la lutte contre ces espèces reste une méthode contraignante et moins efficace. Notre étude a pour objectif de chercher un molluscicide phytosanitaire naturel, et qui peut être considéré comme une alternative aux produits chimiques conventionnels.

Cette étude consiste à déterminer la CL25 et La CL50 de l'extrait des feuilles *d'Ocimum basilicum*, sur l'escargot le plus dominant dans le Nord-est Algérien, *Cantareus aspersus*. De plus l'effet aigu de cet extrait sur deux biomarqueurs du stress environnementale a été déterminé dans les conditions de laboratoire.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les doses DL25, DL50 à partir de la droite de régression exprimant la mortalité en fonction des doses de l'huile essentielle de la plante *d'Ocimum basilicum*.

L'estimation de l'activité des biomarqueurs révèle une inhibition de l'activité de la CAT et une réduction du taux de vitellogénine et de protéine. Les variations de ces biomarqueurs traduisent la toxicité de ces deux insecticides de manière différente à l'égard de cette espèce ciblée.

Enfin, L'extrait des feuilles de notre plante montre une activité molluscicide intéressante contre le mollusque terrestre *Cantareus aspersus*.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter ce travail par :

- L'évaluation de l'effet de ce traitement sur la glande hépatopancréatique des escargots.
- Doser d'autre enzyme de détoxification.
- Réaliser ses tests de toxicologie chez les juvéniles de *Cantareus aspersus*.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

VII. Références :

- Allen, Y ; Scott, AP ; Matthissen, P ; Haworth, S ; Thain, JE et Feist, S. 1999.** A Survey of estroenic activity in UK esturine coastal waters and its effects on gonadedal development on the flounder (*Platichthys flesus*). Env.Toxicol.chem.
- Ameur, Narimene. 2021.** caractérisation et évaluation des poussières et leurs impact sur la bio-écologie des gastropodes, dans la région d'Ain Touta (Batna,Algérie). BATNA, Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2, Algérie.
- Aoudahi, Samia. 2010.** Memoire Online - Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Tunis .
- Asmane, Maroua et Bekkai, Rihem. 2021.** Effet d'un insecticide sur les organismes non-visés, cas d'un gastéropode, *Eobenia vermiculata*.
- Auclerc, A. 2019.** escargot. Ephytia. <http://ephytia.inra.fr>.
- Baizid, Farida. 2016.** Etude toxicologique et biochimique d'*ocimum basilicum* chez un lépidoptère de denrées stockées. Tébéssa.
- Béguel, Jean-Philippe. 2012.** Etude de la capacité antioxydante en lien avec la reproduction chez *l'huître creuse Crassostrea gigas*.
- Bekhechi, Chahrazed et Abdelouahid, djamel. 2010.** les huilles essentielles. s.l. : office des publication université.
- Belkamel, Abdeljalil; Bammi, Jamel; Janneot, Valérie; Belkamel, Abdelfetah; Dehbi, youssef et Douria, Allal. 2008.** Évaluation de la biomasse et analyse des huiles essentielles de trois variétés de basilic (*Ocimum basilicum L.*) cultivées au Maroc, pp. 467-476.
- Besnaci, Sana; Bouacha, Mabrouka; Chaker, Amina; Babouri, Yasmine et Bensoltane, samira. 2022.** Impact des nanoparticules de silice fumée SiO₂ sur des indicateurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa*.
- Blandine, MEUS et Gilles, BOCQUENÉ. 1999.** Effets endocriniens des contaminants en milieu marin.
- Boisclair, Josée. 2006.** Lutter contre les insectes nuisibles en agriculture biologique : intervenir en harmonie face à la complexité, pp. 83-90.
- Brika, Loubna., Guesmi, Khedidja et Boussek, Khalida. 2002.** Détermination de la DL50 d'un extrait brut de la plante *Ranunculus repens*
- Baker G.H. et Hawke B.G., 1990.** Life history and population dynamics of *Theba pisana* (mollusca: Helicidae), in a cereal pasture rotation. Jour. Appli. Ecology., 27: 16-29.
- Chandler, David., Alastaire S., Bailey, G., Mark, Tatchell., Gill, Davidson., Justin, Greaves et Wyn P, Grant. 2011.** The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B., 366(1573), 1987- 1998.
- Cecchini, T et Ticli, B. 2004.** Encyclopédies des plants médicinales. Italie : Vecchi S.A.
- Chabanechaouche, Hanane et Chabanechaouche, Sabrina. 2017.** Etude de l'effet de pesticides et le pouvoir de bioaccumulation chez les escargots dans la région de Bouira. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira, Algérie.
- Chenni, Mohammed. 2016.** Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum L.*" extrait par hydrodéstilation et par micro-ondes. Oran, Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Algerie : s.n., 4 12.
- Christian K. Adokoh, Du-Bois Asante, Desmond O. Acheampong, Yohei Kotsuchibashi, Francis A. Armah, Ignatius H. Sirikiyi, Keisuke Kimura, Edward Gmakame, et Sey Abdul-Rauf, 2019.** Chemical profile and *in vivo* toxicity evaluation of unripe *Citrus aurantifolia* essential oil. Toxicol Rep. 6: 692–702.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M. C. et Vasseur P., 1997.** Biomarqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques. In: Biomarqueurs en écotoxicologie - Aspects fondamentaux (eds. Lagadic L., Caquet T., Amiart J. C., Ramade F.), pp. 149-163, Paris.
- Ciriac, Charles. 2013.** les protéines. s.l. : Anses.
- Digiulio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J., Winston G.W. et Jewell C.S., 1989.** Biochemical responses in aquatic animals – a review of determinants of oxidative stress. Environ. Toxicol. Chem., 8: 1103-1123.

Références bibliographiques

- Doctissimo. 2017.** Basilic (*Ocimum basilicum*) : bienfaits et vertus en phytothérapie, indications thérapeutiques, composition et posologie de cette plante médicinale. doctissimo. <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/basilic.htm>.
- Franquesa, Maria. 2019.** Les ravageurs agricoles et leur typologie.
- Garara, Nedjoud., Boucenna, Mounir., Atailia, Amira., Berrebbah, Houria et Djeber, Mouhamed Reda. 2012.** l'étude de stress oxydatifs des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*.
- Gilly, Guy. 2005.** Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse. s.l. : L'harmattan.
- González, Gabriel. 2022.** L'escargot, un locataire utile dans les jardins.... Jardiner Malin : jardinage et recettes de saison. <https://www.jardiner-malin.fr/fiche/escargot.html>.
- El-Okda M.K., 1984.** Land mollusca infestation & chemical control in El-Ismaelia Governorate. Agricu. Resear. Rev, Egypt., 62: 87-92
- Hamdane, Nadir et Kemcha, Nedjmeddine. 2018.** Huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum* L:Activité antibactérienne et utilisation comme additif naturel dans la conservation de la viande hachée. Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algerie.
- Hamdi-Ourfella, Amina et Soltani, Noureddine. 2016.** Biodiversité des Gastéropodes en Algérie. Bioindicateur *Helix aperta*.
- Hussein H.I, Kamel A., Abou-Zeid M., El-Sebae A.H. et Saleh M.A., 1994.** Uscharin, the most potent molluscicidal compound tested against land snails. Jour. Chem. Ecol., 20: 135-140.
- Immessaoudene, Khedidja et Tigrini, Samia. 2018.** Inventaire qualitatif et quantitatif des Gastéropodes terrestres dans la région d'Aghbalou wilaya de Bouira. Bouira, Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira, Algérie.
- Jacqueline. 2018.** Les effets secondaires du basilic sacré - Fiche pratique sur Lavise.fr. s.l. : lavise.
- Jardiner, Autrement. 2018.** Lutter contre les limaces et les escargots - Jardiner Autrement.
- Jean, Louis cuq. 2002.** biochimie des protéines. s.l. : université de montpellier.
- Jovana Daravel, François Krier, et Philippe Jacques., 2013.** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 18(2), 220-232
- Jubeaux, G., Simon, R., Audouard Combe, F., Quéau, H., Salvador, A., Gffard, Olivier et chaumot, Arnaude. 2020.** mesure de la vitellogénine chez les invertébrés: pertinence et application de la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) en vue de proposer une méthode spécifique et transférable entre espèces.
- Ittah Y. & Zisman U., 1992.** Evaluation of volatile ally alcohol derivatives for control of snails on cut roses for export. Pest. Scien., 35: 183-186.
- Kassab A. & Daoud H., 1964.** Notes on the biology & control of land snail of economic importance in the U.A.R. Jour. Agricu. Resear. Rev, Cairo., 42: 66-98
- Lambion, Jérôme. 2005.** Limaces et escargots en agriculture biologique : quelle alternative au métaldéhyde ?
- Leng P., Zhiming Z., Guangtang P. et Maojun Z., 2011.** Applications and development trends in biopesticides. Afr. J. Biotechnol., 10(86), 19864-19873.
- Leiutaghi, Pierre. 1996.** le livre des bonnes herbes. france : Actes Sud.
- Lemaire P., Matthews A., Förlin L. et Livingstone D. R., 1994.** Stimulation of oxyradical production of hepatic microsomes of flounder (*Platichthys flesus*) and perch (*Perca fluviatilis*) by model and pollutant xenobiotics. Arch. Environ. Cont. Toxicol., 26: 191-200.
- Lopes P. A., Pinheiro T., Santos M. C., da Luz Mathias M., Collares-Pereira M. J. et Viegas-Crespo A. M., 2001.** Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (*Leuciscus alburnoides* complex) to inorganic pollutants exposure. Sci. Total Environ., 280:153-63.
- Mnayer, Dima. 2014.** Eco-extraction des huiles essentielles et des aromes alimentaire en vue d'une application comme agents antioxydant et antimicrobiens. vaucluse, université d'avignon et des pays de vaucluse .

Références bibliographiques

- Napierska D, Barsiene J. 2009.** Biomarkers responses in flounder *Platichthys flesus* from the polish coastel area of the blatic sea and application in biomonitoring. *Ecotox.*, 18(7): 846-859.
- Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M., Sole M., Porte C., et Cajaraville M.P., 2002.** Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquat. Toxicol.*, 58: 75–98.
- Pandey S., Ahmed S., Parvez S., Bin-Hafeez B., Haque R., et Raisud S., 2001.** Effect of endosulfan on antioxidants system of fresh water fish *Channa punctatus* bloch: Protection agaist lipide prroxidation in liver by copper pre-exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41:345-352.
- Radwan M.A. et Mohamed M.S., 2013.** Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, **95**: 91-97.
- Ribe. 2001.** Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*.
- Roméo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M. & Girard J.P., 2000.** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Toxicol.*, 48: 185-194.
- Salama A.K., Osman K.A., Saber N.A. et Soliman S.A., 2005.** Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pak. Jour. Biol. Sci.*, **8 (1)**: 92-96.
- Sahi, Lamia. 2016.** La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie, p. 41.
- Silly, Ysabelle. 2012.** huile essentielle de basilic commun (*Ocimum basilicum*). santé magazine. www.santemagazine.fr/medcinesalternatives.
- Skendrani, Fatiha. 2015.** Inventairequantitative et qualitative des gastropodes terrestres au niveau de de deux stations de Tizi-Ouzou (Makouda et Draa Ben Khada).Université Mouloude Mammerie,de Tizi Ouzou, Algérie.
- Thakore Y., 2006.** The biopesticide market for global agriculture use. *Ind. Biotechnol.*, 2, 194-208.
- U, Johnson Ll ET Casillas E et Collier Tk ET Mc Cain Bb ET Varanasi. 1988.** Contaminant effects on ovarian devlopment in English Sole (*Parophyse vetulus*).
- Van der Oost R., Beyer J., Vermeulent N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Review. Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13:57-149.
- Werf, Hayo et Van der, Mg. 1997.** évaluer l'impact des pesticides.
- Youcefi, Djamilia. 2012.** Extraction de substances actives du fruit de l'arbre du *Sapindus mukorossi* : caractérisation et applications.
- Zaafour, Moncef. 2014.** Etude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre. Université Badji Mokhtar - Annaba, Algérie.
- Zaafour, Moncef, Meddour, Abderrafique et Boulakoude, Mouhammed Saleh. 2014.** biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* (gastropoda;Helicidae) en zones agricole et urnaines polluée cdans la région d'El-Hadjar. Annaba, Algérie.
- Zaidi, Nedjoua, Douafer, Louiza et Hamdani, Amel. 2021.** Diversity and abundance of terrestrial gastropods in Skikda region (North-East Algeria): correlation with soil physicochemical factors.