

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 de nature et de vie
Spécialité : Ecotoxicologie animale

Intitulé :

Etude comparative de l'effet toxique de l'Actara et de
l'huile essentielle de *salvia officinalis* à l'égard de
l'escargot *Hélix aspersa*

Présenté Par : Bouchehit Ines
Mosbah Chams
Zaouali Abir
Zennir Hadjer

Membre de Jury :

Mme. BOUCCETA Sabrina (MCA)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. ZAIDI Nedjouda (Pr.)	Promoteur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. LAIB Imen (MCA)	Examineur	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

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

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

Je tiens à remercier **Dr. LAIB I.**, qui nous a ravi et enchanté par sa
présence en tant qu'examinatrice 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.

On remercie beaucoup la Doctorante HERMOUCHE A et Talbi F pour ses aides et ses conseils

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.

Dédicace

Je dédie ce travail

***A ma magnifique maman,** si Dieu a mis le paradis sous les pieds des mères ce n'est pas pour rien, je suis très chanceuse de t'avoir comme maman, tu es le symbole de bon et de lutte pour moi, sans toi je ne serais jamais là où je suis aujourd'hui, tu es la personne la plus combattante que je connaisse. Je veux exprimer ma plus profonde gratitude pour ton soutien indéfectible pendant mes moments difficiles. Ta présence et les encouragements ont été mes piliers de force.*

***A mon père,** l'homme de ma vie, où je resterai toujours petite à ses yeux, je suis fière d'être ta fille. Grace à votre soutien infini et à vos grand sacrifices, j'ai pu parvenir à cela, vous avez toujours la force motrice de chacun de mes succès.*

***A mes sœurs Ikram, Wissem et Anfel ainsi mon frère unique Oussama,** votre présence dans ma vie est un cadeau précieux que je chéris chaque jour. Votre soutien inconditionnel et votre encouragement ont été des forces motrices tout au mon parcours scolaire.*

***A mon oncle Salah et sa femme,** Votre amour et votre soutien constants ont été essentiels à mon succès. Je vous remercie pour vos mots inspirants, vos conseils et votre dévouement à chaque étape de ce parcours. Votre présence à mes côtés m'a motivé et poussé vers l'avant. Je vous suis profondément reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

***A mes chères amies Wissem et Youssra,** je vous remercie du fond de cœur pour votre amitié indéfectible, votre présence à mes côtés a rendu ce parcours plus enrichissant et mémorable.*

***A ma chère collègue Hadjer,** ma plus belle rencontre de mon parcours universitaire.*

***Au Doctorante Abir,** Merci pour votre dévouement et vos efforts constants à nos côtés dans ce travail.*

A tous ceux qui m'aiment, je vous dédie cette réussite.

Avec mes sincères remerciements et ma gratitude

Chams

Dédicace

Je dédie cet effort à :

Celui qui est aujourd'hui absent mais toujours présent dans mon cœur, il n'a jamais quitté mon esprit ni ma prière, et je ne l'ai jamais oublié à mon père Abdessalam : « Tu as toujours été un exemple de droiture, de gentillesse et de sincérité pour moi, et je reste toujours fière d'être ta fille, qu'Allah ait pitié de toi et te fasse entrer dans les vastes jardins de Son paradis »

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non âmes gences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, à ma chère maman
Houria*

A ma source inépuisable de bonheur et de soutien ma sœur :

« Tu es bien plus qu'une sœur. Tu es celle avec qui j'ai ri aux éclats et pleuré en silence. Tu as été ma source de force lorsque je me sentais faible, ma voix de raison quand le chaos régnait, et mon rayon de soleil même les jours les plus pluvieux »

A mon frère Abdeallh tu as été mon premier héros, mon bras droit et mon guide dans les moments d'incertitude, qu'Allah vous protège et vous bénisse de sa grâce

A ma chère tante Soumia qui nous a quittés trop tôt, que la miséricorde d'Allah soit sur elle

: « Tu resteras toujours dans nos cœurs »

A mon fiancé Salah Eddine pour son soutien moral, l'encouragement et l'aide qu'il m'a accordé

A mon grand-père Houssin et ma grand-mère Cherifa pour leur prières et amour A toute ma famille et mes tantes Ahlem ,kanza et Amira pour leur encouragements et

soutien constants

A mes très chères amies Hadil, Rayan, Nour , Ahlem , Rania , Ikram ,Abir et Hadjar ,votre amitié précieuse et votre soutien constant ont illuminé mon parcours

A ma chère collègue Chams

A Abir Hermouche pour ses conseils et sa gentillesse A tous que j'aime...

Hadjer

Dédicace

***A mes chers parents, pour leur soutien inconditionnel,
leur guidance précieuse et leurs sacrifices sans fin.
A mon frère walid et sœurs Azza, Lamia, Sabi, Hanane, pour leur soutien moral.***

Et leurs encouragements constants.

***A mes amies Rimah et Ines, qui ont rendu chaque moment de cette aventure mémorable
et enrichissante.***

*Enfin, à tous ceux qui ont cru en moi,
m'ont encouragé et m'ont aidé à surmonter les défis, je vous suis profondément reconnaissant.*

Ines

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*A ma très chère mère **Menfouche fahima**,
Qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.*

*A mon très cher père **Zaouali Boughaba**,
Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.
Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A mon très cher frère. **Abdou** et mes sœurs **Nedjwa, Manel et Sameh**.*

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé. Et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ceux que j'aime.

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	<i>Helix aspersa</i> (Original, 2024).	05
02	Anatomie de l'escargot (Grara, 2011).	06
03	Schéma de l'appareil génital de l'escargot (Guyard, 2009).	07
04	Accouplement de Petit-Gris (Buron-Mousseau, 2014).	08
05	Structure chimique du Thiamethoxam.	10
06	<i>Salvia Officinalis L</i> (https://inpn.mnhn.fr).	13
07	Jardin botanique de l'université de Skikda (Originale, 2024).	15
08	Elevage d'escargot <i>Hélix aspersa</i> (Original, 2024).	16
09	La plante <i>S. officinalis</i> (Original, 2024).	16
10	Montage utilisée pour l'hydrodistillation (Original, 2024).	17
11	L'Actara après la préparation (Original, 2024).	17
12	Traitement des escargots (Originale, 2024).	18
13	Prélèvement d'organe de <i>Hélix aspersa</i> (original, 2024).	19
14	Courbe de référence représente la mortalité corrigée des escargots en fonction des logarithmes décimaux des doses après 96 heures de traitement avec l'Actara.	25
15	Courbe de référence représente la mortalité corrigée après 96 heures de traitement en fonction des logarithmes décimaux des doses de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> appliqué sur des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> .	27
16	Activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) dans la tête des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> exposés à l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> ($m \pm s$; $n=3$).	28
17	Activité spécifique du CAT (μ M/min/mg de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> exposés à l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$; **: différence significative à $p < 0.01$	30
18	Taux de GSH (μ M/mg de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> exposés à l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$).	32
19	Taux de glucides (μ g/mg de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> exposés à l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$).	34
	Taux de lipides (μ g/mg de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> exposés à l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$).	36

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Propriétés physico-chimiques du thiaméthoxam (A.R.L.A.S.C., 2007).	11
02	Composition de l'huile essentielle de <i>Salvia officinalis</i> (Wolter, 2007).	14
03	Dosage de la catalase.	20
04	Dosage de glucides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.	21
05	Dosage de lipides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.	22
06	Effet de l'Actara appliqué sur des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> sur la mortalité observée.	24
07	Effet de l'Actara appliqué sur des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> sur le taux de mortalité corrigée.	25
08	Effet de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> sur la mortalité observée des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après 96 heures de traitement.	26
09	Effet de l'huile essentielle de <i>S.officinalis</i> sur la mortalité corrigée des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> .	27
10	Classement par ordre décroissant d'Activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) dans la tête des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après traitement avec l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> a la dose de 125 mg/L : test de tukey.	29
11	Classement par ordre croissant de Activité spécifique de la CAT (μ M/min/mg de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après traitement avec l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> a la dose de 125 mg/L: test de tukey.	31
12	Classement par ordre décroissant du taux de GSH (μ M/min/mg de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après traitement avec l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> a la dose de 125 mg/L : test de tukey.	33
13	Classement par ordre croissant du taux de glucides (μ g/mg de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après traitement avec l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> a la dose de 125 mg/L: test de tukey.	35
14	Classement par ordre croissant du taux de lipides (μ g/mg de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes d' <i>Hélix aspersa</i> après traitement avec l'Actara et l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i> a la dose de 125 mg/L: test de tukey.	37

Liste des abréviations

HE : Huile essentielle.

nAChR : Récepteur d'acétylcholine nicotine.

TMX : Thiamethoxame.

25WG : Water dispersible granules (granules dispersibles dans l'eau).

DMSO : Diméthyles sulfoxyde.

AChE : Acétylcholinestérase.

CAT : Catalase.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène (connu sous le nom d'eau oxygénée).

GSH : Glutathion.

DTNB : Acide 5-5' -dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Elman).

(-SH) : Les groupements thiol du glutathion (ou le groupe sulfhydryle).

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique.

ASS : Acide sulfosalicylique (connu sous le nom d'aspirine).

TCA : Acide trichloracétique.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

DL 50 : Dose létale qui provoque la mort des 50% d'une population.

DL 90 : Dose létale qui provoque la mort des 90% d'une population.

RESUMES

Résumé

Cette étude vise à évaluer les effets de l'Actara et de l'huile essentielle d'une plante médicinale *S. officinalis* sur un gastéropode terrestre commun dans le Nord-Est algérien, *Helix aspersa*. La mortalité et les doses létales des deux composés ont été déterminées après 96 heures d'exposition. De plus, la toxicité aiguë et subaiguë a été évaluée en fonction de des activités enzymatiques et des réserves énergétique de cette espèce. Les doses létales ainsi que les paramètres biochimiques (acétylcholinestérase, catalase, GSH, les lipides et les glucides) ont été mesurés à différents temps de traitement (1, 2, 3, 4, 7 et 14 jours). Les tests toxicologiques montrent une corrélation positive entre les mortalités les doses testées et les doses létales CL50 et CL90 de l'Actara sont respectivement de 224,388 mg/L et 781,627 mg/L. En revanche, la CL 50 et la CL 90 sont respectivement de 351,5 mg/L, 748,169 mg/L. Le traitement des adultes d'*Helix aspersa* par l'extrait de la plante *S. officinalis* et l'insecticide pendant 14 jours entraîne une induction des activités enzymatiques et des réserves énergétiques comme le montrent les résultats du dosage biochimique. Cette induction se manifeste par une inhibition significative de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase et du taux de GSH et une augmentation significative l'activité spécifique de la catalase, le taux de lipides et de glucides.

Mots clés : *Helix aspersa*, Huile essentielle, *S. officinalis*, Actara, Toxicité aiguë, Ccomposition biochimiques.

Abstract

This study aims to evaluate the effects of Actara and the essential oil from the medicinal plant *S. officinalis* on a common terrestrial gastropod in northeastern Algeria, *Helix aspersa*. Mortality and lethal doses of both compounds were determined after 96 hours of exposure. Additionally, acute and subacute toxicity was assessed based on enzymatic activities and energy reserves of this species. Lethal doses and biochemical parameters (acetylcholinesterase, catalase, GSH, lipids, and carbohydrates) were measured at various treatment times (1, 2, 3, 4, 7, and 14 days). Toxicological tests show a positive correlation between mortality and tested doses, and the lethal doses (CL50 and CL90) of Actara are 224.388 mg/L and 781.627 mg/L, respectively. Conversely, CL50 and CL90 for *S. officinalis* are 351.5 mg/L and 748.169 mg/L, respectively. Treatment of adult *Helix aspersa* with the extract of *S. officinalis* and the insecticide for 14 days results in induction of enzymatic activities and energy reserves, as indicated by biochemical assays. This induction is characterized by significant inhibition of acetylcholinesterase specific activity and GSH levels, and significant increase in catalase specific activity, lipid, and carbohydrate levels.

Key words : *Helix aspersa*, Essential oil, *S. officinalis*, Actara, acute toxicity, biochemical composition."

المخلص

تهدف إلى تقييم تأثيرات Actara وزيت العشاب الطبية من نوع *S. officinalis* على الحيوانات الرخوة اليابسة الشائعة في شمال شرق الجزائر، *Helix aspersa* تم تحديد الوفيات والجرع الفعالة للمركبين بعد 96 ساعة من التعرض. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم السمية الحادة والسمية الفرعية بناءً على النشاط الانزيمي والاحتياطات الطاقوية لهذا النوع. تم قياس الجرع القاتلة والمعايير الكيميائية الحيوية (الستيل كولين استيراز، الكاتالز، GSH، الدهون، والكربوهيدرات) في أوقات مختلفة من العلاج 1، 2، 3، 4، 7، و14 يوماً.

أظهرت اختبارات السمية علاقة إيجابية بين الوفيات والجرع المختبرة، وكانت الجرع القاتلة CL50 و CL90 لـ Actara على التوالي 224.388 ملغ/ل و781.627 ملغ/ل. بينما كانت CL50 و CL90 على التوالي 351.5 ملغ/ل و748.169 ملغ/ل. أدى علاج بالابار من *Helix aspersa* بمستخلص نبات *S. officinalis*. والمبيد لمدة 14 يوماً إلى تنشيط الأنشطة الانزيمية والاحتياطات الطاقوية كما تظهر نتائج التحليل الايميائي الحيوي. يتمثل هذا التنشيط في تثبيط ملحوظ للنشاط النوعي للستيل كولين استيراز ومعدل GSH وزيادة ملحوظة في النشاط النوعي للكاتالز ومعدلت الدهون والاربوهدرات.

الكلمات الرئيسية: *aspersa Helix*، زيت أساسي، *S. officinalis* ، Actara ، سمية حادة، تركيبات كيميائية حيوية.

TABLE DES MATIERS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUMES

1. INTRODUCTION.....	01
2. MATERIELETMETHODES.....	04
2.1. Matériel biologique.....	04
2.1.1 Présentation d' <i>Helix aspersa</i>	04
2.1.2 Description morphologique	05
2.1.3 Description anatomique	05
a. Appareil digestif	06
b. Système nerveux	07
b. Appareil génital.....	07
2.1.4 Reproduction.....	08
2.1.5 Croissance des escargots.....	09
2.1.6 Activité physiologique des escargots.....	09
2.2 Présentation de l'insecticide	10
2.3 Matériel végétale.....	12
2.3.1 Présentation de la plante <i>S.officinalis</i>	12
2.3.2 Description botanique	13
2.3.3 Propriétés et importance	13
2.3.4 Effet toxique	14
2.4 Echantillonnage et élevage des escargots.....	15
2.4.1 Site de collecte	15
2.4.2 Elevage des escargots	15
2.5 Extraction de l'huile essentielle de <i>S.officinalis</i>	16
2.6 Etude toxicologique.....	17
2.6.1 Effet de l'Actara.....	17

2.6.2 Effet de l'huile essentielle.....	18
2.7 Etude biochimique.....	18
2.7.1 Dissection et prélèvement des organes	18
2.7.2 Dosage de l'acétylcholinestérase	19
2.7.3 Dosage du catalase.....	20
2.7.4 Dosage du glutathion	20
2.7.5 Extraction et dosage des glucides et lipides.....	20
a. Dosage des glucides totaux.....	21
b. Dosage des lipides totaux	22
2.8 Traitement statistique des données	22
3. RESULTATS.....	22
3.1 Tests de toxicité.....	22
3.1.1. Toxicité de l'Actara.....	22
3.1.1.1 Mortalité observée	22
3.1.1.2 Mortalité corrigée	22
3.1.1.3 Droite de régression.....	23
3.1.2 Toxicité de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	24
3.1.2.1 Mortalité observée	24
3.1.2.2 Mortalité corrigée	24
3.1.2.3 Droite derégression.....	25
3.2. Effet sur les activités enzymatiques.....	26
3.2.1 Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)	26
3.2.2 Effet sur l'activité de la catalase (CAT)	38
3.2.3 Effet sur le taux de Glutathion (GSH)	30
3.3 Effet sur les réserves énergétiques.....	32
3.3.1 Effet sur le taux de glucides.....	32
3.3.2 Effet sur le taux de lipides	34
4. DISCUSSION.....	38
4.1 Toxicité de l'Actara et de l'huile essentielle de <i>S. officinalis</i>	38
4.2 Etude biochimique	39

4.3 Effet sur les activités enzymatiques.....	39
4.4 Effet sur les réserves énergétiques.....	40
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	41
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42

INTRODUCTION

1. Introduction

Les pesticides fréquemment appliqués sur les produits agricoles pour améliorer la qualité et la quantité des aliments, avec une utilisation massive et sans restriction de produits de synthèse, entraînent des effets délétères, un effet léthal sur divers organismes non ciblés et se bioaccumulent facilement aux chaînes trophiques (Kalavathy *et al.*, 2001; Sathyamoorthi *et al.*, 2019; Kumaresan *et al.*, 2018; Al-Ghanim *et al.*, 2019 ; Zaidi *et al.*, 2013).

En Algérie l'usage des produits phytosanitaires en agriculture pour lutter contre les maladies et les insectes ainsi que pour réguler la croissance des plantes, s'amplifie de plus en plus avec le développement rapide des activités agricoles. Cependant, ces produits sont caractérisés par leur forte persistance et leur résistance aux processus de dégradation dans l'environnement, ainsi que par leur bioaccumulation dans les chaînes alimentaires (Marliere, 2000). Selon les différentes applications de ces composés, ils peuvent être divisés en plusieurs groupes : herbicides, insecticides et fongicides et molluscicides, ... (He *et al.*, 2020). Parmi les insecticides les plus utilisés en Algérie, les néonicotinoïdes.

Les néonicotinoïdes sont apparus comme une nouvelle génération d'insecticides respectueux de l'environnement pour remplacer des composés plus toxiques et persistants tels que les organophosphorés et les carbamates (Simon-Delso *et al.*, 2015 ; Cossi *et al.*, 2020). En tant que classe d'insecticides systémiques, les néonicotinoïdes se lient au récepteur d'acétylcholine nicotique (nAChR) du système nerveux central de l'escargot. Cela provoque une excitation neuronale inhabituelle, des spasmes du corps entier, une paralysie et même la mort chez les escargots (Yamamoto & Casida, 1999 ; Tian *et al.*, 2020). Cependant, leur potentiel toxique est plus faible chez les vertébrés car ces derniers ont une affinité relativement faible pour les récepteurs nicotiques et que les néonicotinoïdes ne traversent pas facilement la barrière hémato-encéphalique (Gupta & Milatovic, 2014; Ensley, 2018 ; Stara *et al.*, 2020).

Parmi les néonicotinoïdes de deuxième génération, le thiaméthoxame (Abd- Alrahman, 2014; Jyot & Singh, 2017; Chouahda *et al.*, 2018; Pang *et al.*, 2020) en est le premier (Gomez-Herrero *et al.*, 2019). Il est utilisé dans la région Nord-Est Algérienne contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, des arbres fruitiers et des cultures maraichères. Le TMX est utilisé en culture à des doses allant de 800 à 4000 mg/L d'insecticide (formulation commerciale), correspondant à 200 à 1000 mg/L de thiaméthoxame (matière active) (Aït Hamlet *et al.*, 2019). Le TMX est connu pour se transformer efficacement en son métabolite, la clothianidine, lorsqu'il est présent dans les plantes ou les insectes (Coulon *et al.*, 2018 ; Tesovnik *et al.*, 2020). Sa

solubilité dans l'eau lui permet d'être facilement libéré dans l'environnement à partir des zones agricoles pendant utilisation (Barbosa *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2020).

Bien que les principaux modes d'action des néonicotinoïdes sur les espèces ciblées aient été bien caractérisés, les récentes découvertes de leurs effets indésirables sur des organismes non ciblés ont soulevé de nouvelles inquiétudes quant aux modes d'action supplémentaires de ces composés (Wei *et al.*, 2020). Ces produits sont qualifiés comme des produits à haut risque pour la santé de l'homme et son environnement. Leurs effets sur les organismes non ciblés dépendent de facteurs tels que la structure chimique, la voie d'exposition, le stade de vie de l'organisme et la durée de l'exposition (Harding & Burbidge, 2013; McClure *et al.*, 2020). Plusieurs travaux de recherches ont été réalisés pour chercher et développer des composés alternatifs à l'utilisation des pesticides conventionnels. Ces composés sont des produits plus efficaces aux organismes nuisibles et moins toxique pour l'homme et l'environnement, les biopesticides, qui sont des produits à base de bactéries, de virus, de champignons ou de végétaux, et qui sont biodégradables dans l'environnement (Rahbani, 2015).

L'escargot terrestre est un excellent bioindicateur de pollution terrestre très efficace (Gomot-de Vaufleury & Pihan, 2000) et très utilisé pour étudier l'influence des polluants sur les espèces non cibles (Berger et Dallinger, 1993 ; Gomot, 1997 ; de Vaufleury & Gomot, 1998 ; Cortet *et al.*, 1999). Les dommages impliquant des pertes financières considérables sont infligés sur les cultures agricoles et sur le terrain (Sallam & El-Wakeil, 2012). Par conséquent, ces cultures perdent leur commercialisation et donc leur potentiel d'exportation dans de nombreux pays (Baker & Hawke, 1990 ; Ittah & Zisman, 1992).

Cette étude vise à comparer l'impact de l'huile essentielle d'une plante très répandue en Algérie avec l'effet de l'insecticide Actara sur l'escargot *Hélix aspersa*, qui est une nuisance majeure dans le Nord-est de l'Algérie. Elle se concentre sur :

1. L'évaluation de l'effet de l'extrait d'une plante et de l'insecticide le plus répandu en Algérie sur l'escargot le plus commun du nord-est algérien, en déterminant les doses létales de l'insecticide et l'huile essentielle de cette plante médicinale sur un gastéropode terrestre très répandue dans le Nord-Est Algérien.
2. L'analyse de l'impact de cet insecticide et de l'extrait naturel sur les activités enzymatiques (acétylcholinestérase, catalase et glutathion) et sur les réserves énergétiques de la glande digestive (glucides et lipides) de cette espèce nuisible aux cultures.

MATERIEL ET METHODES

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Présentation d'*Helix aspersa*

Helix aspersa, plus connu sous le nom commun du Petit-Gris (Figure. 1) appelé communément en Algérie «Z'gargou» ou «Boujaghlel», « Boujeghlelou» est un escargot très répandu sur la façade méditerranéenne algérienne. Son aire de répartition écobiogéographique s'étend à toute l'Afrique du Nord et en Europe. L'espèce a été décrite par le zoologue danois Otto Friedrich Müller en 1774 (Zaafour, 2014) *Helix aspersa* est une sous-espèce circumméditerranéenne ubiquiste dont le polymorphisme se traduit par une variation de la taille, de la coloration, de la forme, de l'épaisseur et de la sculpture de la coquille. La coloration et le système débandes de la coquille sont d'origine génétique mais le biotope a peut-être une action secondaire sur leur variation. Ce polymorphisme a donné apparemment, en grande partie, à la race sa potentialité d'adaptation et d'acclimations (Chevallier, 1977). *Helix aspersa* est adulte à deux ans mais peut vivre plus à cinq ans. Dans la nature, il dépasse rarement l'âge de trois ans. En captivité, sa longévité est bien plus longue et va de 10 à 15 ans. Certains individus ont vécu plus de trente ans (Taylor, 1883). Selon Bonnet & Vrillon (1990) sa position systématique est la suivante :

Règne : Animalia

Sous règne : Metazoa.

Embranchement : Mollusca

Classe : Gastéropoda

Sous-classe : Pulmonés

Ordre : Stylomatophora

Sous –ordre : stylommatophores

Super-famille : Helicacea

Famille: Hélicidé

Genre : *Helix*

Sous-espèce : *Helix aspersa* (Müller, 1774)



Figure 1. *Helix aspersa* (Original, 2024)

2.1.2. Description morphologique

L'escargot Petit-Gris *Helix aspersa* est un mollusque sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux épithéliums olfactifs très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qu'ils entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres. Il est adulte à deux ans mais peut vivre plus de cinq ans. 99% de l'activité de l'escargot, y compris ses "repas", a lieu de nuit avec un pic de 2 à 3 heures après la tombée de la nuit. La fraîcheur nocturne et la rosée facilitent ses déplacements (Chase, 1986). Les principales caractéristiques de l'escargot Petit-Gris : coquille conoïde globuleuse, ventrue, très convexe en dessus, bien obliquement bombée en dessous, sans ombilic ; spire un peu haute, de 4 à 5 tours très convexes à croissance rapide ; test solide, un peu mince, fauve brun, jaunâtre ou grisâtre orné de zigzags plus clairs quel fond, sans bandes ou avec 1 à 4 bandes sombres. Longueur : 20 à 40 mm ; Diamètre : 25 à 45 mm Longévité : 5 ans (Zaafour, 2014).

2.1.3. Description anatomique

Le corps d'un escargot est composé d'un seul pied, d'une tête et d'un viscère enroulé dans la coquille. L'action se fait par l'extension et l'extraction de muscles du pied. Le mucus est sécrété par des glandes situées dans la partie antérieure du pied. Des glandes de mucus sont également présentes sur le reste du corps, ce qui protège l'escargot de la perte d'eau. La tête est couverte de deux paires de tentacules. La paire supérieure a les yeux attachés. Le manteau est un épais pli de

peau qui sécrète la coquille. Un muscle puissant est attaché à la columelle (ou axe d'enroulement des coquilles de mollusques gastéropodes) pour relier la coquille au corps. Il possède des « branches » à la tête et aux tentacules. Ce muscle se contracte pour permettre à l'escargot de se retirer dans sa coquille. La cavité du manteau, à l'intérieur de la coquille, abrite le cœur, le rein et le poumon (Figure.2).

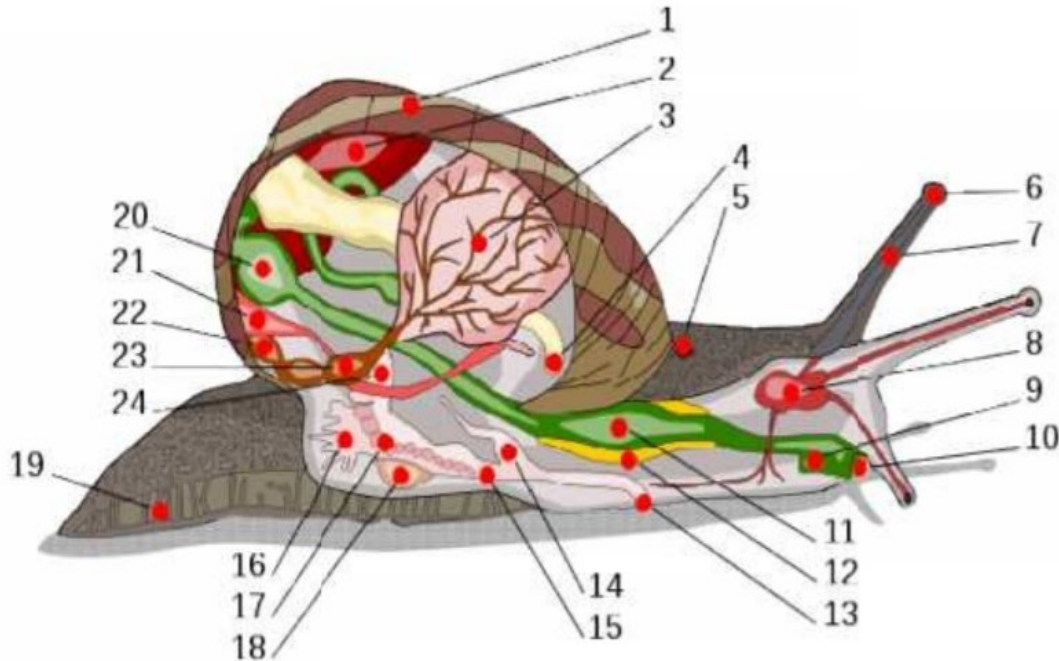


Figure 2. Anatomie de l'escargot (Grara, 2011)

1 : coquille ; 2 : foie ; 3 : poumon ; 4 : anus ; 5 : pore respiratoire ; 6 : œil ; 7 : tentacule ;
8 : Cerveau ; 9 : Conduit salivaire ; 10 : Bouche ; 11 : Panse ; 14 : Pénis ; 15 : Vagin ;
16 : Gland muqueuse ; 17 : Ovaire ; 18 : Sac de dards ; 19 : Pied ; 20 : Estomac ; 21 : Rein ;
22 : Manteau ; 23 : cœur ; 24 : Canal déférent.

a. Appareil digestif

Le tube digestif forme « V » une boucle ramenant l'anus vers l'avant. La bouche se prolonge par un bulbe buccal à l'intérieur duquel se trouve une langue musculaire recouverte d'une lame cornée : la radula (Chevalier, 1992 ; Larbaa, 2014), garnie de milliers de dents microscopiques disposées en rangées parallèles, soit 87 dents par rangée pour environ 150 rangées (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001), son rôle est de broyer les aliments. Dans la partie postérieure du bulbe buccal on trouve deux glandes salivaires. Ce bulbe se prolonge par un œsophage qui se renfle en un estomac, lui-même prolongé par un intestin formant une double circonvolution autour de l'hépatopancréas et aboutissant à l'anus (Daguzan, 1983 ; Larba, 2014), l'excrétion se fait grâce au rein et à l'intestin. Il

existe un système porte-rénale, qui permet l'infiltration du sang au niveau du rein. L'intestin assure essentiellement l'élimination des déchets (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001).

b. Système nerveux

Le système nerveux sympathique est constitué par une paire de ganglions buccaux situés sous le bulbe buccal. Ils sont reliés par deux cordons nerveux aux ganglions cérébroïdes et innervent la plus grande partie du tube digestif. Le système nerveux central est situé dans la région céphalique. Il est formé d'une chaîne de ganglions formant un double collier péri œsophagien complexe (Chevalier, 1992 ; Larba, 2014).

c. Appareil génital

L'escargot est hermaphrodite (Larba, 2014). Son appareil génital compliqué occupe une grande partie de la cavité viscérale, et comprend : une partie initiale hermaphrodite, une partie intermédiaire comprenant les voies mâle et femelle (Figure.3), et une partie terminale où ces voies se rejoignent pour aboutir à un orifice génital commun (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001).

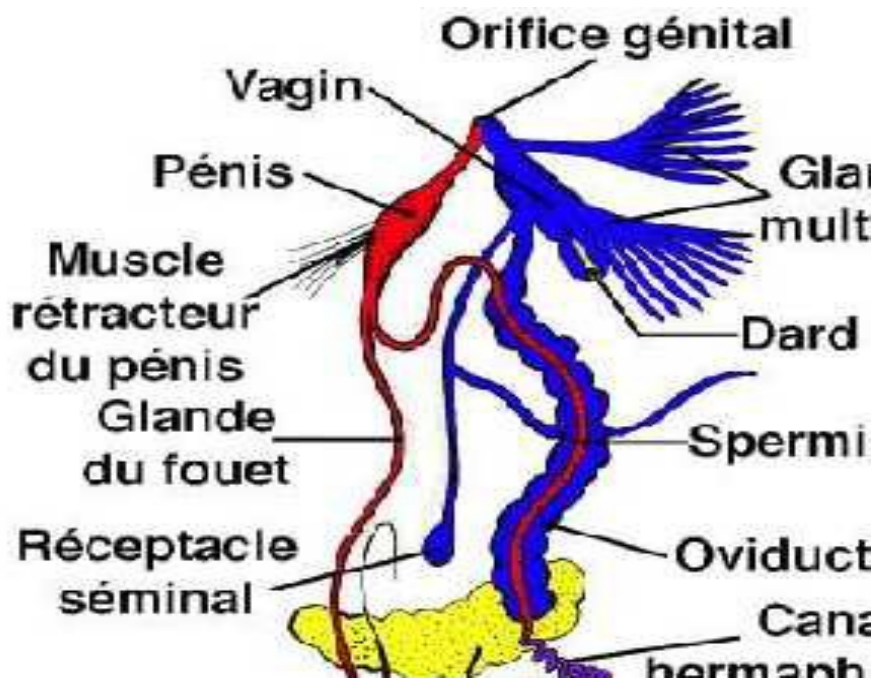


Figure 3. Schéma de l'appareil génital de l'escargot (Guyard, 2009).

2.1.4. Reproduction

La reproduction des escargots a lieu au printemps et en été. Les escargots terrestres sont hermaphrodites et s'accouplent une ou plusieurs fois avant la ponte. La fécondation croisée est la règle générale, l'autofécondation étant extrêmement rare. Avant l'accouplement, les deux escargots effectuent une parade, l'accouplement peut durer plus de 12h (Figure. 4). Suivant les régions (Larba, 2014), Les spermatozoïdes échangés, préalablement développés dans l'ovotestis (également appelé gonade), rejoignent le réceptacle séminal ou la spermathèque divisée en tubules où ils vont être conservés jusqu'à la maturation des ovules. La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, à la surface de la glande à albumen, généralement une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont alors entourés d'albumen sécrété par la glande à albumen, qui constitue les réserves nutritives pour le développement embryonnaire, puis d'une coque calcaire (Druart, 2011). En conditions constantes de température et d'hygrométrie (20° C et 85%) (Larba, 2014) l'escargot creuse dans le sol une cavité de deux à trois centimètres de profondeur dans laquelle il enfonce la partie antérieure de son corps (Chevalier, 1992). La durée de la ponte dure une trentaine d'heures, chaque œuf étant expulsé de l'orifice génital environ toutes les vingt minutes (Chevalier, 1992 ; Larba, 2014). La ponte terminée, l'escargot rebouche, avec de la terre (le nid de ponte) renferment la grappe d'œufs (Chevalier, 1992). Les œufs vont ensuite se développer pendant 12-15 jours avant d'éclore (Druart, 2011). Les jeunes éclos, variées selon le diamètre et le poids (Druart, 2011 ; Larba, 2014).



Figure 4. Accouplement de Petit-Gris (Buron-Mousseau, 2014).

2.1.5. Croissance des escargots

Dans la nature la croissance de l'escargot assujettie aux conditions climatiques. Elle s'arrête durant les périodes d'estivation et d'hibernation. En général la croissance naturelle s'étale sur deux ans. Exceptionnellement, avec un printemps et un été humide, l'escargot pourrait devenir adulte au bout d'un an. Inversement, deux sécheresses estivales consécutives pourraient prolonger le temps de croissance à trois mois. En élevage, avec des enceintes humidifiées quotidiennement, l'escargot parvient au stade adulte au bout de dix-douze mois, avec une mise en hibernation d'octobre à mars (Chevalier, 1982-1992 ; Madec, 1983 ; Laurent et *al.*, 1984). Les phases de croissance en fonction du développement de l'appareil génital de l'escargot sont :

- **Phase infantile** (quatre premiers mois) durant laquelle le tractus génital est non différencié (Gomot & Enée, 1980 ; Madec, 1983).
- **Phase juvénile**, comprise entre une «pré-puberté» et la puberté, avec un tractus génital s'organisant et une gamétogenèse active (Gomot & Enée, 1980 ; Laurent et *al.*, 1984).
- **Phase de maturité**, ou la pré-adulte, durant laquelle l'appareil génital se développe principalement dans une voie femelle (Gomot & Enée, 1980 ; Madec, 1983).
- **Phase adulte**, à croissance nulle, durant laquelle l'escargot se reproduit (Chevalier, 1982-1992).

2.1.6. Activités physiologique des escargots

L'escargot présente un rythme d'activité journalière et saisonnière. L'activité journalière est en relation étroite avec la photopériode. Cette activité peut être inhibée par des conditions thermiques et hygrométriques défavorables. Dans des conditions optimales de température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9 °C et humidité supérieure à 80% (Chevalier, 1992). La phase d'activité débute à la tombée de la nuit est à une durée de 06 heures, il en profite pour se nourrir tandis que la phase d'inactivité relative à une durée inférieure à 18 heures durant cette phase l'escargot est au repos et ne manifeste que peu d'activité locomotrice, sexuelle ou nutritionnelle (Chevalier, 1992 ; Agro-service., 2004 ; Larba, 2014). Pour l'activité saisonnière l'escargot est un poïkilotherme, il ne peut pas réguler sa température corporelle. Il s'est donc adapté, en climat tempéré aux variations thermiques saisonnières selon trois rythmes d'activités annuels marqués par trois états physiologiques : hibernation, estivation, activité (Agro-service., 2004 ; Larba, 2014).

2.2. Présentation de l'insecticide

L'Actara® 25WG est un insecticide à large spectre utilisé pour les applications foliaires et au sol. Il élimine les insectes par contact et ingestion. Cet insecticide contient environ 25% de matière active sous forme de granules mouillables. Sa substance active, le thiaméthoxam, appartient à la classe des néonicotinoïdes, sous-classe des thianicotinyls. Ce néonicotinoïde de deuxième génération se distingue des autres par sa structure chimique unique, incluant un hétérocycle chlorothiazole et un anneau oxadiazinane avec un groupe nitroguanidine. Cette structure confère au thiaméthoxam des propriétés physico-chimiques, toxicologiques et biologiques uniques, telles que la photostabilité, le coefficient de partition, la solubilité dans l'eau, le spectre d'activité et les doses d'utilisation. Son structure chimique (Figure.5) est : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl)méthyl] tétrahydro-5-méthyl-N-nitro-4H-1, 3,5-oxadiazin-4-imine.

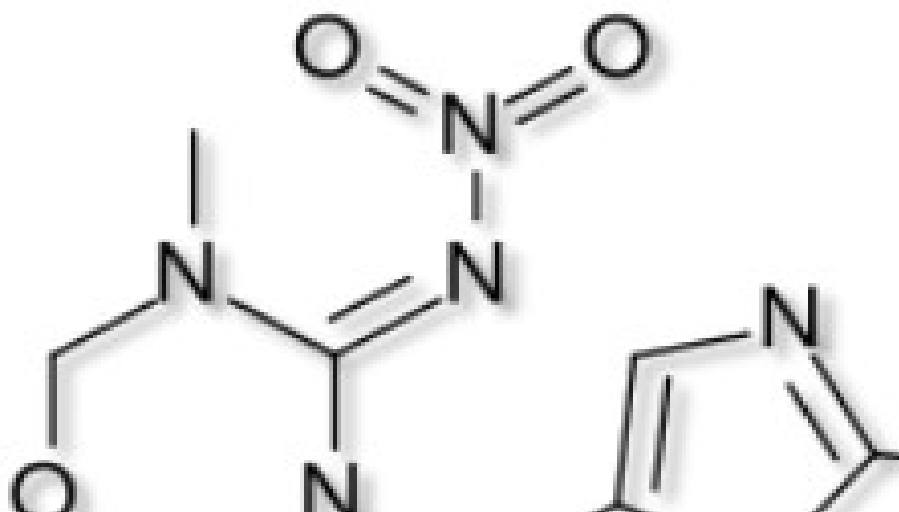


Figure 5. Structure chimique du Thiamethoxam.

Le thiaméthoxam est un insecticide systémique rapidement absorbé par les plantes et distribué dans toutes leurs parties, où il agit en dissuadant les insectes de se nourrir. Cette substance active interfère avec les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine dans le système nerveux modifiant ainsi l'influx nerveux : en une heure, voire 30 minutes après l'absorption, l'insecte cesse de s'alimenter et meurt dans la journée qui suit. Les propriétés physico-chimiques de thiaméthoxam sont mentionnées dans le tableau 1.

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques du thiaméthoxam (A.R.L.A.S.C., 2007).

Propriété	Résultat
État physique et couleur	Poudre de couleur blanc cassé
Odeur	Inodore
Numéro CAS	153719-23-4
Poids moléculaire	291,7 g/mol-1
Formule brute	C ₈ H ₁₀ CIN ₅ O ₃ S
Point ou plage de fusion	139,1 °C
Densité à 25 °C	1,57 × 10 ³ kg/m ³
Pression de vapeur à 20 °C	2,7 × 10 ⁻⁹ Pa
Constante de la loi d'Henry à 20 °C	1,9 × 10 ⁻¹⁰ Pa m ³ /mol
Spectre d'absorption ultraviolet (UV)-visible	Pas d'absorption significative aux longueurs d'onde > 300 nanomètres (nm)
Solubilité dans l'eau à 25 °C	4,1 g/L
Solubilité dans des solvants organiques à 20 °C	Solvant Solubilité (g/L) Acétone 48 Dichlorométhane 110 Acétate d'éthyle 7 1-octanol 0,62 Méthanol 13 Toluène 0,68
Coefficient de partage n-octanol-eau (log Kow) à 25°C	Log Kow = - 0,13
Constante de dissociation (pKa)	Pas de dissociation dans la plage 2 à 12 de pH
Stabilité (température, métaux)	Aucun changement du thiaméthoxam par contact avec les métaux et les ions métalliques (Zn ⁺² , Al ⁺³ , Cu ⁺² et Fe ⁺²).

2.3. Matériel végétale

2.3.1. Présentation de la plante *S.officinalis*

Salvia vient du latin salvare, qui signifie "sauver" et "guérir". C'est une plante sacrée et ancienne (Quezel & Santa, 1963), annuelle et bisannuelle en Méditerranée, de la famille des Lamiacées (Djerroumi & Nacef, 2004). Il existe environ 900 espèces identifiées dans le monde. En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine (Maksimovic et al., 2007). Le nom scientifique de cette plante est *Salvia Officinalis L* (Figure. 6) et le nom Arabe est Salma (Beloued, 2014), Souak en Nebi, Salmia et Maramia (BabaAissa, 1990). Selon Fruleux(2009)la classification botanique de *S. officinalis L* est la suivante

Règne	Plantae
Embranchement	Phanérogames
Classe	Eudicots
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Salvia
Espèce	<i>Salvia officinalis L</i>



Figure 6. *Salvia Officinalis L* (<https://inpn.mnhn.fr>).

2.3.2. Description botanique

La famille des labiées, du latin (Labia : labelle) signifiant fleurs à la forme caractéristique de double labelle (Couplan, 2000 ; Naghibi et al., 2005), comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres (Meyer et al., 2004). Ce sont généralement des herbes vivaces aromatiques à tiges quadrangulaires, généralement opposées sans stipules. Les plus courantes sont les fleurs pentamériques hermaphrodites (Meyer et al., 2004). Souvent réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées, simulant souvent des verticilles, voire condensées au sommet de la tige, et simulant un épi de 4 akènes plus ou moins soudés entre eux par leurs faces internes (Messaili, 1995). Cette famille se caractérise également par quatre étamines, dont deux plus longues (didynames), ou en deux étamines soudées au tube ou zone Perini de la corolle et alternant avec des lobes. Ces caractéristiques varient selon le genre : corolle presque régulière (Mentha) ou monopétale (Teucrium) ; deux étamines (Salvia) (Quezel et al., 1963 ; Ozenda., 1977).

2.3.3. Propriétés et importance

Les lamiacées sont une partie importante des plantes dicotylédones, réparties sur toute la surface de la terre, bien qu'elles soient plus présentes dans les climats tempérés, notamment autour de la mer Méditerranée (Judd et al., 2000). Cette famille est l'une des principales sources de légumes et de plantes médicinales dans le monde. Plusieurs espèces de cette famille sont utilisées en médecine traditionnelle et moderne, comme Lavandula, Teucrium, Thymus et Salvia (Naghibi et al., 2005). Incluant la pharmacopée traditionnelle africaine, les plante de famille Lamiaceae sont utilisées comme diurétiques, anti-syphilis, anti-diarrhéiques, cicatrisants, antiseptiques, et dans le traitement de nombreux maux comme les problèmes intestinaux ou la stagnation des gaz (flatulences, dues aux gaz) (Naghibi et al., 2005).

Tableau 02 : Composition de l'huile essentielle de *Salvia officinalis* (Wolter, 2007).

Hydrocarbures terpéniques		Cétones	
Myrcène	0.3 à 3%	Camphre	4,1 à 27,5%
Limonène	Trace à 7,6%	α -thuyone	1,5 à 44,2%
Humulène	Trace à 18,9%	β -thuyon	1 à 36,7%
α -pinène	1,7 à 13,1%	Ester	
β - pinène	0,5 à 17,9%	Acétate de bornyl	0,1 à 3,5%

Camphène	1,1 à 10,3%	Alcools	
β - caryophyllèn	Trace à 9,4%	Linalol	Trace à 1,8%
p-cymène	Trace à 1,1%	Bornéol	0,7 à 6,2%
		Viridiflorol	0 à 9,9%
		Autres	
		1,8-cinéole	0,7 à 20,8%

2.4. Echantillonnage et élevage des escargots

2.4.1. Site de collecte

Les adultes de l'escargot *Helix aspersa* ont été collectés au hasard du jardin de pole de vulgarisation botanique (Figure.7) au niveau de l'université 20 aout1955 Skikda, situe dans la Daïra d'El-Hadaiek qui se caractérise par un climat humide et des précipitations moyennes annuelles qui varient entre 800 et 1200 mm de pluie.



Figure 7. Jardin botanique de l'université de Skikda (Originale, 2024).

2.4.2. Élevage des escargots

Les adultes de *Helix aspersa* collectés ont été transférés à l'animalerie où ils ont été identifiés selon une méthode basée sur le nombre de bandes spirales, la couleur et la forme de leurs coquilles, comme décrit par Bonnet et al. (1990) et Chevallier (1990). Ils ont ensuite été placés dans des boîtes en plastique transparentes perforées pour faciliter l'oxygénation. Chaque boîte était pourvue d'une éponge humide pour maintenir l'humidité, ainsi que d'une boîte de pétri contenant de la farine de blé comme nourriture(Figure.8). Les boîtes étaient nettoyées toutes les 2 jours et une période d'adaptation en laboratoire a permis d'éliminer les individus ayant des anomalies.



Figure 8. Elevage d'escargot *Helix aspersa* (Original, 2024).

2.5. Extraction d'HE de *S.officinalis*

La plante a été achetée sèche (Figure. 9) chez un herboriste situé dans les arcades (la rue Didouche Mourad, Skikda).

2.5.1. Extraction de l'huile essentielle de *S. officinalis*

L'huile essentielle de *S.officinalis*, ont été extraites par la méthode d'hydrodistillation. Chaque extraction a duré 3 heures pour un mélange de 55 g de matière végétale avec 500 ml l'eau distillée. L'eau bouillante passe à travers la plante, et ce processus est appelé "extraction à la vapeur d'eau". Lorsque la vapeur entre en contact avec la plante, les huiles essentielles se libèrent et s'évaporent. La vapeur monte jusqu'au condenseur, où elle passe à travers de l'eau refroidie et se refroidit, ce qui condense la vapeur en liquide. L'huile descend avec l'eau, puis l'huile a été séparée de l'eau à l'aide d'une ampoule à décanter. Ensuite, l'huile a été conservée dans un flacon sombre à une température de 4°C dans l'obscurité (Figure. 10).



Figure 10. Montage utilisée pour l'hydrodistillation (Original, 2024).

2.6. Etude toxicologique

2.6.1. Effet de l'Actara.

La méthode utilisée pour traitement est l'application topique comme décrite par Hussein et al. (1994). L'Actara était sous la forme de poudre à disperser dans l'eau. Il a été préparé dans un solvant approprié : diméthylesulfoxyde (DMSO), pureté (10 %, Sigma-Aldrich) (Figure.11). C'est le solvant le plus approprié pour une application topique (Young & Wilkins, 1989 ; Radwan et al., 2008).

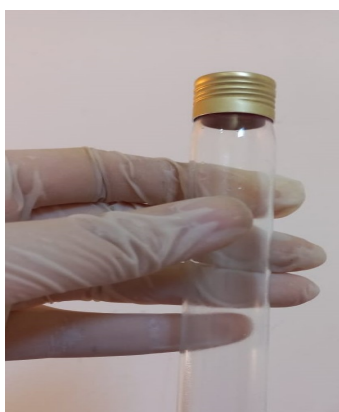


Figure 11. L'Actara après la préparation (Original, 2024).

le produit testé a été délicatement appliqué sur toute la surface du corps de l'escargot à l'aide d'une micropipette (Figure.12). Les escargots morts (perte de réponse à une aiguille fine) ont été enregistrés chaque 24 heures après le traitement durant 96 heures.



Figure 12. Traitement des escargots (Originale, 2024).

2.6.2. Effet de l'huile essentielle de *S.officinalis*

La méthode utilisée pour déterminer la toxicité de l'huile essentielle de *S. officinalis* consiste en une application topique (Hussein *et al.*, 1994). L'huile essentielle est préparé dans le solvant le plus adapté à une application topique, le Tween à 20 % (Adokoh *et al.*, 2019). la molécule testée a été délicatement appliquée sur toute la surface du corps de l'escargot à l'aide d'une micropipette. Les escargots morts ont été enregistrés chaque 24 heures après le traitement durant 96 heures, par la perte de réponse à une aiguille fine comme nous l'avons fait précédemment dans le traitement toxicologique de l'Actara.

2.7. Etude biochimique

2.7.1. Dissection et prélèvement des organes

Pour déterminer l'effet de l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* sur l'activité de l'acétylcholinestérase dans la tête et l'activité de la catalase, le taux de glutathion, le taux de glucides et de lipides dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*. Un traitement topique a été effectué par application de l'insecticide (Actara) et l'huile essentielle à une concentration finale de 125 mg/L correspondent à la dose la plus utilisée par les agriculteurs. A des intervalles de temps bien déterminés (1, 2, 3, 4, 7 et 14 jours de traitement) et après l'anesthésie par congélation pendant trois (3) heure, on découpe la coquille de l'escargot avec un ciseau en suivant le bord d'enroulement de la coquille. La tête et l'hépatopancréas des escargots témoins et traités est prélevée à l'aide d'un ciseau est pesée dans une balance de précision et conservée dans des tubes eppendorfs à - 4°C

jusqu'aux dosages biochimiques (Figure.13).



Figure 13. Prélèvement d'organe de *Helix aspersa* (original, 2024).

2.7.2. Dosage de l'acétylcholinestérase

La méthode d'Ellman *et al.* (1961) est utilisée pour mesurer l'acétylcholinestérase (AChE). On homogénéise les têtes des escargots témoins et traités dans 1 ml de tampon phosphate (10 mM, pH 7), puis on les centrifuge (5000 tours/mn, 15mn). La récupération du surnageant servira de source d'enzyme. L'activité AChE est mesurée sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 1 ml de tampon phosphate et 100 µl de substrat acétylthiocholine préparé à l'avance (23,6 mg ASCh, 1 ml d'eau distillée). Chaque minute, on effectue une lecture des absorbances pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 412 nm. On utilise un blanc ou 100 µl d'eau distillée pour remplacer les 100 µl du surnageant. Formule suivante permet de calculer l'activité spécifique :

$$\text{AChE } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta D_{0} / \text{mn} \times V_t}{1,36 \times 10^4 \times V_s} / (\text{mg de protéines})$$

2.7.3. Dosage du catalase

La méthode de Greenwald (1985) permet d'évaluer l'activité de la catalase (CAT). On homogénéise les échantillons dans 1 ml de tampon phosphate (50 mM, pH 7). On broie et centrifuge l'homogénat à une vitesse de 15000 tours/min pendant 15 minutes. Le surnageant récupéré sert à mesurer la quantité de catalase (tableau 3).

Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 240 nm. La formule suivante permet de déterminer l'activité spécifique :

$$\text{CAT } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta \text{D0} / \text{mn} \times 1}{0.0043 \times \text{V}} / (\text{mg de protéines})$$

ΔD0 : absorbance de l'échantillon

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

V : volume du surnageant

2.7.4. Dosage du glutathion

Le taux de glutathion est quantifié selon la méthode Weckberker & Cory (1989), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm. Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 %. Une fraction aliquote de 500 μl du surnageant récupéré est ajouté à 1 ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) et 0,025 ml de DTNB (0,01 M). La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 mn de repos pour la stabilisation de la couleur. Le taux de glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\Delta \quad \text{Taux de GSH } (\mu \text{ M}/\text{mg de protéines}) = \left(\frac{\text{D0} \times \text{V}}{13100} \right) / \text{mg de protéines}$$

2.7.5. Extraction et dosage des glucides et lipides

L'extraction des métabolites des échantillons (glande digestive d'escargot) a été réalisée selon la méthode de Shibko *et al.*, (1966), prélevés sur des adultes témoins et traités à différents temps (0, 1, 2, 3, 4, 7 et 14 jours) après traitement, ont été conservés dans 1ml d'acide trichloracétique (TCA 20%). Après broyage et centrifugation (5000 tours/mn pendant 10 mn), le surnageant I est récupéré et servira au dosage du glycogène tandis qu'au culot, on ajoute 1 ml d'un mélange chloroforme/méthanol (1V/1V). Une deuxième centrifugation (5000 tours/min, 15 min) permet de récupérer le surnageant II, contenant les lipides.

a. Dosage des glucides totaux

Le dosage du glycogène a été réalisé selon Duchateau & Florin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée), et une solution mère de glycogène (1 g/l) comme standard (tableau 4). La méthode consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl de surnageant, 4 ml de réactif d'anthrone et après chauffage du mélange dans un bain marie (80 °C pendant 10 min) une coloration verte se développe, dont l'intensité mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la concentration des glucides dans l'échantillon.

Tableau 4 : Dosage de glucides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de glucose (µl)	0	2	4	6	8	10
		0	0	0	0	0
Quantité de l'eau distillée	1	8	6	4	2	0
	00	0	0	0	0	
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

b. Dosage des lipides totaux

Les lipides ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972). Utilisant le réactif sulfophosphanillinique (0, 38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée et 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table. Selon la procédure suivante : 25 mg d'huile de table pesées dans un tube Eppendorf ; cette quantité est ensuite reprise dans 10 ml du mélange (éther / chloroforme (V/V)) (tableau 5). Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl de surnagent II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 min .Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube auxquels on

ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique et on agite. Après 30 min à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre (Jenway 6300) à une longueur d'onde de 530 nm.

Tableau 5: Dosage de lipides totaux : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de lipides (µl)	0	2	4	6	8	10
Solvant Ether/chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

2.8. Traitements statistiques des données

L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel MINITAB 16.00 Fr pour l'analyse et le traitement statistique. La distribution des mesures biochimiques suit une loi normale et ces paramètres sont exprimés par leur moyenne et leur écart-type, calculés sur un nombre de répétitions indiqué dans les figures et les tableaux. Les moyennes des groupes témoins et traités ont été comparées en utilisant l'ANOVA avec un seuil de signification de $P = 0,05$. Les résultats des paramètres toxicologiques et biochimiques ont été soumis à une analyse de variance à un facteur (traitement) et à deux facteurs (traitement et temps) de classification.

RESULTATS

3. Résultats

3.1. Tests de Toxicité

3.1.1. Toxicité de l'Actara

3.1.1.1. Mortalité observée

L'Actara est utilisé aux doses 200, 400, 600 et 1200 mg/L sur des adultes de l'escargot *Hélix aspersa*. La mortalité observée après 96 heures de traitement continue est mentionnée dans le tableau 6. Les résultats indiquent un nombre de mortalité augmente avec la concentration de l'insecticide avec des taux variant de 42,85 (200 mg/L) à 100 % (1200 mg/L). L'analyse statistique (ANOVA à un critère de classification) des données révèle un effet dose hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 6 : Effet de l'Actara appliqué sur des escargots adultes d'*Hélix aspersa* sur la mortalité observée.

Concentration (mg/L)	Témoin	200	400	600	1200
1	0	3	6	6	7
2	0	3	4	7	9
3	0	3	5	5	6

3.1.1.3. Droite de régression

La droite de régression qui exprime la mortalité corrigée en fonction des logarithmes décimaux des doses de l'Actara appliqué sur des escargots adultes d'*Hélix aspersa* est représenté dans la figure 14. Le coefficient de détermination ($R=97,1$) révèle une corrélation positive entre les mortalités et les doses testées. Les concentrations CL50 et CL90 déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement : 224,388 mg/L et 781,627 mg/L.

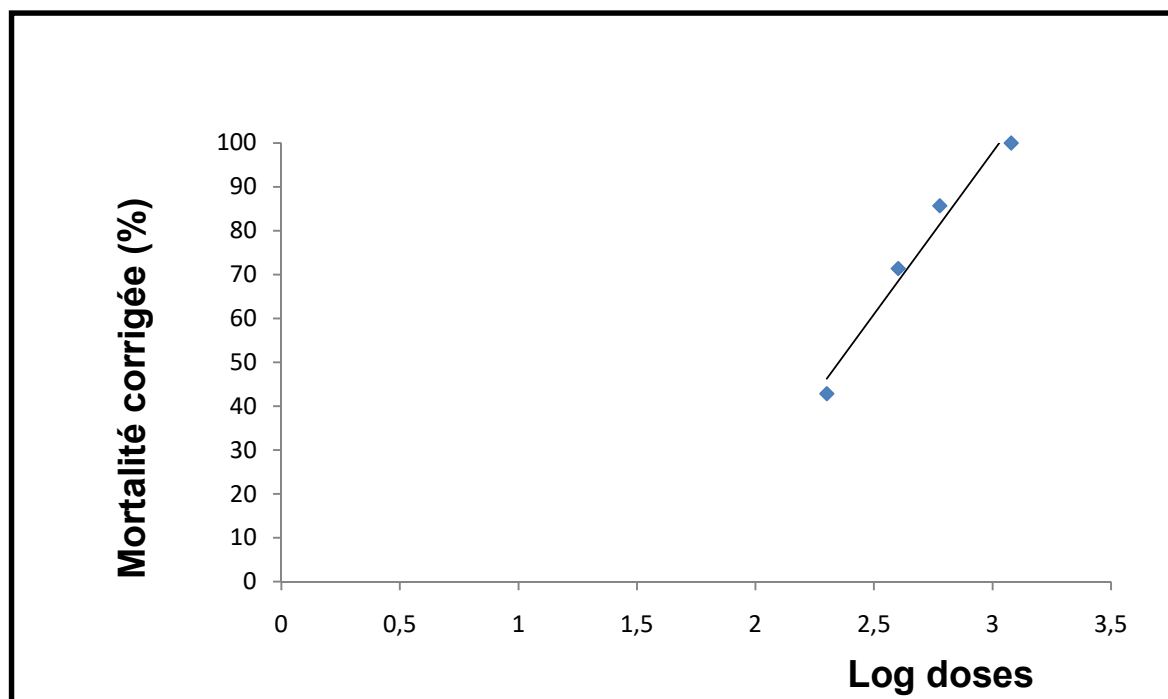


Figure 14 : Courbe de référence représente la mortalité corrigée des escargots en fonction des logarithmes décimaux des doses après 96 heures de traitement avec l'Actara.

3.1.2. Toxicité de l'huile essentielle de *S. officinalis*

3.1.2.1. Mortalité observée

Les résultats de la mortalité observée des escargots adultes de *Helix aspersa* exposés à l'extrait naturel de *S. officinalis* sont mentionnés dans le tableau 8. L'huile essentielle (HE) des feuilles a été utilisée à cinq différentes concentrations qui sont: 100, 200, 300, 400 et 600 mg/L sur les adultes de l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Les résultats de la mortalité observée montrent des taux variant de 14,286 % et 100% après 96 h de traitement avec la dose la plus faible (100 mg/L) et la plus élevée (600 mg/L) respectivement. L'analyse statistique des données (ANOVA à un critère de classification) révèle un effet dose hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 8. Effet de l'huile essentielle de *S. officinalis* sur la mortalité observée des escargots adultes d'*Helix aspersa* après 96 heures de traitement.

Concentration (mg/L)	Témoin	100	200	300	400	600
1	0	1	1	1	3	8

2	0	1	1	3	5	7
3	0	1	1	2	4	6
m ± s	0 ± 0,00	1 ± 0,00	1 ± 0,00	2 ± 1,00	4 ± 1,00	7 ± 1,00
(%)	0	14,286	14,286	28,571	57,143	100,000

3.1.2.2. Mortalité corrigée

Les résultats du calcul de la mortalité corrigée est réalisé à partir des valeurs de la mortalité observée mentionnées dans le tableau précédent sont présentés dans le tableau 9. Ils indiquent que les taux de mortalité corrigée augmentent progressivement avec la concentration de l'huile essentielle. Le taux le plus élevé (100%) a été observé avec la dose la plus élevée de 600 mg/L. De plus, l'ANOVA à un critère de classification révèle un effet dose hautement significatif ($p < 0,001$).

3.1.2.3. Droite de régression

L'équation et la droite de régression qui exprime la mortalité corrigée après 96 heures de traitement (tableau 9) en fonction des logarithmes décimaux des doses de l'huiles essentielle de *S. officinalis* appliquées sur des escargots adultes de *Helix aspersa* est présentée dans la Figure15. Le coefficient de détermination ($R=76,1$) révèle une corrélation positive entre les mortalités et les doses testées. Les concentrations CL50 et CL90 déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement: 315,5 mg/L et 748,169 mg/L.

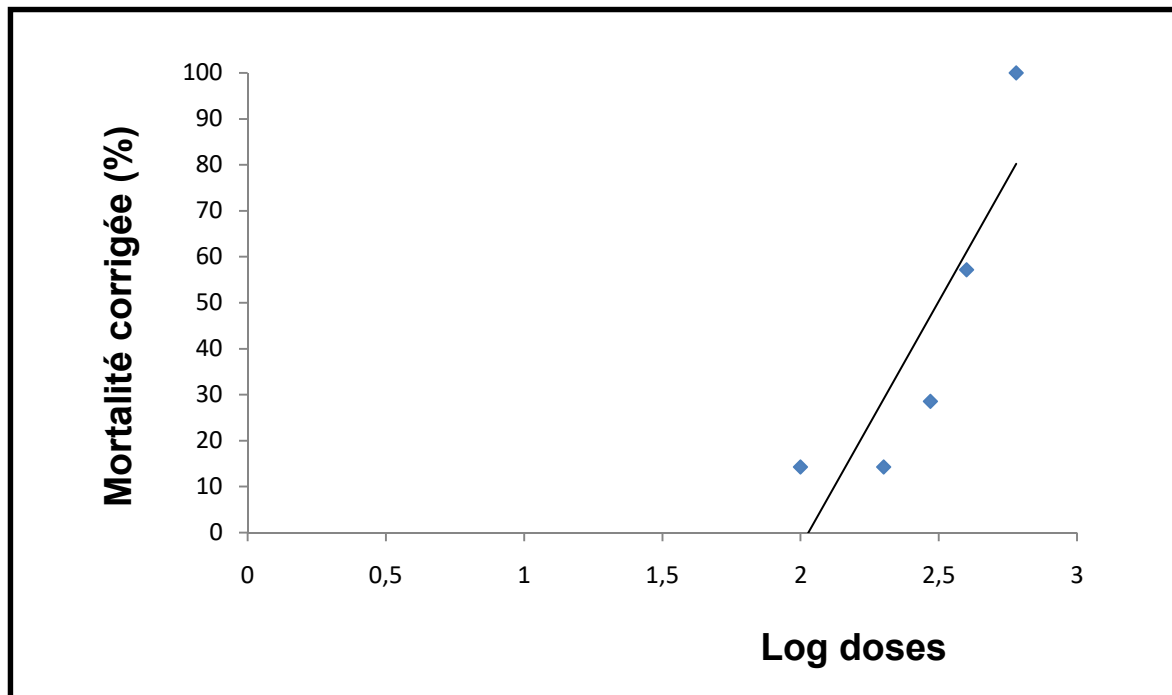


Figure 15: Courbe de référence représente la mortalité corrigée après 96 heures de traitement en fonction des logarithmes décimaux des doses de l'huile essentielle de *S. officinalis* appliqué sur des escargots adultes d'*Hélix aspersa*.

3.2. Effet sur les activités enzymatiques

3.2.1. Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le traitement des escargots adultes d'*hélix aspersa* avec l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* à la dose de 125 mg/L induit une inhibition de l'AChE dans la tête de ces escargots à partir de 24 heures de traitement. L'activité spécifique de l'AChE diminue significativement ($p < 0,05$) après 72 h de traitement avec l'huile essentielle et atteint sa valeur maximale après 14 jours ($12,634 \pm 0,060 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). D'autre part, l'activité spécifique de l'AChE diminue significativement ($p < 0,05$) après 7 jours de traitement avec l'Actara (Figure.16) et l'inhibition maximale a été notée après 14 jours ($15,193 \pm 0,193 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines). L'ANOVA indique un effet traitement et temps ($p < 0,001$) hautement significatif et un effet interaction traitement-temps non significatif ($p > 0,05$).

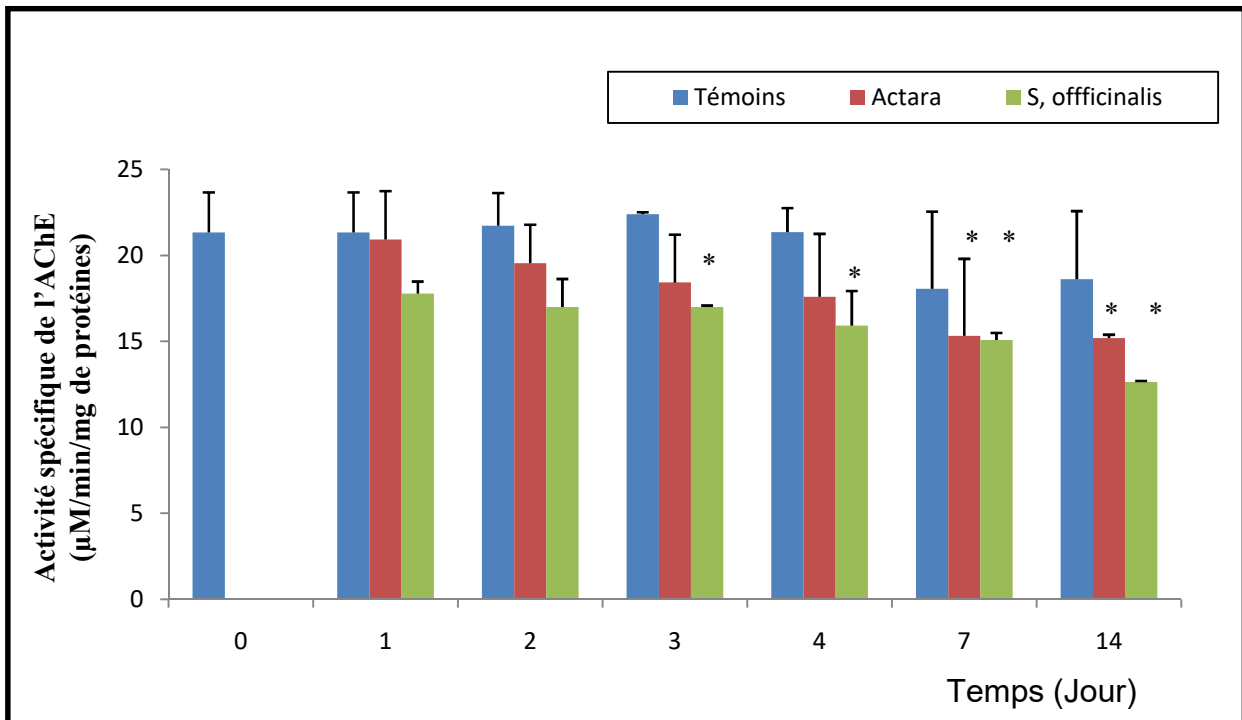


Figure 16:Activité spécifique de l’AChE (nM/min/mg de protéines) dans la tête des escargots adultes d’*Hélix aspersa* exposés à l’Actara et l’huile essentielle de *S. officinalis*($m \pm s$; $n=3$).

Le test de tukey a permis de classer les différents traitements selon l’ordre décroissant des activités de l’AChE obtenues. Ce classement est résumé dans le tableau 10. A 1 et 2 jours, 1 seul groupe est mis en évidence représente les témoins et les traités. A 3 et 4 jour on note deux groupes, le premier représente les témoins et les traités avec l’Actara ; le second représente les traités avec l’huile essentielle. A 7 et 14 jours, chaque traitement représente un groupe distinct.

3.2.2. Effet sur l’activité de la catalase (CAT)

Comme réponse au traitement avec l’Actara et l’huile essentielle de *S. officinalis* à la dose de 125 mg/L, des adultes de *S. officinalis* présentent des variations significatives de l’activité spécifique de la CAT au cours du temps d’exposition (Fig. 17). L’augmentation de l’activité de la CAT est significative ($p<0,05$) à 3, 4, 7 et 14 jours chez les escargots traités avec l’Actara. Cependant, l’huile essentielle entraîne une augmentation significative ($p<0,05$) de l’activité de l’enzyme après 2 et 3 jours et de façon très significative ($p<0,01$) après 4, 7 et 14 jours d’exposition

comparativement aux témoins. L'effet du traitement et du temps est hautement significatif ($p < 0,001$) mais l'effet de l'interaction traitement-temps est non significative sur l'activité enzymatique ($p > 0,05$).

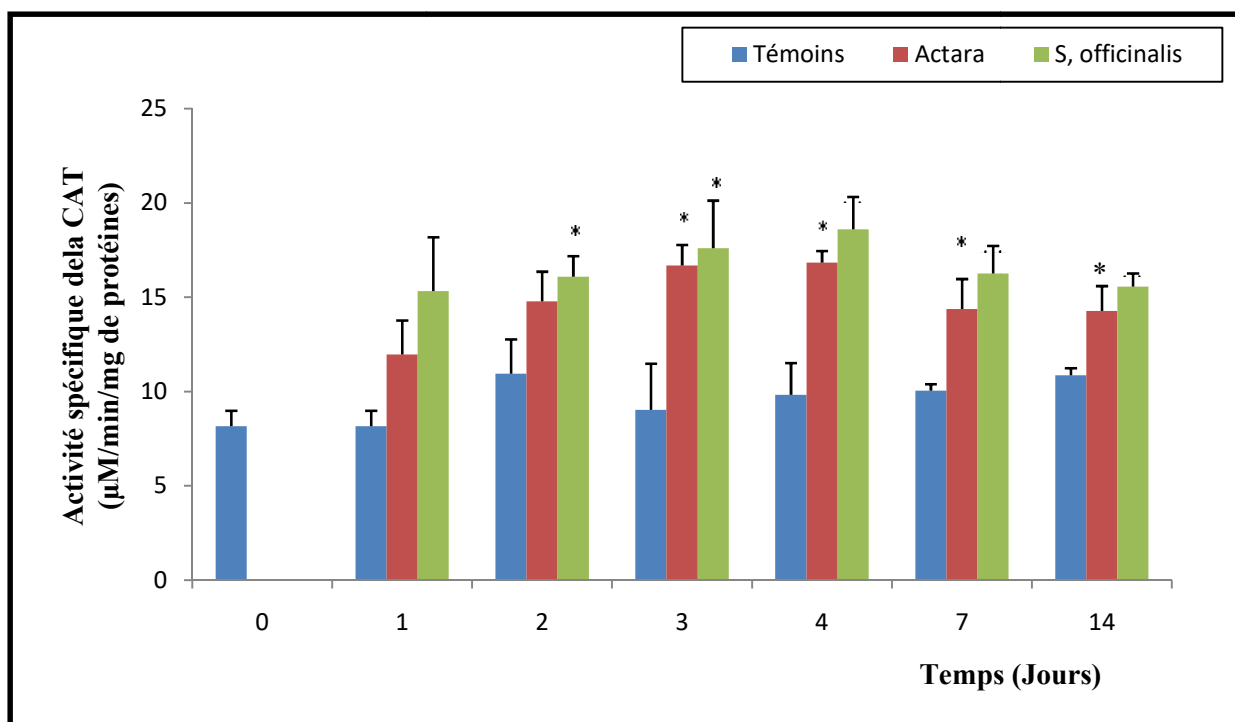


Figure 17 : Activité spécifique du CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes *Helix aspersa* exposés à l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$; **: différence significative à $p < 0.01$).

Un classement par ordre croissant des différents traitements grâce à la méthode de tukey a permis de classer les traitements selon leurs effets sur l'activité de la CAT. Durant la période d'exposition les traitements peuvent être classés en deux groupes (tableau 11). A 1 jour, les témoins et les traités avec l'Actara représentent un groupe et les traités avec l'huile essentielle représentent un deuxième groupe. De 2 à 14 jours, deux groupes sont mise en évidence, le premier englobe les témoins et le deuxième englobe les traités avec les deux molécules.

3.2.3. Effet sur le taux de Glutathion (GSH)

l'Actara appliqué sur des adultes de l'escargot *Hélix aspersa* à la dose de 125 mg/L réduit significativement ($p < 0,05$) le taux de GSH à partir de 3 jours d'exposition. Cependant l'huile essentielle de *S. officinalis* réduit significativement le GSH à partir de 2 jours jusqu'aux 7 jours d'exposition comparativement aux témoins. En effet, la diminution maximale du taux de GSH a été enregistrée après 4 jours avec les valeurs de $127,68 \pm 14,17 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines et $112,79 \pm 1,43 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines pour l'Actara et l'huile essentielle respectivement. L'analyse statistique des données (ANOVA) révèle des effets hautement significatifs du traitement ($p < 0,001$), temps ($p < 0,001$) et significative de l'interaction traitement-temps ($p < 0,001$) (Figure.18).

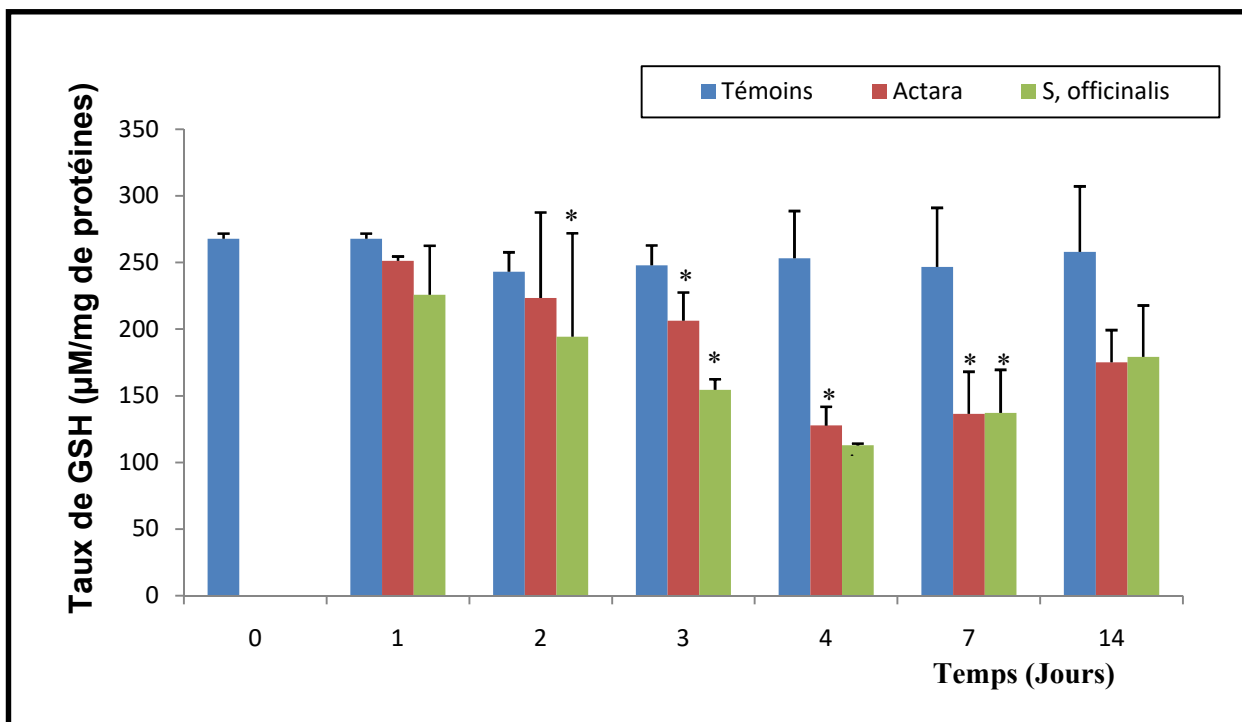


Figure 18: Taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) dans la glande digestive des escargots adultes d'*Hélix aspersa* exposés à l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$).

Un classement selon l'ordre décroissant des taux de GSH a été réalisé grâce à la méthode de tukey. Ce classement est mentionné dans le tableau 12. A 1 et 14 jours, les trois traitements représentent un groupe. A 2, jours d'exposition 2 groupes sont mis en évidence, le premier englobe les témoins et les traités avec l'Actara ; le second englobe le traitement avec l'huile essentielle. Enfin, à 3, 4 et 7 jours les témoins représentent un groupe et les traités avec les deux pesticides représentent un deuxième groupe.

3.3. Effet sur les réserves énergétiques

3.3.1. Effet sur le taux de glucides

Les taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) enregistrés chez les escargots témoins et traités avec l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* pendant 14 jours sont mentionnés dans la **figure 19**. Il ressort de nos résultats que le taux de glucides chez les témoins ne présente aucune variation importante pendant la durée de l'expérience, il passe de $1,7097 \pm 0,1147 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à 0 jour à $1,537 \pm 0,495 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à la fin de l'expérience. Chez les escargots traités, les deux molécules provoquent une augmentation très importante du taux de glucides à partir de 24 heures de traitement. La comparaison avec le test «t» de Student des différentes moyennes des traités avec les témoins révèle un effet significatif ($P < 0,05$) entre les témoins et les traités avec l'Actara après 3 jours et très significatives ($p < 0,01$) après 4 jours. Cependant, l'huile essentielle induit un effet significatif ($< 0,05$) après 48, 72 heures et 7 jours de traitement. L'effet est hautement significatif ($p < 0,01$) après 96 heures d'exposition. L'ANOVA à deux critères de classification indique des effets temps, traitement et interaction traitement-temps très hautement significatif ($p < 0,001$).

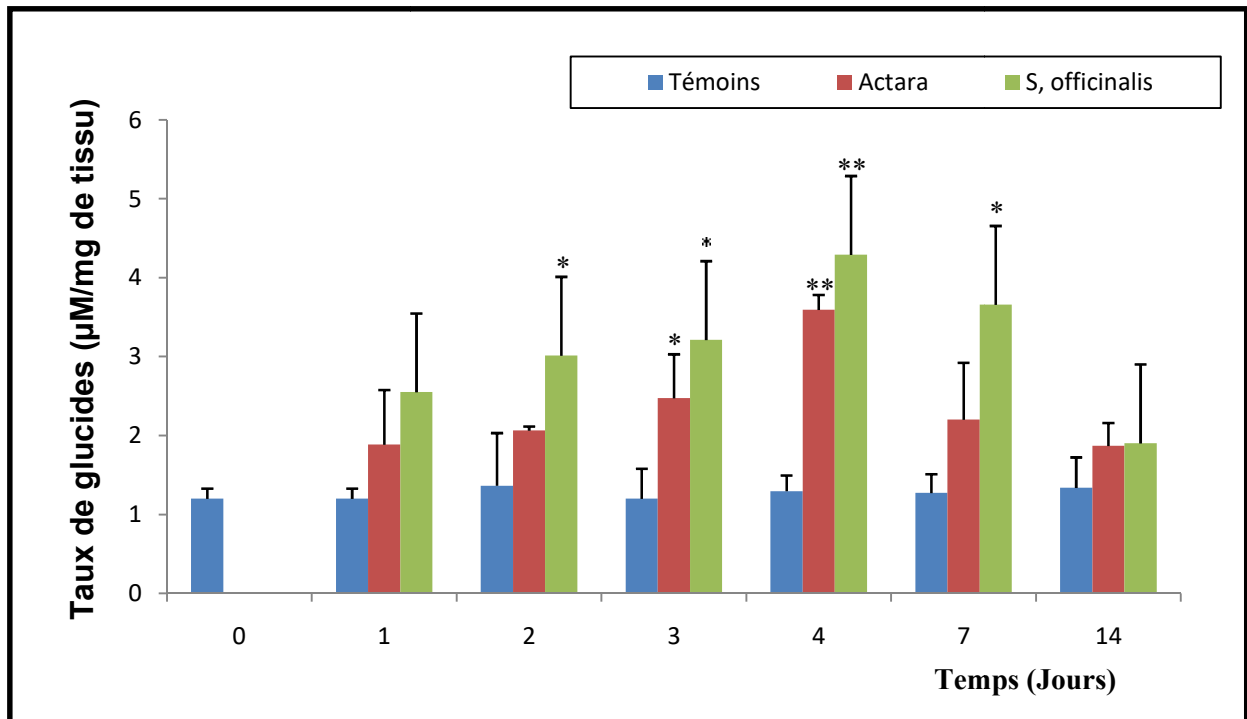


Figure 19. Taux de glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes *d'Helix aspersa* exposés à l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0.05$).

Le test de tukey a permis de classer les différents traitements selon l'ordre croissant du taux de glucides obtenus. Ce classement est résumé dans le tableau 13. A 1 et 14 jours, un seul groupe est enregistré qui représente les témoins et les traités. A 2 et 7 jours, 2 groupes sont mis en évidence, le premier représente les témoins et les traités avec l'Actara; le second représente les traités avec l'huile essentielle. A 3 et 4 jours, 2 groupes ont été enregistrés, les témoins un groupe et les traités un groupe.

3.3.1. Effet sur le taux de lipides

Le taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) a été calculé pour chaque échantillon par l'application de la technique de Goldsworthy *et al.*, (1972). Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 16. Le traitement des adultes *d'Helix aspersa* avec l'Actara et l'huile essentielle de *S.*

officinalis pendant 14 jours provoquent une augmentation significative du taux de lipide. Les taux de lipides passent de $2,775 \pm 0,045$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à 24 heures à $3,037 \pm 0,462$

$\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu après 3 jours de traitement avec l'Actara. Concernant les adultes traités avec l'huile essentielle, le taux de lipides passe de $3,57 \pm 0,543$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à 0 jour à $5,743 \pm 1,079$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu après 4 jours.

La comparaison des valeurs moyennes enregistrées chez les séries témoins et traitées indique que L'Actara provoque un effet significatif ($P < 0,05$) sur le taux de lipides

Après 3 jours. L'effet de l'huile essentielle est noté après 1, 2, 3, 4 et 7 jours. De plus, l'ANOVA à deux critères de classification indique des effets temps, traitement et interaction traitement-temps ($p < 0,05$) significatif (Figure.20).

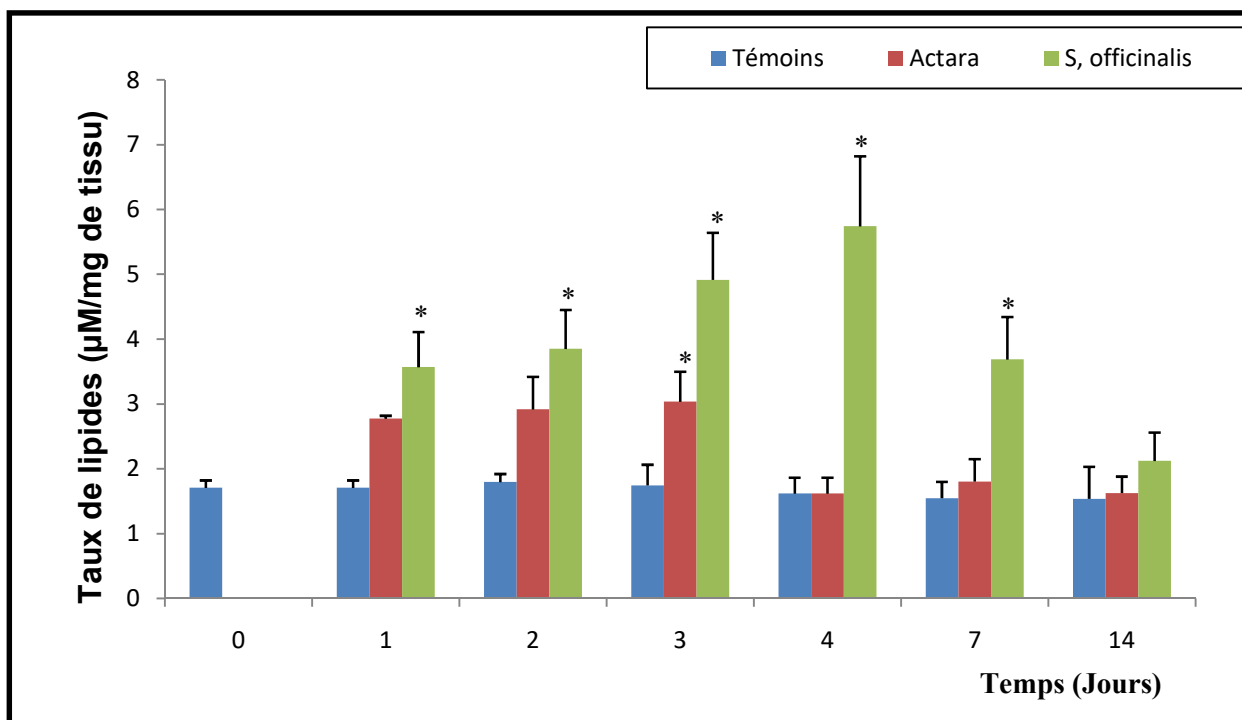


Figure 20 : Taux de lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la glande digestive des escargots adultes *d'Helix aspersa* exposés à l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* ($m \pm s$; $n=3$). (*: différence significative à $p < 0,05$).

Un classement par ordre croissant des différents traitements grâce à la méthode de tukey a permis de classer les traitements selon leurs effets sur le taux de lipides. A 1, 2, 4 et 7 jours d'exposition deux groupes ont été enregistrés : le premier englobe les témoins et les traités avec l'Actara ; le deuxième englobe les escargots traités avec l'huile essentielle. 3 jours, les traitements

peuvent être classés en deux groupes (Tableau 14) ; le premier englobe les témoins et le deuxième englobe les traités. Enfin à 14 jours un seul groupe existe et qui regroupe les trois traitements.

DISCUSSION

4. Discussion

4.1. Toxicité de l'Actara et de l'huile essentielle

Les mortalités sont dose-dépendantes. Un faible taux de mortalités a été noté dans les doses faibles, puis ce taux commence à s'élever pour arriver à un taux maximal (100%) après 96h dans les doses les plus fortes avec des différences entre les deux composés Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis*. En effet, la mortalité des escargots dépend de l'espèce testée et de sa sensibilité vis-a-vis des substances testées (Douafer, 2015 ; Ait Hamlet et al, 2012).

La mesure la plus couramment employée dans les tests de toxicité aiguë d'une substance est la dose létale médiane (DL50). Nos résultats révèlent que les deux produits ont un effet toxique sur les adultes de *Helix aspersa*. Cette toxicité est expliquée par le mode d'action de l'Actara et la composition de l'extrait de la plante.

4.2. Etude biochimique

4.2.1. Effet sur les activités enzymatiques

L'AChE constitue le site cible de molécules neurotoxiques (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999). Ces polluants inhibent son activité et entraîne l'accumulation l'acétylcholine ce qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux et conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort de l'organisme (Bainy, 200). Dans notre étude l'Actara et l'HE du *S. officinalis* appliqués aux adultes de l'escargot terrestre *Helix aspersa* induit une inhibition significative de l'activité spécifique de l'AChE avec des taux plus marqués pour l'huile essentielle. De plus, l'inhibition de l'enzyme est en relation avec la durée d'exposition. Cette diminution traduit l'effet neurotoxique des deux composés. Les mêmes résultats ont été obtenus par plusieurs chercheurs : une inhibition de l'activité de l'AChE a été établie chez *H. aspersa* traité par deux pesticides, le carbofuran et le méthomyl (Salama *et al.*, 2005). En outre, une inhibition significative de l'activité de l'AChE est enregistrée chez *H. aspersa* exposé à un insecticide néonicotinoïde (imidaclopride) (Radwan & Mohamed, 2013). La réduction de l'AChE a été observée chez *L. macrochirus* exposée au diazinon (Dutta *et al.*, 1992) et à l'endosulfan (Dutta & Arends, 2003), chez l'escargot terrestre, *Theba pisana* traitée avec l'HE de la girofle (Gad et al., 2023) et dans les différents tissus des organismes terrestres (Zaidi *et al.*, 2022 ; Douafer *et al.*, 2020) et aquatiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999).

La catalase joue un rôle complémentaire en tant qu'enzyme cytosolique et antioxydant en

protégeant contre la peroxydation causée par le peroxyde d'hydrogène (Cossu *et al.*, 1997). Le peroxyde d'hydrogène est réduit en eau et en oxygène moléculaire par lui (Digiulio *et al.*, 1989 ; Orbea *et al.*, 2002). Selon Van der-Oost *et al.* (2003), la catalase est largement employée comme biomarqueur de stress oxydatif (Napierska & Barsiene, 2009). D'après nos résultats, il a été démontré que l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* entraîne une augmentation significative de l'activité spécifique du catalase dans le foie des adultes de *Helix aspersa*. Dans cette étude, l'induction de l'activité spécifique de la CAT reflète la réaction de l'organisme à l'augmentation de la production de ROS grâce à l'exposition aux composés toxiques. Effectivement, l'activation de la CAT représente la première étape de protection contre les ROS (Pandey *et al.*, 2001) et un bioindicateur de l'intoxication par plusieurs polluants (van der-Oost *et al.*, 2003 ; Regoli *et al.*, 2003). En revanche, dans notre étude, nous avons remarqué que l'exposition à l'HE induire un stress oxydatif plus marquée comparativement aux escargots exposés à l'Actara. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Gad *et al.* (2023). Selon ces chercheurs, l'activité de la CAT chez l'escargot terrestre *Thebapisanaa* été augmenté le traitement avec l'huile essentielle de la girofle (Gad *et al.*, 2023). Ainsi, boudebaz et bouzekouk (2018) ont également constaté une augmentation de la CAT chez la même espèce traitée avec du chlorpyrifos. Selon El-wakil et Radwan (1991), une autre étude montre une augmentation de l'activité de catalase après l'exposition d' *Eubania vermiculata* à différents pesticides (Methomyl, Thiodicart et Métaldehyde).

Le GSH est un tripeptide qui agit comme un agent réducteur pour maintenir l'état redox intracellulaire et protège ainsi les cellules contre les attaques peroxydatives via l'élimination des ROS, améliorant ainsi les défenses antioxydants (Zitka *et al.*, 2012). Il est considéré comme un important antioxydant qui assure la protection des membranes cellulaires contre les dommages provoqués par les radicaux libres (Sies & Akerboom, 1984 ; Martinez-Alvarez *et al.*, 2005 ; Lam, 2009). Dans notre étude, l'Actara et l'huile de *S. officinalis* montre une tendance marquée à réduit significativement le taux de GSH dans le foie de l'escargot. Cette réduction est due à l'augmentation du stress oxydatif et de la consommation accrue de GSH pour neutraliser les radicaux libres. En accord avec nos résultats, la diminution du taux GSH a été également observée dans l'hépatopancréas d'*H. aspersa* traité par les pesticides : carbofuran et parquat (Salama *et al.*, 2005). L'étude de Douafer (2015) montre que les escargots terrestres réagissent rapidement à l'effet du traitement par différentes concentrations et que le thiamethoxam cause une inhibition significative de GSH comparativement avec les escargots témoins. De plus, l'inhibition de ce biomarqueur est en corrélation avec les doses testées et plus marquée chez les espèces exposées à l'huile essentielle ce qui confirme la toxicité de notre plante à l'égard des escargots.

4.2.2. Effet sur les réserves énergétiques

Les escargots *H. aspersa* qui traités avec l'Actara et l'extrait de *S. officinalis* ont montré une augmentation significative des taux de glucides et lipides dans leur foie.

Les glucides constituent la principale source d'énergie et jouent un rôle essentiel dans la physiologie des êtres vivants (Wiens & Gilbert, 1967). D'après nos résultats, les deux doses testées ont provoqué une augmentation significative des niveaux de glucides après différentes durées d'exposition. En effet, les glucides sont la source première et immédiate d'énergie (Moussard, 1999) et sont épuisées durant les situations stressantes pour répondre aux besoins énergétiques (Arasta *et al.*, 1996). L'augmentation du glycogène dans l'hépatopancréas pourrait être due à une augmentation de synthèse de cette molécule pour lutter contre le stress causé par les deux composés.

Les lipides, en tant que source d'énergie, jouent un rôle crucial dans le processus de métabolisme (Wendelaar, 1997). Elles sont la principale source d'énergie pour les tissus en cas de besoins après les glucides (Padmaja & Rao, 1994). Dans cette étude, on observe des variations significatives du taux de lipides pendant l'exposition entre les groupes témoins et ceux exposés à l'Actara et à l'extrait de la plante.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

5. Conclusion et perspectives

L'utilisation de pesticides conventionnels dans la lutte contre les escargots terrestres entraîne des perturbations écologiques, des problèmes agricoles et environnementaux. Les biopesticides offrent une solution plus respectueuse de l'environnement face aux pesticides chimiques. Notre étude vise à déterminer les doses létales et l'effet de l'Actara, un insecticide néonicotinoïde, et l'huile essentielle de *S. officinalis*, une plante courante en Algérie, sur *Helix aspersa*, un escargot terrestre très abondant dans la région de Skikda. Pour ce faire, des tests toxicologiques et des dosages biochimiques ont été réalisés dans les conditions de laboratoire.

L'étude toxicologique montre que l'Actara et l'huile essentielle de *S. officinalis* provoquent une mortalité (observée et corrigée) progressive significativement corrélée aux doses et au temps d'exposition. De plus, les équations de régression et les concentrations létales ont été déterminées à partir des droites de régression exprimant la mortalité corrigée en fonction de logarithmes décimaux des doses.

Les résultats de l'étude biochimique ont permis de caractériser l'effet de l'Actara et de l'huile essentielle de *S. officinalis* sur les activités enzymatiques (AChE, CAT et GSH) et les réserves énergétiques (glucides et lipides) dans la tête et le foie des adultes de *Helix aspersa*. En effet, l'effet toxique de l'huile essentielle est plus marqué par rapport à l'Actara car les effets provoqués par le premier est significativement important à celle provoqués à la suite d'un traitement avec le dernier.

L'étude permet de projeter des perspectives intéressantes qui considèreraient les points suivants :

- Tester la toxicité d'autres pesticides couramment utilisés en agriculture pour évaluer leurs effets toxiques sur les espèces de gastéropodes (*Helix aspersa*) et par conséquent, sur la santé humaine.
- Utiliser les HEs d'autres plantes pour connaître leurs effets toxiques sur le gastéropode terrestre *Helix aspersa*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

6. Références bibliographique

- A.R.L.A.S.C., 2007.** Rapport d'évaluation du thiaméthoxam - ERC2007-01. Santé Canada, Canada, 105 p.
- Abd-Alrahman, S.H., 2014.** Residue and dissipation kinetics of thiamethoxam in a vegetable-field ecosystem using QuEChERS methodology combined with HPLC-DAD. Food Chemistry, 159: 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.124>.
- AGRO-SERVICE., 2004.** L'élevage d'escargot, Etude monographique. Rapport final. Tunis.
- Ait Hamlet S., Bensoltane S., Djekoun M., Yassi F., and Berrebbah H., 2012.** Histological changes and biochemical parameters in the hepatopancreas of terrestrial gastropod *Helix aspersa* as biomarkers of neonicotinoid insecticide exposure. African. Jour. Biotechno., 11 (96): 16277-16283.
- Aït Hamlet, S., Djekoun, M., Bensoltane, S., & Berrebbah, H., 2019.** Effets du thiaméthoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques de l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Revue Agrobiologia, 9(2): 1491-1498. <http://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2020/01/03-1491-1498--A%C3%8FT-HAMLET-et-al.pdf>.
- Al-Ghanim, K.A., Mahboob, S., Vijayaraghavan, P., Al-Misned, F.A., Kim, Y.O., & Kim, H.J., 2019.** Sub-lethal effect of synthetic pyrethroid pesticide on metabolic enzymes and protein profile of non-target Zebra fish, *Danio rerio*. Saudi Journal of Biological Sciences, 27(1): 441-447. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.11.005>.
- Arasta T, Bais VB, et Thakur P (1996)** Effect of nuvanonsome biochemical parameters of Indian catfish *Mystus vittatus*. Journal of Environmental Research Sec A 80: 80–83.
- Baba Aissa F., 1999.** Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. Edas. Alger, 368 p.
- Barbosa, M.O., Moreira, N.F.F., Ribeiro, A.R., Pereira, M.F.R., & Silva, A.M.T., 2016.** Occurrence and removal of organic micropollutants: an overview of the watchlist of EU Decision 2015/495. Water Research, 94: 257-279.
- Barker G.M., 2001.** The biology of terrestrial molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK.
- Beloued A., 2014.** Plantes médicinales d'Algérie. Ben Aknoun: Edition OPU, 296 p. ISBN 978.9961.0.0304.6.
- Berger B. & Dallinger R., 1993.** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental pollution. Environmental Monitoring and Assessment, 25: 65- 84.
- Bhavsar S.S., et Patel N.G., 2011.** Molluscicidal activity of two pesticides against *Macrochlamys indica*. Golden Resrach Thoughts., 1 : 1-4.
- Bocquené G., Galgani F. & Walker H., 1997.** Les cholinestérasés, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. and Ramade F., (eds), Biomarqueurs en écotoxicologie-Aspects fondamentaux. Masson, Paris, pp: 209-240.
- Bonnet J.G. et Vrillon J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie-élevage. Institut National de l'Agronomie, Paris, 124 p.
- Boudebaz H. et Bouzekouk R. juillet 2018.** Effet toxicologique d'un insecticide organophosphoré à base de chlorpyrifos sur l'escargot *H. aspersa*. Mémoire: Toxicologie fondamentale et appliquée UNI. Med-SEddik Benyahia-Jijel p30-40.
- Buron-Mousseau F., 2014.** Accouplement de Petits-Gris. Dans Zoologie. Consulté en ligne : 01

- juin 2014 à l'url :
<http://www2.aclyon.fr/enseigne/biologie/photossq1/photos.php?RollID=images&FrameID=escargot1>.
- Chase R., 1986.** Lessons from Snail Tentacles. *Chemical Senses*, 11(4): 411-426.
- Chevalier H., 1992.** L'élevage des escargots. 2ème édition. Editions du Point Vétérinaire. Paris.
- Chevallier H., 1977.** La variabilité de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa* Müller). *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 3ème série, n° 448, Zoologie, 311 p.
- Chouahda, S., Cheghib, Y., & Soltani, N., 2018.** Impact of a Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam on Metric Indexes and Enzymatic Activity of Glutathione S-Transferase in Adult Females of a Mosquitofish *Gambusia affinis*. In: Kallel A., Ksibi M., Ben Dhía H., Khélifi N. (Eds), *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions. EMCEI 2017. Advances in Science, Technology & Innovation (IEREK Interdisciplinary Series for Sustainable Development)*, 311-312. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70548-4_99.
- combination (pesticides and metals) on survival (LC50 Values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chemos.*, 8 (5): 912-918.
- Cortet J., Gomot de Vaufleury A., Poinso-Balaguer N., Gomot L., Texier C. & Cluzeau D., 1999.** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35 (3): 115-134.
- Cossi, P.F., Herbert, L.T., Yusseppone, M.F., Pérez, A.F., & Kristoff, G., 2020.** Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192: 110248. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110248>.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M. C., Babut M., Exinger A. & Vasseur P., 1997.** Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotox. Environ. Saf.*, 38:122-31
- Coulon, M., Schurr, F., Martel, A.C., Cougoule, N., Begaud, A., Mangoni, P., Dalmon, A., Alaux, C., Le Conte, Y., Thiery, R., Ribiere-Chabert, M., & Dubois, E., 2018.** Metabolisation of thiamethoxam (a neonicotinoid pesticide) and interaction with the chronic bee paralysis virus in honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 144: 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.009>.
- Couplan F., 2000.** Dictionnaire étymologie de botanique. Nestlé (Ed). Luisane. Paris.
- Daguzan J., 1983.** Principales caractéristiques biologiques et écophysologiques de l'escargot. In: Daguzan J. (Ed). *L'escargot et l'héliciculture. Informations techniques des services vétérinaires*. Paris, 207 pages.
- de Vaufleury A. & Gomot A., 1998.** Use of land snails to monitor environmental pollution. Laboratoire de Biologie et d'Écophysologie, Besançon, France et Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, Paris, France, 86 p.
- Digiulio R.T., Washburn P.C., Wenning R.J., Winston G.W. & Jewell C.S., 1989.** Biochemical responses in aquatic animals – a review of determinants of oxidative stress. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8: 1103-1123.

- Djerroumi A., Nacef M., 2004.** 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135-131.
- Douafer L., 2015.** Réponses in situ et en laboratoire de deux espèces communes de gastéropodes (*Helix aspersa* et *Helix aperta*) à une contamination des agrosystèmes par un insecticide néonicotinoïde (*Actara*) : activité de l'AChE et stress oxydatif». Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.
- Douafer, L., N. Zaidi and N. Soltani (2020).** Seasonal variation of biomarker responses in *Cantareus aspersus* and physic-chemical properties of soils from Northeast Algeria. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27:24145-24161.
- Druart C., 2011.** Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de l'Environnement, Université de Franche-Comté.
- Dutta H.M. & Arends D.A., 2003.** Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile blue gill sunfish. *Environ. Res.*, 91: 157-162.
- Dutta HM, Mercelino J, Richmond C. 1992.** Brain acetylcholinesterase activity and motor behavior in bluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different concentrations of diazinon. *Arch. Intern. Physiol. Biochem. Biophys.* 100: 331-334.
- Duvhâteau, G., & Florkin, M., (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, vol : 67(2), pp 306-314.
- Duvhâteau, G., & Florkin, M., (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, vol : 67(2), pp 306-314.
- Edwards J.M. & Slingo A., 1996.** Studies with a flexible new radiation code I: choosing a configuration for a large-scale model. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 122: 689-719.
- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V., Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol. Physiol.*, 38: 84-90.
- El-Wakil H.B. & Radwan M.A., 1991.** Biochemical studies on the terrestrial snail *Eobania vermiculata* (Muller) treated with some pesticide. *Jour. Environ. Scien. Health.*, 26 (596) :479-489.
- Ensley, S.M., 2018.** Chapter 40 Neonicotinoids, in *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*. Third Edition, Academic Press, 1238 p. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811410-0.00040-4>.
- Fernandez-Vega C., Sancho E., Ferando M.D. & Andreu-Moliner E., 1999.** Thiobencarb toxicity and plasma AChE inhibition in the European eel. *J. Environ. Sci. Heal.*, 34: 64.
- Forge't J., Pavillon J.F., Beliaeff B. & Bocquené G., 1999.** Joint action of pollutant
- Fruleux Loic, 2009.** L3 environnementaliste: Monographie *Salvia officinalis*. P7. - http://galerie.pierre.free.fr/LaboOuvert/pdf/salvia_officinalis.pdf.
- Girard J.E., 2010.** Principles of environmental chemistry. 2nd ed. Sudbury, MA: Jones and Barlett Publishers. 687 p
- Gomez-Herrero, E., Lebik-ElHadi, H., Ait-Amar, H., Tobajas, M., Rodriguez, J.J., & Mohedano, A.F., 2019.** Thiamethoxam removal by Fenton and biological oxidation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 95(4): 913-921. <https://doi.org/10.1002/jctb.5953>.

- Gomot A., Rerat A., Nordmann R. & Boudène C., 1997.** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 181(1): 59- 75.
- Gomot L., Enée J., 1980.** Biologie de la reproduction de l'escargot *Helix aspersa* Müller : les phases de la croissance et de la différenciation sexuelle. *Atti. Accad. Fisiocrit. Siena*, 37: 73-85.
- Gomot-de Vaufleury A. & Pihan F., 2000.** Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3): 275–284.
- Grara N., 2011.** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux. Thèse de doctorat en Toxicologie Cellulaire. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Gupta, S. & Banerjee, S., 2015.** Length-weight relationship of *Mystus tengara* (Ham. - Buch., 1822), a freshwater catfish of Indian subcontinent. *International Journal of Aquatic Biology*, 3(2): 114-118.
- Guyard A., 2009.** Schéma de l'appareil génital de l'escargot. Dans *Anatomie de l'Escargot*. Consulté en ligne le : 01 juin 2014 à l'url : <http://baladesnaturalistes.hautetfort.com/archive/2009/10/11/l-escargot-anatomie-interne.html>.
- Harding, G., & Burbidge, C., 2013.** State of the Gulf of Maine Report: Toxic Chemical Contaminants. Gulf of Maine Council on the Marine Environment. Available at: [PDF] <http://www.gulfofmaine.org/state-of-the-gulf/docs/toxic-chemical-contaminants-theme-paper.pdf>.
- He, B., Ni, Y., Jin, Y., & Fu, Z., 2020.** Pesticides-induced energy metabolic disorders.
- Herbet A., Guilhermino L., Assis H.C.S. & Hansen P.D., 1995.** Acetylcholinesterase activity in aquatic organisms as pollution biomarker. *Zeitschrift. Angewandt. Zool.*, 3: 1-5.
- Hopkin S.P., 1989.** *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates*. Elsevier Applied Science, London, 245 p.
- Hussein H.I., Kamel A., Abou-Zeid M., El-Serbe A.H., Saleh M.A., 1994.** Uscharin, the most potent molluscicidal compound tested against land snails. *Jour. Chem. Ecol.*, 20: 135-140.
- Iserin P., 2001.** *Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soins*. 2ème Edition, Larousse, 335 p.
- Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., 2000.** *Botanique systématique : Une perspective phylogénétique* (1ère Ed. Paris et Bruxelles).
- Kalavathy, K., Siva Kumar, A.A., & Chandran, R., 2001.** Toxic effects of the pesticide dimethoate on the fish, *Sarotherodon mossambicus*. *Journal of Biological Research*, 2: 27-32.
- Kumaresan, V., Pasupuleti, M., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Arshad, A., Nurul Amin, S.M., Yusoff, F. Md, & Arockiaraj, J., 2018.** A comparative transcriptome approach for identification of molecular changes in *Aphanomyces invadans* infected *Channa striatus*. *Molecular Biology Reports*, 45(6): 2511-2523. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4418-y>.
- Larba R., 2014.** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.

- Laurent J., Deray A., 1984.** Influence de la photopériode, du degré d'hétérogénéité de la population sur la dynamique de croissance et la maturité sexuelle de l'escargot *Helix aspersa*. C. R. Soc. Biol, 178: 421-441.
- Lionetto, M.G., Caricato, R., & Giordano, M.E., 2019.** Pollution Biomarkers in Environmental and Human Biomonitoring. The Open Biomarkers Journal, 9 (1): 1- 9. Doi: 10.2174/1875318301909010001.
- Madec L., 1983.** Importance des conditions climatiques et de l'origine des individus pour la reproduction de l'escargot Petit-Gris en élevage sous bâtiment contrôlé.
- Maksimovic M., Danijela V., Mladen M., Marija E.S., Sabaheta A., Sonja S.Y., 2007.** Effect of environmental condition on essential oil profile in two Dinaric *Salvia* species: *Salvia brachydon* Vandas and *Salvia officinalis* L. Biochemical Systematics and Ecology, 35: 473-478.
- McClure, C.M., Smalling, K.L., Blazer, V.S., Sperry, A.J., Schall, M.K., Kolpin, D.W., Phillips, P.J., Hladik, M.L., & Wagner, T., 2020.** Spatiotemporal variation in occurrence and co-occurrence of pesticides, hormones, and other organic contaminants in rivers in the Chesapeake Bay Watershed, United States. Science of the Total Environment, 728: 138765. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138765>
- Messaili B., 1995.** Botanique, systématique des spermatophytes. OPU (Ed). Alger, 91 p.
- Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R., 2004.** Botanique Biologie et Physiologie Végétales. Editions Maloine, Paris.
- MNHN & OFB [Ed], 2003-2004.** Image d'une plante *Salvia officinalis* L. Consulté en ligne le : 22 juin 2024 à l'URL : <https://inpn.mnhn.fr/photos/uploads/webtofs/inpn/0/232840.jpg>.
- Moussard C., 1999.** La biochimie, Biochimie structurale et métabolique, Médecine, Pharmacie, Sciences. De Boek et Larciens.a., Bruxelles: 294 p.
- Müller O.F., 1774.** *Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succincta historia.* Volumen alterum. - pp. I-XXXVI [= 1-36], 1-214, [1-10]. Havniæ & Lipsiæ. Heineket Faber, p. 59.
- Naghbi F., Mosaddegh M., Mohammadi Motamed S., Ghorbani A., 2005.** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2(1): 63-79.
- Napierska D, Barsiene J. 2009.** Biomarkers responses in flounder *Platichthys flesus* from the polish coastal area of the Baltic sea and application in biomonitoring. Ecotox., 18(7) : 846-859.
- Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M., Sole M., Porte C., & Cajarville 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.
- Ozenda P., 1977.** Flore du Sahara. 2ème Ed. CNRS. Paris. 622 p.
- Pandey S., Ahmed S., Parvez S., Bin-Hafeez B., Haque R., Raisud S., 2001.** Effect of endosulfan on antioxidant system of fresh water fish *Channa punctatus* Bloch: Protection against lipid peroxidation in liver by copper pre-exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 41:345-352.
- Pang, N., Fan, X., Fantke, P., Zhao, S., & Hu, J., 2020.** Dynamics and dietary risk assessment of thiamethoxam in wheat, lettuce and tomato using field experiments and computational

- simulation. Environmental Pollution, 256: 113285.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113285>.
- Quezel P., Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed, CNRS. Paris. Tom. 2: 793p.
- 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.
- Radwan M.A., Essawy A.E., Abdelmeguid N.E., Hamed S.S., Ahmed A.E., 2008.** Biochemical and histochemical studies on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pest. Biochem. Physiol.*, 90: 154-167.
- Regoli F, Winston GW, Gorbi S, Frenzilli G, Nigro M, Gorsì I, Focardi S. 2003.** Integrating enzymatic responses to chemical exposure with total oxidant absorbing capacity and DNA damage in the European eel *Anguilla*. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:2120-2129.
- 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.
- Sathyamoorthi, A., Kumaresan, V., Palanisamy, R., Pasupuleti, M., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Marimuthu, K., Nurul Amin, S.M., Arshad, A., Yusoff, F.Md., & Arockiaraj, J., 2019.** Therapeutic cationic antimicrobial peptide (CAP) derived from fish aspartic proteinase Cathepsin D and its antimicrobial mechanism. *International Journal for Peptide Research & Therapeutics*, 25: 93-105. <https://doi.org/10.1007/s10989-017-9652-y>.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., Newhall, A., and Freidman, L., (1966).** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt. Biochem.* Vol : 19, pp 415-428.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., Newhall, A., and Freidman, L., (1966).** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt. Biochem.* Vol : 19, pp 415-428.
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, N., Gibbons, D.W., Giorgio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D.P., Krupke, C.H., Liess, M., Long, E., McField, M., Mineau, P., Mitchell, E.A.D., Morrissey, C.A., Noome, D.A., Pisa, L., Settele, J., Stark, J.D., Tapparo, A., Van Dyck, H., Van Praagh, J., Van der Sluijs, J.P., Whitehorn, P.R., & Wiemers, M., 2015.** Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1): 5-34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>.
- Tesovnik, T., Zorc, M., Ristanić, M., Glavinić, U., Stevanović, J., Narat, M., & Stanimirović, Z., 2020.** Exposure of honey bee larvae to thiamethoxam and its interaction with Nosemaceranae infection in adult honey bees. *Environmental Pollution*, 256: 113443. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113443>.
- Ullah, S., Li, Z., Zuberi, A., Arifeen, M.Z.U., & Baig, M.M.F.A., 2019.** Biomarkers of pyrethroid toxicity in fish. *Environmental Chemistry Letters*, 17 945-973. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00852-v>
- 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.

- Wang, H., Zhana, J., Gao, L., Yu, G., Komarneni, S., & Wang, Y., 2020.** Kinetics and mechanism of thiamethoxam abatement by ozonation and ozone-based advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 390: 122180. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122180>.
- Weckbercker G. & Cory J.C., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 12: O Cells in vitro cancer. *Letters.*, 40: 257-264.
- Weckbercker G. & Cory J.C., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 12: O Cells in vitro cancer. *Letters.*, 40: 257-264.
- Wendelaar S.E., 1997.** The stress response in fish. *Phys. Rev.*, 5: 591-625p.
- Wiens W.A. et Gilbert L.I., 1967.** Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *Leucophaeamaderae*. *Journal of Insect Physiology*, 13(5) : 779-794.
- Wolter Skluwer, 2007.** Botanique pharmacognosie phytothérapie. 1, rue Eugène et Armand Peugeot. 92500 Rueil-Malmaison Cedex.
- Yamamoto, I. & Casida, J.E. (Eds.), 1999.** Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. Edition illustrée, Springer Science & Business Media, 2012, 300 p.
https://books.google.dz/books?id=HnL8CAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.
- yot, G. & Singh, B., 2017.** Development and validation of an HPLC method for determination of thiamethoxam and its metabolites in cotton leaves and soil. *Journal of AOAC International*, 100: 796-803. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0206>.
- Young A.G., Wilkins R.M., 1989.** A new technique for assessing the contact toxicity of molluscicides to slugs. *Jour. Moll. Stud.*, 55: 533-536.
- Zaaffour M., 2014.** Étude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa* Gastropoda : Stylomatophora ; Helicidae) dans la région Nord-Est d'Annaba – Algérie. Thèse de doctorat spécialité biologie animale.
- Zaidi N., Douafer L., Hamdani A. & N. Soltani 2022.** Assessment of the state of the terrestrial environment in Skikda region (Algeria) using enzymatic activity and energy reserve contents of land snails, *Cantareus aspersus*. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 32(4), 2022 (accepted).
- Zinkl J.G., Lockhrat W.L., Kenny S.A., & F.J. Ward, 1991.** The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In: *Cholinesterase-Inhibiting Insecticides* (Mineau P., ed.), pp. 1233-254. New York: Elsevier.
- Zitka, O., Sylvie, S., Jaromir, G., Michal, M., Vojtech, A., Jaromir, H., Libuse, T., Jarmila, K., Eckschlager, T., Kizek, T., 2012.** Redox status expressed as GSH : GSSG Ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncol. Lett.* 4, 1247–1253.