

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955-سكيدة  
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



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

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

Filière : Sciences Biologiques  
Option : Écotoxicologie Animale

Intitulé

**Etude de la toxicité aigüe de l'huile essentielle  
d'une plante médicinale à l'égard de  
*Cantareus aspersus* (Gastropoda : Pulmonata)**

Présenté Par :

- Benredouane Fouzia
- Bouzred Rawnak
- Siab Ferial
- Zaoui Naouel

**Membre de Jury:**

Mme. LAIB Imane (MCA)	Président	Université du 20 Août 1955- Skikda
Mme. ZAIDI Nedjoudja (Pr.)	Promoteur	Université du 20 Août 1955- Skikda
Mme. BOUCETTA Sabrina (MCA)	Examineur	Université du 20 Août 1955- Skikda

Année universitaire 2022/2023

---

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Arabic calligraphy of the Basmala (Bismillah) in a highly stylized, bold, and interconnected script. The text is arranged in a roughly circular or oval shape, with thick black lines and intricate flourishes. Small numbers (1, 2, 3, 4) are placed near the letters to indicate stroke order. The calligraphy is set against a white background with a thin red horizontal line above and below it.

# REMERCIEMENT

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

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

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

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

On remercie beaucoup la **Doctorante HERMOUCHE A.** pour son aide 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

Loué soit Dieu, c'est suffisant, et prières soient sur l'Élu bien-aimé et sa famille et ceux qui l'ont accompli.

Quant à ce qui suit : Loué soit Dieu, qui nous a permis de valoriser cette étape de notre parcours académique avec cette note qui est la nôtre, fruit d'efforts et de succès grâce à Lui.

C'est le fruit de mon effort, je le plie aujourd'hui,  
c'est un cadeau que je dédie à : Mon père, que Dieu le protège, Fouad. Ma chère mère, Samia Sinan, que Dieu prolonge sa vie et soit toujours une lumière sur mon chemin  
À toute la famille honorable qui m'a soutenu et qui l'est toujours, des frères et sœurs de Muhammad Satif al-Din Abd al-Jalil Marwa et Kawthar  
aux compagnons de route qui ont partagé ses moments avec moi. Et à tous ceux qui sont dans mon cœur et oubliés par ma plume

**Offert par Rawnak Bouzered**

# Dédicace

Je dédie ce travail :

À l'âme de mon cher père, que son âme repose en paix

À ma mère pour son amour

À mes frères, ses épouses et leur enfants qui m'ont encouragé.

À mon chère mari pour son soutien de morale, pour ses conseils.

À ma joie de vie mon petit cœur mon fils Mohamed

À ma fidèle ami Wided

À Abir pour ses conseils

À toute mes collègues de travail et ingénieurs de laboratoire

À toute la promotion D'écotoxicologie animale 2022/2023

À tous que j'aime. ❤️

*Zaoui Naouel*

---

# Dédicace

C'est le fruit de mes efforts que je récolte aujourd'hui, c'est un cadeau  
que je dédie à : ma chère mère,  
Que Dieu prolonge sa vie et fasse qu'elle perpétue une lumière sur mon chemin, à  
mes sœurs, surtout Rufaida,  
À la maris, aux compagnons de route qui ont partagé ses moments avec moi, que  
Dieu les protège et leur accorde tout le succès,  
et à ceux qui m'ont soutenu dans l'accomplissement de ce travail, Naouel,  
Rawnak, Ferial

*Benredouane Fouzia*

# Dédicace

A mon père, mon maître et le sommet de ma tête, qui ont veillé sur notre éducation dans la  
bonne manière ,  
O bougie qui m'a éclairé dans les ténèbres. A toi, ma mère, source de tendresse, à qui tu m'as  
donné gratuitement, à qui je dois la vie,  
Que Dieu te protège et prolonge ta vie. A ceux qui nous ont porté un seul ventre et ont  
partagé avec eux les jours, leurs bons et leurs mauvais,  
ET Dieu en a fait pour moi le lien spécifique pour mes frères : Shaima, Sherine, Adam.  
A tous ceux qui pourraient se souvenir de plus que mes notes : mes proches, amis et étudiants  
en écotoxicologie animale.

*SiabFerial*

---

---

# *Résumé*

---

## Résumé

Ce travail a pour objectif de déterminer les doses létales des HEs d'une plante médicinale *Pinus pinaster* sur un gastéropode terrestre abondant dans le Nord-Est Algérien, *Cantareus aspersus*. De plus la toxicité aiguë de cet extrait a été évaluée sur la composition biochimique de la tête de cette espèce. Les doses létales et les paramètres biochimiques (acétylcholinestérase, catalase et protéines) ont été déterminés à différents temps (24, 48, et 96 heures) de traitement.

Les essais toxicologiques montrent une liaison positive entre les mortalités et les doses testées. Les doses létales ont été déterminées à partir de la droite de régression exprimant la mortalité en fonction des doses de l'extrait. Les doses létales DL10 et DL25 sont respectivement : 46,25 g/L et 100 g/L.

Les résultats du dosage biochimiques indiquent que le traitement des juvéniles de *Cantareus aspersus* par l'extrait de la plante *P. pinaster* pendant 96 heures provoque des perturbations dans la composition biochimique de la tête. Cette perturbation se traduit par une inhibition significative de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase et des protéines totales et ainsi une augmentation significative du taux de catalase après 24 heures de traitement.

**Mots clés:** *Cantareus aspersus*, *P. pinaster*, L'huile essentielle, toxicité aiguë, composition biochimique.

---

## المخلص

يهدف هذا العمل إلى تحديده الجرعات المميّنة للزيوت الأساسية لـ *P.pinaster* على بطني الأرجل *Cantareus aspersus* بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم السمية الحادة لهذا المستخلص على التركيبة الكيميائية الحيوية لرأس هذا النوع. تم تحديد المعلمات البيوكيميائية في أوقات مختلفة (24، 48، و96 ساعة) من العلاج.

تظهر الاختبارات السمية وجود علاقة إيجابية بين الوفيات والجرعات المختبرة. تم تحديد التركيزات DI10 و DI25 من خلال خط الانحدار الذي يعبر عن الوفيات كدالة لجرعات المستخلص هي على التوالي: 46,25 جم / لتر و100 جم / لتر.

تشير نتائج الاختبار إلى أن معالجة صغار *Cantareus aspersus* بمستخلص نبات *P.pinaster* لمدة 96 ساعة تسبب اضطرابات في التركيب الكيميائي الحيوي للجهاز العصبي لهذا النوع. وبالفعل لوحظ ارتفاع معنوي في مستوى الأسيتيل كولين استيراز والبروتين وانخفاض كبير في مستوى الكاتالاز بعد 24 ساعة من العلاج.

**الكلمات المفتاحية:** السمية الحادة التركيبة الكيميائية *Cantareus aspersus, P. pinaster*

---

## **Abstract**

This work aims to determine the letales doses of essential oil of a medicinal plant *P. pinaster* on a terrestrial gastropod, *Cantareus aspersus*. In addition, the acute toxicity of this extract was evaluated on the biochemical composition of the head of this species. The biochemical parameters were determined at different times (24, 48, and 96 hours) of treatment.

The toxicological tests show a positive link between the mortalities and the doses tested. The D110 and D125 concentrations determined from the regression line expressing mortality as a function of the doses of the extract are respectively: 46,25 g/L and 100 g/L.

The results of the metabolite assay indicate that the treatment of *Cantareus aspersus* juveniles with the extract of the *P. pinaster* plant for 96 hours causes disturbances in the biochemical composition of the nervous system of this species. Indeed, a significant increase in the level of acetylcholinesterase and protein and thus a significant decrease in the level of catalase was noted after 24 hours of treatment.

**Keywords:** *Cantareus aspersus*, *P. pinaster* , acute toxicity, biochemical composition.

---

## Liste des figures

Titre	Page
<b>Figure 1</b> : Escargot <i>Cantareus aspersus</i> (originale, 2023).	5
<b>Figure 2</b> :Morphologie externe d'escargot ( <i>Cantareus aspersus</i> )	7
<b>Figure 3</b> : Anatomie interne de l'escargot( <i>Cantareur aspersus</i> )	8
<b>Figure 4</b> : Accouplement de petit-gris (Zaafour, 2014).	9
<b>Figure 5</b> : Arbre de pin maritime ( <i>P. pinaster</i> ) (originale, 2023).	10
<b>Figure 6</b> :Site de la collecte jardin siaffa, Azzaba, Skikda (originale, 2023).	12
<b>Figure 7</b> : Elevage <i>Cantharus aspersus</i> .	13
<b>Figure 8</b> : Récolte de la plante <i>P. pinaster</i> (originale, 2023).	13
<b>Figure 9</b> : Montage utilisée pour l'hydrodistillation (originale, 2023) et HEs du <i>P. pinaster</i> .	14
<b>Figure 10</b> : Traitement toxicologique (originale, 2023).	15
<b>Figure 11</b> :Prélèvement d'organe de <i>Cantarseus aspersus</i> (original, 2023)	16
<b>Figure 12</b> : Courbe de référence exprimant la mortalité corrigée en fonction des doses des HEs du <i>P. pinaster</i> appliqué sur les escargots juvéniles.	22
<b>Figure 13</b> : Activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) dans la tête des juvéniles de l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposés à l'huile essentielle de <i>Pinus pinaster</i> (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ; n=3). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p < 0,05$ ).	23
<b>Figure 14</b> :Activité spécifique de la CAT ( $\mu$ M/min/mg de protéines) dans la tête des juvéniles de l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposés à l'huile essentielle de <i>Pinus pinaster</i> (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ; n=3). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p < 0,05$ ).	24
<b>Figure 15</b> : Taux de protéines ( $\mu$ g/mg de tissu) dans la tête des juvéniles de l'escargot <i>Cantareus aspersus</i> exposés à l'huile essentielle de <i>Pinus pinaster</i> (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ; n=3). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes( $p < 0,05$ ).	25

## Liste des tableaux

<b>Tire</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b> : Classification de l'espèce <i>Cantareus aspersus</i> (Bonnet et Vrillon, 1990).	6
<b>Tableau 2</b> : Classification botanique de <i>P. pinaster</i>	10
<b>Tableau 3</b> :Principaux composés chimiques de l'huile essentielle des aiguilles de <i>P. pinaster</i> en Algérie (Ait Mimoune <i>et al</i> , 2013).	11
<b>Tableau 4</b> :Dosage de la catalase	17
<b>Tableau 5</b> : Dosage des protéines : Réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
<b>Tableau 6</b> : Rendement (%) des huiles essentielles de <i>P. pinaster</i>	20
<b>Tableau 7</b> : Effet des HEs du <i>P.pinaster</i> sur des escargots juvéniles sur la mortalité observée ( $m \pm \delta$ , n=3).	20
<b>Tableau 8</b> : Effet des HEs du <i>P. pinaster</i> appliqué sur des escargots juvéniles sur la mortalité corrigée (n=3).	21
<b>Tableau9</b> : Effet des HEs du <i>P. pinaster</i> appliqué sur des escargots juvéniles sur la mortalité corrigée (n=3).	21

---

---

---

# *Sommaire*

---

# Sommaire

1. Introduction.....	1
2. Matériel et Méthodes.....	3
2.1. Matériel biologique.....	3
2.1.1. Présentation du genre <i>Cantareus aspersus</i> .....	3
2.1.2. généralité sur l'anatomie d'escargot.....	4
a. Le Corp.....	4
b.a. coquille.....	5
2.1.3. La croissance d'escargot.....	6
2.1.4. La reproduction d'escargot.....	7
2.2. Matériel végétatif:.....	8
2.2.1. Généralité sur le pin maritime ( <i>Pinus pinaster</i> ).....	8
2.2.2. La composition chimique des huiles essentielles du <i>P. pinaster</i> .....	9
2.2.3. Toxicologie des huiles essentielles du <i>P. pinaster</i> .....	10
2.3. Echantillonnage et d'élevage.....	11
2.3.1. Site de la collecte.....	11
2.3.2. Elevage de l'espèce.....	11
2.4. Extraction des HEs de <i>P. pinaster</i> .....	12
2.4.1. La récolte de la plante.....	12
2.4.2. Lavage et séchage de la plante.....	13
2.4.3. Méthode d'extraction des huiles essentielles du <i>P. pinaster</i> .....	13
2.5. Etude toxicologie .....	14
2.6. Etudes biochimique .....	14
2.6.1. Traitement et prélèvement des organes.....	14
2.6.2. Dosage d'acétylcholinestérase .....	15
2.6.3. Dosage catalase .....	16
2.6.4. Dosage de protéines totales.....	16
2.7. Traitements statistiques des données.....	17
3. Résultats.....	18
3.1. Rendement des huiles essentielles du Pin maritime.....	18
3.2. Toxicité des HEs à l'égard de <i>Cantareus aspersus</i> .....	18
3.2.1. Mortalité observée.....	18
3.2.2. Mortalité corrigée.....	19

---

3.2.3. Droite de régression.....	19
3.3. Effet du traitement sur la composition biochimique.....	20
3.3.1. Effet sur le taux de d'acétylcholinestérase .....	20
3.3.2. Effet sur le taux catalase .....	21
3.3.3. Effet sur le taux de protéines.....	22
<b>4. Discussion .....</b>	<b>24</b>
4.1. Rendement des huiles essentielles du Pin maritime.....	24
4.2. Etude toxicologique.....	24
4.3. Etude biochimique .....	24
<b>5. Conclusion et perspectives .....</b>	<b>27</b>
<b>6. Référence bibliographique .....</b>	<b>28</b>



---

# *Introduction*

---

# Introduction

---

## 1. Introduction

Les Mollusques, Gastéropodes et Bivalves forment un groupe d'espèces très diversifié qui occupe une place importante dans les écosystèmes. L'escargot terrestre, *Cantareus aspersus* (Syn : *Helix aspersa*) est un gastéropode prévalente et très répandue dans le Nord-Est de l'Algérie (Larbaa et Soltani, 2013 ; Douafer et Soltani, 2014, Zaidi *et al.*, 2021). Cette espèce est utilisée comme bioindicateur de la pollution métallique et organique des sols (Gimbert *et al.*, 2006), en raison de son accumulation facile de polluants, dont les métaux lourds dans son organisme (Viard *et al.*, 2004 ; Jordaens *et al.*, 2006).

Les escargots sont considérés comme l'un des bioagresseurs les plus redoutés en agriculture, ces espèces se nourrissent de végétaux et s'attaquent aux plantes et ils font de gros dégâts dans les jardins. Ils collent aux troncs et aux tiges des arbres et des plantes dans la mesure où ils recouvrent complètement ces parties, ce qui nuit à leur vitalité et leur fait du mal, d'où le mauvais effet sur la déformation de la nature (Regnault-Roger *et al.*, 2005). La nuisibilité de ces animaux liée à leur activité et aussi de leurs habitudes alimentaires. De plus, l'escargot provoque une odeur indésirable qui empêche les hommes, et même les animaux d'utilisés ces plantes contaminées (El-Okda, 1984 ; Kassab et Daoud, 1964) et par conséquence ces cultures perdent leur commercialisation et donc leur potentiel d'exportation dans de nombreux pays (Baker et Hawke, 1990 ; Utah et Wissmann. 1992).

Les agriculteurs utilisent une gamme de produits chimiques pour la lutte contre ces espèces nuisibles. L'utilisation de ces produits s'accompagne d'une contamination des écosystèmes terrestre et aquatique entraînant la réduction de la biodiversité terrestre. Cela a incité les chercheurs et les scientifiques à recourir à une autre solution et à rechercher une alternative aux composés chimiques à effet positif (Prüss-Üstün et Corvalán, 2006). Plusieurs recherches ont été réalisées pour développer des méthodes alternatives plus efficaces aux organismes nuisibles et moins toxiques pour l'homme et son environnement, les biopesticides.

Les biopesticides sont « des organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de supprimer ou limiter les ennemis des cultures » (Thakore, 2006). Ces produits permettent de lutter ou de tuer plusieurs populations nuisibles (insectes, champignons, mollusques...) et moins toxiques pour l'homme et l'environnement que les pesticides chimiques conventionnels. Les biopesticides ont été utilisés par les agriculteurs depuis des siècles.

## **Introduction**

---

Les biopesticides peuvent être divisés en plusieurs catégories : Microbien (substances actives extraites des micro-organismes de bactéries, de champignons, de virus, de protozoaires), Animal (prédateurs, parasites ou molécules extraites d'animaux agissant contre les ravageurs) et Végétale (substances actives qui servent d'insecticide, ou de régulateur (Deravel *et al.*, 2013).

L'utilisation des plantes pesticides se révèle être une pratique ancestrale en Afrique. En effet, de nombreuses plantes sont connues et utilisées pour leurs activités biocides (toxique, répulsive, anti-appétant) vis-à-vis d'une large gamme de biagresseurs (Saliou *et al.*, 2020 ; Ali et Abou El, 2023). Les plantes aromatiques produisent de nombreux métabolites secondaires afin de lutter contre les stress abiotique et biotique. Parmi ces métabolites secondaires, les composés des huiles essentielles comme les pesticides verts qui sont non toxiques et généralement inoffensifs pour l'environnement par rapport aux pesticides de synthèse (Isman, 2004).

Les effets néfastes des mollusques terrestres, l'un des ravageurs agricoles les plus nuisibles au monde, et les impacts négatifs du contrôle chimique de ces espèces par les pesticides conventionnels, nous amène à l'évaluation de l'effet de l'huile essentielle d'une espèce végétale très abondante en Algérie sur l'escargot *Cantareus aspersus* le plus dominant dans le Nord-est Algérien. Cette étude a pour objectif de :

- **Chercher un molluscicide phytosanitaire naturel qui peut être considéré comme une alternative aux produits chimiques conventionnels.**
- **l'évaluation de l'effet de l'extrait d'une espèce végétale très abondantes en Algérie sur l'escargot le plus dominant dans le Nord-est Algérien par :**
  1. la détermination des doses létales CL10 et la CL25 de l'huile essentielle d'une plante médicinale, sur un gastéropode terrestre.
  2. L'évaluation de l'effet de l'extrait sur la composition biochimique de la tête de cette espèce nuisible aux cultures.

---

# *Matériel et Méthodes*

---

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel biologique

#### 2.1.1. Présentation du genre *Cantareus aspersus*

Les escargots du genre *Cantareus* appartiennent à la famille des Hélicidés qui comprend de nombreuses espèces européennes et méditerranéennes à l'exception notable de *Cantareus aspersus* qui a également colonisé les régions atlantiques et a été introduit hors de l'Europe (Bonnet et Vrillon, 1990). L'escargot terrestre *Cantareus aspersus* (Figure 1), son corps doit toujours rester humide. Cela explique qu'il "sort" la nuit, lorsqu'il pleut et qu'il soit surtout actif au printemps, sa température change en fonction du temps en l'hiver, il hiberne dans sa coquille pour éviter de geler. Il creuse alors un trou dans la terre, s'y loge et bouche l'entrée par un opercule en sécrétant un voile muqueux (épiphragme). Il a besoin de faire entrer de l'air. En été, en cas de sécheresse, il vit au ralenti, à l'abri dans sa coquille pour éviter de se déshydrater. Il s'enferme dans sa coquille pour dormir, hiberner ou se protéger des prédateurs (Bouchene, 2015).



**Figure 1 :** Escargot *Cantareus aspersus* (originale, 2023).

## *Matériels et méthodes*

---

*Cantareus aspersus* (Müller, 1774) est un Mollusque gastropode, pulmoné terrestre aussi nommé, *Helix aspersa*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus* dans la nomenclature récente (Barker, 2001). Selon Bonnet et Vrillon (1990), sa position systématique est la suivante :

**Tableau 1:** Classification de l'espèce *Cantareus aspersus* (Bonnet et Vrillon, 1990).

<i>Règne</i>	<i>Animalier</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Mollusca</i>
<i>Classe</i>	<i>Gasteropoda</i>
<i>Ordre</i>	<i>Stylomatophora</i>
<i>Famille</i>	<i>Helicidae</i>
<i>Genre</i>	<i>Helix</i>
<i>Espèce</i>	<i>H. aspersa</i>

### **2.1.2. Généralité sur l'anatomie de l'escargot**

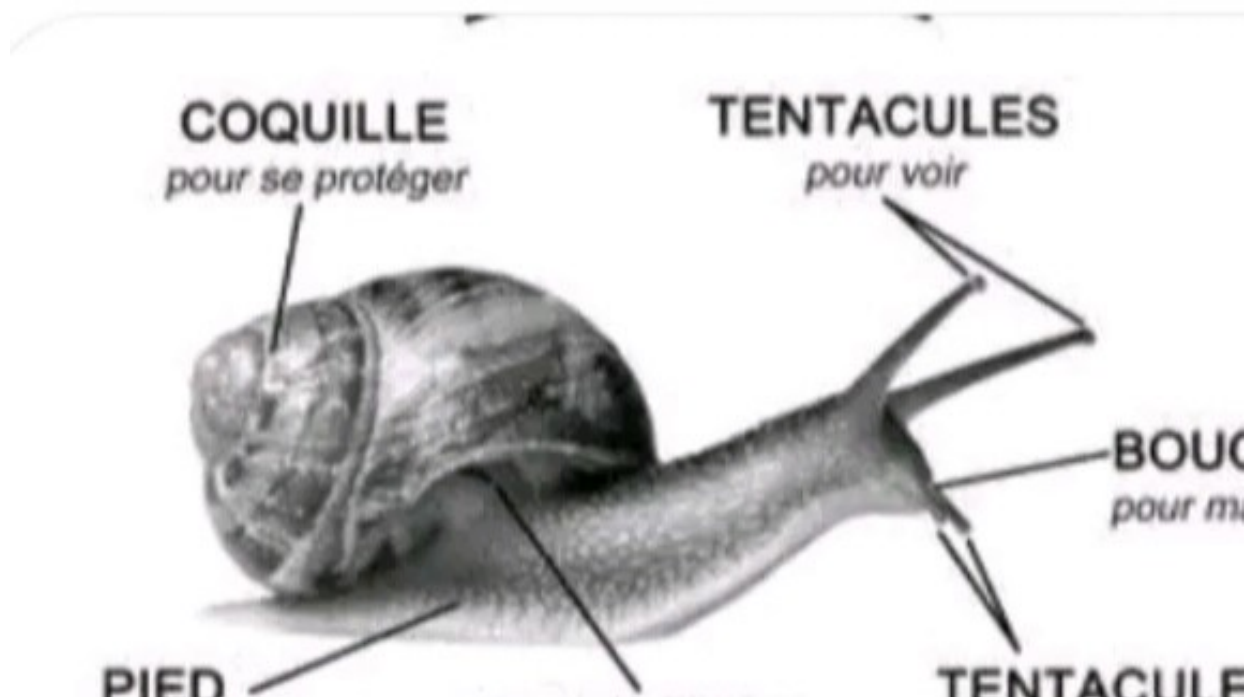
Les escargots appartiennent au groupe des mollusques, il comprend en gros deux parties, la coquille et le corps, ce dernier est divisé en trois zones la tête, le pied et les viscères (Figure 2).

**a. Le corps :** le corps des escargots se compose de trois parties : la tête, la masse viscérale et le pied. La tête constitue la région antérieure, bien développée et se distingue du reste du corps, elle porte une bouche armée de mâchoires et donne accès à un bulbe buccal pourvu d'une radula, de morphologie variable. Elle porte de paires de tentacules sensoriels (Boué et *al*, 1971). Le pied est une masse musculuse allongée. Il est riche en cellules glandulaires muqueuses qui sécrètent une substance intervenant dans la lubrification du substrat, aussi elles sécrètent, le diaphragme qui obture la coquille du gastéropode soumis à des conditions défavorables (André, 1968). L'escargot déplace seulement vers l'avant grâce à son pied. La troisième partie est la masse viscérale qui comprend les principaux organes, sous forme de manchon allongé, recouverte par le manteau à sa partie dorsale antérieure, enveloppée d'un tégument, subit une torsion de 180° qui fait que la cavité palléale se retrouve en l'avant de l'animal (Gauer, 2007). La masse viscérale contient la partie moyenne du tube digestif, la majeure partie de l'appareil génital et la partie supérieure du muscle collumelaire, insérée à la columelle (Amroun, 2006).

## *Matériels et méthodes*

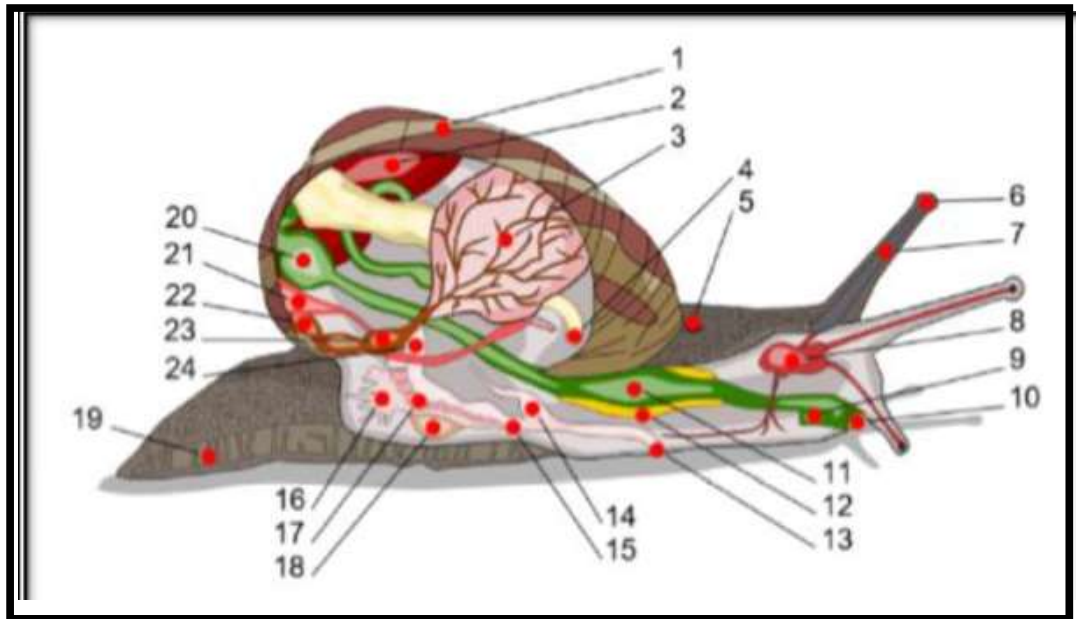
---

**b. La coquille :** est un cône calcaire très allongé, enroulé en hélice ou en spirale autour d'un axe, qui peut être plein ou creux et s'ouvre alors au voisinage du péristome par un ombilic. La forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont souvent une grande importance dans l'identification des espèces des gastéropodes. L'ouverture de la coquille ou péristome est généralement placée sur le côté de l'animal. Elle est simple ou tranchante ou présente un ourlet parfois épaissi en aspérités ou varices, qui donnent aux gastéropodes une grande diversité morphologique (Selloum, 2013). Le rôle principal de la coquille est d'assurer la protection du corps en cas de danger.



**Figure 2 :** Morphologie externe d'escargot (*Cantareus aspersus*)

L'anatomie interne d'escargots montre une dissymétrie tout à fait remarquable sa masse viscérale enroulée qui est placée dans la coquille. Les glandes de mucus placées dans la partie antérieure du pied, il y a aussi des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau. La coquille est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché à la columelle. La contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. À l'intérieur de la coquille, se trouve une cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon (Figure 3)



**Figure 3 :** Anatomie interne de l'escargot (*Cantareus aspersus*)

Légendes : 1 : coquille ; 2 : foie ; 3 : poumon ; 4 : anus ; 5 : pore respiratoire ; 6 : œil ; 7 : tentacule ; 8 : cerveau ; 9 : conduit salivaire ; 10 : bouche ; 11 : panse ; 12 : glande salivaire ; 13 : orifice génital ; 14 : pénis ; 15 : vagin ; 16 : glande muqueuse ; 17 : oviducte ; 18 : sac de dards ; 19 : pied ; 20 : estomac ; 21 : rein ; 22 : manteau ; 23 : cœur ; 24 : canal déférent.

### 2.1.3. La croissance de l'escargot

Chez les gastéropodes, nombreux sont les facteurs abiotiques (climatiques, nutritionnels) ou biotiques (âge, densité, génétique) qui conditionnent la croissance (Daguzan, 1982). La croissance de l'escargot correspond à une prise de poids et à un accroissement de la coquille en longueur, mais également en épaisseur (Gomot de Vaufleury, 2001). La croissance de ce mollusque se distingue en quatre phases en fonction de la taille et de la masse des animaux, mais aussi de leur différenciation sexuelle (Gomot, 1997).

1. La phase infantile qui dure de 1 à 2 mois, durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g.
2. La phase juvénile qui est la phase relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6 g.

## *Matériels et méthodes*

---

3. La phase de maturation sexuelle ou phase pré adulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. L'animal est à maturité sexuelle.
4. La phase adulte, où l'animal commence à se reproduire (Gomot et Gomot, 1995).

### **2.1.4. Reproduction de l'escargot**

L'escargot « petit gris », est une espèce hermaphrodite, se caractérisant par une exceptionnelle capacité de colonisation des habitats (Figure 4). L'escargot est adulte lorsque le bord de la coquille est dure et forme une petite visière, ainsi, dans ce cas, il devient capable de se reproduire (vers l'âge de 18 mois), les individus sont sexuellement matures, et s'accouplent de deux à 4 fois par ans dans un contact pouvant duré jusqu'à 10 heures. La gestation dure environ 16 jours lorsque chaque partenaire cherche un endroit humide, nettoie la surface et creuse avec la tête de 5 à 10 cm pour pondre. Chacun dépose en moyenne 100 à 300 œufs, de 3 mm environ de taille, selon les espèces (Kerney *et* Cameron, 2009).



**Figure 4 :** Accouplement de petit-gris (Zaafour, 2014)

## *Matériels et méthodes*

---

### 2.2. Matériel végétatif

#### 2.2.1. Généralité sur le pin maritime (*Pinus pinaster*)

Le *Pinus pinaster* est un conifère de la famille des Pinacées, il fût décrit par le botaniste écossais (Philip, 1768). Le pin maritime (figure 5) est un conifère largement distribué dans le bassin occidental de la Méditerranée, de l'Europe du Sud à l'Afrique du Nord, ainsi que sur la côte atlantique du Portugal, de l'Espagne et de la France (Quezel et Barberons, 1992 in Rathgeber, 2002). C'est une espèce bien adaptée aux climats maritimes très tempérés, à températures douce et régulière, nécessite une légère humidité, haut niveau de lumière (héliophile) (Kadri *et al.*, 2015), supporte la chaleur, mais il est sensible aux froids prolongés et les fortes gelées. Le pin maritime ou pin des landes aime les sols non-calcaires, sableux, profonds et riches, mais il s'adapte aussi aux sols pauvres et acides (Alissar, 2006), sa croissance rapide qui peut atteindre 30 mètres. Il se reproduit par deux méthodes de fertilisation et de dispersion des graines. Selon William Aiton (1789), la position systématique du pin maritime dans la classification actuelle est la suivante :

**Tableau 2** : Classification botanique de *P. pinaster*

<i>Sous-règne</i>	<i>Tracheobionata</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Pinophyta ou conifère</i>
<i>Classe</i>	<i>Pinopsida</i>
<i>Ordre</i>	<i>Pinales</i>
<i>Famille</i>	<i>Pinaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Pinus</i>
<i>Espèce</i>	<i>P. pinaster</i>



**Figure5:** Arbre de pin maritime (*P. pinaster*) (originale, 2023)

### 2.2.2. Composition chimique des huiles essentielles du *P. pinaster*

La composition chimique des huiles essentielles des aiguilles de *P. pinaster* collectées en Algérie a été étudiée en utilisant la technique GC-MS. Le chromatogramme a montré que l'huile essentielle était un mélange de nombreux composés, dont certains étaient présents à l'état de traces. Vingt-trois composés de l'huile aromatique ont été identifiés, représentant 88,6 % de la composition totale de l'huile essentielle (Ait Mimoune *et al.*, 2013).

**Tableau3 :** principaux composés chimiques de l'huile essentielle des aiguilles de *P. pinaster* en Algérie (Ait Mimoune *et al.*, 2013).

<i>Composés</i>	<i>Composition %</i>
$\alpha$ -Thujene	0,64
$\alpha$ -Pinene	1,29
Myrcene	2,07
$\Delta^3$ -Carene	0,38
Verbenone	0,25
Méthyl acétates	1,62

## *Matériels et méthodes*

---

$\alpha$ -Terpenyl acetate	1,36
$\alpha$ -Copaene	5,05
$\beta$ -Elemene	0,45
$\beta$ -Caryophyllene	30,90
$\alpha$ -Humulene	6,86
Germacrene-D	3,75
$\beta$ -Selinene	13,45
$\alpha$ -Murolene	2,59
$\gamma$ -Cadinene	3,93
$\delta$ -Cadinene	7,81
$\beta$ -Copaene	0,64
Humulene epoxide II	2,33
Phenyl ethyl Anthranilate	2,01
Cis-ferruginol	0,58
Monoterpene hydrocarbons	4,63
Oxygenated monoterpenes	2,98
Sesquiterpene hydrocarbons	75,43
Oxygenated sesquiterpenes	2,97
Oxygenated diterpenes	0,58
Autres	2,01

### **2.2.3. Toxicité des huiles essentielles du Pin maritime, *P. pinaster***

Les substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances synthétiques. Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent irriter la peau, les yeux et les muqueuses. De plus, ils peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (Meynadier *et* Raison-Peyron, 1997). Il a été rapporté qu'en présence de parfums, les personnes asthmatiques et développant des allergies de contact présentent des détresses respiratoires plus fréquemment que les personnes saines. Cependant, les mécanismes immunologiques n'ont pas été démontrés (Elberling *et* Skov, 2007).

### **2.3. Echantillonnage et élevage des escargots**

#### **2.3.1. Site de la collecte**

Les juvénile de l'escargot *Cantareus aspersus* ont été collectés au hasard a la main du jardin Siaffa dans la région d'Azzaba (Figure 6). Notre site de collecte est situé au Sud de la Wilaya de Skikda et soumis à un climat méditerranéen, caractérisé par des irrégularités mensuelles et annuelles des précipitations, la température moyenne annuelle modérée dans la région est de l'ordre de 18°C.



**Figure 6 :** Site de la collecte jardin siaffa, Azzaba, Skikda (originale, 2023)

#### **2.3.2. Elevage de l'espèce**

Les juvéniles de *Cantareus aspersus* collectés, ont été transférés à l'animalerie et identifiés selon la méthode décrite par Bonnet *et al.*, (1990) et Chevallier (1990), qui se base sur le nombre de bandes spirales au niveau des coquilles ainsi que la couleur et la forme de ces dernières. L'élevage est réalisé dans des boîtes en plastique transparentes recouvertes par un tulle pour assurer l'oxygénation avec 8 individus par boîte, chaque boîte contient une éponge humide pour assurer de l'humidité, et une boîte de pétrie qui contient de la nourriture (la farine de blé). Les boîtes sont nettoyées régulièrement tous les 2 jours et une période d'acclimatation de 15 jours dans les conditions de laboratoire a permis d'éliminer les individus présentant des anomalies (Figure7).



Figure 7 : Elevage de *Cantates aspersus*.

### 2.4. Extraction des HEs de *P. pinaster*

#### 2.4.1. La récolte de la plante

La plante a été récoltée de la cité Zerrouk Etaher (Figure 08), située dans la Daïra d'El-Hadaiek (wilaya de Skikda) pendant le mois de mars. Elle a été identifiée à l'aide des personnes qualifiées au niveau de la pépinière d'El-Hadaiek, la wilaya de Skikda. (Mr. Zahr Eddine Charia)



Figure 8 : Récolte de la plante *P. pinaster* (originale, 2023)

## *Matériels et méthodes*

### **2.4.2. Lavage et séchage de la plante**

La plante a été bien lavée avec de l'eau pour débarrasser de tous dépôts des polluants. Les aiguilles récoltées ont été séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière jusqu'à la stabilisation de leurs poids afin d'obtenir une meilleure extraction. Après elles ont été coupées en petits morceaux pour augmenter la surface de contact avec l'eau et conserver dans des sacs en papier jusqu'au moment d'extraction.

### **2.4.3. Méthode d'extraction des huiles essentielles du *P. pinaster***

Les huiles essentielles (HEs) des aiguilles de *P. pinaster*, ont été isolées par la méthode d'hydrodistillation. Chaque extraction a duré 3 à 4 heures pour un mélange de 80 g de matière végétale avec 800 ml d'eau distillée. Les vapeurs chargées de l'huile et qui traversent le réfrigérant se condensent. Le distillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi et une phase organique constituée par l'HE. Après la séparation des deux phases par le sulfate de sodium. L'huile essentielle est récupérée et stockée à 4° C à l'obscurité dans des flacons sombres et hermétiquement fermés (figure 9). Les quantités d'essence obtenues sont pesées pour le calcul du rendement. Le rendement en HE est donné par la relation suivante :

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

M' = masse d'HE en gramme

M = masse de la matière végétale utilisée en gramme



**Figure 9 :** Montage utilisée pour l'hydrodistillation (originale, 2023) et HEs du *P. pinaster*

## *Matériels et méthodes*

---

### **2.5. Etude toxicologique**

La méthode utilisée pour déterminer la toxicité de l'huile essentielle du Pin maritime est le traitement par application topique (Hussein *et al.*, 1994). Les HEs sont préparées dans le solvant le plus approprié pour une application topique, le Tween (20 %) (Adokoh *et al.*, 2019). Les doses testées sont : 10, 16, 50, 100 g/L, où elles sont délicatement appliquées sur toute la surface du corps de chaque individus à l'aide d'une micropipette (figure 10). Les escargots morts ont été prélevés et enregistrés chaque 24 h durant 96 h.

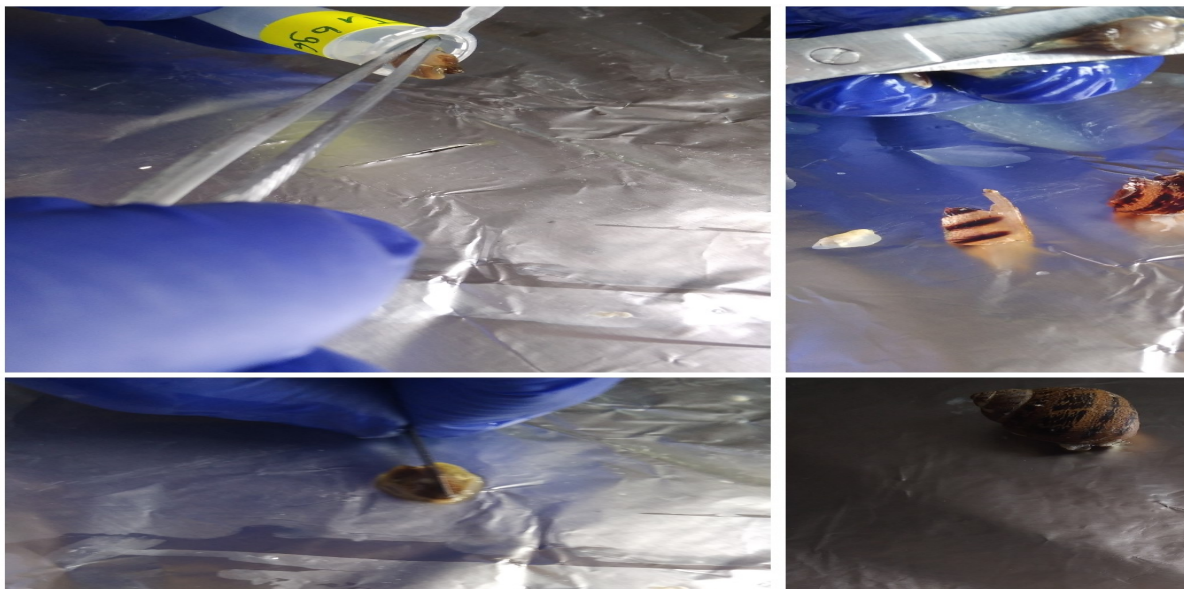


**Figure10:** Traitement toxicologique (originale, 2023)

### **2.6. Etude biochimique**

#### **2.6.1. Traitement et prélèvement des organes**

Pour déterminer l'effet d'huiles essentielles du Pin maritime sur l'activité de la catalase, de l'acétylcholinestérase et le taux de protéines dans la tête de *Cantareus aspersus*, un traitement topique a été effectué par application de l'huile essentielle à deux concentrations : 46,25g/l et 100g/l correspondent respectivement à la CL10 et la CL25 contre les juvéniles de cette espèce (résultats la première partie de cette étude). Après l'anesthésie, par congélation pendant une (1) heure, la tête des escargots témoins et traités est prélevée à l'aide d'un ciseau est pesée (figure 11) dans une balance de précision (Startorius H10) et conservée dans des tubes Eppendorfs contenant l'acide trichloracétique (TCA 20%) à + 4°C jusqu'aux dosages biochimiques.



**Figure11** : Prélèvement d'organe de *Cantareus aspersus* (original, 2023)

### 2.6.2. Dosage de l'acétylcholinestérase

Le Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961). Les têtes des escargots témoins et traités sont homogénéisés dans 1 ml d'une solution détergente, puis centrifugés (5000 tours/mn, 5mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage de l'activité AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100  $\mu$ l à laquelle on ajoute 1 ml tampon phosphate et 100  $\mu$ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue chaque minute pendant 5 min à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc ou 100  $\mu$ l de d'eau distillée replace les 100  $\mu$ l du surnageant.

### 2.6.3. Dosage du catalase

L'activité de la catalase (CAT) est déterminée selon la méthode de Greenwald (1985). Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate. L'homogénat est broyé et centrifugé à 15000 trs/min pendant 15 min. le surnageant récupéré est utilisé pour le dosage de catalase. Le dosage est réalisé selon le tableau suivant :

## **Matériels et méthodes**

---

**Tableau 4:** Dosage de la catalase

	Surnageant (ml)	Tampon phosphate (ml)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (ml)
Blanc	0	0,4	0,5
Échantillon	0,1	0,4	0,5

### **2.6.4. Dosage de protéines totales**

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de Coomassie comme réactif (100 mg BBC + 50 ml d'éthanol absolu + 100 ml d'acide ortho phosphorique complété à 1000 ml avec de l'eau distillée) et le sérum d'albumine de boeuf (BSA, Sigma) comme protéine standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère BSA (1 mg/ml) (Tableau 5). Les absorbances ont été lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

**Tableau 5 :** Dosage des protéines : Réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Quantité de l'eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (µl)	4	4	4	4	4	4

### **2.7. Traitements statistiques des données**

L'analyse statistique des données est effectuée avec le logiciel MINITAB 16.00 fr d'analyse et traitement statistique des données. La répartition des mesures biochimiques répond à une loi normale et ces paramètres sont exprimées par leur moyenne et leur l'écart type établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisées dans les figures et les tableaux. Les moyennes des séries témoins et traitées ont été comparées en utilisant l'ANOVA avec un seuil de signification P = 0,05. Les résultats des paramètres toxicologiques et biochimiques ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère (traitement) et à deux critères (traitement et temps) de classification.

*Résultat*

## Résultats

### 3. Résultats

#### 3.1. Rendement des huiles essentielles du Pin maritime

Le rendement en huiles essentielles de sept (7) extractions a été calculé en fonction de la matière végétale sèche des aiguilles de la plante. Nos échantillons de *P. pinaster* ont fourni un rendement de l'ordre de 0,47%.

Tableau 6 : Rendement (%) des huiles essentielles de *P. pinaster*

Plante	Poids d'huile essentielle (g)	Poids de la matière végétale sèche(g)	Rendement
<i>P. pinaster</i>	3	640	0,47%

#### 3.2. Toxicité des HEs à l'égard de *Cantareus aspersus*

##### 3.2.1. Mortalité observée

L'extrait naturel (HE) a été utilisé à des différentes concentrations qui sont: 10, 16, 50 et 100 g/L sur les juvéniles de *Cantareus aspersus*. Les résultats de la mortalité observée sont mentionnés dans le tableau 7 avec des taux variant de 0,333 et (16 g/L) de 0,666 (100 g/L) après 24 h de traitement. La dose la plus élevée (100 g/L) présente le taux le plus élevé de mortalités comparativement aux autres doses et aux témoins. L'analyse statistique des données (ANOVA à deux critères de classification) révèle un effet dose hautement significatif ( $p < 0,001$ ).

Tableau 7: Effet des HEs du *P. pinaster* sur les juvéniles de l'escargot *Cantareus aspersus* sur la mortalité observée ( $m \pm \delta$ ,  $n=3$ ).

Concentration (g/L)	Temps (heure)			
	24	48	72	96
Témoin	0	0	0	0
10	0	0	0	0
16	0	0,333 $\pm$ 0,577	0,333 $\pm$ 0,577	0,333 $\pm$ 0,577
50	0,333 $\pm$ 0,577	0,666 $\pm$ 1,154	0,666 $\pm$ 1,154	0,666 $\pm$ 1,154
100	0,666 $\pm$ 1,154	1 $\pm$ 0	0,666 $\pm$ 1,154	0,666 $\pm$ 1,154

## Résultats

### 3.2.2. Mortalité corrigée

Les résultats du calcul de la mortalité corrigée sont mentionnés dans le tableau 8. Ces résultats montrent que les taux de mortalité corrigée augmentent avec la concentration de l'Huile essentielle. Les taux les plus élevés ont été notés après 48 heures de traitement (37,5) avec la dose la plus forte (100 g/L).

**Tableau 8:** Effet des HEs du *P. pinaster* sur les juvéniles de l'escargot *Cantareus aspersus* sur la mortalité corrigée

Concentration (g/L)	Temps (heure)			
	24	48	72	96
Témoin	0	0	0	0
10	0	0	0	0
16	0	12,5	12,5	12,5
50	12,5	25	25	25
100	25	37,5	25	25

### 3.2.3. Droite de régression

La droite de régression qui exprime la mortalité corrigée après 24 heures de traitement (tableau 9) en fonction des doses des huiles essentielles de la plante utilisée est représentée dans la Figure 12. Le coefficient de détermination ( $R^2=0,986$ ) révèle une liaison positive entre les mortalités et les différentes doses testées.

## Résultats

### 3.3. Effet du traitement sur la composition biochimique

#### 3.3.1. Effet sur le taux de l'acétylcholinestérase

Le traitement des juvéniles de *Cantareus aspersus* avec l'HE de *P. pinaster* à deux doses (DL10 et DL25) induit une inhibition de l'AChE dans la tête de ces escargots à partir de 24 heures d'exposition (Figure 13). L'inhibition maximale de l'activité de l'AChE a été notée après 96 heures ( $25,43 \pm 1,76$  et  $14,57 \pm 4,85$  nM/min/mg de protéines) chez les individus traités avec les deux doses, DL10 et DL25, respectivement. De plus, l'ANOVA indique un effet traitement, temps et interaction traitement-temps ( $p < 0,001$ ) hautement significatif

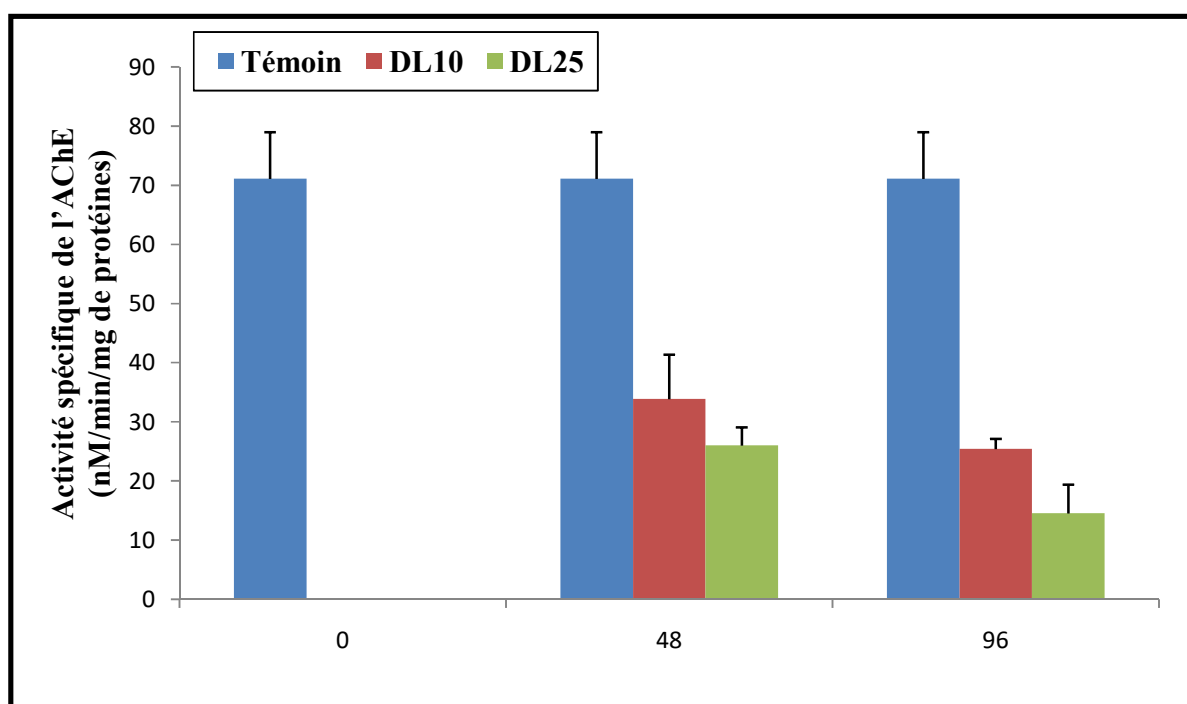


Figure 13 :Activité spécifique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) dans la tête des juvéniles de

## Résultats

l'escargot *Cantareus aspersus* exposés à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ;  $n=3$ ). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p<0,05$ ).

### 3.3.2. Effet sur le taux de catalase

Les résultats de l'estimation de l'activité de la catalase dans la tête des juvéniles de l'escargot *Cantareus aspersus* exposés à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* à deux doses, DL10 et DL25, sont représentés dans la figure 14. Les des juvéniles de *Cantareus aspersus* traités présentent une augmentation significative ( $p< 0,05$ ) de l'activité de la catalase après 24 heures de traitement avec la DL25. L'effet de la dose la plus faible est noté après 48 heures de traitement avec une augmentation significative ( $p <0,05$ ) et après 96 heures avec une augmentation très significative ( $p< 0,01$ ). Le maximum d'augmentation de l'activité de la catalase est enregistré après 96 heures de traitement ( $152,11 \pm 5,41$  et  $163,2 \pm 17,0 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines).

L'ANOVA à deux critère de classification (traitement/ temps) révèle des effets traitement ( $p< 0,001$ ), temps ( $p< 0,001$ ), et une interaction traitement/temps ( $p< 0,001$ ) hautement significatif.

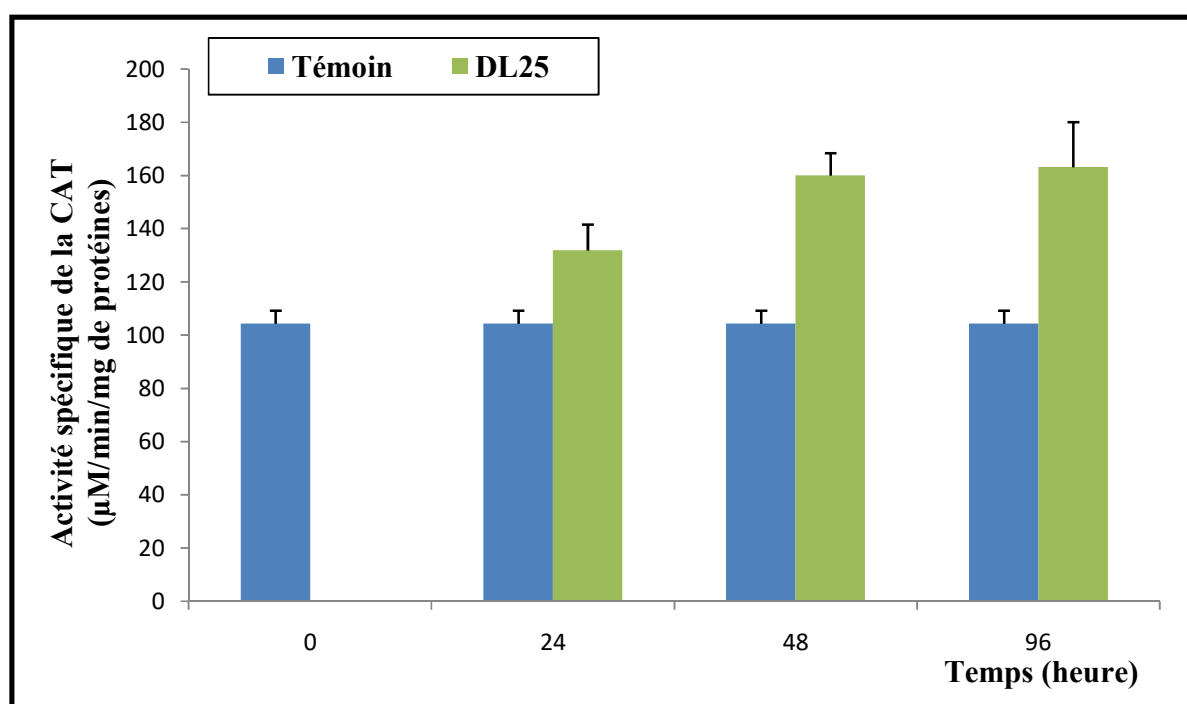


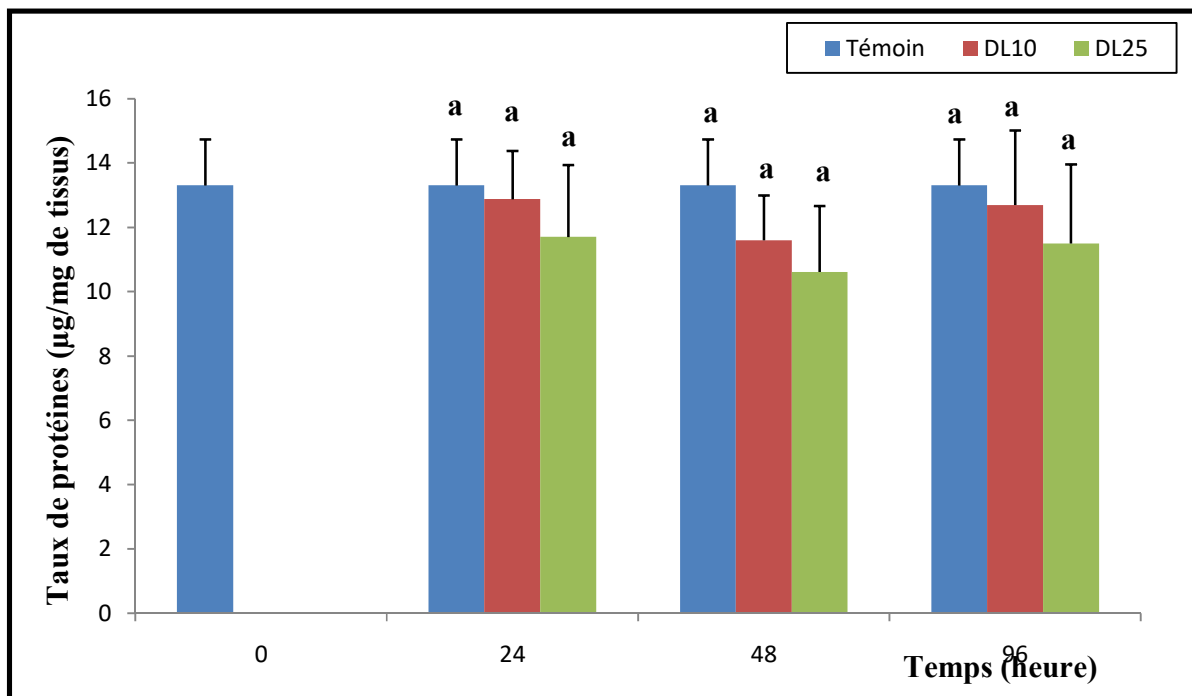
Figure 14 :Activité spécifique de la CAT ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) dans la tête des juvéniles de

## Résultats

l'escargot *Cantareus aspersus* exposés à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ;  $n=3$ ). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p<0,05$ ).

### 3.3.3 Effet sur le taux de protéines

Les résultats de l'estimation du taux de protéines dans la tête des juvéniles de l'escargot *Cantareus aspersus* exposés à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* à deux doses, DL10 et DL25, sont représentés dans la figure 15. Le taux de protéines chez les juvéniles traités ne présente pas des variations importantes et ceci pour les deux doses par rapport aux témoins. En effet, le taux de protéines atteint la valeur minimale de  $11,605 \pm 1,388 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu et  $10,614 \pm 2,053 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu après 48 heures de traitement avec la DL10 et 25 DL respectivement. La comparaison des valeurs moyennes du taux de protéines chez les individus témoins et traités à différents temps d'exposition indique que le l'HE de notre plante n'induit aucun effet significatif ( $p>0,05$ ) sur les protéines. De plus, L'analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA) indique des différences non significatives entre les doses ( $p= 0,338$ ), le temps ( $p= 0,067$ ) et l'interaction doses-temps ( $p= 0,418$ ).



**Figure 15:** Taux de protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) dans la tête des juvéniles de l'escargot *Cantareus aspersus* exposés à l'huile essentielle de *Pinus pinaster* (DL10 et DL25) ( $m \pm \delta$ ;  $n=3$ ). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p<0,05$ ).

---

# *Discussion*

---

### 4. Discussion

#### 4.1. Rendement des huiles essentielles du Pin maritime

La présente étude montre que le rendement des HEs du pin maritime obtenu par hydrodistillation est de l'ordre de 0,47%. Cela est conforme aux travaux de (Fekih *et al.*, 2014) et (Sadou *et al.*., 2015) qui déclarent que le rendement de cette plante dans le Nord-est et le Nord-Ouest Algérien est respectivement (0,42% et 0,52%). Cependant, Dob *et al.* (2005), Kelkar *et al.*, (2005) et Amirouche *et Rakem* (2017) indiquent que le rendement des HEs de la même plante récoltée dans la forêt zaafouria à Souk Ahras était respectivement de l'ordre de 0,81 %, 0,3% et 0,85%. La différence entre nos résultats et les résultats de ces chercheurs peut être justifiée par plusieurs facteurs tels que les paramètres environnementaux et climatiques (climat humide, climat subaride), la méthode d'extraction des HEs, la qualité de sol, le degré de maturité, les facteurs génétiques, type de culture et le mode de récolte de la plante plus le mode d'extraction utilisé (Mnayer, 2014).

#### 4.2. Etude toxicologique

La dose létale médiane (DL50) est la mesure la plus utilisée dans les tests de la toxicité aiguë d'une substance. Elle définit et établit la relation entre les effets observés et les doses administrées et aussi de déterminer le risque de l'utilisation des fortes doses (Brika, *et al.*, 2002). Une valeur inférieure de DL50 signifie relativement une plus grande toxicité, ce qui indique qu'une plus petite quantité de la substance est requise pour la mort de l'organisme d'essai (Girard, 2010). Dans cette étude, la toxicité aiguë (96 h) de l'extrait d'huile essentielle a été testée sur l'escargot terrestre *Cantareus aspersus* juvénile en utilisant le traitement par application topique (Salama *et al.*, 2005) et (Radwan *et Mohamed*, 2013). Les résultats de l'estimation des doses létaux montrent que le traitement par application topique, provoque des mortalités avec des taux variant avec les doses testées. La première réponse à l'effet du traitement est une sécrétion du mucus par les escargots (Bhavsar *et Patel*, 2011).

#### 4.3. Etude biochimique

L'acétylcholinestérase est une enzyme impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Son inhibition par de nombreux neurotoxiques entraîne l'accumulation l'acétylcholine, d'un médiateur chimique dans l'espace synaptique, 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). L'AChE constitue en effet la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés, carbamates), herbicides (triazines,

## Discussion

---

paraquat) et autres molécules neurotoxiques (Herbert *et al.*, 1995 ; Bocquéné *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Dellali *et al.*, 2001). Surtout utilisée en milieu marin (Galvani & Bocquéné, 1998). L'acétylcholinestérase est largement employée en toxicologie en tant que biomarqueur de neurotoxicité. La mesure de son inhibition constitue un marqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des organismes à différents contaminants et notamment certains produits phytosanitaires.

Dans notre étude L'HEs du pin maritime obtenu par hydrodistillation appliqué à deux doses (DL10 et DL25) chez les juvéniles de l'escargot terrestre *Cantareus aspersus* induit une inhibition significative de l'activité spécifique de l'AChE avec des taux plus élevés pour la DL25. De plus, l'inhibition de l'enzyme est en relation avec la dose et la durée d'exposition. 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) 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) est considérée comme biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques.

La fonction principale du catalase (CAT) est de protéger les systèmes biologiques contre les ROS (Roméo *et al.* 2000). La catalase est une enzyme cytosolique et antioxydante complémentaire de la GPx contre la peroxydation induite par le peroxyde d'hydrogène (Cossu *et al.*, 1997b). il catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (Digiulio *et al.*, 1989; Orbea *et al.*, 2002). La catalase est très utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif (Van der-Oost *et al.*, 2003 ; Napierska & Barsiene, 2009). Nos résultats montrent que l'huile essentielle de *P. pinaster* provoque une augmentation significative de l'activité spécifique du catalase dans la tête des juvéniles de *Cantareus aspersus* à partir de 24 heures d'exposition. L'induction de l'activité spécifique de la CAT dans cette étude exprime la réponse de l'organisme à l'augmentation de la génération de ROS avec l'huile essentielle de notre plante. En effet, L'induction de l'activité de la CAT constitue la première étape de défense contre les ROS (Pandey *et al.*, 2001) et un biomarqueur d'intoxication par les pesticides (van der-Oost *et al.*, 2003; Regoli *et al.*, 2003). Nos résultats sont similaires avec ceux de Gad *et al.* (2023). L'augmentation de la CAT a été aussi observée par boudebaz et bouzekouk (2018) chez la même espèce traitée avec le chlorpyrifos. Une autre étude réalisée par El-wakil et Radwan (1991) constate que l'activité de catalase a été augmentée après l'exposition d'*Eubania vermiculata* à plusieurs pesticides (Methomyl, Thiodicart et Métaldéhyde).

Les protéines sont de grosses molécules qui représentent plus de 50 % du poids sec des

## ***Discussion***

---

organismes vivants, et ce sont des composés organiques présents dans toutes les cellules, et elles sont toutes composées des mêmes acides aminés (Jean, 2002). Les protéines jouent un rôle très important dans la formation musculaire, et peuvent également impliquer de nombreux processus tels que la réponse immunitaire, la digestion enzymatique, la régénération tissulaire et assurer le transport de l'oxygène dans l'organisme (Ciriac, 2013). Dans des conditions de stress, les animaux ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier la substance toxique. Lorsque la quantité de glucides et de lipides est limitée, la source d'énergie alternative pour répondre à la demande accrue d'énergie est les protéines (Moussard, 1999). Nos résultats montrent une diminution significative du taux de protéines chez les escargots traités avec les deux doses de l'HE à partir de 24 heures de traitement. La diminution est plus marquée chez les escargots traités avec la dose la plus élevée. La diminution des protéines chez les escargots traités peut être due à l'utilisation directe des protéines par les cellules pour satisfaire les besoins énergétiques. D'autre part et selon El-Wakil & Radwan (1991), la diminution des réserves en protéines solubles peut être expliquée par le stress résultant de l'effet des polluants testés.

### 5. Conclusion et perspectives

L'escargot terrestre, *Cantareus aspersus* est connu pour causer des perturbations écologiques ainsi que des problèmes agricoles et de santé. Les huiles essentielles représentent une alternative écologique aux pesticides chimiques de synthèse. L'objectif de notre travail est d'étudier la toxicité létale et sublétales de l'huile essentielle des aiguilles *P. pinaster*, une plante très abondante en Algérie, sur ce gastéropode très abondant dans le Nord-est Algérien. De plus, la toxicité aigüe de cet extrait a été évaluée, dans des conditions contrôlées, sur la composition biochimique (acétylcholinestérase, catalase et protéines) de la tête des juvéniles.

Les essais toxicologiques montrent que le traitement par application topique des juvéniles *Cantareus aspersus* avec l'huile essentielle des aiguilles la plante *P. pinaster* provoque une mortalité progressive avec le temps. De plus, une liaison positive entre les mortalités et les doses testées a été enregistrée. Les concentrations létales CL10, CL25 déterminées à partir de la droite de régression exprimant la mortalité en fonction de logarithmes décimaux des doses de l'huile essentielle sont respectivement: 46,25 g/L, 100 g/L

Le dosage des paramètres biochimiques (acétylcholinestérase, catalase et protéines) indique que le traitement des juvéniles de *Cantareus aspersus* avec l'huile essentielle des aiguilles la plante *P. pinaster* pendant 96 heures provoque des perturbations dans la composition biochimique de la tête de cette espèce. En effet, une diminution significative de l'activité de l'AChE et du taux de protéines et augmentation de l'activité de la catalase ont été notées après 24 heures de traitement.

Les données, obtenues dans notre étude, ont montré que l'huile essentielle de notre plante présente des propriétés molluscicides contre les escargots *Cantareus aspersus*, ce qui a conduit à la conclusion que l'HE peut être utilisé comme molluscicide potentiel alternatif aux synthétiques.

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

- Evaluation de la Toxicité chronique des HEs du pin maritime contre *Cantareus aspersus* (juvéniles) pour déterminer leur effet sur la croissance et la reproduction.
- Utiliser les HEs d'autres plantes pour connaître leurs effets toxiques sur les espèces de gastéropodes (*Cantareus aspersus* et *Helix aperta*).
- Doser d'autres enzymes de détoxification.

---

# **Références bibliographiques**

---

## Références bibliographiques

---

### 6. Références bibliographiques

- Ait Mimoune1.N, Ait Mimoune D.2, Aziza .Y, 2013** Journal of Coastal Life Médecine  
Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pinus pinaster*.
- Aiton, W. (1789)** Hortus kewensis, or, a catalogue of the plants cultivated in the Royal Botanic Garden at Kew by William Aiton Gardener to his Amnesty, *vol.* 3. George Nicol, London, 547 pp. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.4504>
- Alissar, C., 2006.** Effets de la limitation croisée en phosphore et en lumière sur la croissance et la morphogénèse aérienne et racinaire de jeunes plants de pin maritime.
- Amitouche, T., & Rakem, B. 2017.** Effet insecticides de deux huiles essentielles à l'égard d'un insecte ravageur *Tribolium confusum* (Coleoptra: Tenebrionidae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Auclerc, A. 2019.** escargot. Ephytia. <http://ephytia.inra.fr>
- Bainy, A.C.D. (2000).** Biochemical responses in Peneids caused by contaminants. *Aquacul.* 191: 163-168.
- Baker G. H. and Hawke B. G., 1990.** Life History and Population Dynamics of *Theba pisana* (Mollusca: Helicidae) in a Cereal-Pasture Rotation. *Journal of Applied Ecology*, 27(1): 16-29.
- Barker G.M., 2001.** The Biology of terrestrial molluscs. Wallingford U.K, C.A.B. International.
- Barker, G. M. (2001).** The biology of terrestrial molluscs. CABI Publishing.
- Bhavsar S.S. et Patel N.G., 2011.** Molluscicidal activity of two pesticides against *Macrochlamysindica*. *Golden Resrach Thoughts*.
- Bocquené G., Galgani F. & Walker H., 1997.** Les cholinestérasés, biomarqueurs de neurotoxicité. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C. et Ramade F., (eds) Biomarqueurs en écotoxicologie – Aspects fondamentaux. Masson, Papis : 209- 204.
- Bonnet, koumeni, Vrillon.1990** l'escargot *H.aspersa* biologie élevage.E'ditions quae, France 119p.
- Bouchen K.2015** inventaire qualitatif de gastropode terrestres au niveau de trois station de la région Tizi -Ouzou (aitbouadou, bounouh, et M'douda). Mémoire de Master : protection des plantes cultivées.univ de Mouloud Mameri Tizi -Ouzou.46p.
- Boudebaz H. et Bouzekouk R. juillet 2018.** Effet toxicologique d'un insecticide organophosphoré à base de chlorpyrifos sur l'escargot *H. esparsa* .Mémoire: Toxicologie fondamentale et appliqué UNI.Med-SEddik Benyahia-Jijel p30-40.
- Brika, Loubna., Guesmi, Khedidja et Boussek, Khalida.2002.** Détermination de la DL50 d'un extrait brut de la plante *Ranunculus repen*.
- Chevallier H.1992** .l'élevage des escargots production et préparation du petit gris. Edit .du point vétérinaire maison Alfort, 144p.
- Chevallier H.1992** .l'élevage des escargots production et préparation du petit gris. Edit .du point vétérinaire maison Alfort, 144p.
- Ciriac, Charles. 2013.** Les protéines. s.l.: Anses.
- Cossu C., Doyotte A., Jacquin M. C., Babut M., Exinger A. & Vasseur P., 1997b.**Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione

## Références bibliographiques

---

- levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotox. Environ. Saf.*, 38:122-31.
- Daguzan J. 1982.** Contribution à l'élevage de l'escargot Petit gris: *Helix aspersa* Muller (Mollusque-gasteropode pulmoné stylmmatophore. I.N.R.A. Centre Hélicicole de la station du magnaud. Saint. D'amilly, B.P.52, F 17700 Surgères- pierre.
- Dellali M., Gnassia-Barelli M., Romeo M. & Aissa P., 2001.** The use of acetylcholinesterase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis* in biomonitoring of Bizerta lagoon. *Comp. Biochem. Pysiol. C.*, 130: 227-235.
- Deravel, J., Krier, F., Jacques, P., 2013.** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). (Fichier PDF) <http://www.pressesagro.be/base/text/v18n2/220.pdf> (consulté en avril 2016).
- 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.
- Dob.T., Chegoume, G. (2005).** Chemical composition of essential oil of pinus. Mill growing in Algeria. *Comptes rendus vol8, 1939-1945.*
- Douafer, L., & Soltani, N. (2014).** Inventory of land snails in some sites in the Northeast Algeria: Correlation with soil characteristics. *Advances in Environmental Biology*, 8(1), 236–243.
- 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.
- Dutta H.M. & Arends D.A., 2002.** 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 optomotor behavior in buluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different concentration of diazinon. *Arch. Intern. Physiol. Biochem. Biophys.* 100: 331-334.
- Elberling J., Skov P.S.** Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume. *Clinical and Experimental Allergy* 2007 ; 37(11) : 1676-80).
- El-Okda M.K., 1984.** Land mollusca infestation & chemical control in El-Ismaelia Governorate. *Agricu. Resear. Rev, Egypt.*, 62: 87-92.
- 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.
- Fekih N ,2014.** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en Algérie. Thèse de Doctorat Es-Sciences en Chimie. Univ Abou Bekr Belkaid Tlemcen., p (59-88)
- 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.
- Forget J., Pavillon J.F., Bellaeff B. & Bo quené G., 1999.** Joint action of pollutants combinations (pesticides and metals) on survival (LC50 value) and acetylcholinesterase activity of *Tiggiopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(5) : 912-918.

## Références bibliographiques

---

- Gad A.F., Gaber M.A. et Radwan M.A., 2006.** Bio-molluscicidal potential and biochemical mechanisms of clove oil and its main component eugenol against the land snail, *Theba pisana*. *Pestic Biochem Physiol.*, 192 :105407.
- Galgani F. & Bocquené G., 1998.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphorés et carbamates. In : *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement* (eds. Lagadic L., Caquet T., Ramade F.), pp. 111-134. Tech & Doc. Lavoisier, Paris.
- Gimbert F, De Vaufleury A, Douay F, Scheifler R, Coeurdassier Thakore, Y., 2006.** Le marché des pesticides pour une utilisation globale en agriculture. (Fichier PDF). <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/ind.2006.2.194>
- Girard J.E., 2010.** Principles of environmental chemistry. 2nd ed. Sudbury, MA: Jones and Barlett Publishers. 687p.
- Gomot & Gomot, 1995 :** Contribution à l'étude de la croissance d'escargots du genre *Hélix* : influence de facteurs de l'environnement. Nutrition et composition biochimique. Contrôle neuroendocrine. Dissertation N°398, Université de Besançon, France.
- Gomot .A, 1997.** Double labelling of neural grafts for identification of sites mediating growth in *Biol .snailsCell*140-133 :89.
- Gomot etVaufleuryA ,2001** The biology of terrestrial .Regulation of growth and reproduction .Barker GM .molluscsOxon.355-331 :CABI ◊
- Herbert 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.
- Hussein H.I, Kamel A., Abou-Zeid M., El-Serbe A.H. et Saleh M.A., 1994.** Uscharin, the most potentmolluscicidal compound tested against land snails. *Jour. Chem. Ecol.*, 20: 135-140.
- Identification et biologie de plus de 300 espèces. ED De la chaux Nietlé SA. Paris. 370p
- Ittah Y. & Zisman U., 1992.** Evaluation of volatile ally alcohol derivatives for control of snails on cut roses for export. *Pest. Scien.*, 35: 183-186.
- Jean, Louis cup. 2002.** Biochimie des protéines. s.l.: université de Montpellier.
- Jordaens K, De Wolf H, Vandecasteele B, Blust R, Backeljau T (2006)** Associations between shell strength, shell morphology and heavy metals in the land snail *Cepaea nemoralis* (Gastropoda, Helicidae). *Sci Total Environ* 363(1-3):285-293.
- Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfella, S., Sobhi, W., Barragan-Montero, V. 2015.** Some physicochemical characteristics of pinus (*Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinea* L., *Pinus pinaster* and *Pinus canariensis*) seeds from North Algeria, their lipid profiles and volatile contents. *Food Chemistry* 188, 184-192.
- Kassab A. & Daoud H., 1964.** Notes on the biology & control of land snail of economic importance in the U.A.R. *Jour. Agricu. Resear. Rev, Cairo*, 42: 66-98.
- Kelkar VM, Geils B.W, Becker DR, Overby ST, Neary DG, 2005.**How to recover more value from Small pine trees : essential oils.
- Kerney M.P. et Cameron R.A.D. 2009.** Guide des escargots et limaces d'Europe,
- Larba, R., & Soltani, N. (2013).** Diversity of the terrestrial gastropods in the Northeast Algeria: Spatial and temporal distribution. *European Journal of Experimental Biology*, 3(4), 209-215.

## Références bibliographiques

---

- M, Badot PM (2006)** Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ Int* 32(7) :866–875.
- Meynadier J.M., Raison-Peyron N. 1997** Allergie aux parfums. *Re. Fr. Allergol.*, 37 (5), 641-650.
- Miller, P. (1768)** *The gardeners dictionary*, 8th ed. Vol. 3. Printed for the autor, London. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.541>.
- Mnayer, Dima. 2014.** Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaire en vue d'une application comme agents antioxydant et antimicrobiens. Vaucluse, université d'Avignon et des pays de Vaucluse.
- Moussard, C. (1999).** La biochimie, Biochimie structurale et métabolique. Médecine, Pharmacie, Sciences. De Boek, Bruxelles. 294 p.
- Napierska D, Barsiene J. 2009.** Biomarkers responses in flounder *Platichthys flesus* from the polish coastel area of the blatic sea and application in biomonitoring. *Ecotox.*, 18(7) : 846-859.
- Orbea A., Ortiz-Zarragoitia M., Sole M., Porte C., & Cajaraville M.P., 2002.** Antioxidant enzymes and peroxisome proliferation in relation to contaminant body burdens of PAHs and PCBs in bivalve molluscs, crabs and fish from the Urdaibai and Plentzia estuaries (Bay of Biscay). *Aquat. Toxicol.*, 58: 75–98.
- Pandey S., Ahmed S., Parvez S., Bin-Hafeez B., Haque R., Raisud S., 2001.** Effect of endosulfan on antioxidants system of fresh water fish *Channa punctatus* bloch: Protection against lipide prooxidation in liver by copper pre-exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41:345-352.
- Prüss-üstün, A. and Corvalán, C. (2006)** Preventing Disease through Health Environments. Towards an Estimate of the Environnementale Burden of Disease. WHO, Geneva. Geneva : World Health Organization, 2006.
- Quezel et Barberons, 1992 in Rathgeber C ,2002.** Impact des changements climatiques et de l'augmentation du taux de CO2 atmosphérique sur la productivité des écosystèmes forestiers : exemple du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) en Provence calcaire (France). Thèse de Doctorat en biologie des populations et écologie. Univ de Droit, d'Economie et des Sciences d'Aix Marseille.
- Radwan M.A. et Mohamed M.S., 2013.** Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Hélix aspersa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, 95:91-97.
- Regnault-Roger, C. 2005.** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Londre-Paris-New-York : TEC & DOC, 1013 p.
- Regoli F, Winston GW, Gorbi S, Frenzilli G, Nigro M, Gorsì I, Focardi S. 2003.** Integrating enzymatic responses to chiminal exposure with total oxiradical absorbing capacity and DNA damage in the europeaneel *Anguilla*. *Environ. Toxicol. Chem.* 22:2120-2129.
- Roméo M., Bennani N., Gnassia-Barelli M., Lafaurie M. & Girard J.P., 2000.** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquat. Toxicol.*, 48: 185-194.
- Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadeif, Y. 2015.** Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. Du Nord-est Algérien. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 30, 33-39.

## Références bibliographiques

---

- 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.
- Selloum A., 2013.** Inventaire qualitatif et quantitatif des gastéropodes terrestres au niveau de deux stations de la wilaya de Tizi-Ouzou (Aneir Amellal et Drâa Ben Khedda). 37p Muséum de Lyon pour les Taxa de mollusques continentaux décrits d'Algérie en 1833 et 1839. Département du Rhône-Musée de confluences, Lyon, 13: 129-147.
- Thakore, Y., 2006.** Le marché des pesticides pour une utilisation globale en agriculture. (Fichier PDF). <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/ind.2006.2.194>.
- 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.
- Viard, B., A. Maul and J. Phin (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. J. Environ. Monit. 6(2) :103-107.
- Youcefi, D. 2012.** Extraction de substances actives du fruit de l'arbre du *Sapindus mukorossi* : caractérisation et applications
- Zaaffour, 2014,** thèse de doctorat spécialités biologie animale Étude écophysiologique de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa* Gastropoda : Stylomatophora ; Helicidae) dans la région Nord-Est d'Annaba – Algérie.
- Zaafour, M, Meddour, A et Boulakoude, M S. 2014.** Biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* (gastropoda; Helicidae) en zones agricole et urbaines polluées dans la région d'El-Hadjar. Annaba, Algérie.
- 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).
- Zaidi N., Louiza Douafer L. & Amen Hamdani A., 2021.** Diversity and abundance of terrestrial gastropods in Silda region (North-East Algeria): correlation with soil physicochemical factors. The Journal of Basic and Applied Zoology. 82:41.
- 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. 233-254. New York: Elsevier.