

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955-
SKIKDA



Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de
Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecotoxicologie animale

Intitulé

**Effet de deux Xénobiotiques (actara et thiophanate-méthyl)
sur la reproduction de l'escargot *Hélix aspersa*.**

Présentées par : **REBIAI MERIEM**
TELILANI MANAR
KHADICH NARDJES

Membre de jury

M ^{me} Benzazia. S.	MCB	Présidente	Université 20 Août 1955- Skikda
M ^{me} Nadji. S.	MCB	Promotrice	Université 20 Août 1955- Skikda
M ^m Bendjedid M.	MAA	Examinatrice	Université 20 Août 1955- Skikda

Année universitaire 2021/2022

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Dr. NADJI SAFIA pour la qualité de son encadrement exceptionnel, son aide et ses conseils précieux, ses orientations, sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant toute la préparation du travail.

Nous remercions les membres de jury d'avoir acceptés d'évaluer ce travail.

Enfin, nous tenons à remercier également tous ceux qui nous ont aidé de près et de loin pour l'élaboration de ce mémoire, spécialement Mr Boulaknafet et Mme Benzazia pour leurs aide pratique.

DEDICACE :

Lounage à Dieu qui m'a donnée la force pour fini ce travail.

Je dédie :

Ma mère la personne la plus idéale dans ma vie, pour leur soutien inconditionnel spécialement morale et émotionnelle.

A mon père j'espère que tu sois fière de moi là où tu es. Puisse ton âme repose en paix.

A mes chers frères : ALI, BRAHIM et MOHAMMED. Et ma chère sœur SOUMIA pour leurs soutiens moraux.

A mes chers trinômes MANAR et NARDJES et a mon amie LINA, pour leurs ententes, leurs sympathies and good times.

Et finalement,

MERCI pour toute les choses et les personnes qui ont une place spéciale dans mon cœur.

MERTEM

DEDICACE :

A Dieu le plus puissant qui m'a donnée la santé, la force et le courage d'être là aujourd'hui.

A mes parents NOURA et ABD RAZAK grâce à vos tendres ont donnés le goût d'apprendre, le support émotionnel et les encouragements et vos grands sacrifices, et votre assistance morale.

A mes belles sœurs RAYANE et RIMAH et HADIL et mon frère NOUR EDINE qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Sans oublié ma tante WAFIA pour son soutien, morale et ses conseils précieux tout au long de mes études.

A ma grande mère pour ses prières que dieu tu donnes bonne santé et longue vie.

A mes chère trinôme Meriem et Nardjes pour leurs ententes et leurs sympathies.

MANAR

Dédicace :

Je tiens d'abord à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire la patience d'aller jusqu'au bout de rêve

A Mes Très chers Parents NOUREDDINE & WARDIA pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.

A ma grand-mère AICHA pour ses prières que Dieu tu donnes bonne santé et longue vie.

A ma chère sœur et son mari : MOUNA et MOUSSA et les petites HADJER & SIDRA pour leurs encouragements permanents

A mon chère frère DJAMEL EDDINE et son épouse SARA et les petites ARIDJ & MARAM pour leurs soutiens moraux.

A ma chère sœur : CHAIMA tu es la sœur qui assure sone rôle comme il faut, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes études.

A mon chère frère MOUAD pour leur appui et leur encouragement.

A mes chères trinômes MERIEM et MANAR pour leurs ententes et leurs sympathies

A mes chères amies : LINA, IKRAM, KHADIDJA, SARRA, CHAIMA, AMINA.

NARDJES

Résumé :

L'objectif principal de cette étude était d'étudier les effets de deux pesticides le thiophanate-méthyl, thiaméthoxam et de leurs mixtures appliquées par voie orale, à des concentrations croissantes (100, 250 et 500µg/g) sur des adultes d'H. Aspersa. Les effets ont été testés sur la composition biochimiques en glucides, lipides et protéines de la gonade, cette étude a été compléter par une étude histopathologie de la gonade.

Les xénobiotiques testés et leurs mixtures entraînent :

Des perturbations significatives dans la composition biochimique de la gonade d'*Hélix aspersa* avec une réduction du taux des glucides et des lipides après traitement aux deux pesticides et de leurs mixtures ces perturbations sont plus marquées chez les traités au thiaméthoxam.

Nous avons vu aussi dans ce travail que la gonade est un organe très sensible, à travers des atteintes tissulaires, qui sont bien visible au niveau de la gonade des escargots exposés aux différentes concentrations de pesticides et des mixtures entrainant ainsi une diminution de la reproduction et une baisse de la fertilité chez *Hélix aspersa*.

Mots clés: *Hélix aspersa* , thiaméthoxam , thiophanate-méthyl , glucides, lipides, protéine.

Abstract:

The main objective of this work is to study the effects of two pesticides: thiophanate methyl, thiamethoxam and their mixture applied orally in increasing doses (100µg/g, 250µg/g, 500µg/g) on *Helix aspersa* adults. These effects have been tested on the biochemical composition in carbohydrate, lipids and proteins of the gonad.

This study has been completed by a histopathological study of the gonad. The tested xenobiotic and their mixture cause:

A significant perturbation in the biochemical composition of the gonad of *H. aspersa* with a reduction in the level of carbohydrates and lipids after the treatment with the two pesticides and their mixture, these perturbations are more marked in those treated with thiamethoxam. We have also seen in this work that the gonad is a very sensitive organ, through tissues damage that are clearly visible at the level of the gonad of the snails that are exposed to different concentrations of the pesticides and the mixtures cause thus, a diminution of the reproduction and a decrease in fertility of *Helix aspersa*.

Keywords: Xenobiotics, Thiamethoxam, Thiophanate methyl, snails, *Helix aspersa*, lipids, carbohydrates, proteins

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو دراسة تأثير اثنين من المبيدات الحشرية ثيوفانات - ميثيل، ثياميثوكسام ومزيجهما المطبقة عن طريق الفم، بتركيزات متزايدة (100، 250، 500 ميكروجرام /جم) على حلزونات الحدائق البالغة من النوع

H.aspersa

تم اختبار التأثيرات على التركيب الكيميائي الحيوي للكربوهيدرات والدهون وبروتينات الغدد التناسلية، وتم الانتهاء من هذه الدراسة من خلال دراسة نسيجية للغدد التناسلية.

تؤدي المواد الغريبة الحيوية المختبرة ومزيجها إلى:

اضطرابات كبيرة في التركيب الكيميائي الحيوي للغدد التناسلية لهذا النوع من الحلزون مع انخفاض في معدل الكربوهيدرات والدهون بعد العلاج بالمبيدات الحشرية ومزيجهما، هذه الاضطرابات أكثر وضوحا في الحلزونات التي عولجت بالثياميثوكسام.

كما ايضا رأينا في هذا العمل أن الغدد التناسلية هي عضو حساس للغاية، من خلال تلف الأنسجة، والذي يظهر بوضوح على مستوى الغدد التناسلية للحلزونات المعرضة لتركيزات مختلفة من المبيدات والخلائط، مما يتسبب انخفاض معدل التكاثر وانخفاض مستوى الخصوبة للحلزون هيليكس اسبرسا.

الكلمات الدالة: مركبات غريبة، ثياميثوكسام، ثيوفانات الميثيل، حلزونات، هيليكس اسبرسا، الليبيد، الكربوهيدرات، البروتين.

Liste des Tableaux

Tableau 1 : paramètres physico-chimiques du thiaméthoxam.....	12
Tableau 2 : paramètres physico-chimiques de TPM	15
Tableau 3 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.....	19
Tableau 4 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides	20
Tableau 5 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.....	20

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Morphologie de l'escargot.....	5
Figure 2: Anatomie de l'escargot.....	6
Figure3 :Modèle de cycle de croissance de l'escargot.....	8
Figure 4: accouplement des escargots	9
Figure 5: escargot pondant des œufs dans le sol.....	9
Figure 6: Insecticide AXAM (70% thiaméthoxam)	11
Figure 7: structure chimique du thiamethoxam	12
Figure 8: Fongicide VAPCOTOP (70% thiophanate' méthyl)	12
Figure 9: structure chimique de thiophanate 'méthyl.....	12
Figure 10: dissection et prélèvement des organes	12
Figure 11: les glandes génitales conservés dans le formol	12
Figure 12: Glandes génitales + TCA.....	12
Figure 13: Principales étapes d'extraction des métabolites proteines,glucides,lipides (Shibko et al., 1966)	12
Figure 14: Appareillages utilisés dans la réalisation des coupes histologiques.	12
Figure 15: Variation du taux de glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.....	23
Figure 16: Variation du taux de lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.....	24
Figure 17: Variation du taux de protéines totales ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.....	25
Figure 18: Variation du taux de glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux thiophanate méthyl administrées.....	26
Figure 19: Variation du taux de lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade d' <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement au TPM administrées par ingestion.....	27
Figure 20: Variation du taux de protéines totales ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux TPM administrées par ingestion.....	27
Figure 21: Variation du taux des glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiaméthoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.....	28

Figure 22: Variation du taux des lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiaméthoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.....	29
Figure 23: Variation du taux des protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de <i>Hélix aspersa</i> après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiaméthoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.....	30
Figure 24: Coupe histologique de la gonade d'escargot témoin.....	32
Figure 25: Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par les doses 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ (A), 250 $\mu\text{g}/\text{g}$ (B), 500 $\mu\text{g}/\text{g}$ (C) d'actara.....	32
Figure 26: Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par les doses 100 $\mu\text{g}/\text{g}$ (D), 250 $\mu\text{g}/\text{g}$ (E), 500 $\mu\text{g}/\text{g}$ (F) de thiophanate-méthyl.....	33
Figure 27: Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par M1 M3 et M3.....	34

Liste des abréviations :

BBC : Bleu Brillant de Commassie

GSH : Glutathion réduit

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

TCA : Acide trichloracétique

DL50 : dose létale pour 50% des organismes exposés par rapport au témoin

THM: Thiamethoxam

TPM: thiophanate 'methyl

Table des Matières :

Résumés

Résumé en français

Résumé en anglais

Résumé en arabe

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

1.Introduction	1
2. Matériel et Méthodes	
2.1. Matériel biologique.....	4
2.1.1. Morphologie d'<i>Hélix aspersa</i>.....	4
2.1.2. Anatomie de l'escargot.....	5
2.1.3. L'espèce en milieu naturel.....	6
2.1.4. Rythme d'activité.....	7
2.1.5. Estivation et hibernation.....	7
2.1.6. Croissance.....	7
2.1.7. Reproduction.....	8
2.1.8. Zone d'échantillonnage d'<i>Hélix aspersa</i>	10
2.2. Présentation des deux pesticides	10
2.2.1. Présentation de thiaméthoxame.....	10
2.2.2. Présentation de thiophanate'methyl.....	13
2.3. Conditions d'élevage.....	15
2.4. Mode de traitement.....	15
2.5. Préparation et sacrifice des animaux.....	16
2.6. Paramètres étudiés.....	17
2.6.1. Dosage des métabolites.....	17
2.6.1.1. Extraction des métabolites.....	17
2.6.1.2. Dosage des protéines.....	19
2.6.1.3. Dosage des glucides.....	19
2.6.1.4. Dosage des lipides.....	20
2.7. Etude histologique.....	21
2.7.1 Fixation des organes.....	21
2.7.2 Inclusion.....	21

2.7.3 Coupes.....	21
2.7.4 Coloration.....	21
2.7.5 Montage.....	21
2.8. Etude statistiques.....	22
3. Résultats	
3.1 Effet de l'actara sur les paramètres biochimiques de la gonade d'Hélix aspersa...	23
3.1.1 Effet sur le taux des glucides.....	23
3.1.2 Effets sur le taux des lipides.....	24
3.1.3 Effet sur le taux des protéines	24
3.2 Effet de thiophanate-méthyl sur les paramètres biochimiques de la gonade d'Hélix aspersa.....	25
3.2.1 Effet sur le taux des glucides.....	25
3.2.2 Effet sur le taux des lipides.....	26
3.2.3 Effets sur le taux des protéines.....	27
3.3 Effet de la mixture sur les paramètres biochimiques au niveau de la gonade.....	28
3.3.1 Effet sur le taux des glucides.....	28
3.3.2 Effets sur le taux des lipides.....	29
3.3.3 Effets sur le taux des protéines.....	30
3.4 Effet de thiamethoxame, thiophanate 'méthyl et leurs mixtures sur l'histologie de la gonade.....	30
3.4.1 Effet de thiamethoxame.....	30
3.4.2 Effet de thiophanate'méthyl.....	31
3.4.3 Effet de mixture.....	31
4. Discussion	
4.1 Effets de thiamethoxam, thiophanate 'méthyl et leurs mixtures sur les paramètres biochimiques.....	35
4.1.1 Effets sur le taux de glucide.....	35
4.1.2 Effets sur le taux de lipide.....	36
4.1.3 Effets sur le taux de protéine.....	37
4.2 Effet de thiamethoxame, thiophanate 'méthyl et leurs mixtures sur l'histologie de la gonade.....	38
5. Conclusion et perspectives	39

Références Bibliographiques.



INTRODUCTION

1. Introduction

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

L'utilisation des produits phytosanitaires a permis d'augmenter considérablement les rendements agricoles en réduisant les pertes dues aux ravageurs des cultures, mais cela n'a pas été sans contrepartie. Dans les années 70, des premiers travaux ont montré que les produits phytosanitaires peuvent aussi être transférés vers les eaux de surface et les eaux de profondeur (**Schiavon et Jacquin, 1973**). Ceci enclenche une prise de conscience des pouvoirs publics dans le monde. En 1972, les organochlorés sont interdits d'utilisation aux Etats-Unis et en Europe et une réglementation concernant spécifiquement les produits phytosanitaires est mise en place dans les années 80.

Les produits phytosanitaires ont un impact subtil sur l'environnement. Le devenir de ces molécules phytosanitaires est régi par certains mécanismes de transfert vers l'air (**Novotny et Chesters, 1981**), dérive (**Van der Werf, 1996**), interception avec les plantes, dispersion dans le sol, transferts vers les eaux de surface et souterraine (**Horton, 1933 et Cros-Cayot, 1996**), le ruissellement par saturation (**Dunne, 1970**), le ruissellement de sub surface ou hypodermique du sol (Leavesley *et al.*, 1996) et l'infiltration par les aquifères (**Collin, 2000**).

L'estimation des effets secondaires sur les écosystèmes d'une pollution liées aux pesticides s'avère très difficile, car il existe un millier de familles de pesticides, soit des dizaines de milliers de pesticides, Ils sont, en outre, utilisés à faibles doses et leurs comportements sont très divers. Leur impact dépend à la fois de leur mode d'action (certains sont beaucoup plus toxiques que d'autres), de leur persistance dans les sols et les eaux (certains se dégradent plus rapidement que d'autres) et de leurs sous-produits de dégradation les quels sont parfois plus toxiques et se dégradent moins vite que le composé initial (**Conlong et Mugoya, 1996**). La recherche scientifique qui fait état des répercussions des pesticides sur l'environnement indique que ceux-ci agissent sur la reproduction, la croissance, le développement neurologique, le comportement, ainsi que sur le fonctionnement des systèmes immunitaire et endocriniens (**Thomas *et al.*, 1988**).

Pour déterminer les effets des contaminants sur un compartiment, il est nécessaire de disposer de modèles biologiques représentatifs du milieu étudié. Au sens écologique général, un bio indicateur peut être défini comme un organisme ou un groupe d'organismes pertinents pour déterminer qualitativement et quantitativement l'état de l'environnement (**Fränzle, 2006**). Les critères qualifiant une espèce de bio indicateur sont parmi les suivants :

- ✓ Elle doit être suffisamment répandue et abondante sur le territoire concerné, si possible facilement détectable,
- ✓ Elle doit être le plus sédentaire possible pour refléter les conditions locales,
- ✓ Elle doit avoir une taille rendant possible l'étude de ses différents tissus et de leurs composantes (muscles, os, organes dans le cas d'un animal...).

Les organismes bio indicateurs d'effets doivent être sensibles à de faibles perturbations de l'environnement tandis que les organismes indicateurs de bioaccumulation doivent tolérer les contaminants à de fortes concentrations et présenter des propriétés bio accumulatrices. Les invertébrés du sol qui sont classiquement utilisés dans les études éco toxicologiques sur les pesticides et qui peuvent ainsi être considérés comme bio indicateurs, sont les enchytrés, les vers de terre, les collemboles et les isopodes (**Frampton et al., 2006 ; Lors et al., 2010**).

De nombreuses études ont démontré que les mollusques gastéropodes comme les escargots terrestres sont des bio indicateurs de pollution notamment des métaux et des HAPs (**Dallinger et al., 2001 ; Beeby et Richmond, 2002 ; de Vaufleury et al.,**). Ces consommateurs primaires occupent une place particulière dans l'écosystème à l'interface sol-air-végétation. De ce fait, ils intègrent plusieurs sources de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par voies digestive, respiratoire et/ou cutanée. Ils participent à la décomposition et à la fragmentation de la matière organique et sont impliqués dans de nombreuses chaînes alimentaires, y compris celle menant à l'homme (**Barker, 2004**).

Divers réponses biologiques peuvent être apportées par les escargots *Helix aspersa* quand ils sont exposés aux contaminants : physiologiques par l'inhibition de la croissance, perturbation de la reproduction et le taux de mortalité (**Notten et al., 2006**), ainsi que des perturbation/modifications biochimiques (**Ismert et al., 2013 ; Regoli et al., 2006**), et des réponses de génotoxicité et embryotoxicité ont été également indiqués chez *Helix aspersa* (**Druart et al., 2012; Baurand et al., 2014**).

INTRODUCTION

Les biomarqueurs, outils fondamentaux de bio surveillance, sont définis comme étant des variations (biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportemental) qui, dans un tissu, un liquide corporel ou un organisme entier, permettent de mettre en évidence l'exposition et/ou les effets d'un ou plusieurs contaminants (**Lagadic *et al.*, 1997; Galloway et Depledge, 2001; Vander Oost *et al.*, 2003**). Ce sont des outils complémentaires dans le domaine de l'évaluation de la qualité des écosystèmes (**MC Crthy et Shugar, 1990 ; Peakall, 1994**).

Ils permettent donc de diagnostiquer de façon précoce des dysfonctionnements physiologiques de l'individu, c'est-à-dire avant que des dommages tissulaires ou sur les principales fonctions biologiques ne soient détectables (**Van der Oost *et al.*, 2003**), c'est pourquoi les biomarqueurs sont considérés comme des outils utiles et sont de plus en plus intégrées dans les programmes de bio surveillance (**Lam et Gray, 2003 ; Viarengo *et al.*, 1995**).

Les biomarqueurs sont classés en trois catégories (**Lagadic *et al.*, 1997 ; Kammenga *et al.*, 2000**) qui sont « les bio marqueurs d'exposition », proches d'événements moléculaires précoces, traduisant l'exposition des organismes à des composés toxiques, et les « biomarqueurs d'effets », indicateurs d'atteintes de fonctions physiologiques des individus exposés et les « biomarqueurs de sensibilité », informent sur le rôle des variations génétiques dans les réponses observées.

Plusieurs biomarqueurs sont des paramètres biologiques constitutionnels tel que les métabolites qui sont soumis à des variations naturelles causées par des facteurs intrinsèques et extrinsèques comme la production d'énergie, le développement ontogénique, la reproduction et la croissance

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets d'un insecticide et d'un fongicide et leurs mixtures à large spectre d'utilisation et notamment dans la région Nord-Est algérienne, grâce à l'utilisation d'un modèle bio indicateur présent dans les écosystèmes terrestres, l'escargot *Hélix aspersa*. Les effets des deux xénobiotiques et de leurs mixtures ont été testés sur :

- ✓ La composition biochimique en protéines, glucides et lipides de gonade d'*hélix aspersa*.
- ✓ L'histologie de la gonade d'*hélix aspersa*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2 Matériel et Méthodes

2.1.1. Matériel biologique :

Les escargots sont des mollusques appartenant à la famille des gastéropodes, littéralement "ventre-pied", ces animaux sont apparus il y a 600 millions d'années. de tous les mollusques terrestres, l'espèce *Helix aspersa* pourrait bien être la plus connue.

Taxonomie et nomenclature d'*Helix aspersa* : (Turgeon, D.D, et al.,1988)

Kingdom: Animalia
Phylum: Mollusca
Class: Gastropoda (Cuvier, 1797)
Order: Stylommatophora
Family: Helicidae
Genus: *Helix* Linnaeus, 1758
Espèce : *Helix aspersa* Muller, 1774

2.1.2. Morphologie d'*Helix aspersa* :

L'escargot se compose d'une coquille et d'un corps (Pol, 2006)

La coquille : La coquille de l'escargot est un cylindre conique calcaire de forme spiralée. Elle est globoïde, a un enroulement dextre, son ouverture est évasée, descendante ; son bord externe est appelé : péristome. La forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont souvent une grande importance dans l'identification des espèces des gastéropodes. La coquille se compose d'une partie organique (une trame protéique externe : la conchyoline, représentant 1 à 2 % de la Coquille) et d'une partie minérale (carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite, Représentant 98 % de la coquille). La coquille représente 30 % du poids du gastropode. Le rôle principal de la coquille est d'assurer la protection du corps en cas de danger. (Fig1)

Le corps : En extension, l'escargot repose sur le sol par le pied : cette partie en avant de la Coquille permet le déplacement de l'escargot par reptation. Cette masse musculaire pédieuse est recouverte par le mucus (Cadart, 1975). La partie antérieure de cette masse viscérale est couronnée par la tête qui se compose de deux grands tentacules (oculaires), deux petits Tentacules (tactiles) (Bonnet et al., 1990), une bouche et un orifice génital. (Fig1)

Pour le reste de la Masse viscérale, contenue dans la coquille, on remarque la présence de :

Le pneumostome : orifice de la cavité palléale pour la respiration.

L'anus qui est situé en dessous du pneumostome.

L'orifice urinaire : invisible, car il est trop petit.

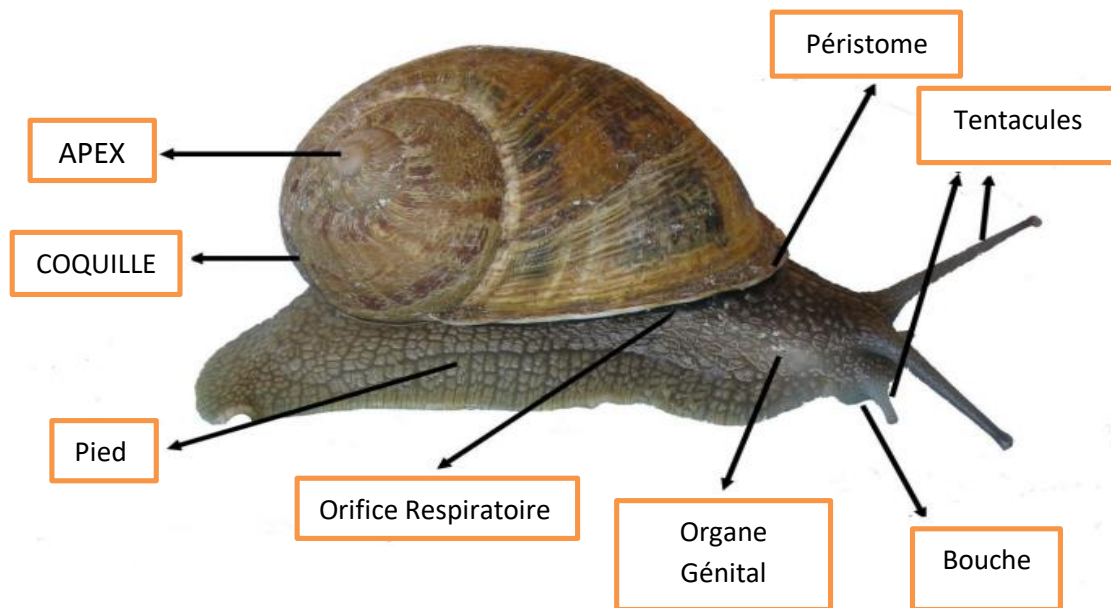


Figure 1 :Morphologie de l'escargot

2.1.2 . Anatomie de l'escargot :

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, Une tête et une 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 sécrétée par un épais pli de peau, Appelé le manteau (**Gireuad, 2008**). Elle 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.

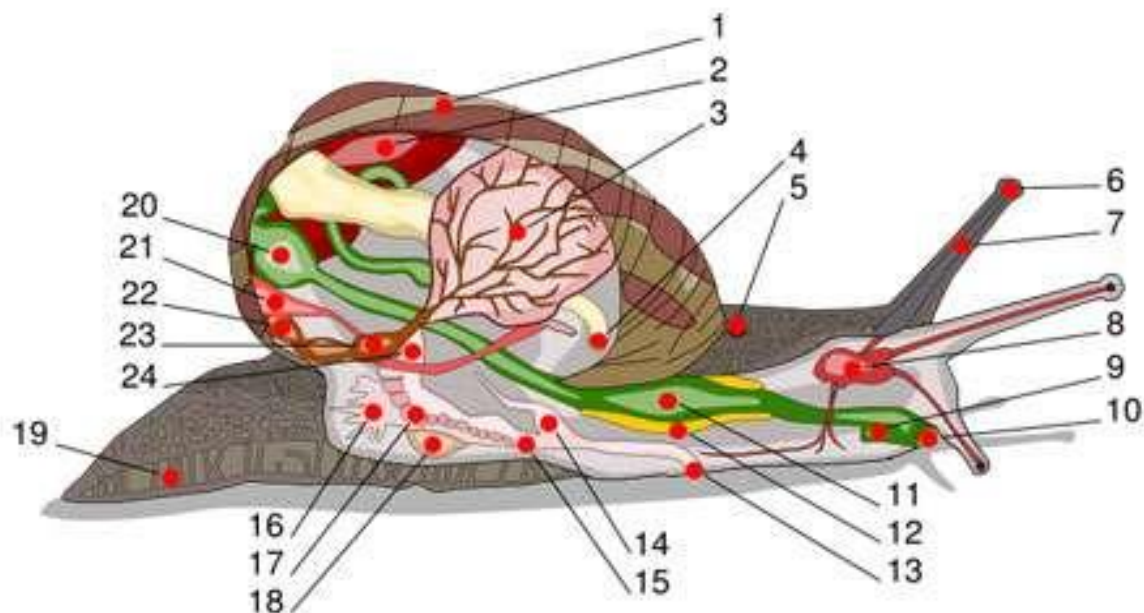


Figure 2 : Anatomie de l'escargot

(www.nature-scientia.com)

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

2.1.3. L'espèce en milieu naturel :

L'escargot est hermaphrodite et à la belle saison, après la reproduction, chaque individu s'enfonce dans le sol pour pondre ses œufs. S'ils ne sont pas mangés par leurs nombreux prédateurs, ces derniers deviennent de petits escargots qui remontent à l'air libre. Ils peuvent vivre entre 5 et 10 ans et la coquille grandit avec eux : pas besoin de déménager. Les escargots sont des animaux actifs surtout la nuit ou les jours de pluie. Ils agissent souvent à l'abri des regards et c'est en général au petit matin que l'on observe les résultats de leurs activités (trous dans les feuilles et trainées de bave qu'ils sécrètent) pendant que les coupables se protègent de la sécheresse dans la haie, la friche ou encore dans la terre ou sous une planche de bois, bien à l'abri dans leur coquille (**J.P. Thorez, 2008**)

2.1.4. Rythme d'activité :

Les escargots hibernent pendant l'hiver jusqu'au printemps. Ils s'installent à l'abri des intempéries, sous une pierre, une tuile, dans le tas de compost ou encore sous les herbes hautes de la friche... Avant d'entrer en vie ralentie, l'escargot se réfugie dans sa coquille et cette fois-ci, la ferme hermétiquement (**J.P. Thorez, 2008**)

2.1.5. Estivation et hibernation :

Estivation : L'estivation est généralement définie comme un type de dormance, qui est une stratégie de survie utilisée pour maintenir le manque de nourriture et d'autres conditions extrêmes (**Pinder *et al.*, 1992 ; Abe, 1995 ; Storey, 2002**). Les animaux qui estivent deviennent inactifs et arrêtent de s'alimenter en réponse aux températures chaudes. Leur comportement pendant cette dormance est assez différent selon les espèces. Leur point commun est de fermer leur bouche de coquille avec une membrane de mucus séché, après s'être installés à leur lieu de dormance.

Hibernation : L'autre extrême est le froid hivernal, que la plupart des escargots ne supportent pas facilement. De nombreuses autres espèces d'escargots peuvent hiberner et atteindre plusieurs années d'âge. Ils ferment leur ouverture de coque avec un couvercle et à l'intérieur de la coque ils se retirent, les coussins d'air résultants les isolant davantage du froid. Pendant l'hibernation, l'activité d'un escargot est réduite à la nécessité la plus vitale, même le rythme cardiaque d'un escargot est réduit au minimum. (**Stephenson, R. ; Lewis V, 2011**)

2.1.6 Croissance :

Les escargots, comme les autres mollusques, se développent généralement après le stade larvaire. L'ovule fécondé par des clivages cellulaires continus forme un embryon, qui se développe progressivement en larve. Le développement se termine par une métamorphose, au cours de laquelle la larve change de forme et se développe en un escargot juvénile. On peut dire que la croissance des escargots comporte 4 étapes :

Matériels et Méthodes

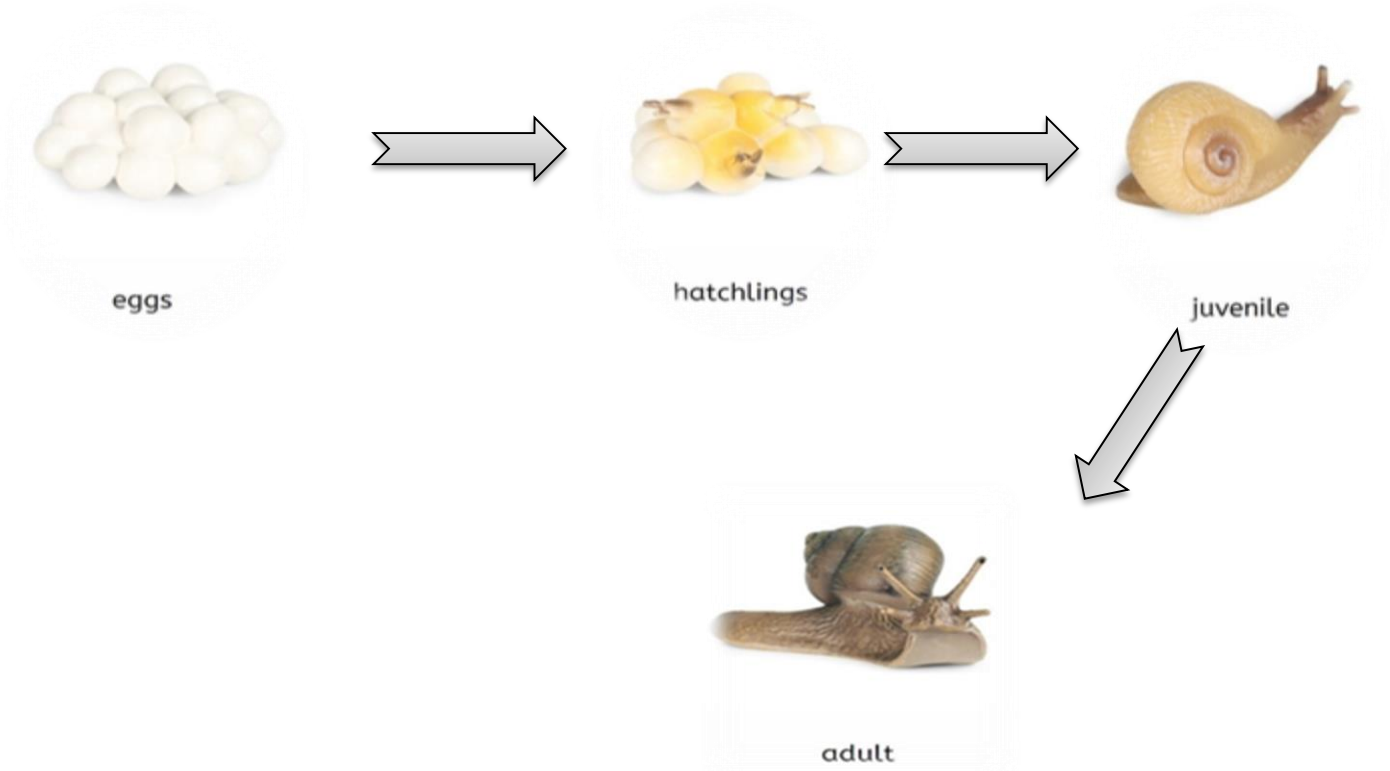


Figure 3 :Modèle de cycle de croissance de l'escargot

Deux à quatre semaines après l'accouplement, des œufs sphériques d'un blanc nacré sont pondus dans un sol humide. La ponte peut se poursuivre de la fin de la saison à la fin de l'hiver. Cependant, les œufs ne peuvent pas survivre à un été chaud et sec ou rester en dormance dans le sol. Après la ponte, les œufs éclosent en deux à quatre semaines, mais les jeunes escargots deviennent généralement sexuellement matures après un an. (Svetlana Micic, 2021)

2.1.7. Reproduction :

Au printemps, lorsque les escargots sont sortis de l'hibernation depuis un certain temps, il est temps de s'accoupler. Selon la météo et d'autres conditions environnementales, le temps d'accouplement peut durer jusqu'à la fin juin



Figure 4 : accouplement des escargots

(Buron-mousseau, 2014).

Un escargot mature s'accouple de 2 à 6 fois en une seule saison et l'accouplement nécessite 4 à 12 heures. Les deux membres du couple agissent simultanément en tant qu'homme et femme. Chacun dépose en moyenne 100 à 300 œufs, de 3 mm environ de taille, selon les espèces **(Kerney et Cameron,1979)**



Figure 5 : escargot pondant des œufs dans le sol

(Robert Pickett, 20 June 2008 United Kingdom)

Les escargots, sont hermaphrodites. Ils ont des organes mâles et femelles dans un appareil génital collectif. **(Nordsie ck, R,2009)**

Selon **Aupinel et al., 1990** son appareil génital comporte :

- Un ovotestis, une gonade appelée glande génitale, où se forment les ovules et les spermatozoïdes situés à l'extrémité postérieure de l'hépatopancréas.
- Un canal hermaphrodite pour évacuer les gamètes.
- Une glande de l'albumine pour synthétiser les réserves vétilines de l'œuf.
- Un ovulo-spermiducte qui sert de moyen de transport des spermatozoïdes et des ovules.

2.1.8. Zone d'échantillonnage d'*Hélix aspersa* :

Les escargots qui ont fait l'objet de cette étude, très répandus dans les jardins, les parcs, les bois, les haies, les dunes et caractérisés par une activité essentiellement nocturne, sont ramassés en février 2022 dans la région de Hamadi Krouma, soit à environ 05 km au Nord-Est de la ville de Skikda. Ils sont caractérisés par une petite taille, mesurent de 25 à 35 mm sur 25 à 40 mm pour un poids de 7 à 15 g. Comme les autres escargots terrestres, le petit-gris a des tentacules oculaires avec les yeux à leur extrémité et la coquille calcaire est de couleur brun clair, mais avec des bandes plus sombres longitudinales. Elle est bien ronde, avec 4,5 à 5 tours de spires, alors que l'ouverture (péristome) est large, avec une bordure blanche (Beaumont et cassier, 1998).

2.2. Présentation des deux xénobiotiques :

Produit phytosanitaires encore appelés produits phytopharmaceutiques désigne une substance ou association de substances chimiques naturelles ou de synthèse utilisées en agriculture destinée à repousser, détruire ou combattre les différentes sortes de nuisibles maladies, ravageurs et mauvaises herbes (El Bakouri, 2006; Boland, 2004) ou les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages durant la production des produits agricoles (Ait Hamlet, 2013; Inserm, 2013; OMS, 1991; Dorothée, 2011; Calvet, 2005). C'est un terme générique qui rassemble les insecticides, les fongicides, les herbicides et les parasitocides conçus pour avoir une action biocide.

2.2.1. Présentation de thiaméthoxame :

C'est un insecticide de synthèse organique représentant de la seconde génération des familles chimique des néonicotinoïdes appartient à la sous classe des Thianicotinyls (Maienfisch *et al.*,1999) à action de contact et d'ingestion. Doté de propriétés systémiques, il est absorbé rapidement dans la plante et transporté via le xylème. (Tomlin, 2006)

Le Thiaméthoxame est homologué en Algérie sous la marque Actara 25 WG qui est rapidement absorbé par les plantes et transporté à toutes ses parties, où il agit comme un moyen de dissuasion à l'alimentation des insectes.



Figure 6 :Insecticide AXAM (70% thiaméthoxam)

La toxicité de THM :

Toxicité aiguë

DL₅₀ orale (mg/kg) (rat) :1563

DL₅₀ cutanée (mg/kg) (rat) : > 2000

CL₅₀ inhalation (mg/L) (rat): > 3.72

Le thiaméthoxame est légèrement toxique par la voie orale et par inhalation et il possède une faible toxicité par la voie cutanée. Il est peu ou pas irritant pour la peau et les yeux et il ne cause pas de sensibilisation cutanée. (Arla, 2007)

Description des effets toxiques sur les espèces non ciblées : Le thiaméthoxame est pratiquement non toxique chez les organismes aquatiques, Il est légèrement toxique chez les oiseaux exposés par voie orale. Il est faiblement toxique chez les oiseaux exposés par voie alimentaire.

Description du devenir et du comportement dans l'environnement : Le thiaméthoxame est faiblement persistant à persistant dans les sols en condition aérobie (demi-vie de 7 à 3 727

Matériels et Méthodes

jours). Il est faiblement persistant dans l'eau en condition aérobie (demi-vie de 7,2 à 24 jours) et faiblement persistant à modérément persistant en condition anaérobie (demi-vie de 12,6 à 39,8 jours). (Arla, 2017)

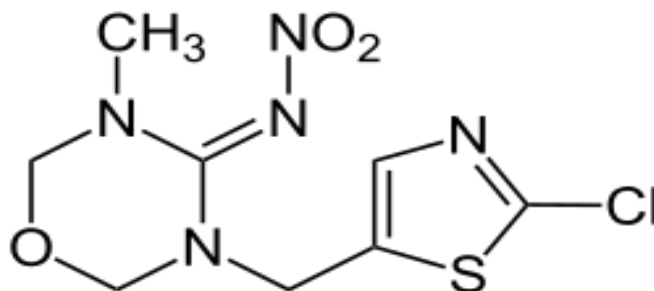


Figure 7 : structure chimique du thiamethoxam

(A.R.L.A.S.C., 2007).

Les paramètres physico-chimiques de THM sont présentés dans le tableau (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada, 2007)

Tableau 1 : paramètres physico-chimiques de THM

Formule brute	C₈H₁₀ClN₅O₃S
Famille chimique	Néonicotinoïdes
Point de fusion (°C)	139.1
État physique et couleur	Poudre de couleur blanc cassé (Cristalline Powder)
Odeur	De moisi
Solubilité (mg/L)	Dans l'eau, 4.1X10 ⁺³ à 25 °C
La pression de vapeur (mm Hg)	6.6X10 ⁻⁶ mPa /4.95X10 ⁻¹¹ at 25 °C

2.2.2. Présentation de thiophanate'methyl :

Le thiophanate-méthyl est un fongicide systémique à large spectre à action protectrice et curative. Il est efficace contre un large éventail de maladies fongiques dans un certain nombre de cultures. Cependant le TPM est homologué en Algérie sous la marque VAPCOTOP qui est utilisé en pulvérisation foliaire à la base du plant pour les semis et repiquage.

Absorbé par les feuilles et les racines, il diffuse dans la plante par le courant de sève brute. Son spectre d'activité s'étend à la fois aux maladies vasculaires et radiculaires et à de nombreuses maladies des organes aériens. Il agit par destruction du mycélium et stérilisation des formes de fructification d'où également une certaine action curative. Après application, il se transforme progressivement en carbendazime. (ACTA , 2021.)



Figure 8 :Fongicide VAPCOTOP (70% thiophanate' méthyl)

Toxicité de TPM :

Toxicité aiguë

DL₅₀ orale (mg/kg) (rat) : > 5000

DL₅₀ cutanée (mg/kg) (rat) : >2000

CL₅₀ inhalation (mg/L) (rat): >1.7

Le thiophanate-méthyl est faiblement toxique par les voies d'exposition orale, cutanée et respiratoire. Il est peu ou pas irritant pour les yeux et la peau mais c'est un sensibilisant cutané. (ES EPA, 2004)

Matériels et Méthodes

Description des effets toxiques sur les espèces non ciblées : Le thiophanate-méthyle est modérément toxique chez les poissons d'eau douce (CL50 - 96 h 8300 µg/L), les invertébrés aquatiques d'eau douce (CL50 - 48 h 5400 µg/L) et les plantes. Il est toxique pour les algues vertes. Il présente un faible risque de bioaccumulation dans les tissus des organismes aquatiques.

Description du devenir et du comportement dans l'environnement : Le thiophanate-méthyle est faiblement persistant dans le sol en condition aérobie (demi-vie inférieure à 1 jour). Il est faiblement persistant dans l'eau en condition aérobie (demi-vie de 3 jours) et en condition anaérobie (demi-vie inférieure à 1 jour). Il se dégrade rapidement en carbendazime. (Arla, 2011)

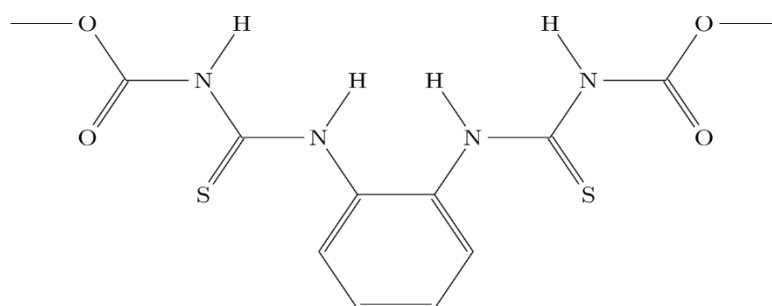


Figure 9 : structure chimique de thiophanate 'méthyl

Les paramètres physico-chimiques de TPM sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2: paramètres physico-chimiques de TPM

Famille chimique	Thiophanates
Formule brute	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂
Point de fusion (°C)	172
Etat physique et couleur	Poudre mouillable (WP) cristaux incolores ou poudre brun clair
Odeur	Légère odeur de soufre
Solubilité (mg/mL)	Moins que 1 à 20°C
La pression de vapeur (mm Hg)	Moins que 0.0000001 à 20°C

2.3. Conditions d'élevage :

Les escargots adultes d'*Hélix Aspersa* sont collectés de façon aléatoire, sur le site de Hamadi Krouma anciennement Damrémont. Ensuite ils sont transférés à l'animalerie du Université 20 Août 1955 Skikda, placés dans des boîtes en plastique couvertes de filet perforé bien aéré (25 x 20 cm) avec 08 individus par boîte. Ils subissent une acclimatation pendant 20 jours avant de commencer les expériences et ils ont été nourris par la farine de blé

2.4. Mode de traitement :

Le traitement des animaux a été effectué par addition de 3 concentrations croissantes des pesticides 100µg/g, 250µg/g, 500µg/g de thiamethoxam, de thiophanate-méthyl et de leurs mixtures dans l'alimentation (farine de blé) et un milieu témoin. Les escargots sont répartis en 10 lots de 8 escargots pour chaque traitement. On a retenu un traitement de 42 jours. Dans tous les cas, la nourriture apportée est renouvelée, qu'elle soit contaminée ou non, tous les trois jours au moment du nettoyage des boites d'élevage. Ce nettoyage est fait, autant que possible, à heure fixe. Il comprend un lavage des parois des boites à l'eau distillée, un changement de l'éponge absorbante au fond des boites ou un ramassage des fèces des escargots.

2.5. Préparation et sacrifice des animaux :

Après traitement, les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin que le contenu de leur digestion soit rejeté entièrement pour éviter d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités réellement accumulées dans les tissus. Les boîtes où ils jeunent sont lavées à l'eau artificielle pour éviter la ré-ingestion des fèces. Dans une cuvette à dissection. Placer un escargot et découper la coquille avec les ciseaux en suivant le bord d'enroulement de la coquille.



Figure 10 : dissection et prélèvement des organes

Découper délicatement les glandes génitales à raison de 4 répétitions (4 témoins et 4 traités par chaque polluant et les mixtures) avec un ciseau.

Les glandes génitales sont prélevées séparés en deux parties la première partie est conservé dans le formol à 10%, sert pour faire des coupes histologiques, la deuxième partie est pesés dans une balance (Sartorius H110) de précision de 0,1 mg et conservé dans des tubes Eppendorfs contenant l'acide trichloroacétique (TCA 20%) à +4°C jusqu'aux dosages biochimiques.



Figure 11: la gonade génitales conservés dans le formol



Figure 12: Gonade + TCA

2.6. Paramètres étudiés

2.6.1. Dosage des métabolites

2.6.1.1. Extraction des métabolites :

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) des glandes génitales a été réalisée selon le procédé de **Shibko *et al.*, (1966)**. Les échantillons sont broyés puis centrifugés à 5000 tours/min pendant 10 min. Le surnageant I servira au dosage des glucides et le culot I est additionné de 1 ml d'un mélange Méthanol/chloroforme (1/1, v/v). Une deuxième centrifugation (5000 tours/min, pendant 10 min) permet de récupérer le surnageant II qui servira au dosage des lipides. Le culot II, est ensuite repris dans 1ml de NaOH (0,1N), afin de solubiliser les protéines totales, après 1 nuit à +4°C. Les différentes étapes sont résumées dans la figure 10

Matériels et Méthodes

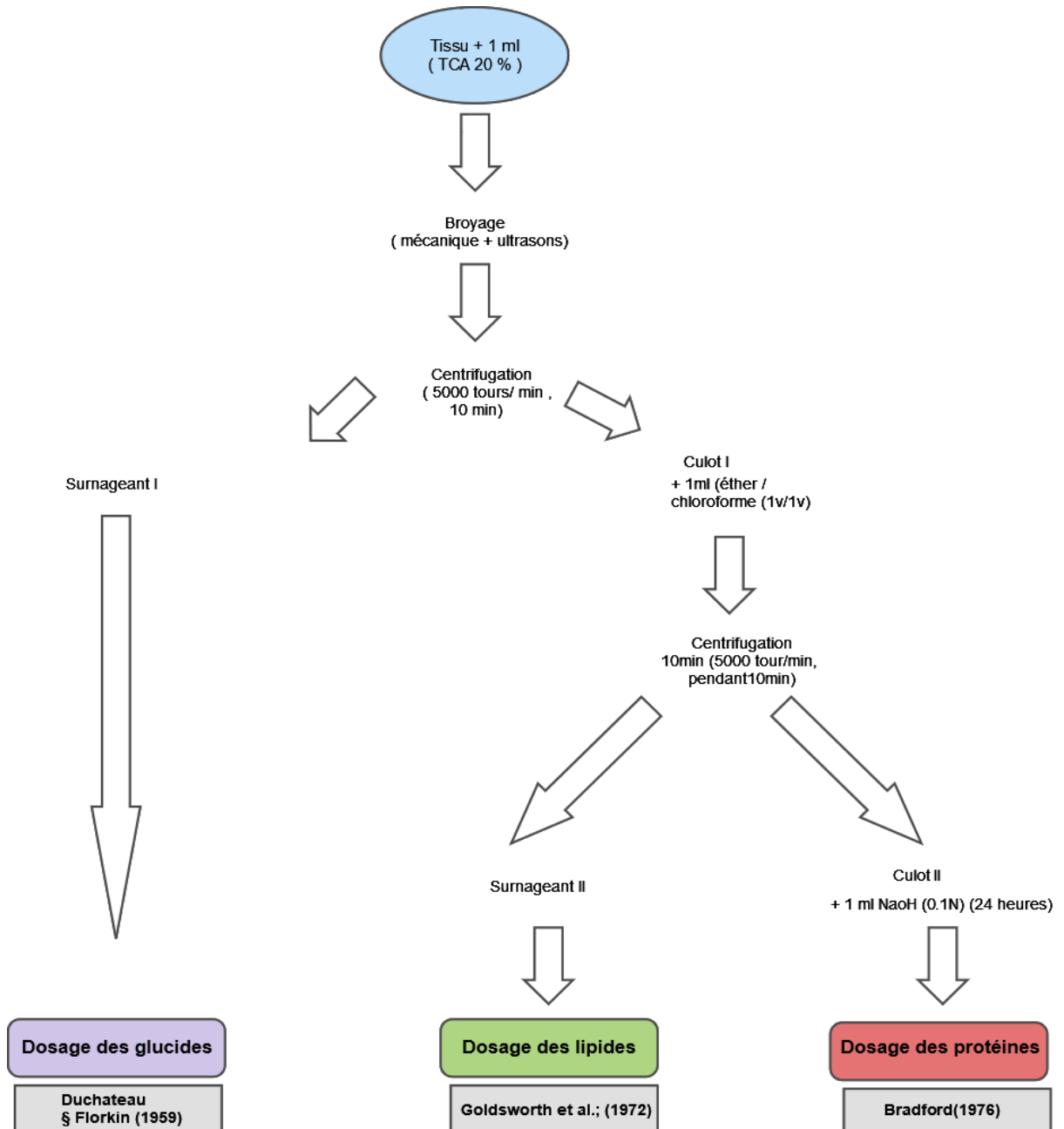


Figure 13: Principales étapes d'extraction des métabolites protéines, glucides, lipides (Shibko *et al.*, 1966)

2.6.1.2. Dosage des protéines :

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de **Bradford, (1976)**. Dans une fraction aliquote de 100 µl on ajoute 4 ml de réactif au bleu brillant de commassie (BBC ; G 250, Merck). La solution de BBC se prépare comme suit, dissoudre 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol 95°. On y ajoute ensuite 100 ml d'acide ortho phosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée. La durée de conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à +4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue à 595 nm contre un blanc de gamme

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant (1 mg/ ml). Selon les indications ci-dessous (tableau 3).

Tableau 3: Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines.

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

2.6.1.3. Dosage des glucides :

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau & Florkin (1959)**. Elle consiste à additionner 100 µl d'échantillon et 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80°C au bain marie pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présents dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 620 nm contre un blanc de gamme. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (0,1 mg/ml). Selon les indications ci-dessous (tableau 4)

Tableau 4 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	100	200	300	400	500
Eau distillée (µl)	500	400	300	200	100	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

2.6.1.4. Dosage des lipides :

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al., (1972)** utilisant le réactif sulfophosphanillique (0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide ortho phosphorique 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 sont pesés dans un tube eppendorf, cette quantité est ensuite reprise dans 10 ml du mélange Ether/chloroforme (1/1 v/v) (tableau 5)

Tableau 5 : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides.

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

Après évaporation des prises aliquotes de 100µl de surnageant II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100° C pendant 10 minutes.

Après refroidissement pendant 5 minutes, on prend 200 µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulphophosphanillique et on agite rigoureusement. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. L'absorbance est lue dans un spectrophotomètre à 530 nm contre un blanc de gamme à une longueur d'onde de 530nm

2.7. Etude histologique

2.7.1. Fixation des organes :

A pour but la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Le liquide fixateur le plus utilisé est le formol.

La durée de la fixation variée selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment biopsique)

2.7.2. Inclusion :

A pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

2.7.3. Coupes :

Du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

2.7.4. Colorations :

Réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée. Les colorations les plus fréquemment utilisées associent deux ou trois colorants différents : l'Hématoxyline-Eosine (H.E.) associe l'hématéine qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose.

2.7.5. Montage :

Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une « préparation microscopique » (simplement appelée « lame » dans le langage courant) prête à être observée au microscope.

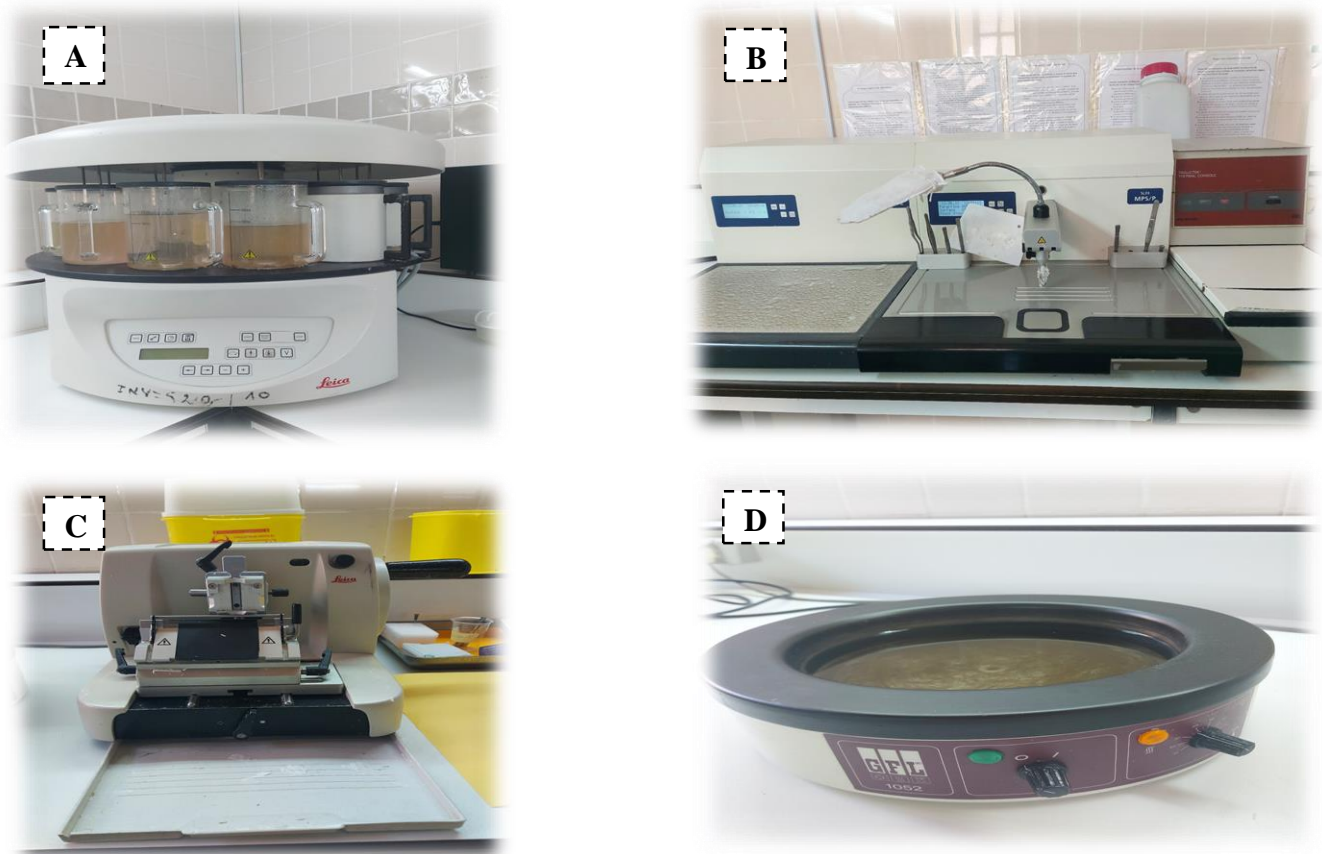


Figure 14: Appareillages utilisés dans la réalisation des coupes histologiques.

A) Automate. B) Console d'inclusion. C) Microtome. D) bain marie

2.8 Analyse statistique :

Les moyennes et les écarts type ($m \pm s$), avec un niveau significatif de $p \leq 0,05$, sont calculés pour chaque groupe d'expérience. Le test 't' de Student permis de mettre en évidence les différences entre les groupes étudiés (témoins et traités) au cours des tests effectués sur les paramètres biochimiques.

RÉSULTATS

3. Résultats :

Les effets d'insecticide commercial (actara) à base de thiaméthoxam, le fongicide (vapkotop) à base de thiophanate-méthyl et leur mixture sur la composition biochimique et l'histologie de la gonade d'*Helix aspersa* ont été estimés après 6 semaines de traitement par des concentrations croissantes 100, 250 et 500µg/g.

3.1. Effet de l'actara sur les paramètres biochimiques de la gonade d'*Helix aspersa*

3.1.1.Effet sur le taux des glucides :

Les résultats bruts montrent que les concentrations des glucides dans la gonade des escargots traités sont diminués, l'analyse statistique confirme cette diminution qui est hautement significative pour les deux lots traités à 100 et 250 µg/g et très hautement significative à 500 µg/g par rapport au témoin (Fig15).

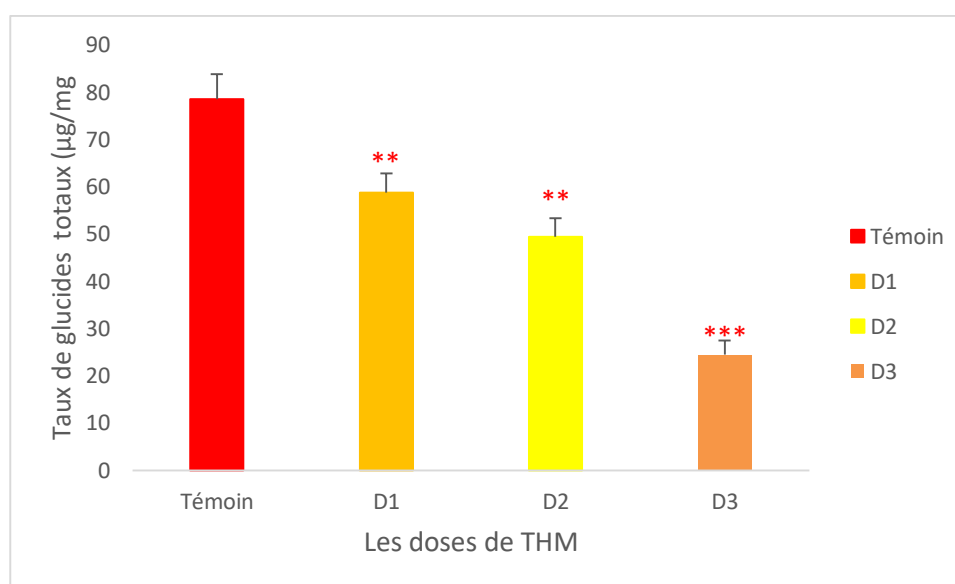


Figure 15 : Variation du taux de glucides totaux (µg/mg de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.

**différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.1.2. Effets sur le taux des lipides :

Le traitement à l'actara diminue le contenu en lipides totaux au niveau de la gonade des escargots *Hélix aspersa* de façon hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les traités par la dose 1 et 2 et de manière très hautement significative chez les traités par la dose 3 par rapport au témoin.

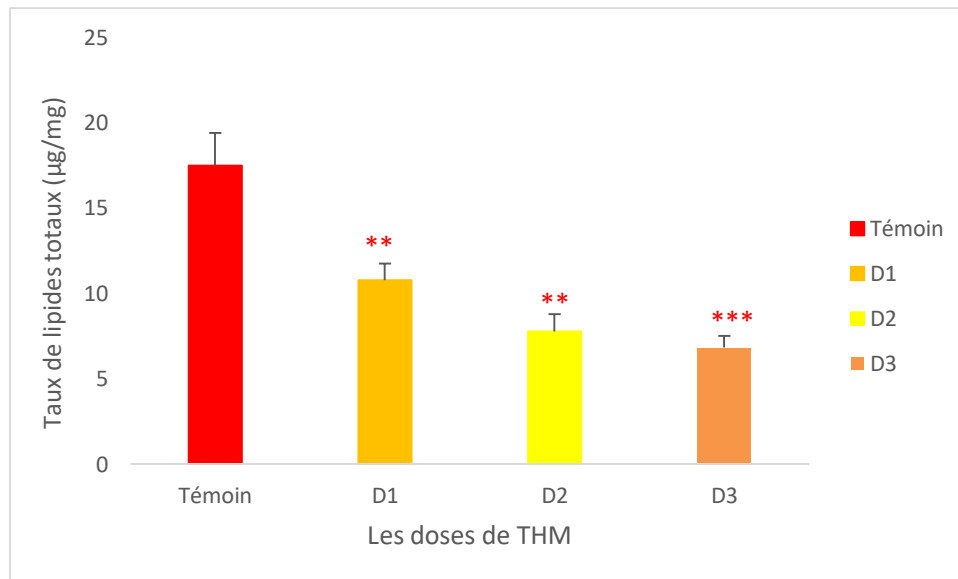


Figure 16 : Variation du taux de lipides totaux (µg/mg de tissu) dans la gonade de *Hélix aspersa* après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.

**différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.1.3. Effet sur le taux des protéines :

Selon les moyennes des résultats, on observe une diminution de taux des protéines gonadiques d'une manière dose-dépendante. Statistiquement cette diminution est non significative pour les trois lots traités.

Résultats

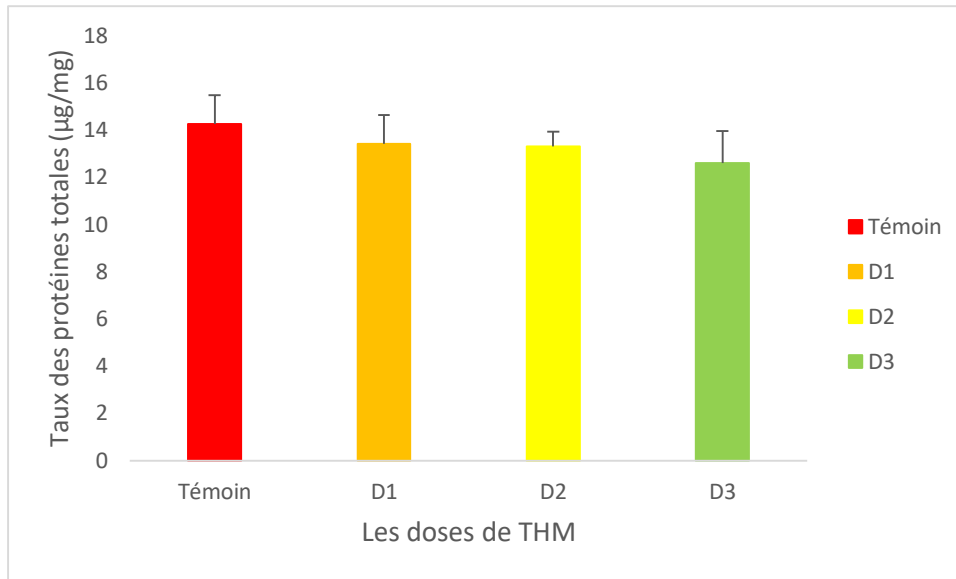


Figure 17 : Variation du taux de protéines totales ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux thiamethoxame administrées par ingestion.

**différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.2. Effet de thiophanate-méthyl sur les paramètres biochimiques de la gonade d'*Helix aspersa*

3.2.1. Effet sur le taux des glucides :

Le contenu en glucide diminue de façon hautement significative ($p \leq 0.01$) à la dose 1 et 2, cependant cette diminution est très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez les traités par la dose 3 par rapport aux témoins.

Résultats

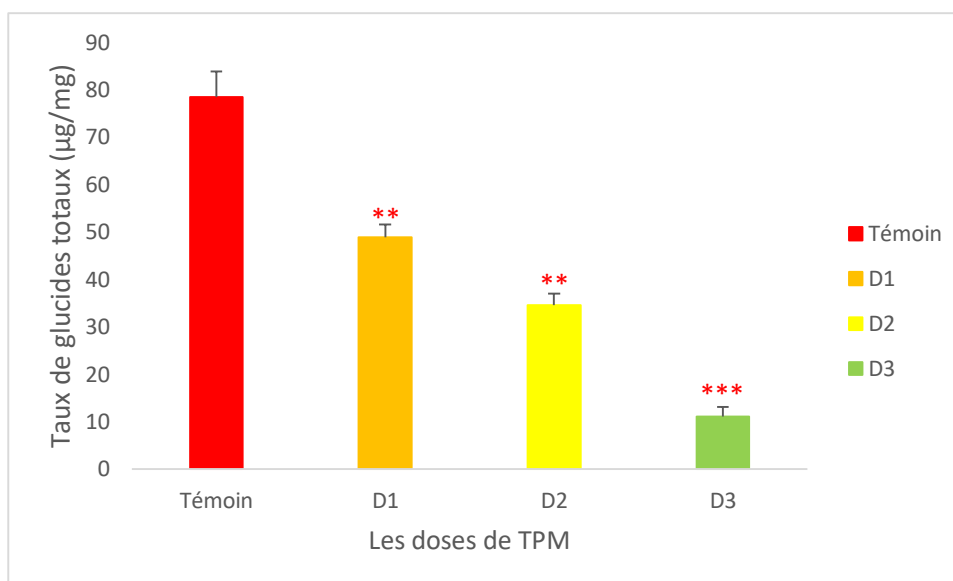


Figure 18 : Variation du taux de glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux thiophanate méthyl administrées par ingestion. **différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.2.2. Effet sur le taux des lipides :

Les résultats représentées dans la figure (19) montrent une diminution non significative ($p \geq 0.05$) chez les traités par les dose 1, et une diminution significative ($p \leq 0.05$) chez les traités par la dose 2, et une diminution hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les traités par la dose 3 comparativement au témoin.

Thiophanate-méthyl réduit de façon non significative ($p > 0.05$) le contenu en lipides à la dose 1 (Fig19). Cependant, ces teneurs sont significativement ($p \leq 0.05$) diminuées pour la dose 2 et hautement significative ($p \leq 0.01$) chez les traités par la dose 3 comparativement au témoin.

Résultats

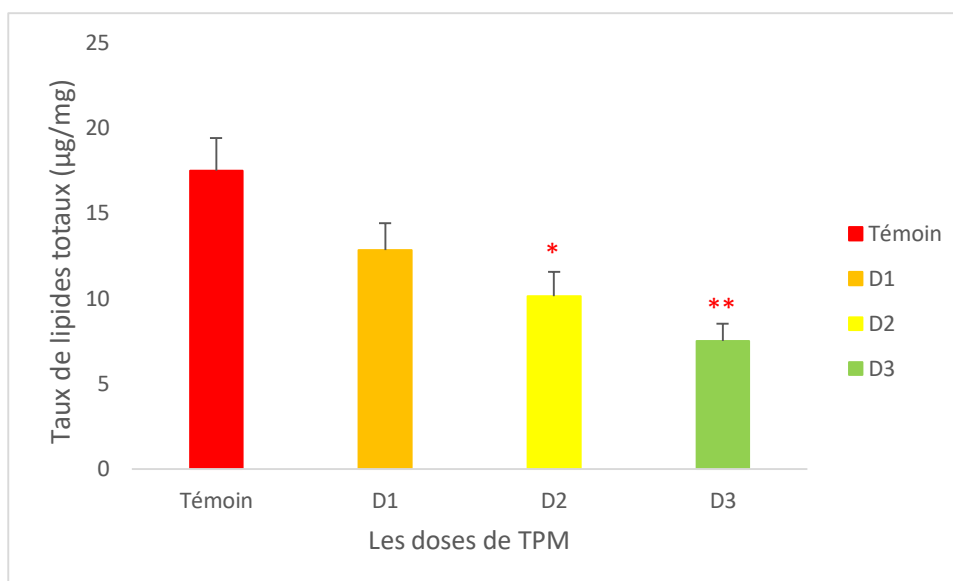


Figure 19 : Variation du taux de lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade d' *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement au TPM administrées par ingestion.

**différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.2.3. Effet sur le taux des protéines :

Les résultats représentées dans la figure (20) montrent une diminution non significative ($P \geq 0,05$) de taux des protéines dans la gonade d' *Helix aspersa* chez les traités par les trois doses de thiophanate-méthyl comparativement aux témoins.

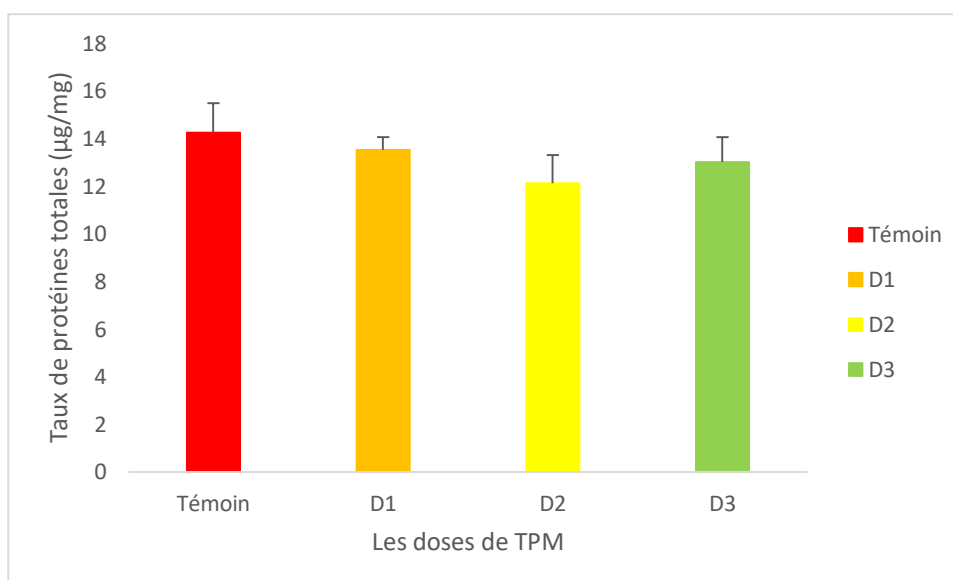


Figure 20 : Variation du taux de protéines totales ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux TPM administrées par ingestion.

**différence hautement significative ($p \leq 0,01$).

3.3. Effet de la mixture sur les paramètres biochimiques au niveau de la gonade

3.3.1. Effet sur le taux des glucides :

La mixture M1, M2 et M3 appliquée par ingestion diminue de manière très hautement significative ($p \leq 0.001$) le contenu en glucides totaux de la gonade.

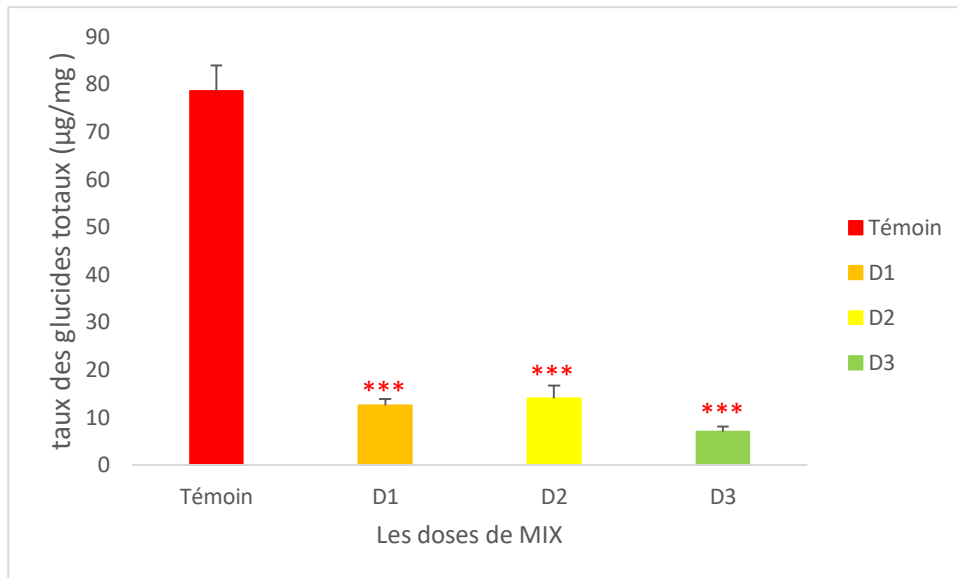


Figure 21 : Variation du taux des glucides totaux (µg/mg de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiaméthoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.

3.3.2. Effet sur le taux des lipides :

Les mixtures, administrées par voie orale aux adultes de *Helix aspersa* affectent le contenu en lipides gonadiques (Fig22). En effet, une diminution significative ($p \leq 0.05$) du taux des lipides est enregistrée à la M1 et M2 et hautement significative ($p \leq 0.01$) à la M3.

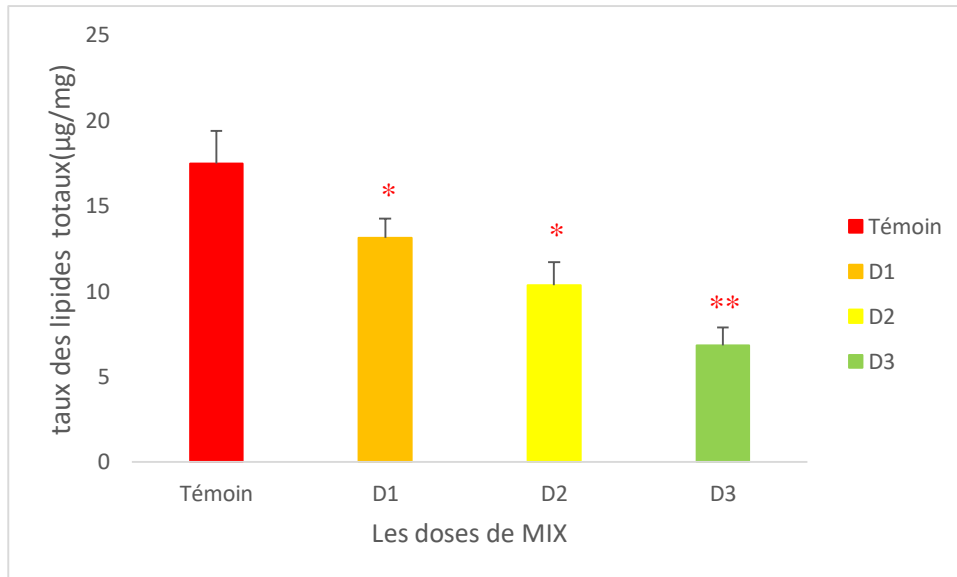


Figure 22 : Variation du taux des lipides totaux (µg/mg de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiamethoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.

3.3.3. Effet sur le taux des protéines :

Nous ne constatons que le taux des protéines totales subit des fluctuations. En effet, une diminution non significative ($P \geq 0,05$) est enregistrée chez les traités par la M1 et M3 et une augmentation non significative est enregistrée chez les traités par la M2.

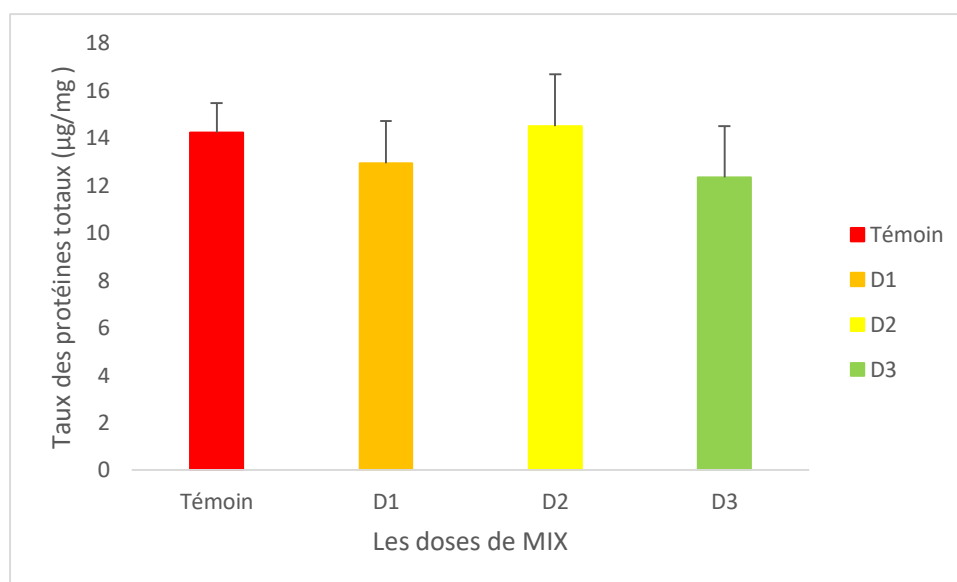


Figure 23 : Variation du taux des protéines totaux (µg/mg de tissu) dans la gonade de *Helix aspersa* après 6 semaines de traitement aux mixtures de thiaméthoxam et de thiophanate-méthyl par ingestion.

3.4. Effet de thiamethoxam, thiophanate 'méthyl et leurs mixtures sur l'histologie de la gonade :

La figure (24) présente l'examen histologique de la gonade d'escargot témoin, la gonade montre les résultats montrent un aspect normal du tissu gonadique avec un épithélium germinatif et des tubules isolés et de forme régulières

3.4.1. Effet de thiamethoxam

La figure (25) A, B, C présente l'examen histologique de la gonade chez les escargots traités par l'actara a des doses croissantes (100, 250, 500µg/g).

Les traités par la dose 100µg/g. met en évidence un aspect normal du tissu gonadique, avec un épithélium germinatif intact et des tubules de forme régulière.

Concernant les traitées par la dose 250µg/g, nous observant une déformation des tubules et une disparition de l'épithélium germinatif.

A la dose 500µg/g les mêmes modifications ont été observées accompagnées par l'apparition des résidus de ce xénobiotique.

3.4.2. Effet de thiophanate 'méthyl

La figure (26) D, E, F illustre l'examen histologique de la gonade chez les escargots traités par le thiophanate 'méthyl a des doses croissantes (100, 250, 500µg/g).

L'étude histologique révèle un aspect normal, avec épithélium germinatif bien visible chez les traités par la dose 100µg/g.

Chez les traitées par la doses 250µg/g, nous observons la desquamation de l'épithélium germinatif, une déformation des tubules avec l'apparition des résidus de xénobiotique.

Quant à les traités par la dose 500µg/g nous notons une déformation des tubules, la disparition de l'épithélium germinatif et il y a des ruptures de la lame basale.

3.4.3. Effet de la mixture :

L'examen histologique de la gonade chez les escargots traités par la mixture 1 (G) met en évidence des ruptures de lame basale et une desquamation de l'épithélium germinatif.

Pour la mixture 2 (H) on observe les mêmes altérations accompagnées par une détérioration complétée de l'épithélium germinatif

En ce qui concerne les traités par la mixture 3 l'examen histologique met en évidence une déformation des tubules, une détérioration de l'épithélium germinatif, ainsi qu'un décollement de l'épithélium germinatif de la lame basale.

Résultats

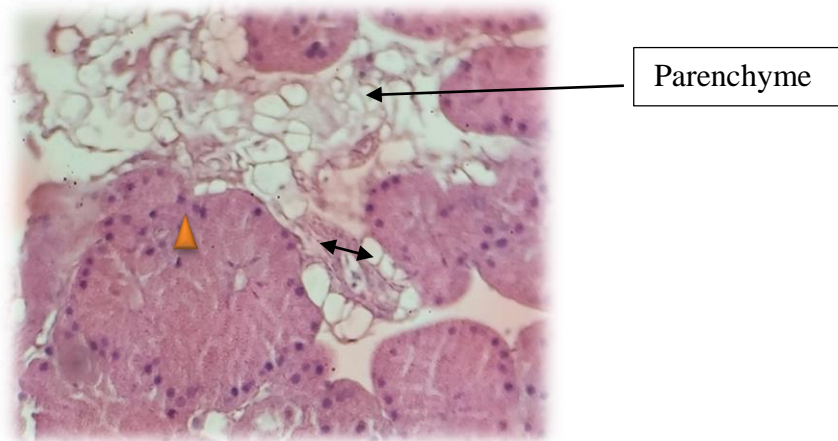


Figure 24 : coupe histologique de la gonade d'escargot témoin.

▲ Épithélium germinatif ↔ Lame basale

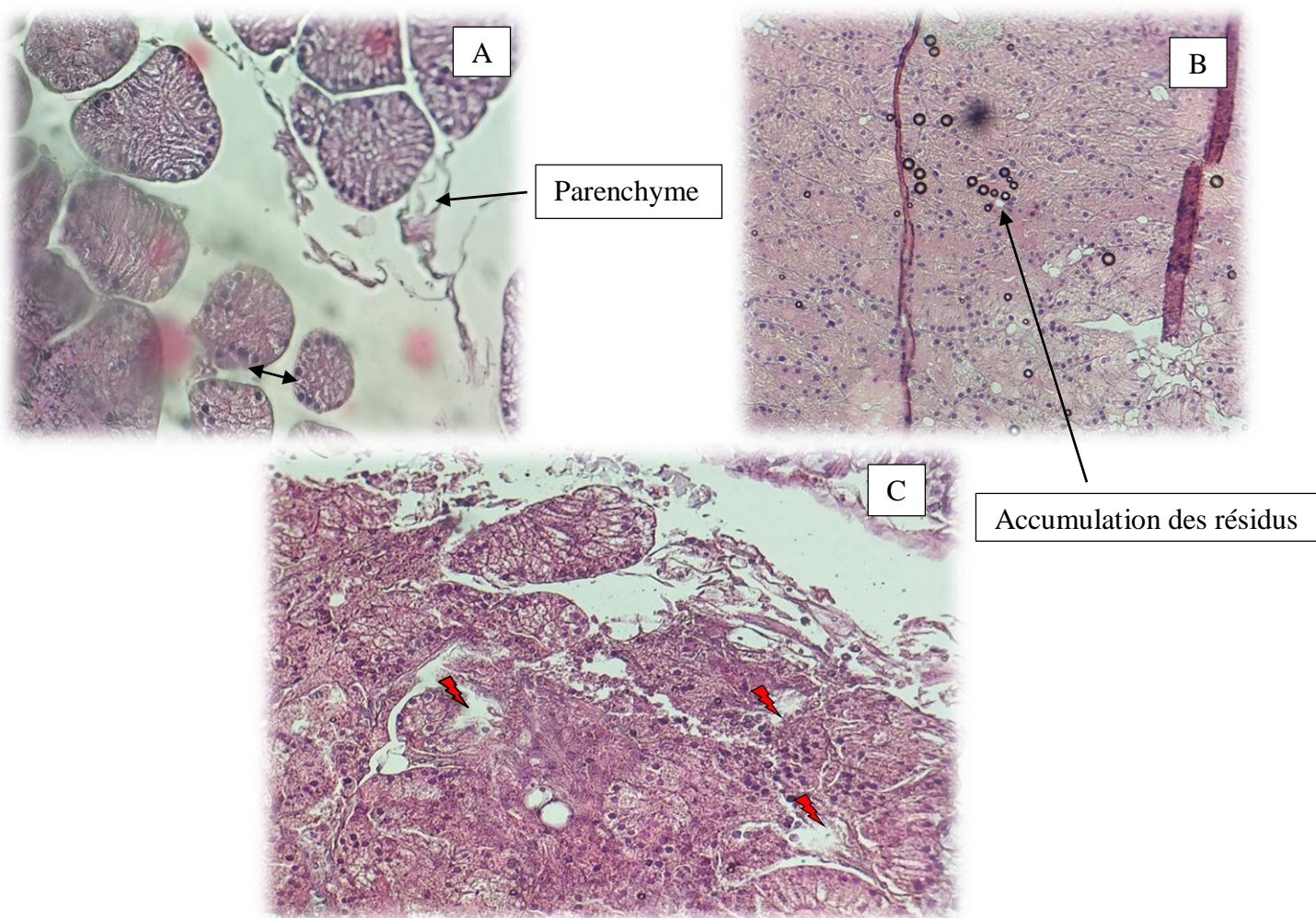


Figure 25 : Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par les doses

100µg/g (A), 250µg/g (B), 500µg/g (C) d'actara

⚡ Rupture de lame basal. ↔ Lame basal

Résultats

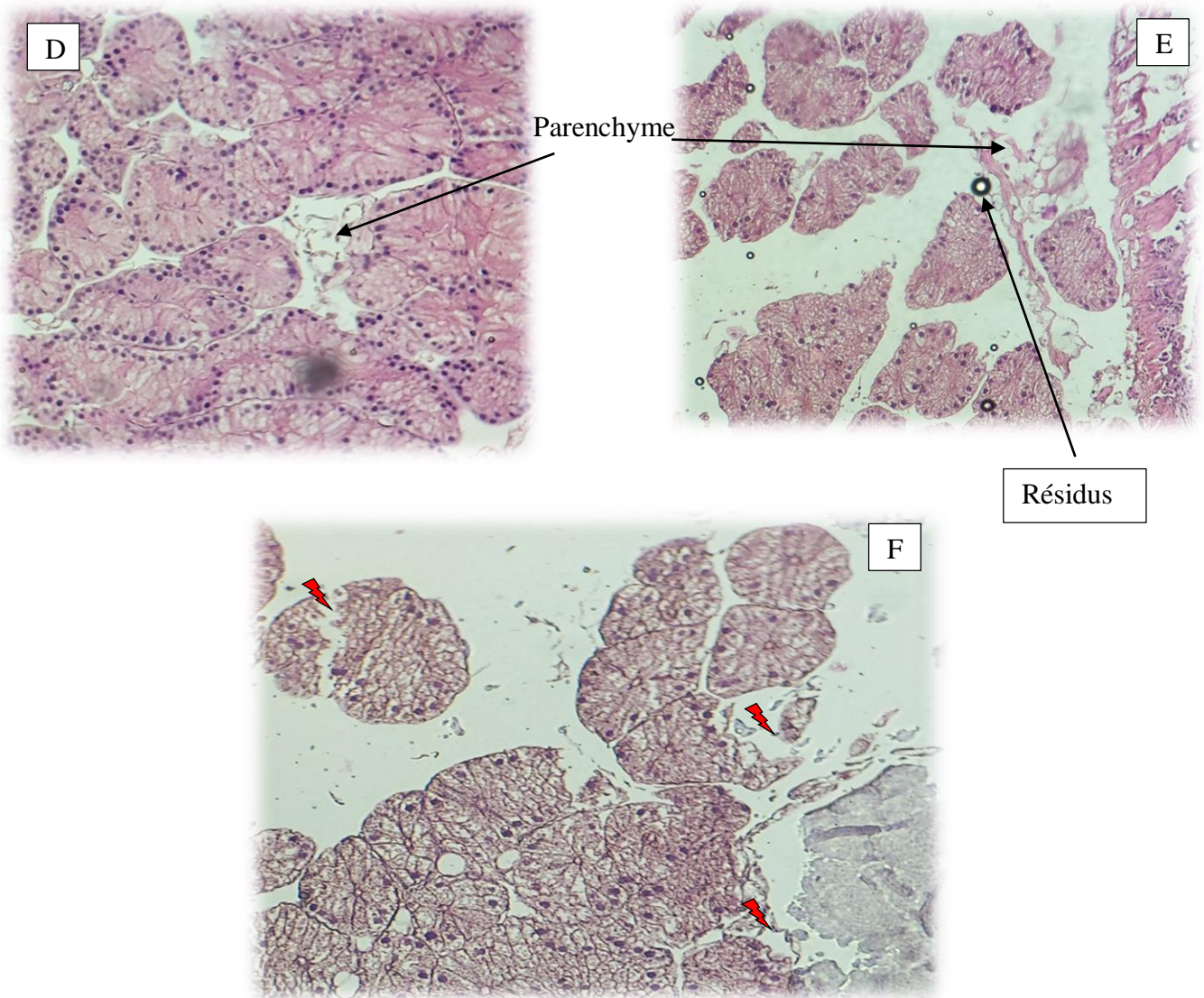


Figure 26 : Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par les doses 100µg/g (D), 250µg/g (E), 500µg/g (F) de thiophanate ‘méthyl.

⚡ Rupture de lame basal.

↔ lame basal

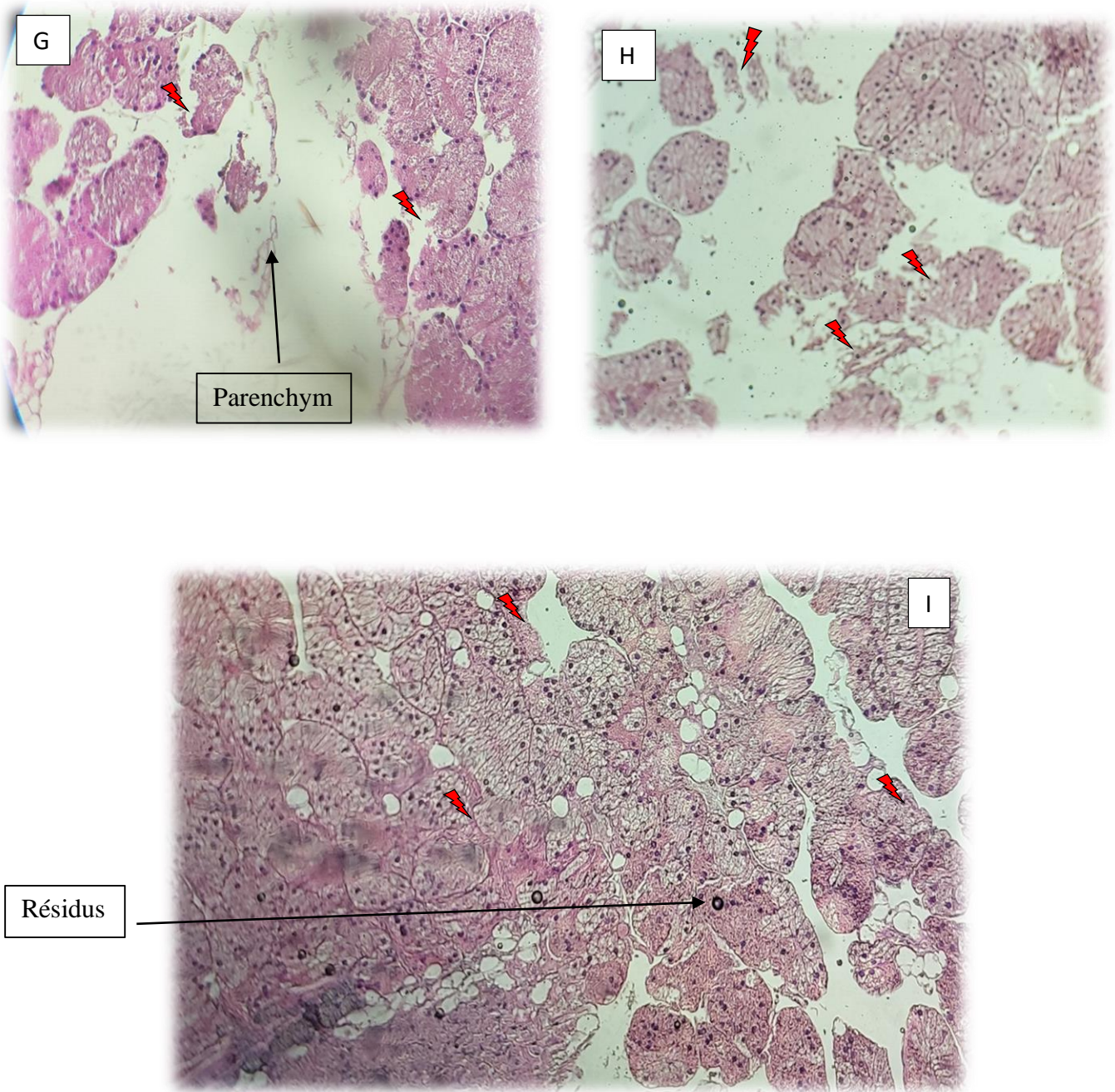


Figure : 27 : Coupes histologiques de la gonade des escargots traités par M1 M3 et M3



DISCUSSION

4. Discussion

L'étude de la réponse biologique des organismes vivants aux polluants chimiques présents dans l'environnement terrestre représente un outil de diagnostic qui n'est pas destiné à dupliquer ou remplacer la surveillance chimique, mais qui doit être intégré dans les programmes de surveillance de l'environnement. Complémentaires des analyses chimiques, ces indicateurs biologiques peuvent jouer le rôle de systèmes d'alarme précoces d'une contamination. Dans le contexte de l'exposition des invertébrés aux pesticides, il semble intéressant d'essayer de caractériser les perturbations des organismes par des approches biochimiques à travers le suivi de biomarqueurs.

Les paramètres biochimiques chez les espèces exposées à des substances toxiques sont considérés comme des bons biomarqueurs et peuvent constituer un important outil de diagnostic pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques (**Forbes et al., 1997 ; McLaughlin et al., 2000**).

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'effet de deux pesticides et leurs mixtures sur la composition biochimique de la gonade des escargots après 6 semaines de traitement.

Les résultats de dosage des paramètres biochimiques au niveau de la gonade de *d'Hélix aspersa* montrent une diminution de niveau des lipides et des glucides, chez les traités par les deux pesticides et leur mixture de manière dose dépendante cette diminution est moins importante pour les protéines.

4.1 Effets de thiamethoxam, thiophanate 'méthyl et leurs mixtures sur les paramètres biochimiques

4.1.1. Effets sur le taux de glucide

Le taux des glucides dans la gonade des escargots traités au thiamethoxam et à la thiophanate 'méthyl était dose-dépendante

Les glucides ou hydrates de carbone sont des composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, dans l'organisme leur principale fonction est de stocker et fournir de l'énergie (**Brooker, 2000**). Dans les conditions de stress le taux de glucose diminué de façon hautement significative pour assurer un apport suffisant d'énergie (**Carefoot et al., 1993**). Nos résultats sont conformes avec ceux de (**Padmaja et Rao, 1994**), suggèrent que l'épuisement du taux de glycogène dans les tissus de l'escargot d'eau douce *Bellamya dissimilis*, exposés à des pesticides (Endosulfan,

Methyl-parathion, Quinalphos, Nuvan) peut être dû à des effets directs de l'utilisation de ces composés pour la production d'énergie, ou suite d'une hypoxie induite par les pesticides. Pour la même espèce exposée aux hydrocarbures **Zouaghi et al., (2015)**, suggère une diminution du taux de glucides totaux lors de l'exposition des escargots aux hydrocarbures, et cela pour assurer un apport suffisant d'énergie. La même espèce exposée à des alkylphénols en mésocosme, Jumel et Lagadic (2000) rapportent une augmentation de la demande énergétique des animaux qui se traduit par une mobilisation rapide des réserves de glycogène du manteau et une diminution de la teneur en protéine et de la masse de la glande à albumen. L'énergie mobilisée n'est pas investie dans la reproduction puisqu'aucune ponte n'est produite. L'exposition en mésocosme de *L. stagnalis* au fomésafène provoque une réduction des réserves en glycogène des animaux qui peut être impliquée dans la réduction de l'activité ovipositoire (**Jumel et al., 2000**).

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

4.1.2. Effets sur le taux de lipide :

Une diminution dose-dépendante des lipides totaux a été notée chez les escargots traités par les deux pesticides et leur mixture comparés aux escargots témoins. Les lipides sont une forme privilégiée de mise en réserve d'énergie, surtout chez les animaux où les lipides sont stockés dans les tissus adipeux.

Les lipides sont la seconde source d'énergie utilisé lors d'un stress (**Sujatha et al.,1996 ; Bhavan & amp ; Géraldine, 1997**). Ils peuvent aussi être mobilisés en premier lorsque la nourriture devient rare (**Sargent et al., 1989 ; Hashemi et al., 2008**) Une diminution des concentrations en lipides est généralement observée quand la concentration en glucides devient faible ou quand la demande énergétique est trop forte (**Blem, 1992**). Selon Aourousseau (2002), les radicaux oxygénés libres sont toxiques via la dégradation des lipides dont la β oxydation, comme le suggèrent les travaux de **Padjama et Rao, (1994)** qui ont mis en évidence une diminution des taux de lipides dans les tissus de *Bellamya dissimilis* exposés à des pesticides, la forte solubilité du xénobiotique est à l'origine de cette atteinte des lipides.

4.1.2. Effets sur le taux de protéines :

Dans notre étude nous avons noté une diminution non significative des taux de protéine. Les protéines sont de grosses molécules complexes contenant de carbone de l'hydrogène l'oxygène de l'azote et parfois de soufre et de phosphore. Elles ont une importance vitale assurant dans l'organisme diverses fonction principalement le transport de l'oxygène dans tout l'organisme, la réparation des cellules et la reproduction de l'énergie (**Brooke, 2000**).

Dans des conditions de stresse, les escargots ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier les toxines.

Lorsque les escargots ont une quantité limitée de glucides et de lipides, la source d'énergie alternative pour répondre à la demande accrue d'énergie est les protéines (**Moussard, 1999**).

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Naqvi *et al.*, (2017)**, ont suggéré que L'épuisement des protéines totales peut être due à plusieurs mécanismes, parmi lesquels l'augmentation de l'activité protéolytique, réduction de la synthèse des protéines, destruction ou nécrose cellulaire provoque la dégradation consécutive de la machinerie de synthèse protéique, dommage de L'ADN, altération des activités enzymatiques.

4.2 Effet d'actara et thiophanate 'méthyl sur l'histologie de la gonade :

Très peu d'études ont évalué les effets de l'exposition aux pesticides sur l'appareil génital des escargots, Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressé à évaluer les effets de l'exposition aux deux pesticides et leurs mixtures sur l'appareil génital en particulier la gonade appelée aussi l'ovotestis qui produit à la fois des gamètes mâles (les spermatozoïdes) et des gamètes femelles (les ovules) et la glande à albumen qui produit du galactogène et des protéines qui se déposent autour des ovocytes fécondés .Ces deux substances constituent la couche péri vitelline des œufs (**Goudsmit, 1975**).

Dans notre étude nous avons mis en évidence une diminution de la masse fraîche de la gonade ainsi qu'une importante réduction de la taille des tubules gonadique, des desquamations au niveau de l'épithélium germinatif et des altérations au niveau de la membrane basale Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Atailia, 2017**), l'exposition aux poussières métalliques tend à diminuer le développement de la glande à albumen, la gonade et l'appareil génital de en effet. Selon **Laskowski et Hopkin, (1996)**, l'exposition chronique des escargots à une nourriture contaminée par une mixture de métaux (Cd, Cu, Pb et Zn) retarde la reproduction. De plus, **Gomot-de Vaufleury et Kerhoas, (2000)** indiquent que l'exposition des escargots *Helix aspersa* à une nourriture contaminée par le cadmium (400µg /g) durant une période de 10 semaines tend à diminuer le développement de la glande à albumen (inhibition de 96%) de la gonade (inhibition de 50%) et du tractus génital (inhibition de 82. Selon (**Gomot de Vaufleury, 2001**). Cette diminution est due probablement à une perturbation du système endocrinien ou Cneuroendocrinien. D'autre part l'inhibition du développement de la glande à albumen empêche la formation des œufs entraînant une absence de pontes et une baisse de la fertilité (**Gomot-de Vaufleury, et Kerhoas, 2000**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

5. Conclusion et perspectives :

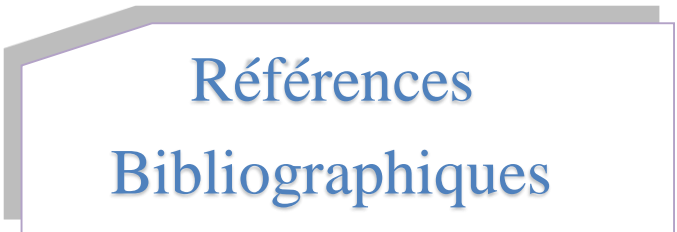
Les organismes vivant dans le sol, sont soumis à des fluctuations régulières des paramètres abiotiques, ainsi qu'à une contamination chimique du milieu due aux activités anthropiques. Ils sont donc sujets à des stress multiples auxquels ils doivent faire face. Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact de deux pesticides, thiophanate- méthyl, thiaméthoxam, et de leurs mixtures sur les adultes d'un organisme bio accumulateur et bio indicateur de pollution de l'environnement *Hélix aspersa*. Les individus sont collectés d'un site peut polluer El Hadaik. Il s'agit d'une étude de toxicité chronique (6 semaines) effectué par ingestion. Les animaux sont exposés à trois concentrations croissantes 100, 250 et 500 µg/g. Les effets ont été testés sur les paramètres biochimiques (glucides, lipides et protéines) cette étude a été compléter par une étude histopathologie de la gonade des escargots.

Nous avons mis en évidence que la composition biochimique de la gonade est affectée par les deux xénobiotiques testés et leurs mixtures avec une diminution significative des glucides et des lipides, cette diminution est plus marquée chez les escargots traités au Thiaméthoxam, par contre Le taux des protéines ne subit pas des fluctuations bien marquées chez les traités par les différents pesticides et les mixtures.

L'étude histopathologie de la gonade a confirmé cette sensibilité de l'espèce vis-à-vis les deux pesticides et leurs mixtures à travers des atteintes tissulaires observées particulièrement à des fortes concentrations des deux pesticides et leurs mixtures. Les atteintes les plus marquées sont observées chez les traités par les doses les plus élevés notamment du thiaméthoxame et de La mixture 3. Enfin ces deux xénobiotiques et leurs mixtures présente une grande capacité de pénétration et d'internalisation au niveau cellulaire accompagné par déclenchement d'un stress oxydant qui suggère une augmentation dans le taux des radicaux libres qui sont responsables des lésions tissulaires et pouvant aboutir à la mort cellulaire.

En perspective, il serait intéressant de faire :

- ✓ Dosage des biomarqueurs tels que l'acétylcholinestérase, catalase, GSH.
- ✓ Dosage des métaux lourds au niveau de la gonade.
- ✓ De faire une étude embryotoxicologique.



Références
Bibliographiques

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Ait Hamlet, B., 2013. Évaluation de la toxicité de mixture des pesticides sur un bio indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Thèse Présentée Pour obtenir le diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. Pp: 2-12-16-29-106.

APA National Center for Biotechnology Information 2022. *PubChem Compound Summary for CID 3032791, Thiophanate-methyl.*

Arla (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire). 2011, Projet de décision de réévaluation (PRVD2011-07), 177 pages.

Arla (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire). 2017, Projet de décision de réévaluation (PRVD2017-24), 424 pages.

Arla Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, 2007. ERC2007-01: Rapport d'évaluation : Thiaméthoxame. Santé Canada, 111 pages.

Atailia.,2017. Impact de la pollution industrielle (métaux lourds) sur le développement et la reproduction de l'escargot *Helix aspersa*: Effets sur les biomarqueurs. Thèse pour obtenir le diplôme de doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba.

Aupinel P. & Bonner J.C., 1996. Influence de la photopériode sur l'activité saisonnière de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa* Müller). Effet spécifique sur la croissance et la reproduction. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) Production Animale, 9(1): 79-83

Aurousseau, B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRAE Productions Animales, 15(1), 67-82.

Australian pesticides and veterinary medicines authority, 2010. thiophanate- methyl final review report and regulatory decision: The reconsideration of the active constituent thiophanate-methyl, *registration of products containing thiophanate-methyl and approvals of their associated labels.*

Bhavan, P.S., Geraldine, P., 1997. Alterations in Concentrations of Protein, Carbohydrate, Glycogen, Free Sugar, and Lipid in the Prawn *Macrobrachium malcolmsonii* on *Exposure to Sublethal Concentrations of Endosulfan.* *Pestic, Biochem. Phys.* 58:89–101.

Blem, C. R., 1992. Lipid reserves and body composition in post reproductive anurans. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.* 103: 653–656

Boland, J., Koomen, I., van Lidth de Jeude, J., & Oudejans, J., 2004. Les pesticides: composition, utilisation et risques. *Wageningen: Agrodok*

Références Bibliographiques

- Brooker, C., 2000.** Le corps humain : Étude, structure et fonction. *De Boeck Supérieur, Bruxelles*, pp : 562.
- Carefoot, T. H., Qian, P. Y., Taylor, B. E., West, T., & Osborne, J., 1993.** Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Aquaculture*, vol : 118(3-4), pp 315-325.
- Colin F., 2000.** Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires. Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). *Unité mixte Cemagref-ENGREF. Structure des systèmes spatiaux*. 233 p
- Dorothee, B., 2011.** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Université Henri Poincaré. Faculté de Pharmacie. Lorraine. Pp : 6-2 Editions Quae, Paris. 424 p.
- EL Bakouri, H.,2006.** Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Université Abdelmalek Essaidi. Maroc. Pp: 9-13.
- ES EPA United States Environmental Protection Agency, 2004.** Reregistration Eligibility Decision (RED): Thiophanate-methyl. Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, 182 p.
- Forbes V.A., Forbes T.L., Rivière J.-L., 1997.** Eco toxicologie : théorie et applications. Gireaud, 2008. Gireaud, O.2008.
- Gomot-de Vaufléury, A., Kerhoas, I., 2000.** Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64, 434-442
- Hashemi, S., Blust, R., De Boeck, G., 2008.** Combined effects of different food rations and sublethal copper exposure on growth and energy metabolism in common carp. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 54 :318–324
- J.P. Thorez, Terre Vivante., 2008.** Pucerons, Mildiou, Limaces... *Prévenir, identifier, soigner bio*.
- Laskowski R., Hopkin S.P., 1996.** Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on fitness in snails (*Helix aspersa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 34: 59-69.
- Maienfish, P., Bandl, F., Kobel, W., Rindlisbacher, A., & Sen, R., 1999.** CGA293'343: a novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide. In: *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor* (eds. I. Yamamoto, J.E. Casdia), Springer, Tokyo, pp: 177-209
- McLoughlin N., Yin D., Maltby L., Wood R.M., Yu H., 2000.** Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19: 2085-2092.

Références Bibliographiques

- Naqvi, G. E. Z., Shoab, N., & Ali, A. M., 2017.** Pesticides impact on protein in fish (*Oreochromis mossambicus*) tissues. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, vol : 46(09), pp1864-1868.
- Nordsieck, R., 2009.** "Geheimnisvolle Schneckenliebe" (Mysterious Snail Love), *Arthropoda* 17 (2), (in German), presented to the editor.
- Oerke E., Dehne H., 1997.** Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 103: 203-215.
- Organisation Mondiale de la santé (OMS), 1991.** L' utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé. Genève. Pp:11-12
- Padmaja J.R., Rao M.B., 1994.** Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid and protein contents in tissues of the freshwater snail, *Bellamyadissimillis* (Müller). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 53: 142-148.
- Padmaja Rambabu, J., & Balaparameswara Rao, M., 1994.** Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid, and protein contents in tissues of the freshwater snail *Bellamyadissimillis* (Müller). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, vol : 53(1), pp 142-148.
- Pinder et al., 1992 ; Abe, 1995 ; Storey, 2002. Pol, D., 2006.** Elevage de l'escargot. La Main À La Pâte. *Fondation pour l'éducation à la science, Académie des sciences, France*
- Sargent, J., Henderson, R. J., Tocher, D. R., 1989.** The lipids In Halver JE (Ed) *Fish Nutrition. Academic Press, London*. 154–209
- Schiavon M., Jacquin F., 1973.** Studies on the migration of two triazines as influenced by precipitation. *Symposium on Herbicides and the Soil*. 80-90.
- STEPHENSON, R.; LEWIS, V., 2011.** Behavioural evidence for a sleep-like quiescent state in a pulmonate mollusc, *Lymnaea stagnalis* (LINNAEUS). *J. Exp. Biol.* 214, 747-756.
- Sujatha, C.H., Nair, S.M., Chacko, J., 1996.** Tributyltin oxide induced physiological and biochemical changes in a tropical estuarine clam. *Bull. Environ. Contam, Toxicol.* 56:303–310.
- Svetlana Micic., 2021.** Identification and control of pest slugs and snails for broadacre crops in Western Australia
- Tomlin, C.D.S., 2006.** The Pesticide Manual, 14th edition, The British Crop Protection

Références Bibliographiques

Turgeon, D. D., A. E. Bogan, E. V. Coan, W. K. Emerson, W. G. Lyons, W. Pratt, et al., 1988. Common and scientific names of aquatic invertebrates from the United States and Canada: mollusks. American Fisheries Society Special Publication.

Van Der Werf H., 1996. Assessing the impact on the environment. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 60: 81-96.

Zouaghi, M. F., Berrebbah, H., Djrbar, M. R., & Amamra, R., 2015. Study of the behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, Vol : 7(2), pp 207-215.

Références Bibliographiques

Sites internet:

- Life in the slow lane: Molecular mechanisms of estivation
- Retrieved April 19, 2022
from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiophanate-methyl>
- <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pest/index-fra.php>
- http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/tm_red.pdf
- <https://apvma.gov.au/sites/default/files/publication/14826-thiophanate-methyl-final-report.pdf> (Association de coordination technique agricole. Index phytosanitaire ACTA 2021.)
- <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/securite-produits-consommation/pesticides-lutte-antiparasitaire.html>
- <http://www.gireaud.net/heliciculture.htm>