

Biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* Müller (Gastropoda ; Helicidae) en zones agricole et urbaine polluée dans la région d'El-Hadjar (Annaba, Algérie)

Moncef Zaafour*¹, Abderrafik Meddour² & Mohamed Salah Boulakoud¹

(1) Laboratoire d'Ecophysiologie Animale, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar Annaba, BP 12, Annaba 23000, Algérie

(2) Laboratoire Aquaculture et Pathologies, Département des Sciences de la Mer, Université Badji Mokhtar-Annaba, BP 12, Annaba 23000, Algérie.

Révisé le : 13/02/2014

Accepté le : 19.03.2014

الحلزونات البرية من الصنف *Helix Linnaeus* (1758) تستعمل في أغلب الأحيان من أجل التحقق من سمية المعادن وهي معروفة كمؤشرات إحيائية للتلوث. عينتين من الحلزون مكونتين من 100 فرد جمعت بطريقة عشوائية في موقعين بنواحي مدينة عنابة في فصل خريف 2009 ، واحدة (سيدي عمار) تعتبر ملوثة جداً، والأخرى () أقل تلوثاً و تبعد عنها بحوالي 20 كلم. قياسات مرفومترية أنجزت على كل الأفراد من الموقعين شملت الوزن الكلي للحلزون والقوقعة و الفتالة والقطر وارتفاع القوقعة. تكس عينة وزناً متوسطاً قدر بـ 10.87 غ ، في حين أن الوزن المتوسط لعينة سيدي عمار لا يفوق 7.7 غ. المعالجة الإحصائية للقياسات المرفومترية المدروسة تبين وجود اختلافات في المعايير بين الموقع الملوث (سيدي عمار) و الموقع أقل تلوثاً () مع نمو اكبر في هذا الأخير. نتائج التحليل الإحصائي Student (*t*) تبرز اختلافات مرفومترية بين الموقعين ($p < 0.001$) و من ثم فإن التلوث الناتج عن مركب الحديد و الصلب يحد من نمو وتطور الحلزون البري *Helix aspersa* بموقع سيدي عمار.

الكلمات المفتاحية: حلزون - *Helix aspersa* - مؤتمر أحيائي قياس بيولوجي - نمو تلوث - قلوغياتيون - عنابة.

Résumé

Les escargots terrestres du genre *Helix Linnaeus* (1758), considérés comme bioindicateurs de pollution terrestre, sont souvent utilisés pour vérifier la toxicité des métaux lourds. A cet égard, 2 lots d'échantillons aléatoires d'escargots *Helix aspersa* ont été collectés au niveau de 2 sites dans la région Sud d'Annaba durant l'automne 2009. La première *Sidi Amar* est considérée comme hautement polluée en raison de sa proximité du complexe sidérurgique d'El Hadjar. La seconde *Dréan*, une commune agricole, principalement connue pour son tabac, ses oranges et ses vignes et située à 20 Km de la première, est moins polluée. Les variables morphométriques : Diamètres et Hauteurs de la coquille, Poids Total de l'escargot, Poids de la coquille vide et Poids de la masse viscérale ont été mesurés sur l'ensemble des échantillons. Les données recueillies montrent des différences remarquables pour tous ces paramètres avec une croissance plus accentuée au niveau de *Dréan*. L'échantillon de *Dréan* cumule un poids moyen de 10.87 g tandis que celui de *Sidi Amar* n'en cumule que 7.7 g. De plus, l'application du Test *t* de Student montre des différences hautement significatives entre les variables morphométriques des individus provenant des 2 sites *Sidi Amar* et *Dréan* ($p < 0.001$). La proximité du site *Sidi Amar* d'une source de pollution sidérurgique est un facteur limitant la croissance d'*Helix aspersa*.

Mots clés : *Helix aspersa* - Bio indicateur - Biométrie - Croissance - Glutathion - Pollution - Annaba.

Abstract

Land snails *Helix Linnaeus* (1758), known as bioindicators of soil pollution, are often used to verify toxicity of heavy metals. In this regard, two random samples of 100 *Helix aspersa* each were collected from two sampling sites in the Southern area of Annaba during autumn 2009. The first one *Sidi Amar* is regarded as a highly polluted area by El Hadjar steel factory. The second sampling area called *Dréan*, 20 km far from the first one, is considered as a slightly polluted area. Morphometric parameters; Diameter and Height of Shell as well as Total Body Weight, Shell and Visceral mass were measured from all sampled snails. The sample of *Dréan* accumulates an average weight of 10.87 g while that of *Sidi Amar* accumulates 7.7 g. Data revealed remarkable differences between these parameters with a more accentuated growth in *Dréan* station. Indeed, applied *t* Student test on morphometric parameters showed highly significant differences between the two stations *Sidi Amar* and *Dréan* ($p < 0.001$). The proximity of steel pollution industry is a factor limiting the growth of *Helix aspersa* in the area of *Sidi Amar*.

Keywords: *Helix aspersa* - Bio indicator - Biometry - Growth - Glutathione - Pollution - Annaba.

*Auteur correspondant : moncefzaafour@gmail.com

1. INTRODUCTION

L'escargot terrestre du genre *Helix*, Linnaeus, est un excellent bio-indicateur de pollution terrestre plus efficace que le ver de terre (*Lumbricus terrestris*, Linnaeus) [1]. En raison de sa sédentarité sur les sols et de son régime herbivore, il est aisément contaminé par les divers polluants présents dans l'air, le sol et la flore, d'où l'intérêt de son utilisation comme organisme test pour étudier l'influence des métaux lourds sur sa croissance [2-4].

La région d'Annaba [Nord-est de l'Algérie] abrite diverses sources polluantes incluant les complexes sidérurgique d'El-Hadjar, phosphatier de Fertial-Asmidal et métallurgique d'El Allelik ainsi que 260 petites et moyennes entreprises de l'industrie agro-alimentaire [5]. L'industrie métallurgique est connue pour ses fortes émissions de métaux lourds. Additionnées à la pollution urbaine, ces sources sont à l'origine des diffusions de matières polluantes variées affectant l'ensemble des écosystèmes naturels de cette région. Des auteurs indiquent que la contamination par les métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) s'effectue à travers la consommation de végétaux pollués et que la reproduction des consommateurs peut-être retardée par une contamination chronique. Ces mêmes auteurs soulignent les conséquences directes d'une diminution de la production d'œufs et le déclin des populations d'*Helix aspersa* (Gastéropoda) ou d'invertébrés au niveau de régions soumises à de fortes pollutions industrielles [6-9]. Dans ce contexte, les mollusques gastéropodes sont connus pour leur grande capacité d'accumulation des métaux lourds. Plusieurs travaux [10-12] ont mis en évidence cette faculté des mollusques Gastéropodes pulmonés à accumuler les métaux lourds et certains d'entre eux ont utilisé les escargots terrestres comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds (Zn, Cu, Pb et Cd) [13]. Nous relevons que dans le monde, plusieurs études ont concerné les effets des polluants sur les escargots. En Algérie, des études liées à la pollution ont été réalisées sur *Helix aspersa*, que nous complétons par une étude morphométrique de la coquille et de la masse viscérale (ou tortillon) du gastéropode objet de notre étude [2-4, 6-8, 14-18].

Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'évaluer la croissance d'*H. aspersa* à travers une étude morphométrique sur des sujets prélevés au niveau des deux sites de récolte, le premier à proximité du complexe sidérurgique

d'El Hadjar, le second *Dréan*, se situant dans les prémices d'une zone agricole [19-21]. Des études écotoxicologiques ont montré que l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* est un organe capable de renfermer de fortes concentrations en métaux lourds [22-24]. Le foie est l'organe majeur d'entreposage du glutathion qui protège les cellules de plusieurs polluants et poisons, incluant certains issus de la combustion de carburants et de la fumée de cigarette. L'élévation des niveaux de glutathion restaure les fonctions du foie [25-26]. Une étude comparative des hépatopancréas et des appareils reproducteurs, prélevés sur les individus d'escargots provenant des 2 sites, a été faite suite aux dosages du glutathion et des protéines tissulaires au niveau des organes susmentionnés.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel biologique et sites de prélèvements

Helix aspersa var. *aspersa* Müller, (Gastropoda : Stylommatophora ; Helicidae), connu sous le nom vernaculaire d'escargot Petit-Gris, a été choisi en raison de sa sédentarité, de son abondance dans la région d'étude et surtout en tant que bioindicateur de la pollution des sols. L'escargot Petit-Gris est un mollusque mesurant entre 28 et 35mm pour un poids adulte de 7 à 15g. Il est sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux «nez» (épithéliums olfactifs) très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qui l'entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres [27]. Il est adulte à 2 ans mais peut vivre plus de 5 ans s'il n'est pas dévoré par un prédateur. Dans la nature, il se nourrit tout particulièrement de feuilles d'ortie [8]. Au mois d'octobre de l'année 2009, cent (100) individus ont été collectés à 24 heures d'intervalle entre les 2 sites de prélèvements (Fig.1), avec un échantillonnage par agglomérats car pour chaque caractéristique analysée observations ont été faites sur les escargots ramassés. La première station celle de *Sidi Amar* (Lat. 35°07'03'' E ; Long. 7°10'11'' N) se situe à proximité du complexe sidérurgique d'El Hadjar est donc qualifiée de très polluée [10].

La seconde station de prélèvements (Lat. 36°68'33'' E ; Long. 7°75'00'' N), moins polluée, à 20 Km à l'Est du complexe, se localise dans un verger d'agrumes à proximité de l'agglomération de *Dréan*.

Cette première étude morphométrique de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*) en Algérie, a été réalisée pour comparer la croissance de cette espèce au niveau de deux zones soumises à une forte pression anthropique. La première zone qualifiée de "Très Polluée" est située à proximité du complexe sidérurgique d'El Hadjar et la seconde "Moins Polluée" localisée en zone agricole relativement éloignée de sources de pollution [16-18].

Selon Marzouki & al. [17] ainsi que Halimi [5], El-Tarf est une wilaya moins polluée que celle d'Annaba ; ce qui justifie le choix de ramassage de spécimens d'*H. aspersa aspersa* au niveau du site de *Dréan* situé dans la wilaya d'El-Tarf.

La strate herbacée qui sert aussi bien de nourriture que d'habitat à *H. aspersa*, n'est pas très dense dans la station *Sidi Amar* mais elle reste conforme à son régime alimentaire avec la présence du Romarin officinal : *Rosmarinus officinalis* (*Lamiaceae* ou *Labiataeae*), de la Grande Ortie : *Urtica dioica* (*Urticaceae*), de la Lavatère de Crète : *Lavatera cretica*

(*Malvaceae*) et du Gommier rouge : *Eucalyptus camaldulensis* (*Myrtaceae*) très prisées par *H. aspersa*. Les feuilles du Citronnier : *Citrus limon* (*Rutaceae*) sont aussi une préférence alimentaire pour cette espèce phyllophage et frugivore qui montre aussi une prédilection vers les bananes : *Musa paradisiaca* (*Musaceae*) et le Fraisier des bois ou Fraisier commun : *Fragaria vesca* (*Rosaceae*) [8].

2.2 Analyse des paramètres climatiques de *Dréan* et *Sidi Amar*

Le choix des deux sites de notre présente étude a été dicté par leur appartenance au même étage bioclimatique. Nous avons opté pour la classification de Köppen-Geiger qui prend en considération principalement la température et la pluviométrie.

Le climat de *Dréan* (El-Tarf) est dit tempéré chaud. À *Dréan*, les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. La classification de Köppen-Geiger est de type méditerranéen tempéré. *Dréan* affiche 18°C de température en



Figure 1. Situation géographique des sites de *Sidi Amar* et *Dréan* (Google Earth, 2013)

moyenne sur toute l'année. La moyenne des précipitations annuelles atteint 684mm. Avec 3 mm, le mois de Juillet est le plus sec. En janvier, les précipitations sont les plus importantes de l'année avec une moyenne de

114mm. Août est le mois le plus chaud de l'année. La température moyenne est de 25.7 °C à cette période. Janvier est le mois le plus froid de l'année. La température moyenne est de 11.1°C à cette période. Une différence de

111mm est enregistrée entre le mois le plus sec et le mois le plus humide. Sur l'année, la température varie de 8 à 32 °C (Fig.2).

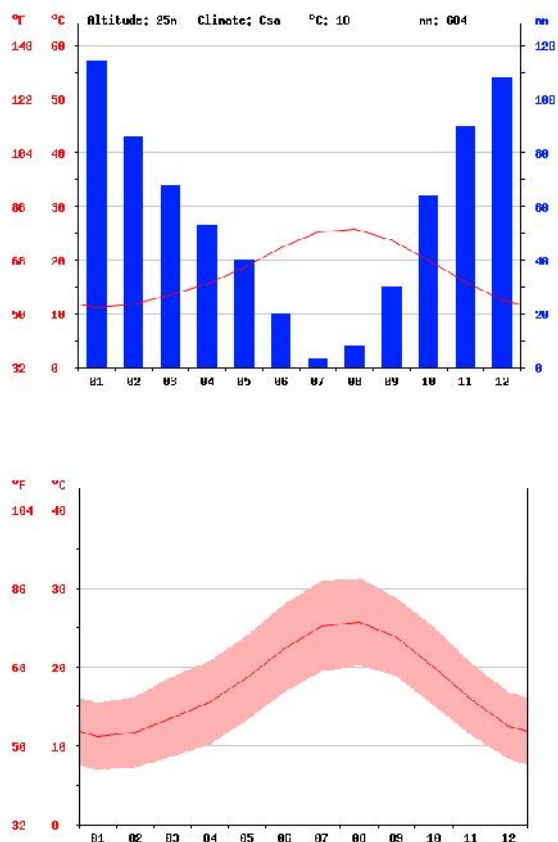


Figure 2. Diagramme climatique et courbe de température à Dréan (El-Tarf) (Schwarz, 2014).

Le climat de Sidi Amar (Annaba) est dit tempéré chaud. À Sidi Amar, les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été. La carte climatique de Köppen-Geiger y classe le climat comme étant de type méditerranéen tempéré. Sidi Amar affiche 18.4°C de température en moyenne sur toute l'année. Il tombe en moyenne 712mm de pluie par an. Août est le mois le plus chaud de l'année. La température moyenne est de 25.7 °C à cette période. Le mois le plus froid de l'année est celui de janvier avec une température moyenne de 11.9°C. Une différence de 119mm est enregistrée entre le mois le plus sec et le mois le plus humide. Sur l'année, la température varie de 9 à 31 °C (Fig.3).

Nous notons que les deux régions appartiennent à la même zone climatique du type méditerranéen tempéré, ce qui nous permet de comparer les deux échantillons de populations d'escargots ramassés dans les deux sites, à savoir celui de Dréan et de Sidi Amar.

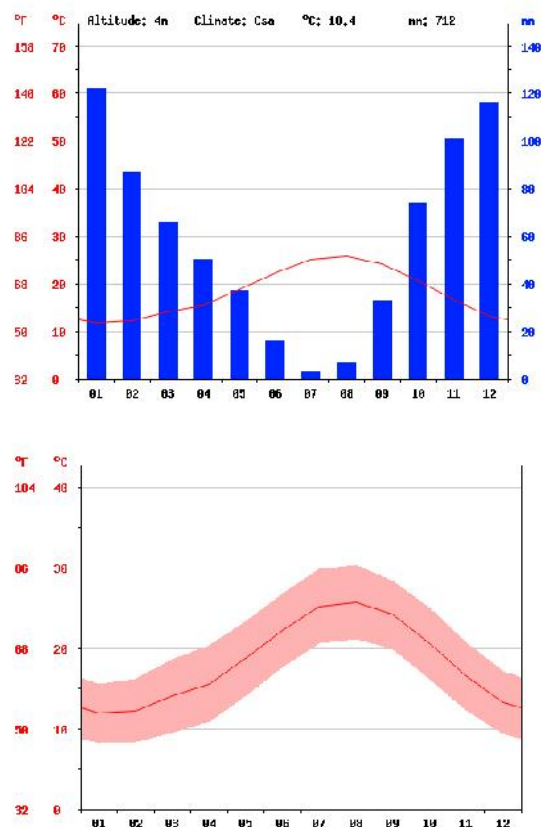


Figure 3. Diagramme climatique et courbe de température à Sidi Amar (Annaba) (Schwarz, 2014).

2.3 Paramètres biométriques

Conformément aux indications présentes dans la littérature [28-29], les mensurations morphométriques sur des sujets vivants, faites à l'aide d'un pied à coulisse ($\pm 0.02\text{cm}$) et d'une balance de précision ($\pm 0.001\text{g}$), ont concerné les variables : diamètre de la coquille, hauteur de la coquille, poids total de l'individu, poids de la masse viscérale (= tortillon) et poids de la coquille vide.

Parallèlement une densité moyenne de population d'*H.aspersa* au lieu de récolte a été évaluée à 18 spécimens/m² à Sidi Amar et à 26 spécimens/m² à Dréan et ce, pour une surface prospectée égale à 100 m² dans les 2 sites.

2.4 Étude statistique

Pour comparer les moyennes de 2 populations provenant de 2 échantillons indépendants, l'analyse statistique par le test *t* de Student a été appliquée aux valeurs moyennes des mensurations morphométriques des escargots provenant des deux sites [30-31].

2.5 Dosage du glutathion dans l'hépatopancréas

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela, une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

La méthode de Wekbeker et Cory [11] a été appliquée pour le dosage du glutathion dans l'hépatopancréas et l'appareil reproducteur. 200 mg d'hépatopancréas sont placés dans 8ml d'une solution d'Acide-Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique (EDTA) et 20 mg de l'appareil reproducteur dans 4 ml d'EDTA à 0.02 M. Broyés à froid à 4 °C, un volume de 0,8 ml de chaque homogénat est déprotéinisé en présence de 0.2ml d'une solution d'Acide Sulfo-Salicylique (SSA) à 0.25%.

Après agitation durant 15mn dans un bain de glace, les échantillons sont soumis à une centrifugation à 1000 tours/mn durant 15mn. Après ajout de 1 ml d'une solution tampon à pH 9.6 (Tris + EDTA à 0.02M), 0.5ml du surnageant sont prélevés puis additionnés à 0.025ml de DTNB à 0.01 M (dissous dans le méthanol absolu). Les Densités Optiques (DO) sont lues à 412nm contre un blanc préparé dans les mêmes conditions. La concentration en glutathion [GSH] est évaluée selon la formule : $[GSH] \text{ (nM GSH /mg protéine)} = (DO \times 1 \times 1.525) / (13100 \times 0.8 \times 0.5 \text{ mg protéine})$.

2.6 Dosage de la concentration en protéines dans les hépatopancréas.

Du fait que la concentration du GSH soit mesurée par rapport à 1mg de protéines, le dosage de la concentration en protéines a été réalisé selon la méthode de Bradford [12] qui utilise le bleu de Coomassie (G250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amines (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleue. L'apparition de cette couleur reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité est relative à la concentration des protéines dans l'échantillon. La concentration des protéines dans les échantillons est déterminée par comparaison à une gamme étalon, réalisée dans les mêmes conditions, avec une solution standard de sérum albumine bovine (1 mg/ml).

Mode opératoire :

- ❖ Prélever 0.1 (0.05) ml de l'homogénat.
- ❖ Ajouter 5 (2.5) ml du réactif de Bradford.
- ❖ Agiter et laisser reposer 5 min.
- ❖ Lire la densité optique à 595 nm, contre un blanc préparé dans les mêmes conditions.

3. RESULTATS

3.1 Étude morphométrique

L'échantillon aléatoire de 100 escargots dans la station *Sidi Amar* présente un poids total de 769.81g avec un poids vif (ou poids total) moyen de 7.70g tandis que celui de *Dréan* (N=100) cumule un poids total de 1086.73g pour un poids vif moyen de 10.87g. La densité moyenne de population d'*H.aspersa* dans la station *Sidi Amar* a été évaluée à 18 individus /m² alors que sa densité moyenne de population relevée sur les troncs et les branches des arbres fruitiers est de 112 individus/m² dans la station de *Dréan*. Les détails des mensurations morphométriques pour ces deux sites sont représentés dans la figure 4.

Les moyennes des diamètres, des hauteurs des coquilles, des poids totaux, des masses viscérales et celles des poids des coquilles vides sont nettement supérieures au niveau des spécimens d'*Helix aspersa* prélevés au niveau de la station de *Dréan*.

Le poids total présente des écarts-types assez importants allant de 0.30g à 17.55g pour la station *Sidi Amar* et de 5.46g à 15.84g pour celle de *Dréan*.

3.2 Résultats du dosage du glutathion et des protéines

Des échantillons collectés dans les deux stations, (16 individus de chaque lot) ont été soumis aux protocoles de dosage de la concentration en glutathion au niveau de l'hépatopancréas et de l'appareil reproducteur (Tab.1) et à l'estimation de la concentration en protéines (Fig.5).

4. DISCUSSION

Sur le plan biométrique, nous remarquons une différence nette entre les résultats des mensurations morphométriques des échantillons provenant de ces deux stations avec une croissance plus élevée chez les spécimens de la station *Dréan*. De plus, le test *t* de student, appliqué aux mesures des paramètres liés à la croissance d'*H.aspersa*, montre que ces différences sont hautement significatives ($p < 0.001$).

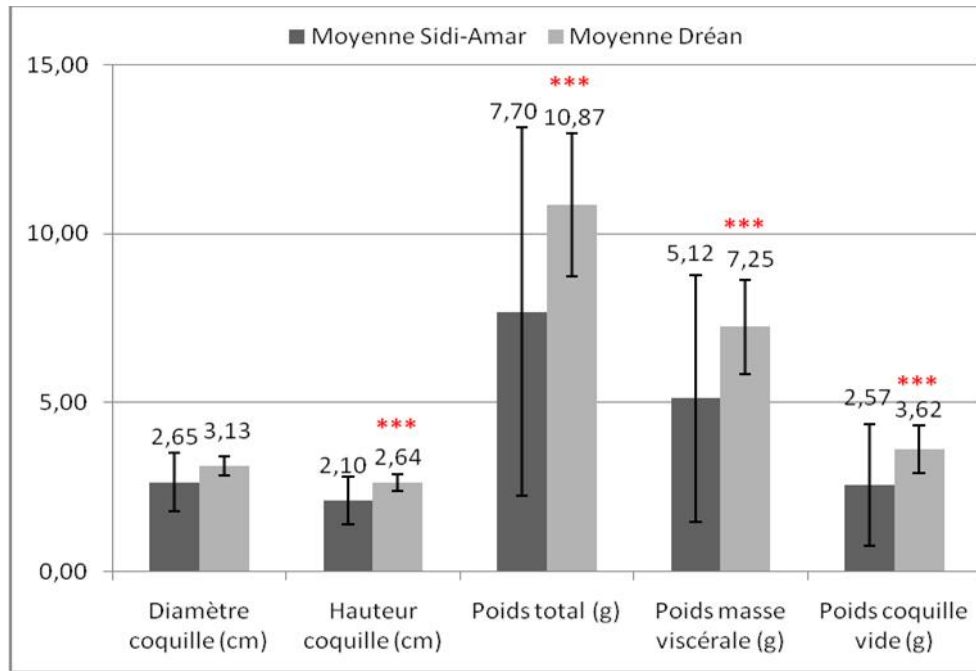


Figure 4. Données morphométriques des spécimens *Helix aspersa* (N=100 pour chaque station).

Tableau 1. Biométrie et concentration du glutathion dans les échantillons des sites de *Sidi Amar* et *Dréan* (N=16).

Sites	<i>Sidi Amar</i>		<i>Dréan</i>	
	\bar{X}	S	\bar{X}	S
PT (g)	12.815	3.403	12.987	1.892
PHP (g)	0.618	0.199	0.756	0.231
PAR (g)	0.008	0.007	0.008	0.005
[GSH] HP (mol./l.)	2.673×10^{-6}	0.946×10^{-6}	2.272×10^{-6}	1.126×10^{-6}
[GSH] AR (mol./l.)	4.72×10^{-6}	1.515×10^{-6}	3.749×10^{-6}	1.703×10^{-6}

\bar{X} : Moyenne

S : écart type

PT : Poids Total de l'individu

PHP : Poids de l'Hépto-Pancréas

PAR : Poids de l'Appareil Reproducteur

[GSH] HP : Concentration du glutathion dans l'Hépto-Pancréas

[GSH] AR : Concentration du glutathion dans l'Appareil Reproducteur

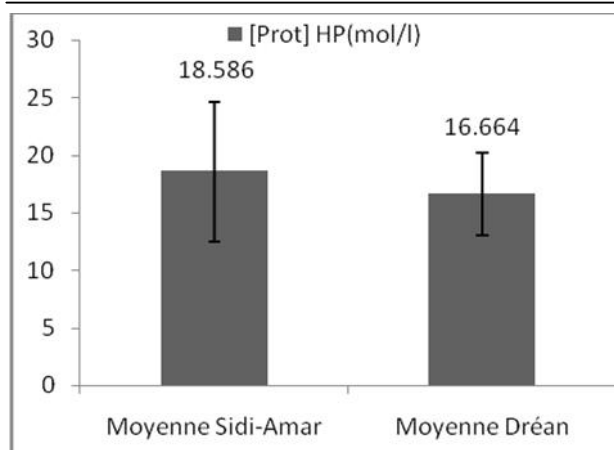


Figure 5. Concentrations moyennes des protéines (mol/l.) dans les hépatopancréas ([Prot.] HP) des échantillons des stations *Sidi Amar* et *Dréan* (N=16).

D'autre part, bien que le poids moyen des hépatopancréas des sujets de la station *Dréan* soit supérieur à celui du lot de la station *Sidi Amar* (Tab.1), les concentrations en glutathion et en protéines dans les hépatopancréas et l'appareil reproducteur sont plus importants dans les échantillons provenant de la station *Sidi Amar* (Fig.5) que dans les sujets de la station *Dréan*. Ces résultats sont révélateurs d'une forte pollution à proximité du complexe sidérurgique affectant la croissance d'*H.aspersa* alors que les spécimens de la station *Dréan* exhibent une meilleure croissance avec de faibles valeurs en glutathion et en protéines, caractérisant une faible influence de cette pollution dans les vergers, ce qui conforte le principe du caractère bioindicateur de pollution de cette espèce.

Les résultats, auxquels nous avons abouti, montrent que la concentration moyenne en protéines dans les hépatopancréas est plus élevée chez les individus provenant de la station *Sidi Amar* où l'on note la présence continue de poussières métalliques émises par le complexe sidérurgique d'El Hadjar [17, 18]. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de plusieurs auteurs qui ont mis en évidence une augmentation significative des taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique du fait que le glutathion constitue un facteur essentiel dans la défense contre le stress oxydant [32-33].

En effet, le glutathion (γ -glutamyl-cystéinyglycine) est le plus abondant Thiol non protéique libre dans les cellules. Il existe en équilibre sous deux formes, réduite (GSH) et oxydée (GSSG). La liaison γ -glutamyl ainsi que la fonction thiol du GSH confèrent au glutathion un grand nombre de fonctions dont le

transport des acides aminés, la synthèse des œstrogènes et des prostaglandines ainsi que la détoxification des métaux lourds par action directe. La forme réduite (GSH) intervient dans la détoxification grâce à son pouvoir réducteur [34].

Par conséquent, le rapport (GSH/GSSG) est un excellent indicateur dynamique du stress oxydant. Dans les cellules non stressées, 99% du glutathion est présent sous sa forme réduite (GSH) [35]. En effet, de nombreux métaux sont caractérisés par une forte affinité vis-à-vis des groupements thiols. Ils peuvent également réagir avec l'oxygène (O_2) et des radicaux libres responsables des lésions tissulaires importantes. Ceci souligne le rôle important du glutathion dans la gestion d'un stress métallique [36-38].

Ainsi, les poussières métalliques émises par les sources polluantes affectent fortement la plupart des fonctions vitales des végétaux (dont les lichens) et des animaux (Gastéropodes terrestres) [39-43]. *H.aspersa* est considéré comme l'un des bio-accumulateurs de métaux lourds les plus efficaces caractérisant les biotopes pollués [3]. La résistance d'*H.aspersa* dans ce type de biotopes résulte de sa capacité à retenir et inactiver les métaux soit par compartimentation intracellulaire ou excrétion, soit par liaison avec des protéines dont les métallothionéines qui ont un rôle protecteur des cellules contre les éléments-traces métalliques en se liant fortement aux métaux lourds, et permettant leur neutralisation et stockage durant de longues périodes [40].

La différence remarquable de densité moyenne de population d'*H.aspersa* entre la station *Sidi Amar* (18 spécimens/m²) et la station *Dréan* (112 individus/m²) est certainement le résultat d'une plus abondante végétation et de meilleures conditions de croissance et reproduction en zone agricole et ce malgré les mesures phytosanitaires appliquées dans la protection des vergers à orangers et citronniers. En effet, il est indiqué que les mauvaises herbes constituent le principal réservoir d'hélicidés dans les vergers à citronniers [41].

D'autre part, les différences morphométriques relevées entre les deux stations sont aussi la conséquence de la nature des sols, de la végétation et des effets toxiques des métaux lourds sur les organismes vivants comme indiqué par plusieurs auteurs [42, 43]. Il faut souligner qu'au niveau de la station *Sidi Amar*, l'environnement est continuellement soumis à des dépôts de poussières polluantes provenant

du complexe sidérurgique d'El Hadjar et ce depuis des décennies [17-20].

Pour Notten *et al.* [43], dans des zones à pollution chronique par les métaux lourds les escargots vivants ne pondent pas d'œufs. Une exposition chronique se traduit par la concentration de métaux lourds au niveau de la coquille, des muscles et du tube digestif et peut avoir des conséquences négatives sur la croissance, voire entraîner la mort des escargots par famine [44].

Ces données sont essentielles pour comprendre la faible densité de population enregistrée dans la station *Sidi Amar*. En conséquence, la station *Dréan*, localisée en zone agricole et à 20km du complexe sidérurgique d'El Hadjar, conserve son caractère de zone moins polluée. Nous pouvons confirmer, à travers l'ensemble de nos résultats que le gastéropode *Helix aspersa* connaît une profusion, une croissance et un cycle de reproduction plus importants dans la station *Dréan* que dans la station *Sidi Amar* où sa croissance et son abondance sont fortement compromises en raison de la proximité du complexe sidérurgique et de ses émissions polluantes.

Les rejets industriels dans la région d'Annaba mènent à une kyrielle de situations d'expositions aux contaminants physico-chimiques. Les conséquences de ces émanations sur la santé humaine et animale sont parfois difficilement quantifiables d'une manière scientifique nette. Elles sont très variables selon la nature des polluants, l'intensité, la durée de l'exposition et les facteurs abiotiques et biotiques qui influent indubitablement sur la qualité de l'air. De ce fait, ce type d'études écotoxicologiques utilisant des bioindicateurs tels le Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*) ou le Ver de terre (*Lumbricus terrestris*), considérés sensibles (véritables thermomètres de la pollution des milieux aériens et édaphiques) seraient d'un grand apport pour la compréhension de la relation entre l'exposition aux polluants et la survenue marquante et quantifiable de leurs effets.

5. CONCLUSION

La biométrie du Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*) fait ressortir une différence nette entre les résultats des mensurations des échantillons provenant de ces deux stations avec un avantage de croissance en faveur des spécimens de la station *Dréan*. Par ailleurs les concentrations en glutathion et en protéines

dans les hépatopancréas et l'appareil reproducteur sont plus importants dans les échantillons provenant de la station *Sidi Amar* que chez les spécimens de la station *Dréan*. Il serait gageur de notre part d'affirmer que les perturbations métaboliques survenues soient directement liées à une exposition prolongée aux différents polluants, car en effet, d'autres facteurs peuvent y intervenir tels que la variabilité intra-spécifique, la nourriture des escargots ainsi que les facteurs édapho-climatiques qui sont prépondérants.

Il serait judicieux d'investiguer, de manière plus élargie, la problématique de cette étude en abordant les niveaux quantitatifs et qualitatifs des polluants sur la végétation de prédilection et l'espèce *H. aspersa* à différents rayons d'éloignements du complexe sidérurgique d'El Hadjar. Une telle éventualité permettrait de dresser une carte des niveaux de pollution et d'évaluer les impacts de la pollution sidérurgique sur la flore et la faune à même de projeter des mesures conservatoires de la biodiversité régionale.

REFERENCES

- [1] Gomot de Vaufleury A. & Pihan F., 2000. Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40, (3), 275 – 284.
- [2] Berger B. & Dallinger R., 1993. Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. Institut für Zoologie der Universität Innsbruck, Austria, 20 p.
- [3] De Vaufleury A. & Gomot A., 1998. Use of land snails to monitor environmental pollution. Laboratoire de Biologie et d'Écophysiologie, Besançon et Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie, Paris, France, 86 p.
- [4] Cortet J., Gomot de Vaufleury A., Poinot-Balaguer N., Gomot L., Texier C. & Cluzeau D., 1999. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35 (3), 115 – 134.
- [5] Halimi M., 2010. Rapport interne annuel. Association Nationale pour la Protection de l'Environnement et la lutte contre la Pollution, Wilaya d'Annaba, 30 p.
- [6] Madoz-Escande C., Querrec N. & Poncet-Bonnard D., 2005. Contamination of terrestrial gastropods *Helix aspersa maxima* with ¹³⁷Cs, ⁸⁵Sr, ¹³³Ba and ¹²³MTE by direct and trophic pathways. *Radioprotection*, 40, 429 – 435.

- [7] Damerdj, A., Ladjmi L. & Doumandji S., 2005. Malacofaune associée à *Rosmarinus officinalis* L. (*Labiatae*): Inventaire et aperçu bioécologique près de Mansourah (Tlemcen, Algérie). *Sciences & Technologie*, 23, 11 – 20.
- [8] Iglesias J. & Castillejo J., 1998. Field observations on feeding of the land snail *Helix aspersa* Müller. *Journal of Molluscan Studies, Oxford Journals, Life Sciences*, 65 (4), 411 – 423.
- [9] Hopkin S.P., 1989. Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science, London, 245 p.
- [10] Beeby A. & Richmond L., 2002. Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecological Indicators*, 1, 261 – 270.
- [11] Wekbeker G. & Cory G., 1988. Robo nucleotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemia 1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40, 257 – 264.
- [12] Bradford M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein. *Annals of Biochemistry*, 72, 278 – 254.
- [13] Grara, N., Boucenna M., Atilia A., Berrebbah H. & Djebbar M.R., 2012. Stress oxydatif des poussières métalliques du Complexe Sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environnement Risque Santé*, 11, 221 – 9.
- [14] Madoz-Escande C. & Simon O., 2006. Contamination of terrestrial gastropods, *Helix aspersa maxima*, with Cs¹³⁷, Sr⁸⁵, Ba¹³³ and Te¹²³ by direct, trophic and combine pathways. *Journal of Environmental Radioactivity*, 89, 1, 30 – 47.
- [15] Viard B., Maul A. & Pihan J.C., 2004. Standard use conditions of terrestrial gastropods in active bio-monitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6:103 – 107.
- [16] Notten M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J. & Aerts R., 2005. Heavy metal concentration in a soil-plant-snail food chain a terrestrial soil pollution gradient. *Environnemental pollution*, 138, 178 – 190.
- [17] Belhaouchet N., Djebbar M.R., Meksem L., Grara N., Zeriri I. & Berrebbah H., 2012. Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide : The Spinosad on an alternat model : *Helix aspersa*. *Journal of Applied Sciences Research*, 8, 4199 – 4206.
- [17] Grara N., 2011. Évaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*): cas des métaux. Thèse de Doctorat en Ecotoxicologie. Université Badji Mokhtar-Annaba. Algérie. 280p.
- [18] Ali-Khodja H. & Kebabi B., 1998. Assessment of wet and dry deposition of SO₂ attributable to a sulfuric acid plant at Annaba, Algeria. *Environment International*, 24 (7), 799 – 807.
- [19] Marzouki L., Medjeldi S., Aouani E. & Amri M., 2005. Évaluation des conséquences sanitaires de la pollution industrielle engendrée par un site sidérurgique en Algérie. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 66 (3) 219-225.
- [20] Maas S., Scheifler R., Benslama M., Crini N., Lucot E., Brahmia Z., Benyacoub S. & Giraudoux P., 2010. Spacial distribution of heavy metal concentrations in urban, suburban and agricultural soils in a Mediterranean city of Algeria. *Environmental Pollution*, 158 (6), 2294 – 2301.
- [21] Coughtrey P.J. & Martin M.H., 1976. The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* Müller. *Oecologia*, 23, 315 – 322.
- [22] Cook M., Jackson A., Nickless G. & Roberts D.J., 1979. Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Newsletter of Environmental Contamination and Toxicology*, 23, 445 – 451.
- [23] Dalling R. & Wieser W., 1984. Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79, 117 – 124.
- [24] Keller R., 1966. Glutathione. *American Journal of Gastroenterology*, 91, 2569 – 2573.
- [25] Meister A. & Anderson M.E., 1983. Glutathione. *Annual Reviews of Biochemistry*, 52, 711 – 760.
- [26] Chase R., 1986. Lessons from Snail Tentacles. *Chemical Senses*, 11, 4, 411 – 426.
- [27] Stiévenart C., 1990. Importance de la combinaison des paramètres poids vif et longueur de coquille pour l'appréciation de la croissance chez les escargots géants africains. Service de Production Animale Tropicale, Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Belgique, *Livestock Research for rural Development*, 2, 1 – 12.
- [28] Stiévenart C. & Hardouin J., 1990. Manuel d'élevage des escargots géants africains sous les tropiques. Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale, ACP/CEE, De Rietkampen, Pays-Bas, 32 p.
- [29] Huberty C.J., 1994. Applied discriminate analysis. Willey, New York, 466 p.
- [30] Dagnelie P., 2006. Statistiques théoriques et appliquées. Tome 2. Inférences à une et deux dimensions. Université De Boerk et Larcier, Bruxelles, 659 p.
- [31] Massaya M., Yoshinbu H., Ai Y., Maki & Yasuo O., 2002. Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their

- correlation with susceptibility to mercury. *Journal of phycology*, 13 : 977-983.
- [32] Redouane S., 2004. Effet des rejets métalliques des acières du complexe sidérurgique d'El Hadjar de Annaba sur un modèle cellulaire marin : *Tetraselmis suecica*. *Revue des Sciences et de la Technologie Synthèse*, 22, 121 – 124.
- [33] Tadjine A., 2007. Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, 104p.
- [34] Griffith O.W. & Mulcahy R.T., 1999. The enzyme of glutathione synthesis: Gamma-glutamyl cysteine synthetase. *Advances Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 73, 209 – 267.
- [35] Ji L.L., Fu R. & Mitchell E.W., 1992. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *Journal of Applied Physiology*, 73, 1854 – 1859.
- [36] Galaris D. & Evangelou A., 2002. The role of oxidative stress in mechanics of metal-induced carcinogenesis, *Critical Reviews in Oncology Hematology*, 42 (1), 93 – 103.
- [37] Atlar M., Syed K., Hassan S.K. & Srivastava R.C., 1987. Evidence for the involvement of hydroxyl radicals in nickel mediated enhancement of lipid peroxydation: implication for nickel carcinogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 84, 1276 – 1281.
- [38] Christova T.Y., Gorneva A., Nickless G. & Roberts D.J., 2003. Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Bulletin of environmental Contamination and Toxicology*, 23, 445 – 451.
- [39] Le Bras G.J., 2007. Écotoxicologie et méthodes d'investigation du vivant. 3^{ème} éd., Belin, Paris, 983p.
- [40] INRA 2007. La protection des plantes. Des stratégies de lutte intégrée. Rapport d'activité des technologies pour le développement, Institut National de la Recherche Agronomique du royaume du Maroc. 32 pp.
- [41] Gomot A., 1997. Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 33, 209 – 216.
- [42] Odendaal J. P., Reinecke A. J., 2004. Effect of Metal Mixtures (Cd and Zn) on Body Weight in Terrestrial Isopods. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 377 – 384.
- [43] Notten M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J., & Aerts R. Oosthoek A.J.P., J. Rozema J. & Aerts R., 2006. Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the land snail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology*. Vol. 15 (3), 295-304.
- [44] Laskowski R. & Hopkin S.P., 1996. Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on Fitness in Snails (*Helix aspersa*). *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 34, 59 – 69.
- [45] Schwarz T., 2014. Climats: Dréan & Annaba - Diagramme climatiques, Courbe de températures, Tables climatiques. Consultés en ligne le : 14 janvier 2014 à l'url : <http://fr.climate-data.org/country>.