

الجمهورية رية الجزائرية الديموقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
جامعة محمد البشير الابراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

# Mémoire

## En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Sciences Biologiques Spécialité : Toxicologie

**Intitulé:** 

Évaluation de la toxicité d'une mixture de pesticides à l'égard d'une espèce non visée *Helix aspersa* 

### Présenté par :

BENBOUH Fella & BENDIAF Nouara

Soutenu le: 07/2022, Devant le jury:

Président Diafat Abdelouaheb MCA Université de BBA.

**Encadrant** Benradia Hamida MCB Université de BBA.

Examinateur Mezdour Hichem MCB Université de BBA.

Année universitaire: 2021/2022

#### Résumés

#### Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet d'un mélange de deux insecticides : l'acétamipride et la téfluthrine appartenant aux deux familles des néonicotinoïdes, et des pyréthrinoïdes respectivement sur un organisme bioaccumulateur et bioindicateur de pollution de l'environnement l'escargot *Helix aspersa*. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique de 21 jours. La toxicité des insecticides est déterminée chez l'escargot *Helix aspersa* grâce à un biotest réalisé au laboratoire sur des animaux exposés aux concentrations suivantes ( $C_{Acét} = 20 \text{mg} / L$ ,  $C_{Téf} = 10 \text{mg} / L$ ) et un lot traité par le mélange de ces deux derniers.

Nos résultats mettent en évidence des perturbations physiologiques concernant le poids et le diamètre de la coquille des escargots traités. En plus une induction des activités enzymatiques de la catalase, de la GST, et une inhibition de l'activité de l'AChE ont été noté tout au long de la période de traitement.

Mots clés: Insecticides, Helix aspersa, toxicité, paramètres physiologiques, Catalase, GST, AChE.

#### **Abstract**

In this study we were interested in evaluating the effect of a mixture of two insecticides: acetamiprid and tefluthrin belonging to the two families of neonicotinoids, and pyrethroids respectively on a bio accumulator organism and bio indicator of environmental pollution snail *Helix aspersa*. This toxicity study lasted 21 day of treatment. The toxicity of insecticides is determined in the snail *Helix aspersa* due to a bio test carried out in the laboratory on animals exposed to the following concentrations ( $C_{Acet} = 20 \text{ mg/L}$ ,  $C_{Tef} = 10 \text{ mg/L}$ ) and a batch treated with a mixture of the latter two.

Our results showed a physiological disturbance concerning the weight and the diameter of the shell of the treated snails. In addition, the induction of catalase and GST enzymatic activities and an inhibition of AChE activity were noted throughout the treatment period.

**Keywords:** Insecticides, *Helix aspersa*, toxicity, physiological parameters, Catalase, GST, AChE.

#### ملخص:

في هذه الدراسة قمنا بتقييم تأثير خليط من إثنين من المبيدات الحشرية: أسيتاميبريد والتيفلوثرين ينتميان إلى عائلتين من مركبات النيونيكوتينويد ، والبيريثرويدات على التوالي على الكائن الحيوي المؤشر على التلوث البيئي الحلزون Helix aspersa تمت هذه الدراسة السمية خلال 21 يومًا. يتم تحديد سمية المبيدات الحشرية على الحلزون Helix aspersa عن طريق الاختبار الحيوي الذي تم إجراؤه في المختبر على الحيوانات المعرضة للتركيزات التالية  $(C_{Acét} = 20 \text{mg} / L \cdot C_{Téf} = 10 \text{mg} / L)$  و عينة معالجة بمزيج من هاذين الأخيرين.

النتائج المتحصل عليها، تشير إلى وجود إضطرابات فزيولوجية تتعلق بوزن الحيوان وقطر قشرة القواقع للحيوانات المعالجة بالإضافة إلى ذلك لوحظ تثبيط نشاط إنزيم الأستيل كولينستريز طوال فترة العلاج وزيادة الأنشطة الأنزيمية للكاتالاز، الجلوتاسيو ترووسفراز

الكلمات المفتاحية: المبيدات الحشرية ، اللولب الاسبرسا ، السمية ، البار امترات الفسيولوجية ، الكاتلاز ، أستيل كولين استراز ، الجلو تاسبو تروو سفر از

## Remerciements

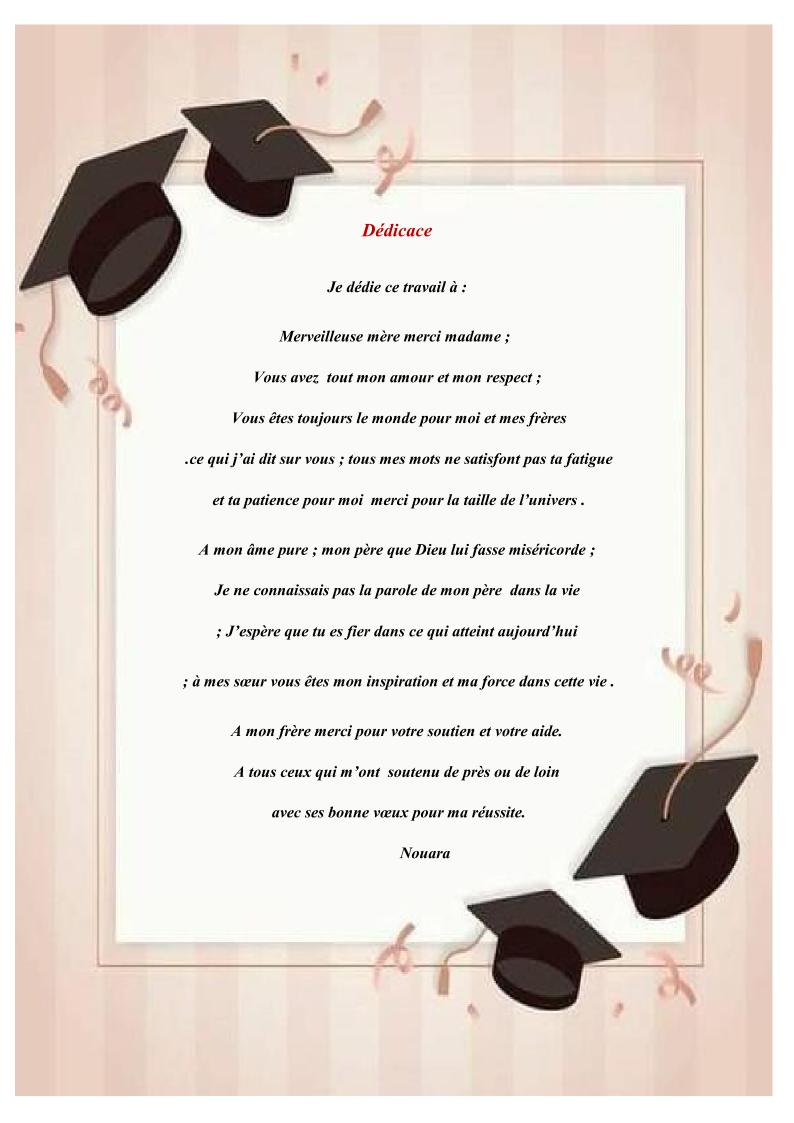
Nous remercions Dieu Tout -Puissant de nous avoir donné la volanté et la santé pour commencer et terminer ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements et notre gratitude à la superviseure Mme Ben Radia Hamida sans qui ce travail n'aurait pas été riche. Merci pour votre qualité exceptionnelle d'encadrement, de patience et de rigueur à notre égard.

Nous remercions Mr. Diafat Abdelouahab et Mr.Mezdour Hicham faire partie du jury de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre entière reconnaissance leur contribution à la promotion de notre travail

Nous on profitons pour remercier toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'études.





## Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d'abréviation	
1. Introduction	01
2.Materièl & méthodes	02
2.1. Matériel	03
2.1.1. Description de matériel biologique l'escargot Helix aspersa	03
2.1.2. Morphologie et Anatomie interne	04
2.1.3. Reproduction.	06
2.1.4. Rythme d'activité.	07
2.1.5. Intérêt écotoxicologues.	07
2.2. Choix d'insecticides	08
2.2.1. Acitamipride	08
2.2.2. Tefluthrine	09
2.3. Site d'échantillonnage	10
2.4. Elevage au laboratoire	10
2.5. Méthode de Traitement	10
2.6. Prélèvement des échantillons.	11
2.7. Dosage des protéines	11
2.8. Dosage des activités enzymatiques	11
2.8.1. L'activité spécifique de la glutathion-S-transférase (GST)	11
2.8.2. L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)	12
2.8.3. L'activité spécifique de la catalase (CAT)	13
2.9. Analyse statistique	14
3. Résultats	15
3.1. Paramètres physiologiques	15
3.1.1. Poids	15
3.1.2. Diamètre de la coquille	15
3.1.2.1. Largeur de la coquille	15
3.1.2.1. Hauteur de la coquille	16
3.2. Activité spécifique de la catalase	18
3.3. Activité spécifique de GST	19
3.4. Activité spécifique de AchE	20
4. Discussion	21

4.1 Effet des insecticides sur les paramètres physiologiques chez l'escargot	21
4.2. Effet des insecticides sur l'activité enzymatique chez l'escargot	22
4.2.1. La catalase	22
4.2.2. La glutathion S-transférase	23
4.2.3. L'acétylcholinestérase	23
5. Conclusion	25
6. Références bibliographiques	27
Annexes	
Résumés	

## Liste des tableaux

N	Titre	Page
I	Classification et taxonomie de petit Gris Helix aspersa	03
П	Principales caractéristiques de l'acétamipride (Testud, 2014).	09
III	Répartition des lots & traitement	11
IV	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét = 20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur le poids d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 28 jours (n= 3, m± SD).	15
V	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf= 10 mg/L) sur la largeur de la coquille d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).	16
VI	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét = 20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) sur la hauteur de la coquille d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).	17

## Liste des figures

N	Titre	Page
1	L'escargot Helix aspersa. (Bonnet et al., 2018).	03
2	Anatomie de l'escargot Helix aspersa.	06
3	Accouplement d'Helix aspersa	06
4	Structure chimique de l'acétamipride	08
5	Structure chimique de la téfluthrine	10
6	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de la catalase d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).	18
7	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de la glutathion S-transférase d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).	19
8	Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de l' AChE d' <i>Helix aspersa</i> au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).	20
9	Les cibles principales des insecticides néonicotinoïdes et pyréthrinoïdes.	23

#### Liste d'abréviation

Acét Acétamipride

AChE L'acétylcholinestérase

**BBC** Bleu brillant de commassie

**BSA** Albumine de sérum de Bœuf

**CAT** Catalase

**GST** Glutathion S Transférase

MA Matière Active

**NaCl** Chlorure de sodium

**SCh** Thiocholine

**SNC** Système Nerveux central

**SNP** Système Nerveux Périphérique

**Téf** Téfluthrine



#### Introduction

Les activités anthropiques, poussées par les avancées technologiques, ont conduit à des augmentations des niveaux de contaminants dans l'environnement. Ainsi la pollution de l'environnement est devenue l'un des problèmes qui menace toutes formes de vie dans notre monde contemporain.

Actuellement, le secteur de l'agriculture est le plus gros consommateur (environ 85% de la production mondiale) de pesticides pour lutter chimiquement contre divers parasites. De plus, les pesticides sont également utilisés dans certaines activités de la santé publique pour lutter contre les maladies à transmission vectorielle et les plantes indésirables dans les aménagements paysagers ornementaux, les parcs et les jardins. Ils sont également utiles pour supprimer ou éviter la prolifération d'insectes, de parasites, de bactéries, de champignons et d'algues dans les équipements électriques, les réfrigérateurs, la peinture, les tapis, le papier, le carton et les matériaux d'emballage alimentaire **Gilden et al. (2010).** 

Après les dégâts environnementaux de 1970 provoqués par quelques groupes de pesticides; trois grandes familles d'insecticides ont dominé le marché: les organophosphorés, les organochlorés et les carbamates (Meyer, 1999; Wauchope et al., 2002). Néanmoins, la résistance aux ravageurs a limité leur utilisation ce qui un poussé les fabricants à se retourner vers la synthèse chimique de nouveaux groupes de pesticides qui seraient plus efficaces et moins toxiques pour l'environnement. En effet, ce passage a donné naissance à une nouvelle gamme comportant des pyréthrinoïdes et des néonicotinoïdes présentant une forte efficacité pesticide et une faible toxicité pour l'environnement (Wozniak et al., 1990; Masoumi, 2009).

Les néonicotinoïdes et les pyréthrinoïdes sont une classe de neuro-actifs insecticides. Ils ciblent le système nerveux des insectes causant paralysie. Ils sont systémiques et destinés à contrôler les insectes suceurs sur les cultures telles que les feuilles, légumes, agrumes, fruits à pépins, raisins, coton, cultures de choux et plantes ornementales (Ambrose, 2003). En Algérie, les deux types d'insecticides sont largement utilisés avec des précautions moindres tant dans le domaine de l'agriculture qu'à l'usage domestique, ce qui augmente leurs risques toxiques à long terme même s'ils sont exposés à de faibles doses (Beghoul et al., 2017; Chakroun et al., 2016).

Cependant, de nombreuses études antérieures ont montré que ces deux types insecticides sont toxiques pour l'organisme animal tant en exposition aigue qu'en chronique à de faibles doses, en provoquant une neuro-dégénérescence des cellules du cerveau, le dysfonctionnement de l'activité locomotive, l'apprentissage et la fonction de mémorisation (El Hassani et al., 2008). Néanmoins, d'autres études indiquent qu'ils sont actifs contre un large éventail de ravageurs des cultures économiquement importants. Leur large spectre entraîne des effets néfastes sur les populations d'abeilles, d'invertébrés aquatiques et de nombreuses espèces d'oiseaux (Guégan et al., 2017; Elbert et al., 2008).

Dans un mélange, les pesticides peuvent interagir entre eux et induire des effets synergiques. La base des interactions entre pesticides est un phénomène complexe impliquant un réseau de cibles et de mécanismes à différents niveaux, à l'échelle de la cellule et de l'organisme. Ainsi, la prédiction des effets cocktails est aujourd'hui difficile à réaliser, compte tenu de la diversité des effets des pesticides, des niveaux d'interactions et des capacités d'adaptation et de réponses biologiques de l'organisme (Gamet-Payrastre, 2020). Cependant, la documentation consultée dans cette étude n'a pas rapporté suffisamment d'informations sur les mécanismes d'action par lesquels l'acétamipride ou la téfluthrine, seuls ou en mixture, altèrent l'intégrité structurale et fonctionnelle des cellules cérébrales chez l'organisme animal, en particulier après une exposition à longue terme à des doses réalistes.

L'utilisation des invertébrés comme bioindicateurs de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques (Phillips, 1977) et terrestres (Eijsackers, 1983). Selon la définition générale de Spellerberg (2005), un indicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans lequel elle vit.

Plus récemment, les mollusques, grâce à leur capacité d'accumulation, ont été les premiers organismes sentinelles utilisés dans les programmes de surveillance de la contamination chimique des écosystèmes (Siest *et al.*, 1984). Parmi ces derniers, l'escargot qui a été largement utilisé en tant qu'organisme renseignent sur l'état et le fonctionnement d'un écosystème (Joëlle, 2015).

C'est dans ce contexte, nous avons réalisé une étude expérimentale afin d'évaluer l'effet de deux insecticides utilisés à large spectre en Algérie à l'égard d'une espèce non visée l'escargot *Helix aspersa*.



#### 2. Matériel et méthodes

#### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Description du matériel biologique : L'escargot Helix Aspersa

Connu sous le nom de « Petit Gris », *Helix aspersa* est un mollusque gastéropodes pulmoné, sa coquille, est de couleur brun jaunâtre très répandu en Europe en particulier dans les régions méditerranéennes et océanique. (**Grara et al, 2012**).

- ✓ Il se nourrit des plantes et peut être comme une peste dans les jardins (Pauget, 2012).
- ✓ Il se déplace grâce à son pied, en secrétant de la bave pour mieux glisser.
- ✓ L'escargot a de nombreuses utilisations : il est utilisé à des fins commerciales (denrée alimentaire) ou dans le domaine de la cosmétique (crèmes, gels...), Il peut aussi être élevé comme animal de compagnie.



Figure 01. L'escargot Helix aspersa (Bonnet et al., 2018).

**Classification :** Selon (Barker, 2001) la position systématique est la suivante :

Tableau I. Classification et taxonomie de petit Gris Helix aspersa

Règne	Animal
Embranchement	Mollusques
Classe	Gastéropodes
Ordre	Stylommatophores
Famille	Helicidaes
Genre	Helix
Espèce	Aspersa

#### 2.1.2. Morphologie & anatomie interne d'Helix aspersa

L'escargot possède une coquille pouvant contenir tout le corps de l'animal. Lorsqu'il est en extension, seul le pied apparait, la masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columéllaire (Bonnet et al., 1990 ; Pirame., 2003).

L'escargot *Helix aspersa* ou petit gris appartient aux Mollusques Pulmonés chez lesquels la cavité palléale joue le rôle d'un poumon et permet de respirer l'oxygène gazeux chez des représentants de ce groupe d'origine marine (**Beaumont & Cassier.**, 1998)

#### > Coquille

Elle a un aspect extérieur de forme globulaire et spiralée, enroulé en spirale autour d'un axe le plus souvent dextre. Cependant, ses tours les plus anciens forment le sommet du cône appelé apex, ensuite les tours s'unissent les uns aux autres pour former un sillon appelé suture, alors que le dernier tour aboutit à l'ouverture limitée par le péristome de la spire (ensemble de tous les autres tours) (Dallinger et al., (2001)

#### > Le corps

Le corps d'un escargot est constitué d'un pied unique, d'une tête et d'une masse viscérale enroulée qui est placée à l'intérieur de la coquille.

#### > Le pied

Un organe qui soutient le corps et permet à l'escargot de progresser par reptation. Sa partie inferieure contient des glandes qui secrètent le mucus de façon continue, créant ainsi une trace évidente brillante derrière lui (Beeby & Richmond., 2011).

#### ➤ La tête

Possède deux paires de tentacules rétractiles, appelées « cornes » ou « antennes » dans le langage familier. Dans la partie supérieure de la tête la première paire de « cornes » abrite les yeux mais la vue est un sens peu utilisé. Ils possèdent surtout un bulbe olfactif sous l'œil.

Dans la deuxième paire de tentacules il y a un organe olfactif et tactile (épithélium) qui est en revanche très utilisé par l'escargot. Son corps comporte un orifice génital impair situé en arrière des tentacules, sur le côté droit de la tête, cet orifice assure une double fonction sexuelle mâle et femelle. Alors qu'en position antéro-ventrale, on observe la bouche médiane, entourée de quatre lèvres et pourvue d'une mâchoire supérieure cornée (Michel, 1979).

#### > Le système digestif

La bouche se prolonge par ce qu'on appelle le bulbe buccal en formant l'œsophage. Ce dernier se termine par l'estomac. L'estomac se prolonge à son tour et forme l'intestin (**Pirame, 2003**)

#### > Le système nerveux

Le système nerveux d'Helix aspersa est constitué de deux systèmes

*Un Système nerveux sympathique* : constitué d'une paire de ganglions buccaux qui se trouve sous le bulbe buccal et une paire de ganglions cérébroïdes qui sont reliés entre eux par deux cordons nerveux.

Un Système nerveux central: il se localise dans la région céphalique est constitué d'une chaine de ganglions (Pirame, 2003).

#### > Le système circulatoire

Son système circulatoire est constitué d'un cœur constitué d'une seule oreillette et un ventricule (**Pirame, 2003**). De l'hémolymphe : c'est le liquide physiologique *d'Helix aspersa* ainsi que d'autres mollusques terrestres et marins. L'hémolymphe circule dans un système veineux et un autre Artériel. Il est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. Il contient un pigment appelé l'hémocyanine et des cellules appelées " hémolyses" (**Van Holde & Miller., 1995**; **Adamowicz & Bolaczek., 2003**).

#### > L'appareil reproducteur

L'escargot est un animal hermaphrodite ; son appareil génital est formé d'une gonade (ovotestis) : un lieu de formation des cellules sexuelles mâles et femelles (Ovule et spermatozoïde). Un canal hermaphrodite : dont le rôle est l'évacuation des gamètes. L'albumine : une glande blanchâtre dont le rôle est l'élaboration des réserves vitelline, et un ovo-spermiducte (**Pirame, 2003**).

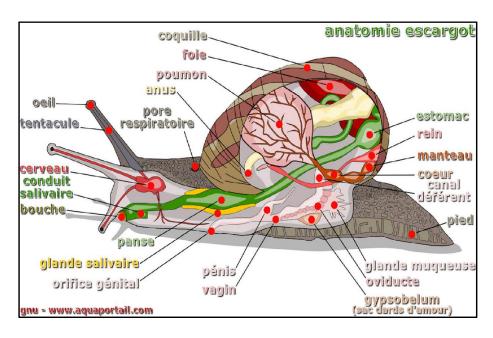


Figure 02. Anatomie de l'escargot *Helix aspersa*. www.aquaportail.com

#### 2.1.3. Reproduction

Helix aspersa sont des escargots hermaphrodites, ce qui signifie qu'ils ont des lignées reproductrices mâles et femelles et que les deux partenaires travaillent en même temps et que l'accouplement a lieu la nuit.

Après deux semaines d'accouplement, les œufs sont pondus dans des trous sous la terre et ils les recouvrent de terre. Les œufs se développent au bout de quinze jours, puis éclosent pour remonter à la surface puis mettent encore cinq jours pour que l'on puisse voir les petits escargots. (Zaafour, 2014).



Figure 03. Accouplement d'Helix aspersa (Buron-Mousseau., 2014).

#### 2.1.4. Rythme d'activité

L'escargot est un animale nocturne. Il se synchronise avec la photopériode naturelle et débute son activité au coucher du soleil avec un maximum six heures après celui-ci. Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse (Bailey, 1981). Lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables ils restent à l'intérieur de leurs coquilles. Leur cycle de vie est marqué par deux phénomènes :

- Estivation : est activée lorsque les conditions sont défavorables à la vie active, c'est-àdire Que le climat est trop chaud ou trop sec.
- ➤ Hibernation : les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol ou la litière et secrètent un épiphragme d'hiver lorsque la température moyenne devient inférieure à 15°C.

#### 2.1.5. Intérêt écotoxicologique de l'escargot Helix aspersa

L'écotoxicologie a une importance primordiale pour l'évaluation de la qualité des biomes et écosystème. Elle s'intéresse surtout aux interactions entre les différents produits chimiques répandus dans l'environnement et le biotope dans plusieurs domaines, ainsi, grâce à ses caractéristiques de puissant bio-indicateur et bio-accumulateur, l'escargot *Helix aspersa* est utilisé comme échantillon ou témoin pour vérifier l'écotoxicité de l'environnement (Muller.,1774). En effet, l'escargot est en contact permanent avec plusieurs contaminants ou polluants qu'il absorbe par diverses voies respiratoire, digestive ou transcutanée (Gomot & Pihan., 2000). Il peut, aussi, accumuler dans sa coquille des métaux toxiques tel que le plomb et d'autres toxique selon la littérature (Beeby & Richmond., 2011).

#### 2.2. Choix des insecticides

Dans cette étude, nous avons utilisés deux types d'insecticides : la téfluthrine et l'acétamipride.

#### 2.2.1 Acétamipride

C'est l'insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes. Il compte parmi les insecticides les plus utilisé au monde, en Algérie notamment (**Terayma** *et al.*, **2016**). Il est commercialisé sous le nom de Rustilan contenant 20% de matière active (MA). Son mécanisme d'action est l'inhibition irréversible sur l'acétylcholine Estérase.

Les insecticides de type néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine, qui est un alcaloïde naturel extrait des feuilles de tabac, utilisée depuis des siècles comme insecticide (**Jeschke** *et al.*, **2011**). L'acétamipride est surtout utilisé pour lutter contre les insectes piqueurs-suceurs (thrips, mouche blanche, cicadelles, cochenilles, pucerons) et les mineuses sur les principales cultures maraîchères (tomate, aubergine, courge, melon, poivron, ...).

<u>Figure 04.</u> Structure chimique de l'acétamipride. <u>www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ffr-academic.com</u>

#### 2.2.1.1 Caractéristiques physico-chimiques de l'acétamipride

Les préparations commerciales de l'acétamipride se présentent sous forme de concentrés solubles (5, 10, 20, 50, 75 ou 95% de substance active), poudres mouillables ou granulés dispersibles dans l'eau. Dans certaines formulations liquides, l'insecticide est en solution dans un solvant organique (Couteux et Lejeune, 2012; Testud, 2014). Le tableau II récapitule l'essentiel des propriétés physico-chimiques et biologiques de l'acétamipride.

Tableau II. Principales caractéristiques de l'acétamipride (Testud, 2014).

Nom chimique	(E)-N-[(6-Chloro-3-pyridinyl) méthyl]-N'-cyano-N-	
	méthyléthanimid	
Propriétés	Poudre blanche peu hydrosoluble (3 à 4 g/L selon pH) et	
physicochimiques	non volatile (tension de vapeur < 1 μPa à 25°C).	
Persistance d'action	Demi-vie sur le sol comprise entre 1 et 8 jours.	
Teneurs max en résidus	0,01 à 5mg/kg selon le type de culture	
dans les denrées		
NOAEL	7 mg/kg/jour	
DJA 70 μg/kg/jour pour l'homme		
DL50	195 mg/kg par voie orale. >2000 mg/kg par voie dermale	
	chez le rat	

#### 2.2.2. Tefluthrine

Commercialisée sous le nom de Force à 1,5 % de MA, est un insecticide appartenant à la famille des pyréthrinöides il se présente sous forme de petits granules, agit principalement au contact des insectes à faible dose (ACTA, 2021). Il est utilisé pour la suppression de la chrysomèle des racines du maïs : le vert gris-noir, les larves de taupin et la mouche des semis dans les cultures de maïs. Son mécanisme d'action est un modulateur du canal ionique sodium. Action toxique au niveau des axones par interférence avec le fonctionnement du canal sodium, au niveau du SNC et du SNP, par stimulation de décharges nerveuses à répétition causant la paralysie.

Sa formule chimique développée selon IUPAC : (2,3,5,6-tetrafluoro-4-methylphenyl) methyl3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propenyl) -2,2 dimethyl cyclopropane carboxylate.

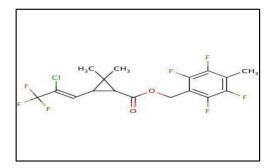


Figure 05. Structure chimique de la téfluthrine. www.scbt.com%2Ffr%2Fp%2Ftefl

#### 2.3. Site d'échantillonnage

Les escargots utilisés dans notre étude ont été échantillonnés au niveau de la région « Zmala » de la commune de Bordj L'ghdir située à 27Km du sud de la ville de Borj Bou Arreridj.

#### 2.4. Élevage au laboratoire

L'élevage a été réalisé au niveau du laboratoire de Zoologie, faculté SNV. Les escargots utilisés dans cette étude sont des adultes pesants entre 08g à 10g. Les animaux sont répartis dans des boites transparentes, avec couvercle perforé (tulles), et chaque boite contient une éponge humide pour maintenir l'humidité, les escargots sont nourris exclusivement de feuilles de laitue fraiche. Les cristallisoirs sont nettoyés régulièrement tous les trois semaines. L'élevage des escargots est réalisé dans des conditions d'environnement optimales suivantes : photopériode 18 h de lumière par 24 h, 20°C.

#### 2.5. Méthode de traitement

Les escargots sont répartis en 4 lots de 15 escargots pour chaque traitement et un lot témoin. Le traitement aux deux insecticides a été effectué par voie topique sur les escargots qui consiste à appliquer 60  $\mu$ L d'une solution préalablement préparée à partir de la matière active de l'acétamipride et de la téfluthrine respectivement à partir des concentrations suivantes : ( $C_{Acétamipride} = 20 \text{mg/L}$ ;  $C_{Téfluthrine} = 10 \text{mg/L}$ ) rassemblées à partir des travaux scientifiques ultérieurs. Ainsi, le traitement est appliqué une fois par jour sur la surface du corps de l'escargot à l'intérieur de la coquille en utilisant une micropipette. Les trois temps retenus du traitement sont 7, 14, et 21 jours.

La répartition et le traitement des animaux sont récapitulés dans le tableau III et illustrés comme suit :

<u>Tableau III.</u> Répartition des lots & traitement

Lots	Traitement	
Témoin	Escargots témoins non traités	
Lot 2	Escargots traités avec 60µl d'Acétamipride	
Lot 3	Escargots traités avec 60µl de Téfluthrine	
Lot 4	Escargots traités par un mélange de (30µl d'Acétamipride et 30µl de Téfluthrine)	

#### 2.6. Prélèvement des échantillons

Avant la dissection le poids et la taille de la coquille sont mesurés à l'aide d'une balance à précision et d'un pied à coulisse, après la dissection l'hépatopancréas et un fragment de la tête sont prélevés pour le dosage des activités enzymatiques : la catalase, GST, et l'AChE respectivement.

#### 2.7. Le dosage des protéines

Selon la méthode de **Bradford (1976)** ; qui utilise le bleu brillant de commassie G 250 (BBC) comme réactif et une solution mère d'albumine de sérum de Bœuf (BSA) comme protéine standard. Dont la lecture des absorbances est obtenue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

#### 2.8. Dosage des activités enzymatiques

#### 2.8.1. L'activité spécifique de la glutathion-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig** *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH). Les échantillons (chair) sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/mn pendant 30 mn et le surnageant récupèré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon

phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est réalisée dans un spectrophomètre visible /UV (WPA). Elle est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

Activité de la GST 
$$(\mu \text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta DO/mn}{e} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{ mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ( $\mu$ M/mn/mg de protéines).  $\Delta$  Do: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps. e:9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

Vt: volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs: volume du surnageant dans la cuve: 0,2 ml.

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

#### 2.8.2. L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le dosage de l'AChE a été effectué selon la méthode d'Ellman et al. (1961) décrite précédemment par Sifi et al., (2007). Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm. La mise au point d'un réactif spécifique des groupements thiols, le DTNB a permis la réalisation d'un protocole qui utilise comme substrat de la réaction un dérivé soufré de l'acétylcholine, dont l'hydrolyse libère des groupements sulfhydriques quantifiable par spectrophotométrie. Le principe de la réaction est décrit ci-après :

Les fragments de tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N' tétra acétique), 1ml Triton X 100% 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)] à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrasons, puis centrifugés (9000 tours /mn pendant 15 mn) ; le surnageant récupéré servira pour la mesure de l'activité de l'AChE. Celle-ci est déterminée comme suit :

Une fraction aliquote de 100 µl de surnageant sont additionnées à 100 µl de DTNB (0,1 M, pH 8) [(39,6 mg de DTNB, 15 mg CO3HNa) dans 10 ml du Tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml du tampon Tris (0,1 M, pH 7) ; 3 à 5 minutes sont nécessaires pour épuiser la réaction spontanée. 100 µl du substrat Acétylthiocholine iodide (118 mg d'acétylthiocholine dans 5 ml d'eau

distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 mn contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente. Les résultats obtenus ont été exprimés en μM/mn/mg de protéines.

Activité de AChE
$$(\mu \text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta DO/mn}{e} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ( $\mu M/mn/mg$  de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

e: 1,36 x 104 : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M-1 cm-1).

 $Vt: volume\ total\ dans\ la\ cuve: 1,3\ ml\ [0,1\ ml\ surnageant\ +\ 0,1\ ml\ DTNB\ +\ 1\ ml\ tampon\ tris\ (0,1)$ 

M, pH 7) + 0,1 ml  $ac\acute{e}tylthiocholine$ ].

Vs : volume du surnageant dans la cuve: 0,1 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

#### 2.8.3. L'activité spécifique de la catalase

L'activité catalase (CAT) est mesurée à 240 nm par la variation de la densité optique suite à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H2O2) en faisant réagir dans 750 µl du tampon phosphate (100 Mm. pH 7,5), 200 µl de H2O2 (500mM) sur 50 µl d'homogénat à 25°C pendant 30 secondes avec un intervalle de 15 secondes. Il est important de mettre le même temps entre le pipetage et le moment de la lecture. Le coefficient d'extinction de l'eau oxygénée à 240 nm est de 0.040 cm7. mmole7. Les résultats sont exprimés en µmol par minute et par mg de protéines.

L'activité catalase est calculée par la formule suivante :

DO est la densité optique et 0,040 est le coefficient d'extinction de l'eau oxygénée.

#### 2.9. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne arithmétique plus ou moins l'écart type ( $m \pm SD$ ). L'étude statistique est réalisée à l'aide du logiciel graphpad prism d'analyse et de traitement statistique des données version 8 pour Windows (GraphPad software, La Jolla California, USA, www Graphpad. com).

Les résultats obtenus ont subi différents tests statistiques : le test t de Student, et une analyse de la variance à deux critères de classification. De plus, le test HSD (Honest significative différence) de Tukey nous a permis de classer les différentes moyennes.

# Résultats et Discussion

#### 3.Résultats

# 3.1. Impact des deux insecticides sur les paramètres physiologiques d'*Helix aspersa* 3.1.1. Le poids

Chez les témoins, le poids initial des escargots est de l'ordre de  $8,36 \pm 1,03$  g, après 21 jours ce dernier atteint la valeur de  $12,07 \pm 2,11$  g. Le traitement à l'acétamipride et à la téfluthrine avec les deux concentrations ( $C_{Ac\acute{e}t}$  =20 mg/L ;  $C_{T\acute{e}f}$ = 10 mg/L) respectivement provoque une diminution du poids des escargots à partir du  $21^{\grave{e}me}$  jour du traitement ou les poids enregistrés sont de l'ordre  $9,75 \pm 1,82$  g ;  $10,75 \pm 2,22$  g,  $10,75 \pm 2,22$  g respectivement par apport aux témoins qui de  $12,07 \pm 2,11$ g (Tableau. IV).

L'analyse de la variance à deux critères montre aucun effet significatif du traitement (P=0,0718), et sans aucun effet significatif par apport au temps (P=0,40).

<u>Tableau IV.</u> Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét = 20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur le poids d'*Helix aspersa* au cours de 28 jours (n= 3, m± SD).

Poids (g)	<b>7</b> J	14J	<b>21</b> J
Témoins	$11,78 \pm 0,68$ a A	11,46 ± 1,12 <mark>a</mark> A	12,07 ± 2,11 <mark>a</mark> A
Acétamipride	$11.9 \pm 0.66 \text{ a}$ A	$11,7 \pm 0,72 \text{ a'}$ A	9,75 ± 1,82 <b>b</b> B
Téfluthrine	$11,13 \pm 0,31 \text{ a}$ A	11,83 ± 1,50 <b>a</b> A	$10,75 \pm 2,22 \frac{a}{B}$
Mixture	11,59 ±0,70 <b>a</b> <b>A</b>	$11.8 \pm 0.70 \text{ a}$	11,5 ± 2,24 <b>a</b> AB

- Les moyennes suivies d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les trois temps au sein du même lot.
- Les moyennes suivies d'une même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les lots saisons au sein du même temps. (Comparaison: test HSD de Tukey).

#### 3.1.2. Diamètre de la coquille

#### 3.1.2.1. Largeur

L'évolution du diamètre de la largeur de la coquille des escargots Helix aspersa traites par l'acétamipride et à la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf= 10 mg/L) respectivement est sans aucune signification par apport aux témoins au cours du traitement. Au début du traitement, les valeurs enregistrées du diamètre de la largeur des

escargots traités sont  $(3 \pm 0,00 \text{ cm})$  avec la téfluthrine et du lot de la mixture ; et de  $(3,17 \pm 0,29 \text{ cm})$  ceux traités par l'acétamipride par apport aux témoins ou la valeur enregistrée est de  $(3,00 \pm 0,00 \text{ cm})$ . Chez ces derniers la largeur de la coquille atteint  $3,17 \pm 0,29 \text{ cm}$  chez les traités et de  $3,5 \pm 0,00 \text{ cm}$  chez les témoins au bout de 21 jours (Tableau V).

L'analyse de la variance à deux critères montre un effet hautement significatif du traitement (P=0,0006), et un effet hautement significatif par apport au temps (P=0,0006).

<u>Tableau V.</u> Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét =20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur la largeur de la coquille d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

Largeur (cm)	<b>7</b> J	14J	21J
Témoins	$3,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$3,50 \pm 0,00 \text{ b}$ A	$3,50 \pm 0,00 \text{ b}$ A
Acétamipride	3,17 ± 0,29 <b>a</b>	$3,17 \pm 0,29$ <b>a B</b>	3,50 ±0,29 <b>b A</b>
Téfluthrine	$3,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$3,33 \pm 0,29 \text{ b}$ A	3,17 ±0,29 <b>ab</b> <b>B</b>
Mixture	$3,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$3,00 \pm 0,00 \text{ a}$ <b>B</b>	3,17 ±0,29 <b>a</b> <b>B</b>

- Les moyennes suivies d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les trois temps au sein du même lot.
- Les moyennes suivies d'une même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les lots saisons au sein du même temps. (Comparaison: test HSD de Tukey).

#### 3.1.2.2. Hauteur

L'évolution de la hauteur de la coquille est représentée dans. La hauteur des escargots Helix~aspersa traités par l'acétamipride et à la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf= 10 mg/L) respectivement, les valeurs enregistrées de la hauteur des escargots traités sont  $2,17\pm0,28$  cm ;  $2,00\pm0,00$  cm respectivement par apport aux témoins dont la valeur enregistrée est de  $2,00\pm0,00$  cm. Après 21 jours de traitement, les données enregistrées sont de l'ordre de  $2,33\pm0,28$  cm ;  $2,17\pm0,28$  cm et  $2,00\pm0,28$  cm respectivement par apport aux témoins  $2,50\pm0,00$  cm (Tableau VI).

L'analyse de la variance à deux critères montre un effet hautement significatif du traitement (P=0,007), et un effet significatif par apport au temps (P=0,01).

<u>Tableau VI.</u> Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét = 20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) sur la hauteur de la coquille d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

La hauteur (cm)	7J	14J	<b>21</b> J
Témoins	2,00 ± 0,00 <b>a</b> <b>A</b>	$2,50 \pm 0,00 \text{ b}$ A	2,50 ± 0,00 <b>b A</b>
Acétamipride	$2,17 \pm 0,28 \text{ a}$	$2,17 \pm 0,28$ <b>a AB</b>	$2,33 \pm 0,28$ <b>a</b>
Téfluthrine	$2,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$2,33 \pm 0,28 \mathbf{a}$ $\mathbf{AB}$	$2,17 \pm 0,28$ <b>a B</b>
Mixture	$2,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$2,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$2,00 \pm 0,28$ <b>a B</b>

- Les moyennes suivies d'une même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les trois temps au sein du même lot.
- Les moyennes suivies d'une même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes (p> 0,05) entre les lots saisons au sein du même temps. (Comparaison: test HSD de Tukey).

# 3.2. Impact des deux insecticides sur les activités enzymatiques spécifiques chez *Helix* aspersa

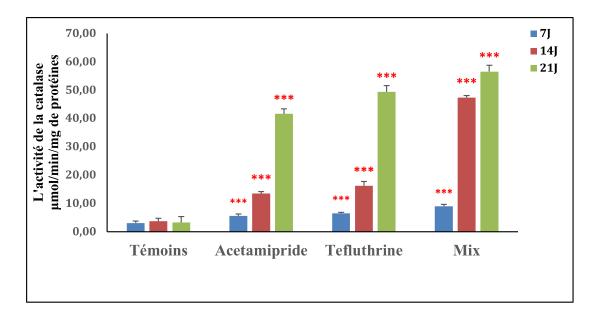
#### 3.2.1. Détermination de l'activité spécifique de la catalase

Le dosage de l'activité spécifique de la catalase est réalisé sur l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* pendant une période de traitement de 21 jours avec l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration ( $C_{Acét}$  =20 mg/L;  $C_{Téf}$  = 10 mg/L) et un lot traité par une mixture de ces deux derniers. Une augmentation de l'activité spécifique de la catalase est enregistrée avec les trois lots traités par l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration ( $C_{Acét}$  =20 mg/L;  $C_{Téf}$  = 10 mg/L) pendant les 21 jours du traitement par apport aux témoins.

Les valeurs enregistrées au  $7^{\text{ème}}$  jour chez les animaux traités sont de l'ordre de 5,58  $\pm$  0,85  $\mu$ mol/min/mg de protéines ; 6,50  $\pm$  1,36  $\mu$ mol/min/mg de protéines et 8,96  $\pm$  0,57  $\mu$ mol/min/mg de protéines respectivement par apport aux témoins ou la valeur enregistrée est de 0,06  $\pm$  0,003  $\mu$ mol/min/mg de protéines. A la fin du traitement, l'activité de la catalase atteint les valeurs suivantes : 41,58  $\pm$  1,82  $\mu$ mol/min/mg de protéines ; 49,39  $\pm$  2,22  $\mu$ mol/min/mg de protéines et 56,53  $\pm$  2,24  $\mu$ mol/min/mg de protéines respectivement chez les lots traités par l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét =20

mg/L ; CTéf = 10 mg/L) et un lot traité par une mixture de ces deux derniers par apport aux témoins ou la valeur enregistrée est de  $3.25 \pm 0.11$  µmol/min/mg de protéines (fig.06).

L'analyse de la variance à deux critères montre un effet très hautement significatif du traitement (P<0,0001), et un effet très hautement significatif par apport au temps (P<0,0001).



<u>Figure 06.</u> Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét = 20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de la catalase d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $p \le 0.05$  (\*); hautement significatives lorsque  $p \le 0.01$  (\*\*\*) et très hautement significatives lorsque  $p \le 0.001$  (\*\*\*).

#### 3.2.2. Détermination de l'activité spécifique de la glutathion S-transferase

Le dosage de l'activité spécifique de la glutathion s-transférase est réalisé sur l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* pendant une période de traitement de 21 jours avec l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) et un lot traité par une mixture de ces deux derniers.

Les données enregistrées au cours du traitement révèlent que l'activité de la GST chez les lots traités par les insecticides augmente de manière hautement significative (p< 0,001) l'acétamipride (0,03  $\pm$  0,001  $\mu$ M/mn/mg de protéines), téfluthrine (0,02  $\pm$  0,001  $\mu$ M/mn/mg de protéines) par rapport au témoins (0,01  $\pm$  0,001  $\mu$ M/mn/mg de protéines) enregistrées au cours du 7 ème jour.

Les résultats acquis au bout de 21 jours de traitement montrent une augmentation hautement significative (p< 0,001) de l'activité de la GST qui est de l'ordre de 0,05  $\pm$  0,001 et 0,05  $\pm$  0,003  $\mu$ M/mn/mg de protéines, respectivement, chez les individus l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét =20 mg/L ; CTéf = 10 mg/L) et 0,10  $\pm$  0,001  $\mu$ M/mn/mg de protéines ceux traité par une mixture de ces deux derniers, comparativement aux témoins qui enregistre une valeur de 0,01  $\pm$  0,001  $\mu$ M/mn/mg de protéines (fig.07 ).

L'analyse de la variance à deux critères montre un effet très hautement significatif du traitement (P<0,0001), et un effet très hautement significatif par apport au temps (P<0,0001).

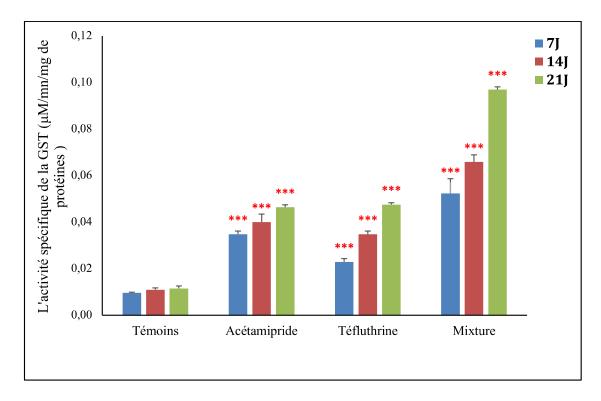


Figure 07. Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L ; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de la glutathion S-transférase d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $p \le 0.05$  (\*); hautement significatives lorsque  $p \le 0.01$  (\*\*\*) et très hautement significatives lorsque  $p \le 0.001$  (\*\*\*).

#### 3.2.3. Détermination de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est réalisé sur un fragment de la tête des escargots Helix aspersa pendant une période de traitement de 21 jours avec l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations ( $C_{Acét} = 20 \text{ mg/L}$ ;  $C_{Téf} = 10 \text{ mg/L}$ ) et un lot traité par une mixture de ces deux derniers.

Les données relatives enregistrés au 7 <sup>éme</sup> jour révèlent une activité maximale de l'ordre de  $0.95 \pm 0.009 \, \mu \text{M/mn/mg}$  de protéines chez témoins. Cette activité diminue de manière significative au niveau des individus traités par les deux insecticides l'acétamipride  $(0.81 \pm 0.08 \, \mu \text{M/mn/mg})$  de protéines), à la téfluthrine  $(0.81 \pm 0.09 \, \mu \text{M/mn/mg})$  de protéines) et chez ceux traités avec la mixture de ces deux derniers  $(0.76 \pm 0.01 \, \mu \text{M/mn/mg})$  de protéines) comparativement aux témoins. Quant au  $21^{\text{éme}}$  jour, une diminution hautement significative (p < 0.001) de l'activité spécifique de l'AChE avec les valeurs respectives de  $0.65 \pm 0.01, 0.87 \pm 0.01$  et  $0.46 \pm 0.02 \, \mu \text{M/mn/mg}$  de protéines est observée chez les escargots traités par rapport aux témoins qui est de l'ordre  $1.14 \pm 0.07 \, \mu \text{M/mn/mg}$  de protéines. (fig. 08).

L'analyse de la variance à deux critères montre un effet très hautement significatif du traitement (P<0,0001), et un effet très hautement significatif par apport au temps (P<0,0001).

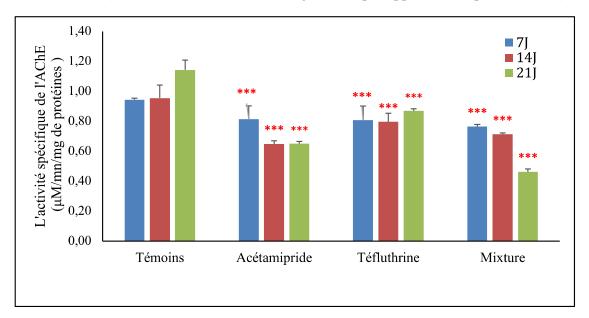


Figure 08. Effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentrations (CAcét =20 mg/L; CTéf = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase d'*Helix* aspersa au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $p \le 0.05$  (\*); hautement significatives lorsque  $p \le 0.01$  (\*\*) et très hautement significatives lorsque  $p \le 0.001$  (\*\*\*).

#### 4. Discussion

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotiques dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les pesticides et les produits phytosanitaires (**Michael** *et al.*, **2016**). Dans cette présente étude, nous nous sommes intéressés, présentation des effets neurotoxiques chez des escargots *Helix aspersa*, traités avec une mixture de deux types d'insecticides de familles différentes les néonicotinoïdes, et pyréthrinoïdes aux concentrations suivantes : (C<sub>Acétamipries</sub> = 20mg/L) et (C<sub>Téfluthrine</sub> =10mg/L), d'autres paramètres physiologiques et enzymologiques ont été traités dans ce travail.

# 4.1. Effet des insecticides sur les paramètres physiologiques chez l'escargot *Helix* aspersa

Les résultats que nous avons obtenu sur l'effet des deux insecticides sur le poids moyen des escargots ont montré une légère augmentation du poids des escargots au cours des premiers 14 jours après y'a eu une diminution du poids au cours de la dernière semaine du traitement par rapport aux témoins chez qui l'évolution du poids a été observée tout au long de la période du traitement. Nos résultats sont cohérents avec l'étude de **Ait Hamlet** *et al*, (2019) sur l'effet des Thiamétoxame et de la Tefluthrines sur les juvéniles d'escargots *Helix aspersa*, dans lequel nous avons observé une croissance continue des escargots qui ont été traités avec une concentration de téfluthrine pendant les trois semaines de traitement, qui a interprété la vitesse de récupération de la croissance des poids moyen; que la téfluthrine a l'effet inverse par rapport au thiamitoxame.

Aussi, nos résultats vont dans le sens des travaux de Coeurdassier et al. (2001), qui ont observé une diminution dose-dépendante de la croissance et de la survie des escargots induite par le diméthoate, cette perte de poids peut être expliquée par la diminution de la consommation alimentaire que nous ont observé en particulier chez des animaux traités par différentes concentrations. Également dans les travaux de Zouaghi et al. (2022) ont monté que le traitement par une mixture d'insecticides imidaclopride et acétamipride provoqué une diminution du poids moyen des escargots Hélix.aspersa.

Quant aux résultats obtenus par rapport à la taille de la coquille montrent une faible évolution chez les escargots traités par rapport aux témoins. Cela s'explique : il y a un effet mais non exagéré des pesticides sur les hormones de croissance des escargots.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Ait Hamlet** *et al*, (2019) qui ont obtenu un déclin de la croissance de la coquille sous l'effet des deux insecticides Thiamétoxame et de la Téfluthrine à l'égard des juvéniles des escargots *Helix aspersa*. Les résultats de (Smina, 2013) montre également une perturbation du diamètre des coquilles d'escargots après exposition au thiamétoxame (insecticide néonicotinoïdes) et à la téfluthrine (insecticide pyréthroïde), et ceux de (Grara *et al.*, 2015) qui ont montré une diminution du diamètre de la coquille en présence de poussière métallique.

Coeurdassier *et al.* (2009) ont indiqué qu'après une exposition pendant quatre semaines à une concentration de (LC50) 3 700  $\mu$ g/g d'aliment, les paramètres de croissance ont diminué tout au long de l'exposition au diméthoate.

#### 4.2. Effet des insecticides sur l'activité enzymatique chez l'escargot Helix aspersa

#### 4.2.1. La catalase

La CAT est présente principalement dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries. Neutralise le peroxyde d'hydrogène (H2O2) en eau et oxygène moléculaire dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (Goudable & Favier, 1997).

Dans notre étude on observe une augmentation de l'activité de la catalase avec un effet dose-dépendante chez les escargots traités aux deux insecticides par rapport aux témoins. Un résultat similaire a été observé par (El-wakil & Radwan, 1991), qui ont observé une augmentation de l'activité de CAT après l'exposition Eubania vermiculata à des pesticides. L'augmentation de l'activité CAT a déjà été relevée chez d'autres espèces de gastéropodes comme Theba pisana après exposition aux pesticides à base de cuivre (Oxychlorure de cuivre, hydroxyde de cuivre) par rapport aux témoins El-Gendy et al. (2009). Des résultats similaires ont été observés par Almeida et al. (2009) après exposition des moules Perna perna marines à des pesticides à base de cuivre.

Cependant **Grara** *et al.* (2012) ont constaté que cette activité enzymatique diminue de façon significative chez les escargots Helix aspersa sous l'effet des poussières métalliques au niveau de l'hépatopancréas et du rein. Aussi, les résultats obtenus par **Bensnaci** *et al*, (2022) concernant l'étude d'impact des nanoparticules SiO2 sur les indicateurs des stress oxydatif chez *Helix aspersa*, montrent une diminution de l'activité de CAT par intégrité mitochondriale moins préservée. Les SiO2 inhibé l'activité enzymatique de CAT.

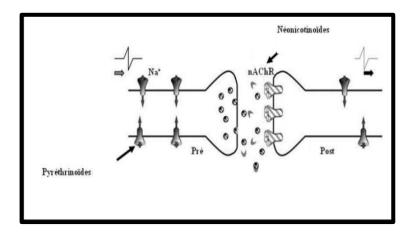
### 4.2.2. La glutathion S-transférase

Les GSTs Glutathion S-transférase sont des enzymes de biotransformation de phase II, dont la fonction est de conjuguer à une molécule de GSH une grande variété de substrats pour permettre leur élimination dans la bile ou l'urine. Ces substrats peuvent être des molécules endogènes, ou des xénobiotiques tel que : les pesticides (Narbonne, 1991). L'activité des glutathion S-transférase augmentait dans les organismes en fonction de la concentration en xénobiotiques dans le milieu (Van Veld, 1988).

Dans notre étude, nous avons noté une augmentation d'activité enzymatique GSTs chez les escargots exposés au traitement par les insecticides surtout chez ceux traités avec la mixture par rapport aux témoins. D'autres travaux sur d'autres néonicotinoïdes montrent l'induction de la GST tel que l'imidaclopride chez Helix aspersa (Radwan, 2013). Aussi, dans les travaux de Khekhouch & Louali. (2021) ont noté une augmentation d'activité enzymatique GSTs chez les escargots exposés aux traitements par l'insecticide abamictine surtout aux plus fortes concentrations en comparaison avec le contrôle.

## 4.2.3. L'acétylcholinestérase

Les pesticides sont des substances toxiques pour les insectes, les animaux, y compris l'homme Lauvverys et al., (2007). Ils interfèrent principalement les canaux ioniques et les neurotransmetteurs, ainsi que l'AchE (fig.09) Kanthasamy et al., (2012).

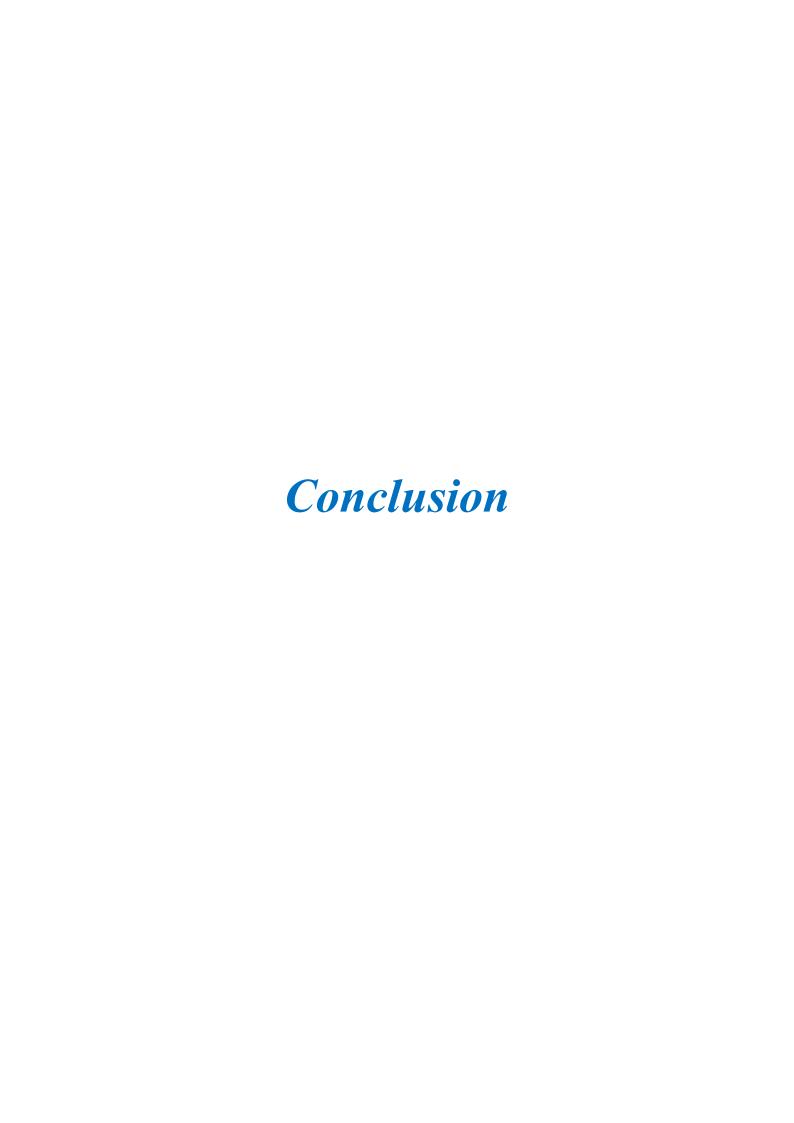


<u>Figure 09.</u> Les cibles principales des insecticides néonicotinoïdes et pyréthrinoïdes (**Pyabalo** Aklesso Kadala, 2015).

Dans notre étude, nous avons noté une inhibition de l'activité enzymatique de l'AChE chez les escargots exposés au traitement par les insecticides surtout chez ceux traités avec la mixture par rapport aux témoins.

Une diminution du niveau d'activité de l'AChE chez les escargots d'eau douce exposés au cadmium et diméthoate a été noté dans les travaux de Banaee et al., (2019). Par conséquent, l'exposition au diméthoate et au cadmium peut non seulement inhiber l'activité de l'AChE mais également réduire son niveau de synthèse dans les escargots. Une réduction de l'activité de l'AChE chez les escargots *Lanistes carinatus* et *Cantareus apertus* exposés aux pesticides organophosphorés et carbamates est rapportée (Khalil, 2015; Leomanni et al., 2015).

L'effet toxique comparatif de Vertimec® 1,8 % EC, Fast Max Super® 8,4 % SC et forme nano-dérivée d'abamectine (ABM) (1 % nano-émulsion) en contact cutané pendant 48 h contre l'escargot terrestre, Helix aspersa a provoqué une inhibition de d'activité de l'AChE chez les escargots *Helix aspersa* traités par rapport aux témoins (Abd El Halim *et al.*, 2021).



# 5. Conclusion & perspectives

Les insecticides constituent un moyen de lutte, le plus efficace contre les parasites majeurs des plantes cultivées et leur utilisation dans l'agriculture est incontournable. Cependant, la majorité de ces produits sont toxiques et difficilement biodégradables. Leur utilisation excessive peut entrainer des risques et quelques fois des conséquences néfastes pour toutes les composantes de l'environnement. Face à ce climat d'anxiété et parfois de méfiance, est indispensable d'apporter une information scientifique et objective sur un tel sujet.

Le principal objectif de notre travail est d'étudier les effets toxiques d'une mixture de deux insecticides l'acétamipride et la téfluthrine à l'égard un modèle biologique l'escargot *Helix aspersa* en tant qu'un animal bioaccumulateur/ bioindicateur au cours d'une période de 21 jours. Pour cela, nous avons établi trois lots traités par les insecticides cités précédemment aux deux concentrations ( $C_{Acét} = 20 \text{mg}/L$ ,  $C_{Téf} = 10 \text{mg}/L$ ) et un lot traité par le mélange de ces deux derniers en parallèle d'un lot témoin.

Les résultats obtenus dans notre étude concernant les paramètres physiologiques montrent qu'il y'a aucune évolution du poids, ni de la taille des escargots traités par rapport aux témoins.

Quant aux activités enzymatiques, nous avons obtenus que les deux insecticides provoqués une augmentation des deux activités enzymatiques la catalase et la glutathion S-transférase comparativement aux témoins. Les résultats obtenus concernant l'activité de l'acétylcholinestérase montrent une inhibition de cette dernière chez les escargots traité aux insecticides ( $C_{Acét}$  =20mg /L,  $C_{Téf}$ =10mg /L), cette inhibition est plus remarquable chez ceux traités par la mixture par rapport témoins.

D'après la somme des résultats obtenus, Il est clair que le mélange de ces deux insecticides a provoqué une accentuation des effets toxicologiques physiologiques et biochimique chez l'escargot *Helix aspersa* susceptible d'être utilisée comme bioindicateur de pollution des sols.

## A l'avenir, il serait intéressant de

- D'étudier l'impact de la mixture sur d'autres bio-marquers (SOD, MDA, GSH).
- Déterminer les concentration létales et inhibitrices de croissance au niveau du modèle biologique étudié.

# Références Bibliographiques

# 6. Références bibliographiques

## A

- Abdel-Halim, K. Y., Aly, G. F., Oriby, A. S., & Abdou, G. Y. (2021). Potential toxic effects of nano-derived form of thiobencarb on two land snails, *Theba pisana* and *Eobania vermiculata*. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(12), 7439-7449.
- Acta, (2021). Association de coordination technique agricole.
- Adamowicz, A., & Bolaczek, M. A. G. D. A. L. E. N. A. (2003). Blood cells morphology of the snail *Helix aspersa* maxima (*Helicidae*). *Zoologica Poloniae*, 48(1-4), 93-101.
- Aït hamlet S., Djekoun M., Bensoltane S., Berrebbah H. (2019). Effets du thiamethoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques de l'escargot terrestre *Hilex aspersa*. Revue Agrobiologia. Algérie, (1491-1498)P
- **Ambrose, M. L. (2003).** Characterization of the insecticidal properties of acetamiprid under field and laboratory conditions.

B

- **Bailey, S. E. R. (1981).** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa Müller* and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology, 142, 89-94p
- Banaee, M., Soltanian, S., Sureda, A., Gholamhosseini, A., Haghi, B. N., Akhlaghi, M., & Derikvandy, A. (2019). Evaluation of single and combined effects of cadmium and micro-plastic particles on biochemical and immunological parameters of common carp (Cyprinus carpio). *Chemosphere*, 236, 124335.

**Barker G.M. (2001).** The biology of terrestrial molluscs. Oxon, UK: CABI Publishing p: 558.

- Beaumont., E; Cassier., B. (1998) Travaux Pratiques de Biologie Animale. Zoologie, Embryologie, Histologie, 3ème édition DUNOD, 123-143.
- **Beeby, A., & Richmond, L. (2011).** Magnesium and the deposition of lead in the shell of three populations of the garden snail *Cantareus aspersus*. *Environmental pollution*, 159(6), 1667-1672.
- **Bonnet p., Aupinel J., VRillon. (1990).** L'escargot *H. aspersa* Biologie-élevage, Du labo au terrain. INRA, pp, 1-5.
- **Bouziani M. (2007).** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de médecine et de la santé. Santémaghreb.
- **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

C

Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Vaufleury, A. G. D., Ribera, D., & Badot, P. M. (2001). The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 20(9): 19511957

D

Dallinger, R., Berger, B., Triebskorn-Köhler, R., & Köhler, H. (2001). Soil biology and ecotoxicology. The biology of terrestrial molluscs. Barker GM. Oxon,

**De Vaufleury, A. G., & Pihan, F. (2000).** Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3), 275-284.

E

- Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., & Nauen, R. (2008). Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64(11), 1099-1105.
- El-Gendy, A. A., Ibrahim, E. M. M., Khavrus, V. O., Krupskaya, Y., Hampel, S., Leonhardt, A., ... & Klingeler, R. (2009). The synthesis of carbon coated Fe, Co and Ni nanoparticles and an examination of their magnetic properties. *Carbon*, 47(12), 2821-2828.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- **El-Wakil, H. B., & Radwan, M. A., (1991).** Biochemical studies on the terrestrial snail, *Eubania vermiculata* (Müller) treated with some pesticides. Journal of Environmental Science & Health Part B, vol : 26(5-6), pp 479-48

G

- Gamet-Payrastre, L. (2020). Exposition aux «cocktails» de pesticides: quels impacts sur la santé? *Environnement, Risques Sante*, 19(2), 93-10
- Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing*, 39(1), 103-110.
- Goudable, J., & Favier, A. (1997). Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et metabolisme*, 11(2), 115-120.

- Grara, N., Boucenna, M., Atailia, A., Berrebbah, H., & Djebar, M. R., (2012). Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environnement, Risques & Santé, vol : 11(3), pp 221-229.
- Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., & Abdelmadjid, S., (2015).

  Caractérisation Morpho physiologique de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot *l'Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement Environ. Sci, vol : 6(9), pp 2596-2603
- **Gomot- de vaufleury, A., & pihan. (2000).** Standardised grouth toxicity testing (Cu, ZN, Pb and pentachlorophenol) on *Helix aspersa*.
- Guégan, J. F., Barot, S., Couvet, D., Devictor, V., Sarrazin, F., Thébaud, C., & Thevenon, S. (2017). Biodiversité et néonicotinoïdes: revisiter les questions de recherches. Rapport du groupe d'évaluation de la recherche du conseil scientifique de la FRB.

H

Habig, W. H., Pabst, M. J., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I. M., & Jakoby, W. B. (1974). The identity of glutathione S-transferase B with ligandin, a major binding protein of liver. Proceedings of the National Academy of Sciences, 71(10), 3879-3882.

J

**Joëlle, M.,( 2015).** L'adaptation des escargots. Lycée Jules- Hordouin Mansart de Saint Cyr l'école (académie de Versailles), pp 7.

K

Kanthasamy, A., Jin, H., Anantharam, V., Sondarva, G., Rangasamy, V., Rana, A., & Kanthasamy, A. (2012). Emerging neurotoxic mechanisms in environmental factors-induced neurodegeneration. *Neurotoxicology*, 33(4), 833-837.

**Khalil, A. M. (2015).** Toxicological effects and oxidative stress responses in freshwater snail, *Lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos. *Ecotoxicology and Environmental safety*, *116*, 137-142.

L

- Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F., & Lionetto, M. G. (2015). Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail Cantareus apertus exposed to the carbamate pesticide Carbaryl. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 168, 20-27.
- **Louali, M. (2021).** *Toxicité induite par l'abamectine sue un modèle biologique cas d'escargot terrestre (Helix vermiculata*) Doctoral dissertation, Universite laarbi tebessi tebessa).

M

- **Michael F and Hughes EA (2016)** Environmentally relevant pyrethroid mixtures: A study on the correlation of blood and brain concentrations of a mixture of pyrethroid insecticides to motor activity in the rat. Toxicology 359-360(10): 19-29.
- **Michel Rousslet.**, (1979). L'élevage des escargots, Deuxième édition (1979) entièrement revue, complétée et actualisée. 11 : 13-29.

N

Narbonne, J. F., Garrigues, P., Ribera, D., Raoux, C., Mathieu, A., Lemaire, P., ... & Lafaurie, M. (1991). Mixed-function oxygenase enzymes as tools for pollution monitoring: field studies on the French coast of the Mediterranean sea. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 100(1-2), 37-42.

**Pirame, S. (2003).** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa*): Reproduction expérimentale. Thése d'exercice vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse-Université Paul-Sabatier de Taulouse, 99p

**Pyabalo aklesso kadala (2015)** Action des pyrethrinoides sur le canal sodique active par le potentiel des neurones du systeme olfactif de l'abeille domestique *apis mellifera*. Doi :10.3389/fncel.2015.0012

R

Radwan, E. K., Yu, L., Achari, G., & Langford, C. H. (2016). Photocatalytic ozonation of pesticides in a fixed bed flow through UVA-LED photoreactor. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(21), 21313-21318.

S

sana Bensnaci, Mabrouka BOUACHA, amina CHAKER, yasmin Babouri, Samira Bensoltan,(2022), impacte de nanoparticules de silice fumée SiO2 sur des indicateurs du stress oxydatif chez *Helix Asersa*, bull.soc.R.Sci.liege,2022, 91(1),11-22...

**Sarwar, M. (2015).** Information on activities regarding biochemical pesticides: an ecological friendly plant protection against insects. *International Journal of Engineering and Advanced Research Technology*, 1(2), 27-31.

**Sies H. & Akerboom T.P.M., (1984)**. Glutathione disulfide (GSSG) efflux, from cells and tissues. Methods in Enzymology, 105: 445-451.

T

Terayama, H., Endo, H., Tsukamoto, H., Matsumoto, K., Umezu, M., Kanazawa, T. ... & Sakabe, K. (2016). Acetamiprid accumulates in different amounts in murine brain

regions. International journal of environmental research and public health, 13(10), 937.

- **Testud, F. (2014).** Insecticides néonicotinoïdes. *EMC-Pathologie professionnelle et de l'environnement. EMC Toxicol Pathol. doi*, **10**, S1877-7856.
- **Thevenon, S. (2017).** Biodiversité et néonicotinoïdes : revisiter les questions de recherches. Rapport du groupe d'évaluation de la recherche du conseil scientifique de la FRB.

V

- Van Holde, K. E., & Miller, K. I. (1995). Hemocyanins. *Advances in protein chemistry*, 47, 1-81.
- Van Veld, P. A., Patton, J. S., & Lee, R. F. (1988). Effect of preexposure to dietary benzo [a] pyrene (BP) on the first-pass metabolism of BP by the intestine of toadfish (*Opsanus tau*): in vivo studies using portal vein-catheterized fish. *Toxicology and applied pharmacology*, 92(2), 255-265.

Z

- **Zaafour. M.** (2014). Étude écophysiologique de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Elica aspersa*, Gastropoda: Stylommatophora; Helicidea) dans la région Nord-Est d'Annaba Algérie. Thése de Doctorat en Sciences, Université Badji Mokhtarannaba. 109p
- Zouaghi, M. F., Berrebbah, H., Boudoucha, I., & Rekaik, I. (2020). Evaluation of the toxicity of a mixture insecticides used on a biological model: the snail helix aspersa. Studia Universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series), 30(2), 69-75.

## **Sites internet:**

www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm, 26/06/2007

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.scbt.com%2Ffr%2Fp%2Ftefluthrin-79538-32-

https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Ffr-

<u>Tableau 01</u>: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét = 20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur le poids d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	12,70	6	2,116	F (6, 24) = 3,716	P=0,0094
Traitement	4,528	3	1,509	F (3, 24) = 2,650	P=0,0718
Temps	1,082	2	0,5411	F (2, 24) = 0,9501	P=0,4008
Erreur Résiduelle	13,67	24	0,5696		

<u>Tableau 02</u>: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét =20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur l'évolution de la largeur de la coquille d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	0,4583	6	0,07639	F (6, 24) = 3,667	P=0,0100
Traitement	0,5208	3	0,1736	F (3, 24) = 8,333	P=0,0006
Temps	0,4306	2	0,2153	F (2, 24) = 10,33	P=0,0006
Erreur Résiduelle	0,5000	24	0,02083		

<u>Tableau 03</u>: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét =20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur l'évolution de la hauteur de la coquille d'*Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	0,3750	6	0,06250	F (6, 24) = 1,800	P=0,1417
Traitement	0,5208	3	0,1736	F (3, 24) = 5,000	P=0,0078
Temps	0,3472	2	0,1736	F (2, 24) = 5,000	P=0,0153
Erreur Résiduelle	0,8333	24	0,03472		

<u>Tableau 04</u>: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration ( $C_{Ac\acute{e}t} = 20 \text{ mg/L}$ ;  $C_{T\acute{e}f} = 10 \text{ mg/L}$ ) sur l'activité spécifique de la CAT chez *Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	2971	6	495,2	F (6, 24) = 1874	P<0,0001
Traitement	5390	3	1797	F (3, 24) = 6800	P<0,0001
Temps	6037	2	3019	F (2, 24) = 11427	P<0,0001
Erreur Résiduelle	6,340	24	0,2642		

<u>Tableau 05</u>: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration ( $C_{Ac\acute{e}t}$  =20 mg/L;  $C_{T\acute{e}f}$ = 10 mg/L) sur l'activité spécifique de la GST chez *Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	0,001592	6	0,0002653	F (6, 24) = 53,93	P<0,0001
Traitement	0,01755	3	0,005852	F (3, 24) = 1190	P<0,0001
Temps	0,002287	2	0,001143	F (2, 24) = 232,5	P<0,0001
Erreur Résiduelle	0,0001180	24	4,918e-006		

<u>Tableau 06:</u> Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet de l'acétamipride et de la téfluthrine avec les deux concentration (CAcét = 20 mg/L; CTéf= 10 mg/L) sur l'activité spécifique de l' AChE chez *Helix aspersa* au cours de 21 jours (n= 3, m± SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	Fobs (DFn, DFd)	Р
Interaction	0,2636	6	0,04393	F (6, 23) = 15,37	P<0,0001
Traitement	0,6815	3	0,2272	F (3, 23) = 79,49	P<0,0001
Temps	0,02098	2	0,01049	F (2, 23) = 3,671	P=0,0413
Erreur Résiduelle	0,06573	23	0,002858		

#### Résumés

#### Résumé

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet d'un mélange de deux insecticides : l'acétamipride et la téfluthrine appartenant aux deux familles des néonicotinoïdes, et des pyréthrinoïdes respectivement sur un organisme bioaccumulateur et bioindicateur de pollution de l'environnement l'escargot *Helix aspersa*. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique de 21 jours. La toxicité des insecticides est déterminée chez l'escargot *Helix aspersa* grâce à un biotest réalisé au laboratoire sur des animaux exposés aux concentrations suivantes (C<sub>Acét</sub> =20mg/L, C<sub>Téf</sub>=10mg/L) et un lot traité par le mélange de ces deux derniers.

Nos résultats mettent en évidence des perturbations physiologiques concernant le poids et le diamètre de la coquille des escargots traités. En plus une induction des activités enzymatiques de la catalase, de la GST, et une inhibition de l'activité de l'AChE ont été noté tout au long de la période de traitement.

Mots clés: Insecticides, Helix aspersa, toxicité, paramètres physiologiques, Catalase, GST, AChE.

#### **Abstract**

In this study we were interested in evaluating the effect of a mixture of two insecticides: acetamiprid and tefluthrin belonging to the two families of neonicotinoids, and pyrethroids respectively on a bio accumulator organism and bio indicator of environmental pollution snail *Helix aspersa*. This toxicity study lasted 21 day of treatment. The toxicity of insecticides is determined in the snail *Helix aspersa* due to a bio test carried out in the laboratory on animals exposed to the following concentrations ( $C_{Acet} = 20 \text{ mg/L}$ ,  $C_{Tef} = 10 \text{ mg/L}$ ) and a batch treated with a mixture of the latter two.

Our results showed a physiological disturbance concerning the weight and the diameter of the shell of the treated snails. In addition, the induction of catalase and GST enzymatic activities and an inhibition of AChE activity were noted throughout the treatment period.

**Keywords:** Insecticides, *Helix aspersa*, toxicity, physiological parameters, Catalase, GST, AChE.

#### ملخص:

في هذه الدراسة قمنا بتقييم تأثير خليط من إثنين من المبيدات الحشرية: أسيتاميبريد والتيفلوثرين ينتميان إلى عائلتين من مركبات النيونيكوتينويد ، والبيريثرويدات على التوالي على الكائن الحيوي المؤشر على التلوث البيئي الحلزون Helix aspersa تمت هذه الدراسة السمية خلال 21 يومًا. يتم تحديد سمية المبيدات الحشرية على الحلزون Helix aspersa عن طريق الاختبار الحيوي الذي تم إجراؤه في المختبر على الحيوانات المعرضة للتركيزات التالية  $(C_{Acét} = 20 \text{mg} / L \cdot C_{Téf} = 10 \text{mg} / L)$  و عينة معالجة بمزيج من هاذين الأخيرين.

النتائج المتحصل عليها، تشير إلى وجود إضطرابات فزيولوجية تتعلق بوزن الحيوان وقطر قشرة القواقع للحيوانات المعالجة بالإضافة إلى ذلك لوحظ تثبيط نشاط إنزيم الأستيل كولينستريز طوال فترة العلاج وزيادة الأنشطة الأنزيمية للكاتالاز، الجلوتاسيو ترووسفراز

الكلمات المفتاحية: المبيدات الحشرية ، اللولب الاسبرسا ، السمية ، البار امترات الفسيولوجية ، الكاتلاز ، أستيل كولين استراز ، الجلو تاسبو تروو سفر از