



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

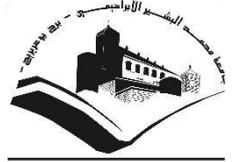
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض 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



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI  
BORDJ BOU ARRERIDJ

# 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

**Effet cytotoxique d'un herbicide la  
métribuzine à l'égard d' *Helix aspersa***

**Présenté par : - Nezzari Sarah**

**- Mazit ahlem**

**Soutenu le : Septembre 2020**

**Devant le jury :**

**Président :** Mr Mekhalfi Hamoudi MCB

**Encadreur:** Mme Benradia Hamida MCB

**Examineur :** Mr Diafat Abdelouahab MCA

**Année universitaire : 2019/2020**

# **REMERCIEMENTS**

*En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAHA, pour le réveil de chaque matin, les challenges de chaque journée, pour nous aide et nous donne la patience, la force durant ces longues années d'étude et la capacité d'effectuer ce travail.*

*Un grand remerciement aux membres du jury*

*Nous tenons tout d'abord à remercier sincèrement **Mr MEKHALFI.H** (Maitre de conférences B à l'université Mohammed el Bachir El Ibrahimi) qui nous a fait l'honneur de présider ce jury,*

*Merci vivement pour vos conseils, et pour nous faire partager votre expérience.*

*Nos remerciements énormément à notre encadreur et enseignante **Mme BENRADIA.H** (Maitre de conférences B à l'université Mohammed el Bachir El Ibrahimi), d'avoir bien assuré la direction et l'encadrement de notre mémoire. Elle s'est toujours disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire. Merci pour son aide, son inspiration, pour ses efforts fournis, ainsi que les précieux conseils qui nous ont aidés afin de réaliser ce travail.*

*Nos remerciements sincères et respectueux également à **Mr DIAFAT.A** (Maitre de conférences A à l'université Mohammed el Bachir El Ibrahimi) qui a accepté de faire part de ce jury, d'examiner et juger notre travail, Nous vous adressons notre gratitude pour votre gentillesse, et Vous précieux conseils.*

*Nos remerciements vont à tout les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie de la terre et l'univers pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous dispensé, pour leur tolérance et leur amabilité durant le cycle de notre formation.*

*Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.*



# *Dédicaces*

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :*

*A mes parents*

*A mon cher père, pour m'avoir appris que le savoir est une richesse que nul ne peut voler.*

*A ma chère mère, pour son soutien et ses sacrifices, Aucune dédicace ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect et l'amour que je vous porte.*

*A Mes adorables Soeurs, Asma, Amina.*

*A mes chers frères Halim, Ali.*

*A ma chère belle copine et binôme Ahlem et à toute sa famille.*

*A mes très chères amies Meriem, Randa.*

*A mes très chères cousines Hadjer, Yasmine.*

*Nezzari.S*



*Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Mes chers parents*

*Pour leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et pour leur assistance et leur présence dans ma vie, Autant de phrases aussi expressive soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour, d'affection et de gratitude que j'éprouve pour vous.*

*Mes chers frères Moncif, Mounir, et Mouatez.*

*Mon cher fiancé Lakhdar.*

*Mes cousines Asma, Amina, Aya.*

*Ma belle mère Sabrina et mon beau père Salim.*

*Mon cher oncle Fouaz et sa femme Latifa.*

*Ma copine, ma chère amie, mon binôme Sarah.*

*Mazit.A*



# Sommaire

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Sommaire**

**Liste des tableaux & figures**

**Introduction**..... 01

## **Chapitre 01 : Synthèse bibliographique**

**2.1. Les pesticides** ..... 03

2.1.1. Définition..... 03

2.1.2. Classification des pesticides ..... 03

2.1.2.1. Le premier système de classification ..... 03

2.1.2.2. Le deuxième système de classification..... 04

**2.2. Les herbicides** ..... 04

2.2.1. Définition..... 04

2.2.2. Composition et formulation des herbicides ..... 05

2.2.3. Mode d'action des herbicides ..... 06

2.2.4. Toxicité des herbicides..... 07

**2.3. Métribuzine**..... 08

2.3.1. Définition..... 08

2.3.2. Caractéristiques physicochimiques..... 09

2.3.3. Mécanisme d'action..... 09

**2.4. Métabolisme des pesticides**..... 10

**2.5. Le stress oxydatif** ..... 10

2.5.1. Définition..... 10

2.5.2. Classification des espèces réactives ..... 10

2.5.2.1. Les espèces réactives

oxygénées .....

2.5.2.2. Les espèces réactives azotées ..... 11

2.5.2.3. Les espèces réactives radicalaires et non radicalaires ..... 11

2.5.2 Marqueurs biologiques du stress oxydant..... 12

2.5.2.1. Marqueurs de la peroxydation lipidique.....	12
2.5.2.2. Marqueurs de l'oxydation des protéines et des acides aminés.....	13
2.5.2.3. Marqueurs de l'oxydation des acides nucléiques.....	13
2.5.3. Evaluation du stress oxydant.....	14
2.5.4. Les anti-oxydants .....	14
2.5.4.1. Définition .....	14
2.5.4.2. Les Anti-oxydants enzymatiques .....	14
2.5.4.3. Les Anti-oxydants non enzymatiques .....	15
<b>2.6. Modèle biologique .....</b>	<b>17</b>
2.6.1. Présentation de l'espèce .....	17
2.6.2. Biologie et écologie de l'escargot.....	18
2.6.3. Reproduction et ponte.....	19
2.6.4. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie.....	20

## **Chapitre 02 : Synthèse des travaux précédents**

<b>1. Expérimentation.....</b>	<b>22</b>
1.1. Détermination de la toxicité d'un xénobiotique.....	22
1.2. Mesure des biomarqueurs .....	23
1.2.1. Dosage du MDA .....	23
1.2.2. Dosage de la glutathion S transférase.....	24
1.2.3. Dosage des protéines .....	25
<b>2. Synthèse des résultats précédents .....</b>	<b>26</b>
2.1. La toxicité de la métribuzine.....	26
2.2. Effet de la métribuzine sur les biomarqueurs.....	26
2.2.1. Le malondialdéhyde MDA .....	26
2.2.2. La glutathion S transférase .....	27
<b>4. Conclusion &amp; perspectives.....</b>	<b>29</b>
<b>5. Les références bibliographiques .....</b>	<b>30</b>
<b>Résumé.....</b>	
1. Résumé.....	
2. Abstract .....	
3. ملخص.....	

### Liste des Tableaux

N°	Titre	Pages
<b>01</b>	Les espèces radicalaires et non radicalaires.	<b>12</b>
<b>02</b>	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>25</b>

### Liste des Figures

N°	Titre	Pages
<b>01</b>	Structure chimique du métribuzine.	<b>08</b>
<b>02</b>	Présentation de l'escargot <i>Helix aspersa</i> .	<b>18</b>
<b>03</b>	Anatomie de l'escargot <i>Helix aspersa</i> .	<b>18</b>
<b>04</b>	L'accouplement de deux partenaires d'escargots.	<b>19</b>
<b>05</b>	Escargot en position de ponte.	<b>20</b>
<b>06</b>	Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique.	<b>23</b>
<b>07</b>	Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisé par une GST.	<b>28</b>

# *Introduction*

## **Introduction**

Depuis une cinquantaine d'années, les phénomènes de pollution ont pris une importance de plus en plus grande sur les plans environnementaux, sanitaires, économiques et **(Mathias, 2011)** en raison des activités anthropiques intenses **(Rhind, 2009 ; Sandermann, 2004)**. Ainsi, la prise de conscience progressive du risque toxique est devenue un problème de santé publique **(Cicolella, 2000)**.

Face à une production mondiale de substances chimiques passée d'un million de tonnes en 1930 à environ 400 millions de tonnes aujourd'hui, l'emploi massif et la gestion incontrôlée de ces polluants chimiques ont pour conséquence la contamination de l'environnement **(Cyclope, 2006)**, entraînant ainsi une perturbation de la santé des êtres vivantes et des compartiments abiotiques fondamentaux (eau, sol, atmosphère) **(Mathias, 2011)**. Par ailleurs, plus de 100 000 substances chimiques sont commercialisées à la fin de leur cycle de vie, la plupart d'entre elles se retrouve dans les sols tel que les produits phytosanitaires **(Depledge & Fossi, 1994 ; Riviere, 1998)**, ainsi, le sol ayant un rôle essentiel dans la production de la biomasse et dans le cycle des éléments, et ses caractéristiques fonctionnelles peut être altéré par ces polluant. De ce fait, la qualité des sols est devenue un enjeu d'importance **(IICC, 1994)**.

Cependant, Parmi ces substances toxiques, les produits phytosanitaires sont reconnus comme l'une des principales menaces présentes sur les sols, présentant un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement **(CEC, 2002)**. Qui par ailleurs leur rôle bénéfique dans la protection de la culture contre les organismes nuisibles, leur résistance aux processus de dégradation dans l'environnement, ainsi que par leur tendance à s'accumuler dans les chaînes alimentaires, La caractérisation des risques engendrés par ces derniers est donc devenue un enjeu écotoxicologiques majeur **(Marss et al., 2004)**.

En Algérie, les pratiques phytosanitaires des serristes maraîchers et des agriculteurs en général, sont mauvaises et potentiellement nuisibles à la santé des applicateurs, des consommateurs et de l'environnement **(Belhadi, 2016 ; Madani et al, 2016)**.

En effet, des études récentes indiquent que l'exposition aux pesticides produit le stress oxydant par la génération des radicaux libres qui sont des dérivés instables et toxiques qui réagissent et dégradent l'ADN, les lipides et les protéines **(Mishra, 2013)**. Par conséquent, et face à cette dualité bénéfice-risque, la protection de la santé humaine et de l'environnement

contre l'exposition aux pesticides demeure une préoccupation majeure, et le problème de résidus toxiques reste d'actualité (**Jawich, 2006**).

C'est dans ce contexte, que l'objectif de ce travail vise à évaluer la cytotoxicité d'un herbicide la métribuzine à l'égard d'une espèce non visé *Helix aspersa*. Ce document s'articule sur trois chapitres. Le premier chapitre comporte une synthèse bibliographique portant des généralités sur les pesticides, le stress oxydatif et une description du modèle biologique choisis. Dans le deuxième chapitre nous présentons la méthodologie et les protocoles de dosage qui aurons été appliqué afin d'évaluer la toxicité de la métribuzine, enfin dans le troisième chapitre nous exposerons une synthèse de résultats obtenus à partir des travaux effectués précédemment issues de la littérature scientifique.

*Synthèse  
bibliographique*

## **I. Les pesticides**

### **I.1. Définition**

L'étymologie du mot pesticide s'est construite à partir du suffixe "cide" qui signifie "tuer" et de la racine anglaise "Pest" (animal, insecte ou plante nuisible) provenant du latin Pestis (peste) qui désignait le fléau en général (El azzouzi, 2013).

Selon FAO (1996) les pesticides sont définis comme: «toute substance ou associations de substances qui est destinée à repousser, neutraliser ou détruire les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaine ou animales, et les espèces indésirables des plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant autrement nuisibles».

Selon Middlekauf (1986), un pesticide est toute substance naturelle ou synthétique utilisée pour prévenir, détruire, repousser ou inhiber les pestes, ou utilisé comme régulateur de plant, défoliant ou dessicatif.

Encore appelés produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques, sont définis de plusieurs manières selon l'objectif recherché dans leur utilisation. (FAO, 1990; OMS, 1994). Et varie selon les époques et les pays. Cependant, l'essence du pesticide reste fondamentalement constante, c'est-à-dire qu'il s'agit d'une substance (mélangée) toxique et efficace pour les organismes cibles et sans danger pour les organismes et les environnements non ciblés (Wenjun et al, 2011).

### **I.2. Classification des pesticides :**

Les pesticides disponibles aujourd'hui sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe, En général ils sont classés en fonction de :

- La nature chimique de l'espèce combattre (premier système de classification).
- la nature chimique de la principale substance active (deuxième système de classification) (Bourbia-Ait Hamlet, 2013).

#### **I.2.1. Le premier système de classification :**

Il repose sur le type de parasites à contrôler, il existe principalement trois grandes familles d'activités : (El Mrabet ,2006).

✓ **Les herbicides :**

Destinés à lutter contre les mauvaises herbes, qui entrent en concurrence avec les plantes à protéger en ralentissant leur croissance.

✓ **Les fongicides :**

Destinés à éliminer les moisissures et parasites (champignons...) des plantes, Les fongicides assurent une excellente protection contre le développement des champignons parasites et permettent l'obtention de plantes saines.

✓ **Les insecticides :**

Ce sont les premiers pesticides utilisés et les plus utilisés en Algérie, Sont des substances actives destinés à lutter contre les insectes. Ils interviennent en tuant ou en empêchant la reproduction des insectes, ce sont souvent les plus toxiques, **(Bougeutof&Djaballah, 2016)**.

Outre, ces trois grandes familles, d'autre peuvent être citées en exemple :

- **Les acaricides** (contre les acariens).
- **Les nématocides** (contre les nématodes).
- **Les rodenticides** (contre les rongeurs).
- **Les taupicides** (contre les taupes).
- **Les molluscicides** (contre les limaces et les escargots essentiellement).
- **Les corvicides** (contre les corbeaux, et tous les oiseaux ravageurs de culture).

### **I.2.2. Le deuxième système de classification**

Le classement se fait en fonction de leur substance active, Les principaux groupes chimiques comprennent :

Les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines et les urées substituées **(Bourbia-Ait Hamlet, 2013)**.

## **I.3. Les herbicides**

### **I.3.1. Définition**

Les herbicides représentent 40% des pesticides utilisés en agriculture, ils sont appelés parfois les désherbants, notamment en horticulture. Ce sont des matières actives ou des produits

formulés ayant la propriété de tuer les végétaux (Coulibaly, 2005). Ils ont des structures chimiques complexes, chaque herbicide possède des caractéristiques propres selon sa composition, son mode d'absorption, son effet sur la mauvaise herbe et son élimination progressive (Edelahid, 2004). En agriculture, les herbicides sont appliqués sur plusieurs types de cultures, tel que les céréales, en particulier le maïs et le sorgho avec les triazines (Bérard, 1994).

### **I.3.2. Composition et formulation des herbicides :**

#### **I.3.2.1. La Composition :**

Comme tous les autres pesticides, un produit herbicide correspond au nom Commercial du produit commercialisé par un distributeur ou un fabricant. Ce produit se compose de deux types de constituants :

-**les Matières actives** (confèrent son activité herbicide), responsable de la destruction des adventices.

- **les formulants** (complètent la formulation), sont soit des charges ou des solvants, qui n'ont qu'un rôle de dilution des matières actives, soit des produits qui améliorent la préparation, peuvent être : des mouillants, des adhésifs, des émulsifs, des stabilisants, des colorants, etc. (Amatrop, 2000).

#### **I.3.2.2. La formulation**

La formulation correspond à la forme physique sous laquelle le produit phytopharmaceutique est mis sur le marché, le type de formulation a une grande importance dans la manipulation des produits : fabrication, transport, stockage, préparation des bouillies, elles se présentent sous différentes formes : solide, liquide, auto-suspensibles, les plus couramment répandues sont les suivantes :

- Pour les formulations solides : les granulés solubles (abréviations : SG), les poudres mouillables (WG).
- Pour les formulations liquides : ce sont les formulations les plus employées.
  - Les concentrés solubles (SL), composés de produits solubles dans l'eau.
  - Les concentrés émulsionnables (EC), composés de produits liquides en émulsion dans le produit.

- Les suspensions concentrées (SC), appelées (parfois *flow* de l'anglais *flowable*), Composées de particules solides dispersées dans le produit (**Amatrop, 2000**).

### **I.3.3. Mode d'action des herbicides :**

Les herbicides se distinguent par leur voie de pénétration et leur mode d'action dans les végétaux :

- **Herbicides à pénétration racinaire** : appliqués sur le sol, ils pénètrent par les organes souterrains des végétaux (racines, graines, plantules). Ce sont les traitements herbicides de prélevée, effectués avant la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).

- **Herbicides à pénétration foliaire** : appliqués sur le feuillage, ils pénètrent par les organes aériens des végétaux (feuilles, pétioles, tiges). Ce sont les traitements herbicides de post-levée, effectués après la levée de la plante considérée (culture ou mauvaise herbe).

- **Herbicides de contact** : herbicides qui agissent après pénétration plus ou moins profonde dans les tissus, sans aucune migration d'un organe à un autre de la plante traitée.

- **Herbicides systémiques** : herbicides capables d'agir après pénétration et migration d'un organe à un autre de la plante traitée. (**Amatrop, 2000**).

Les herbicides agissent sur différents processus de croissance et de développement des plantes, ils perturbent le fonctionnement de :

#### ➤ **La physiologie de la plante :**

- La photosynthèse (PS I et PS II) : l'herbicide agissant par blocage de la protéine D1 du photosystème II (c'est le cas des triazines et des phényl-urées.), ou inhibe de photosynthèse d'électron à la sortie du photosystème I (bipyridiniums).

- La membrane cellulaire : inhibe la synthèse de la cellulose de la paroi pectocellulosique, la plante ne peut pas se développer, elle ne peut assurer son maintien ni l'absorption et le transport des substances essentielles (dinitrophénols, benzonitriles, benzamides).

#### ➤ **La croissance :**

- La division cellulaire : l'herbicide bloquant les MTOC (centre organisateur de microtubules) et désorganisant les fuseaux achromatique (les carbamates).

- Inhibiteur de transport auxinique et inversion du géotropisme, ils agissent sur la prolifération des cellules du cambium et occasionnent des perturbations de croissance. (Acides phtaliques).

- l'élongation :(alachlore, métolachlor).

➤ **La biosynthèse des constituants cellulaires :**

- Lipides : inhibe de l'enzyme acétyl coa carboxylase (acides aryphénoxy-propionique).

- Pigments caroténoïdes :( isoxaflutole, clomazone)

- Acides aminés : inhibe de l'enzyme conduisant à la synthèse de (Glutamine, acides aminés aromatiques, acides aminés ramifiés) (**Dominique, 2004**), (**Amatrop, 2000**), (**Calvet et al, 2005**).

### **I.3.4. Toxicité des herbicides**

#### **Impact sur l'homme**

les herbicides ont un niveau de toxicité relativement modéré, dépend de plusieurs facteurs : le climat, le sol, la plante a traité, et les techniques d'application ...ect , et peut s'effectuer par ingestion, par inhalation, ou par contact avec la peau, Des études scientifique ont montré que l'exposition a certain pesticides affaiblit le système immunitaire, hormonal et nerveux .elle peut aussi avoir des effets cancérigènes ( notamment le cancer des poumons , du cerveau, de l'intestin et de la prostate ) (**Fdil,2004**), et des cancers peu fréquents tels que les cancers des lèvres , de l'ovaire , du cerveau, du mélanome cutané et de la plupart des cancers du système hématopoïétique (leucémies, myélomes, lymphomes).. (**Pelletier, 1992**).Aussi des études faites sur des rats ont clairement montré les effets nocifs du méthylparathion sur le système de reproduction. Il a été remarqué que chez des femmes exposées à des pesticides, le risque de mortalité intra-utérin augmentait et que la croissance fœtale diminuait. A noter aussi que des pesticides ont été retrouvés dans le cordon ombilical mais aussi dans le lait maternel, ce qui pourrait expliquer le mauvais développement du fœtus, les malformations congénitales et les anomalies du système nerveux central (**pelletier, 1992**)

#### **Impact sur l'animal**

La mort des animaux (mammifères) duaux herbicides est généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée , des mortalité massives ont été observées lors

de grandes opérations de lutte menées avec des organochlorés . Pour ce qui est des oiseaux , de nombreux cas mortels ont été recensés par ingestion directe de granulés ou d'insectes ayant ingéré des toxiques (pelletier, 1992).

### Impact sur l'environnement

Les apports des herbicides dans l'environnement sont, en dehors d'accidents ponctuels, de nature diffuse et chronique (Marc, 2004), la contamination par les herbicides parviennent jusqu'au sol et touchent bactéries , champignons , algues, vers de terre et insectes. Ces dégradations cumulées ont un effet nocif sur la fertilité du sol. Le vers de terre, agents actifs de la fertilité, sont particulièrement atteints par les herbicides via l'eau polluée qui inhibe le sol, aussi les herbicides présents sur les plantes ou adsorbés sur les particules du sol, peuvent rejoindre les écosystèmes aquatiques par l'intermédiaire des phénomènes de ruissellement et par conséquent impliquer une pollution des eaux des nappes phréatiques (pelletier, 1992).

## I.4. Métribuzine

### I.4.1. Définition

La métribuzine (4-amino-6(1,1-diméthyléthyl)-3-(méthylthio)-1,2,4-triazine-5(4H) one) (figure 1) est un herbicide, commercialisée sous le nom de Sencor® 70 WG à base de métribuzine, substance active appartenant à la famille des triazones, employé en prélevée et en post-levée pour lutter contre les mauvaises herbes qui parasitent diverses cultures agricoles tel que la pomme de terre, tomate, asperge, et artichaut (Environnement Canada/Agriculture Canada, 1987).

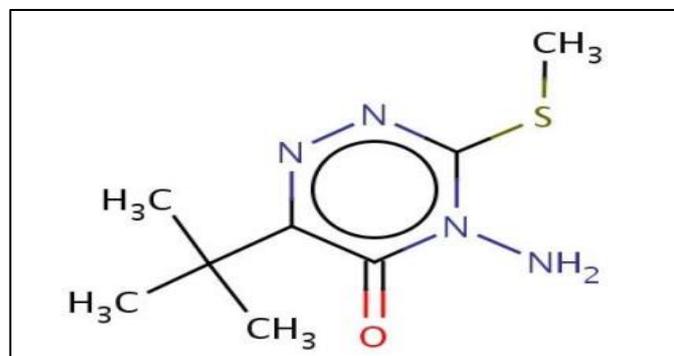


Figure 1. Structure chimique de la métribuzine (Ech, 2006).

#### **I.4.2. Caractéristiques physicochimiques :**

La métribuzine est un solide cristallin blanc avec une pression de vapeur de  $1,2 \cdot 10^{-7}$  mm Hg à 20°C, une solubilité dans l'eau de 1100 mg/l (ppm) à 20°C, ce qui rend mobiles dans le sol, un sol demi-vie de 30 à 60 jour (Monaco *et al.*, 2002), Son logarithme du coefficient de partage octanol-eau est de 1,70 (Geyer *et al.*, 1984), Par conséquent, la métribuzine est peu probable de produire une bioaccumulation importante (Pritchard, 1986).

#### **I.4.3. Mécanisme d'action**

La métribuzine est une substance phytosanitaire du groupe triazine, elle est absorbée en premier lieu par les racines, ou par les feuilles, avec translocation acropète dans le xylème, leur activité est due à une interférence avec le transport des électrons de photosystème II dans les chloroplastes situé dans la membrane des thylakoïdes des plantes (Archibald et William, 1987).

Elle se comporte comme un véritable barrage du courant d'électrons au niveau de la plastoquinone (Tissut & Severin, 1984), Ces herbicides agissent donc par compétition avec la plastoquinone pour un site d'affinité localisé dans une protéine, la protéine B. Ainsi, dans le cadre de la chaîne de transfert d'électrons, la plastoquinone réduite ne peut plus utiliser le site d'affinité situé sur la protéine-cible et elle ne transmet pas son électron à l'accepteur suivant. Le transfert est bloqué. L'énergie lumineuse reçue par la chlorophylle n'est plus convertie en énergie électrochimique. Elle est dissipée sous forme de chaleur et de fluorescence (Ducruet, 1991), L'inhibition du PS II entraîne dans un premier temps l'arrêt du dégagement d'oxygène et de la fixation du CO<sub>2</sub>. Mais il ne s'agit pas simplement d'une « mort de faim » de la plante. En effet, les chlorophylles excitées permettent la production d'oxygène singulet, forme très réactive, normalement inactivée par les caroténoïdes en formant des époxydes qui sont réduits ensuite par le NADPH produit par le transfert non-cyclique d'électrons. Les herbicides inhibant le PS II en bloquant le transfert d'électrons, l'oxygène singulet va rester actif et entraînera la destruction oxydative des constituants du thylakoïde, dont les pigments. De plus, l'arrêt du transfert non-cyclique entraîne celui de la nitrite-réductase, ce qui génère une accumulation de nitrites toxiques (Ducruet, 1991 ; Moreland, 1967 ; Tissut & Severin, 1984).

## I.5. Métabolisme des pesticides

De nombreuses études ont montré le rôle important des CYPs dans le métabolisme des pesticides ainsi que la fréquente induction ou inhibition de ces enzymes par ces composés. Ainsi, les OCs sont reconnus comme étant des inducteurs enzymatiques, ce qui accroît leur propre métabolisme (Schuetz, 2001). Cependant, ces effets inducteurs ou inhibiteurs ont principalement été montrés chez l'animal. Ce métabolisme surtout au niveau du foie peut donc conduire à la formation de métabolites toxiques et par conséquent à la survenue de dommages cellulaires et/ou génétiques.

## II. Le stress oxydatif :

### II .1. Définition

En 1991, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des ROS, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue de ROS, soit à une diminution de la capacité de défenses anti oxydantes.(Sies H, 1991). Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, exercice physique intense), mais aussi nos mauvaises habitudes alimentaires, augmentent de façon anormale la production des EOA dans notre organisme,(Haleng et al ). Les protéines ainsi que les lipides sont les cibles principales des ROS (Serdar et al, 2006). Ces derniers causent la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et les altérations de l'ADN (Deaton, 2003), il est impliqué dans l'apparition de plusieurs maladies : l'artériosclérose, le cancer, les maladies cardio-vasculaires, les maladies inflammatoires et le processus du vieillissement (Atamer, 2008).

### II.2. Classification des espèces réactives

Il existe majoritairement deux grandes familles d'espèces réactives :

- ❖ Les espèces réactives oxygénées (ERO ou ROS ReactiveOxygenSpecies).
- ❖ Les espèces réactives azotées (ERA ou RNS ReactiveNitrogenSpecies)

#### II.2.1. Les espèces réactives oxygénées :

Les EROs sont majoritairement produites par la NADPH oxydase (NOX) membranaire et les enzymes du complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale. (Clémentine Poisson, 2013).

La mitochondrie fournit à la cellule une source d'énergie importante puisque 36 molécules d'ATP à haut potentiel énergétique sont générées lors de la réduction de l'oxygène.

Par contre, dans les conditions physiologiques, environ 0,4 à 4 % d'électrons s'échappent, réagissent directement avec l'oxygène dissous dans le cytoplasme et donnent naissance à des EOA, (Haleng et al, 2007). Celles-ci sont soit, des radicaux libres comme l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et le radical hydroxyle ( $\bullet OH$ ) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (Djeffal, 2013). Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le  $Fe^{2+}$  et le  $Cu^{2+}$ , agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle, (Delattre et al, 2005).

### II.2.2. Les espèces réactives azotées :

Ont été définies comme un sous groupe d'oxydants dérivés de l'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote ( $\bullet NO$ ) (Clémentine Poisson, 2013).

Le monoxyde d'azote, NO, est produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygène. Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes : les NO synthéases (NOS). Il existe trois types de NOS : la NOS neuronale, la NOS endothéliale et la NOS inducible présente dans de nombreux tissus et organes. Les deux premières sont constitutives ; leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium. Le  $\bullet NO$  peut être converti en ion nitrosium ( $NO^+$ ), en anion nitroxyl ( $NO^-$ ) ou en peroxyde nitrite ( $ONOO^-$ ) (Djeffal, 2013).

### II.2.3. Les espèces réactives radicalaires et non radicalaires

#### ➤ Les principales espèces réactives

Comme indiqué dans le tableau, elles peuvent être de nature radicalaire ou non. Un radical se définit comme une espèce chimique possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche périphérique lui conférant ainsi une grande réactivité.

La production d'ER peut être soit d'origine endogène soit due à des facteurs exogènes tels que les métaux lourds, les rayonnements ionisants et les rayons ultra-violet, les polluants atmosphériques tels que la fumée de cigarette mais également des médicaments (paracétamol, anthracyclines...) (Clémentine Poisson, 2013).

**Tableau 01** : Les espèces radicalaire et non radicalaires.

Espèces Radicalaires		Espèces Non Radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$
Radical hydroxyle	$HO^{\cdot}$	Acide hypochloreux	$HOCl$
Monoxyde d'azote	$\cdot NO$	Peroxynitrite	$ONOO^-$
Grande instabilité : stabilisation par réaction avec les constituants cellulaires.		Eléments de décomposition pour la détoxification par les systèmes de défense enzymatique.	

### II.3. Marqueurs biologiques du stress oxydant

Les radicaux libres peuvent interagir avec des protéines, de l'ADN, des lipoprotéines et des acides gras polyinsaturés pour former des dérivés oxydés pouvant être décelés dans des échantillons biologiques comme le plasma, le sérum ou l'urine (**Pincemilet *al.*, 1999**).

#### II.3.1. Marqueurs de la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique désigne l'attaque des lipides (principalement les acides gras polyinsaturés) par des radicaux libres, comme le radical hydroxyle ( $HO^{\cdot}$ ), capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Il s'agit d'une réaction en chaîne qui se poursuit par la transformation du radical peroxyde ( $RO_2^{\cdot}$ ), au contact d'un autre acide gras, en un nouveau radical diène conjugué. Les radicaux diènes conjugués, sous l'action de l'oxygène, se transforment en hydroperoxydes ( $ROOH$ ) qui peuvent, soit être réduits et neutralisés par la glutathion peroxydase, soit continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes, acides et alcanes volatiles. Le radical peroxyde peut évoluer en un peroxyde cyclique dont la coupure peut libérer également des aldéhydes toxiques dont le malonaldialdéhyde ou l'hydroxynonéal (**Gueye, 2007**). Cette attaque des lipides peut concerner aussi bien les phospholipides membranaires que les lipoprotéines circulantes, avec évidemment des conséquences différentes. En effet, l'atteinte des phospholipides membranaires va entraîner une modification de la fluidité membranaire, altérer les systèmes de transfert d'ions ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affecteurs des voies de transduction des signaux (**Champ *et al.*, 1997 ; Favier, 2003**). L'attaque des lipoprotéines circulantes, notamment les

lipoprotéines à faible densité (LDL), va aboutir à l'oxydation de ces dernières, qui seront ensuite captées par les macrophages pour donner des cellules spumeuses à la base du dépôt lipidique de la plaque d'athérome (Favier, 2003 ; Delattre *et al*, 2005).

### **II.3.2. Marqueurs de l'oxydation des protéines et des acides aminés**

Tout comme les lipides, les protéines peuvent également être la cible de réactions radicalaires ou oxydatives et subir des modifications sous l'action des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et celles de l'azote (ERN), ou des métaux de transition (Stadtman, 1990). Les protéines atteintes peuvent se fragmenter ou se dénaturer avec altération de leurs structures primaires et secondaires. Les dommages oxydatifs peuvent se manifester par l'apparition de groupements hydroperoxydes, l'oxydation du squelette carboné de la chaîne polypeptidique conduisant à une fragmentation des protéines et/ou à la formation de liaisons croisées intra- ou inter-chaînes et à l'apparition de groupements carbonylés ou dicarbonylés. On peut également observer une oxydation des chaînes latérales des acides aminés, notamment de la cystéine et de la méthionine, avec formation de ponts disulfures. La nitration des protéines par le peroxy-nitrite se traduit par l'inactivation de nombreuses enzymes telles que la Mn-superoxyde dismutase (Stadtman, 1993 ; Gruneet *al.*, 1998). Les acides aminés et protéines peuvent subir d'autres modifications d'une façon indirecte comme la glyco-oxydation et la lipo-oxydation. Certains acides aminés comme la phénylalanine et la tyrosine peuvent subir un processus d'hydroxylation qui génère la formation d'ortho- et de méta-tyrosine dans le cas de la phénylalanine (Davies *et al*, 1999). Les protéines comportant un pont sulfhydryle sont les plus sensibles aux attaques radicalaires. C'est le cas de nombreuses enzymes cellulaires et protéines de transport qui, après oxydation, deviennent inactives et beaucoup plus sensibles à l'action des protéases (Sen, 2001).

### **II.3.3. Marqueurs de l'oxydation des acides nucléiques**

Les acides ribo- et désoxyribonucléiques (ARN et ADN) constituent des cibles cellulaires importantes pour les attaques radicalaires. Les lésions induites par les radicaux libres au niveau de ces molécules peuvent consister en des modifications de bases, des cassures simple-brin ou double-brin de la chaîne oligonucléotidique, ou des pontages avec des résidus protéiques. Ces dénaturations peuvent avoir de graves conséquences sur la réplication du génome. La recherche des produits d'oxydation peut être réalisée dans des cellules circulantes isolées ou dans des biopsies, mais aussi dans l'urine où se trouvent les composés oxydés (bases ou nucléosides) après excision par les enzymes de réparation (Favier, 1997). De nombreux produits de réaction

des radicaux libres sur l'ADN ont été identifiés, tels que la 8-hydroxy-adénine, le thymidineglycol, la 8-hydroxy-guanine, la 8-hydroxy-guanosine, la 5-hydroxy-méthyl-uracil, le cytosineglycol. Parmi ces composés, deux d'entre eux se sont révélés être des marqueurs intéressants. Il s'agit de la 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OH-dG) et du thymidine glycol (Demple, 1991).

### II.4. Evaluation du stress oxydant

Le stress oxydant peut être évalué par trois grandes voies d'approches (Delattre *et al.*, 2003 ; Favier, 2003) :

- ✓ La mesure de la production des ERO.
- ✓ La mesure des capacités de défense antioxydante.
- ✓ La mesure des désordres biochimiques spécifiques créés par l'attaque des radicaux libres sur les principales cibles moléculaires (protéines, lipides et acides nucléiques).

### II.5. Les anti-oxydants

#### II.5.1. Définition

Un anti-oxydant est une substance qui, à faible concentration, prévient ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat (Halliwell *et al.* 1990). Ils ont pour rôle d'empêcher la formation de radicaux libres, de permettre leur élimination ou bien de réparer les dégâts causés par les radicaux libres. (Clémentine Poisson, 2013). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines, l'autre est endogène et se compose d'enzymes. (Haleng *et al.*, 2007).

#### II.5.2. Les Anti-oxydants enzymatiques

##### ▪ Les superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde  $O_2^{\bullet-}$  par une réaction de dismutation, en deux produits : l'oxygène moléculaire et le peroxyde d'hydrogène. (Haleng *et al.*, 2007). Il existe plusieurs superoxydes dismutases (SOD) qui diffèrent par leur cofacteur (Manganèse, Cuivre ou Zinc), leur structure et leur localisation cellulaire. (Clémentine Poisson, 2013).

- **La catalase (CAT)**

La catalase est une enzyme tétramérique, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles (**Mates et al, 1999**).

- **La Glutathion Peroxydase (GPxs)**

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés (**Haleng et al, 2007**).

- **La Glutathion-S-Transférase (GST)**

Les GST sont des enzymes cytosoliques présentes dans de nombreux tissus (muscle, intestin, foie, rein), dont l'expression varie en fonction de la localisation, du sexe, de l'âge et de facteurs génétiques et physiopathologiques (**Clémentine Poisson, 2013**), Elles catalysent la réaction de conjugaison du GSH réduit avec des xénobiotiques électrophiles afin de les rendre plus hydrosolubles (**Desmotset al. 2001**). L'addition se fait soit directement sur les groupements fonctionnels du xénobiotique et dans ce cas, la molécule est directement métabolisée par la GST, soit, lorsque la molécule ne possède pas de fonction qui permette cette réaction, sur les groupements hydrophiles générés par l'action préalable des monooxygénases à cytochrome P450. La GST joue donc un rôle majeur dans la neutralisation et la détoxification de certains xénobiotique en augmentant leur hydrosolubilité et en facilitant ainsi leur élimination (**van der Oost et al, 2003**).

### II.5.3. Les Anti-oxydants non enzymatiques

- **Le Glutathion :**

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intracellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible, Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur

des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire (Haleng et al, 2007).

- **La vitamine C**

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA ( $\text{HO}\cdot$  ou  $\text{O}_2\cdot^-$ ). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E (Haleng et al, 2007).

- **La vitamine E**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols (Anísio Francisco SOARES ,2005), La structure moléculaire de la vitamine E comporte deux extrémités une extrémité hydrophile et une extrémité hydrophobe. Sa forme naturelle inclut quatre tocophérols isomères  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ , avec une activité antioxydante variable (Carr et al, 2000). Lors de l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, l' $\alpha$ -TocH, connu comme inhibiteur de la propagation lipidique, cède son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical  $\text{RO}_2$ , et constitue par ce biais le seul antioxydant liposoluble assurant cette protection (Khalil ,2002).

- **Les caroténoïdes**

La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et peuvent ainsi empêcher l'oxydation de plusieurs substrats biologiques dont les acides gras polyinsaturés (AGPI) (Center et al, 2004).

- **L'acide urique**

Produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, L'acide urique est un puissant réducteur des radicaux libres : il réduit les radicaux peroxydes, hydroxyles et neutralise aussi l'anion superoxyde (Ames et al, 1981 ; Simic et al. 1989).

- **Le coenzyme Q**

Le coenzyme Q est un composé hydrophobe qui se situe dans les membranes cellulaires. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant

inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E, (Clémentine Poisson, 2013).

- **Oligoéléments**

Les oligoéléments servent de cofacteurs aux enzymes antioxydants, ont aussi des propriétés antioxydantes. Des métaux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et dans certains micro-organismes le nickel (Ni) et le fer (Fe), jouent un rôle important en tant que catalyseur de la SOD. De la même façon le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont les éléments catalyseurs de la GPx et la catalase, respectivement (De moffarts et al, 2005).

### **III. Modèle biologique : l'escargot *Helix aspersa***

#### **III.1. Présentation de l'espèce**

L'escargot *Helix aspersa* (Müller, 1774) communément appelé petit-gris, est un mollusque gastéropode pulmoné qui fait partie de l'ordre de stylomatophores, de la famille des helicidae.

Selon Bonnet & Vrillon (1990) sa position systématique est la suivante:

**Règne:**Animalia

**Embranchement :** Mollusca

**Classe :** Gastéropoda

**Sous -classe :** Pulmonés

**Ordre :** Stylomatophora

**Super-famille :** Helicacea

**Famille:**Helicidae

**Genre :** *Helix*

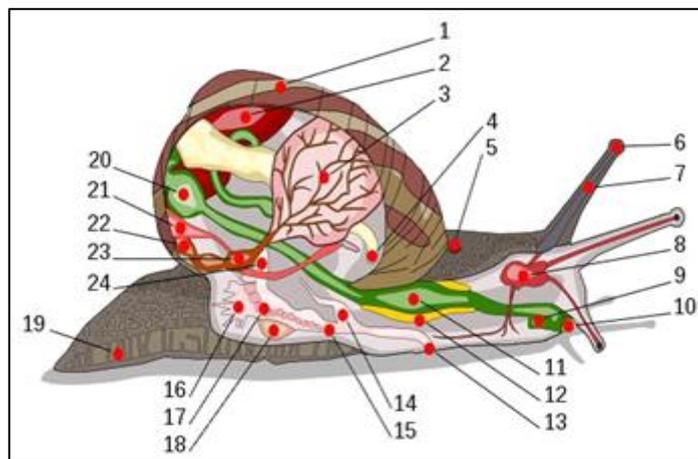
**Espèce :** *aspersa*



**Figure 2.**Présentation de l'escargot *Helix aspersa*.

(<http://www.nhm.org/nature/taxonomy/term/218>)

Il possède une coquille dextre (qui s'enroule de gauche à droite), de couleur brun-jaune avec un diamètre moyen de 30 mm (Figure 2). Le corps de l'escargot est composé de deux parties distinctes : le pied et les viscères. Le pied lui permet de se déplacer avec un mouvement de glisse aidé par l'émission d'un mucus qui réduit la friction avec les surfaces rugueuses. Il comporte le système nerveux, la partie antérieure du tube digestif, la solepédieuse et musculuse. Les viscères sont constitués des organes présents dans le tortillon à l'intérieur de la coquille à savoir : le rein, l'hépatopancréas, le cœur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge jusque dans le pied.



**Figure 3.** Anatomie de l'escargot *Hélix aspersa*. (Boukhallout & Touati, 2016).

**Légende :** 1 : Coquille. 2 : Foie. 3 : Poumon. 4 : Anus. 5 : Pore respiratoire. 6 : oeil. 7 : Tentacule. 8 : Cerveau. 9 : Conduit salivaire. 10 : Bouche. 11 : Panse. 12 : Glande salivaire. 13 : Orifice génital. 14 : Pénis. 15 : Vagin. 16 : Glande muqueuse. 17 : Oviducte. 18 : Sac de dards. 19 : Pied. 20 : Estomac. 21 : Rein. 22 : Manteau. 23 : Cœur. 24 : Canal déférent.

### III.3. Biologie et écologie de l'escargot

Le petit-gris est une espèce ubiquiste, originaire des pays méditerranéens et de la façade atlantique française, très répandue en Europe et dans le monde. *H. aspersa* est assez rare dans les champs et les prairies, et préfère fréquenter la périphérie des zones cultivées, les lisières des forêts, voire les milieux forestiers (Kerney & Cameron, 2006). Il a un régime alimentaire non spécialisé composé de plantes (herbacées, graminées, légumes de culture, lichens, certaines céréales, champignons) (Barker, 2001 ; Chevalier et al., 2001). L'escargot mastique ses aliments à l'aide d'une langue râpeuse appelée radula. Le sol fait également partie de son alimentation, et constitue un apport en calcium indispensable à la formation de sa coquille et influençant sa croissance (Gomotet al., 1989 ; Dallingeret al., 2001).

*H. aspersa* est surtout actif la nuit et en période humide. Les jours trop secs, il entre en estivation en se fixant contre une paroi et en obturant sa coquille d'un voile blanchâtre, l'épiphragme. A partir du mois d'octobre en Europe, l'escargot hiberne en s'enfouissant dans le sol ou en s'abritant dans les interstices des murs. Sa coquille est alors obturée par un épiphragme épais. Il reprend généralement son activité au printemps quand les températures se voient voisines des 12 - 14°C (Marasco & Murciano, 2003 ; Kerney & Cameron, 2006).

#### **III.4. Reproduction et ponte**

*H. aspersa* est hermaphrodite : une seule gonade produit les spermatozoïdes et les ovules qui atteignent l'orifice génital par des conduits séparés. Le processus de l'accouplement est complexe, il peut avoir lieu plusieurs fois avant la ponte. Les 2 escargots se positionnent tête-bêche pour échanger leurs spermatozoïdes. Le temps d'accouplement est variable et peut durer plus de 12 heures (Figure 4).



**Figure 4.** L'accouplement de deux partenaires d'escargots (Pol, 2006).

La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont entourés d'albumen (secrété par la glande albumen), qui constitue les réserves nutritives pour le développement embryonnaire, puis d'une coque calcaire. Pour pondre, l'escargot creuse avec sa tête une cavité de 2-4 cm de profondeur dans le sol, et y dépose une ponte constituée en moyenne d'une centaine d'œufs. La ponte peut durer jusqu'à 36 heures. A une température de 18-20°C, les œufs vont se développer en 12 à 15 jours avant d'éclore. Ensuite les jeunes éclos remontent ensuite en surface, ce qui prend 4 à 5 jours supplémentaires (Lecalve, 1989) avant de pouvoir les apercevoir. (Figure 5).

La durée de l'incubation et de l'éclosion est comprise entre 12 à 25 jours (Djadouri & Be Dahra, 2014). Dès les premiers jours d'incubation, l'embryon élabore une coquille protéique au cours de son développement, elle se calcifie en automne, il éclos par rupture de la membrane externe de l'œuf qu'il consomme (Douafer, 2010).



**Figure 5.** Escargot en position de ponte (Zaafour, 2014).

Le jeune escargot atteint sa maturité dès le mois de juin suivant, leur maturation dépend de la concentration du calcaire dans le milieu, la lumière, l'hygrométrie et la température, qui joue un rôle important dans le déterminisme de la reproduction (Douafer, 2015).

### **III.5. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie**

Les stades juvéniles et adultes d'*H. aspersa* sont utilisés dans de nombreuses études écotoxicologiques. En effet, de par leur place au sein de l'écosystème terrestre, les escargots sont capables d'intégrer des sources multiples de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par diverses voies : digestive, respiratoire et/ou cutanée. Les capacités de résistance et d'accumulation des métaux ont été démontrées chez ces escargots (Bairi, 2018). Les petit-gris sont des bioindicateurs d'exposition et d'effets de polluants métalliques

(Gomot, 1997 ; Coeurdassieret *al.*, 2000, 2002a ; Scheifleret *al.*, 2002a,b ; Fritsch *et al.*, 2011) ou organiques (Coeurdassieret *al.*, 2002, 2011 ; Vaufleuryet *al.*, 2006).

Des bioessais sur *H. aspersa* ont également permis de suivre les transferts des divers polluants (organiques, métalliques, radionucléides) dans des chaînes trophiques (Gomot-de Vaufleury&Pihan, 2000 ; Scheifleret *al.*, 2002, 2003, 2006 ; Scheifler, 2002 ; Hispardet *al.*, 2008), ou encore d'évaluer les cinétiques de transfert milieu-escargot (Gimbert *et al.*, 2006, 2008).

# *Synthèses des travaux*

## I. Expérimentation

### I.1. Détermination de la toxicité d'un xénobiotique

L'objectif de ces bioessais est de déterminer les concentrations sub-létales 10 et 25 (CL10 et CL25), et les concentrations létales 50 et 90 (CL50 et CL90-96h) du métribuzine à l'égard d'*Helix aspersa*. Selon plusieurs auteurs (**Bairi, 2018 ; Ourfella, 2017**) ayant travaillé sur la toxicité d'un xénobiotique (pesticides, métaux lourds) à l'égard d' *Helix aspersa* ils ont suivis la méthode décrites comme suit :

**Traitement** : des boites en plastiques sont placées au niveau du laboratoire. L'ouverture de chaque boite a été bien couverte avec un tissu filet fixé avec une bande d'élastique. Des lots de 10 escargots, de taille et poids similaire sont placés dans les différentes boites, Des essais préliminaires sont réalisés avec une batterie de doses du xénobiotique rassemblés à partir des travaux scientifiques ultérieurs. Le traitement est réalisé soit par voie cutanée, soit par inhalation déposé sur la nourriture. Les animaux sont quotidiennement observés à la même heure, pendant toute la durée de l'expérience (96h).

#### **Mortalité observée**

Le pourcentage de mortalité observée chez les escargots traités par le xénobiotique à différentes concentrations ainsi que les témoins est déterminé selon la formule suivante:

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'escargots morts après traitement}}{\text{Nombre totale des traité}} \times 100$$

#### **Mortalité corrigée**

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule **d'Abbott (1925)** qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

### Transformation angulaire des données

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon **Bliss (1938)** cité par **Ficher & Yates (1957)**. Les données normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification; suivie par le classement des concentrations par le test de **Tukey**.

### Analyse des probits

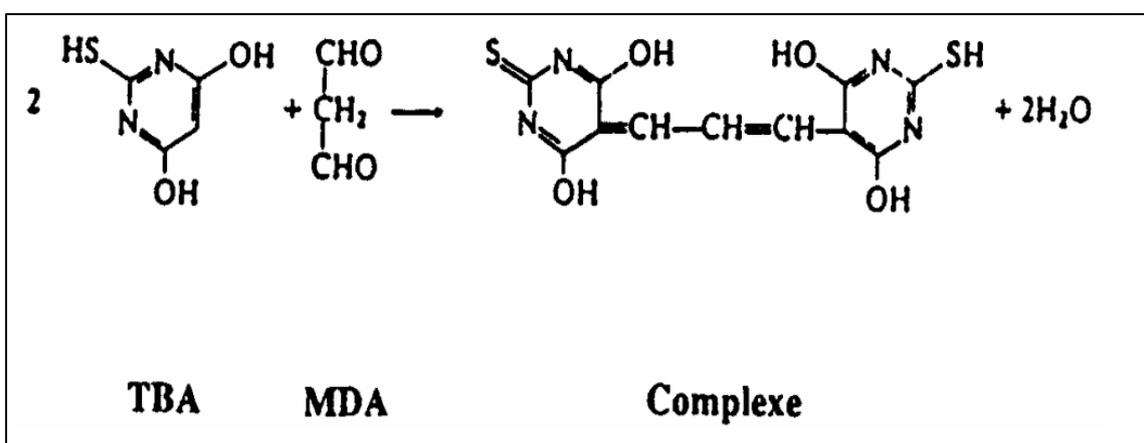
Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probits(y), et les concentrations en logarithme décimal (x) (**Ficher & Yates, 1957**). Le calcul de la droite de régression  $y = ax + b$ , permet l'obtention des CL10, LC25, CL50 et CL90 (**Finney, 1975**).

## I.2. Mesure des biomarqueurs

Selon plusieurs auteurs ayant travaillé sur *H. aspersa*, le dosage des biomarqueurs le malonaldialdéhyde MDA et la glutathion S transférase est réalisé l'hépatopancréas. Les résultats sont exprimés par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon **Bradford (1976)**. (**Bairi, 2018 ; Douafer, 2010 ; Grara et al., 2012**).

### I.2.1. Dosage du MDA

La principale source du malonaldialdéhyde (MDA) est la peroxydation des acides gras insaturés. Le dosage du MDA repose sur sa réactivité avec l'acide thiobarbiturique. En effet, deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA) se fixent sur une molécule de MDA, en milieu acide et à 100°C pour donner un conjugué coloré absorbant à 530 nm et extractible par les solvants organiques comme le butanol (**Draper et al., 1990**).



**Figure 6.** Réaction du dialdéhyde malonique avec l'acide thiobarbiturique

Un volume de 2,5 ml de TCA à 20% est dilué dans une solution de HCl à 0,6 mol/l, le tout est mélangé avec 0,5 ml de plasma dans un tube à essai, et homogénéisé par le vortex. Après 10 minutes, un volume de 2,5 ml de TBA à 0,67% dilué dans une solution de NaOH à 10% est ajouté. Le mélange est chauffé à 100 C° pendant 20 minutes au bain-marie ; après refroidissement, un volume de 4 ml de n-butanol est additionné. Une centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/min est effectuée ; la densité optique est déterminée sur le surnageant au spectrophotomètre à 530 nm. L'activité du MDA est exprimée en  $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines/ml de plasma (Lefèvre *et al.*, 1998).

### I.2.2. Dosage de la glutathion S transférase

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (Habiget *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 récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200  $\mu\text{l}$  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 spectrophotomètre 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  $\mu\text{l}$  d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant, L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante:

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

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

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

*e*: 9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB ( $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ).

*V<sub>t</sub>*: volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

*V<sub>s</sub>*: volume du surnageant dans la cuve: 0,2 ml.

*mg de protéines*: quantité de protéines exprimée en mg.

### I.2.3. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la technique de **Bardfordet al., (1976)** sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G 250, Merk) comme réactif (50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et complété à 500 ml avec l'eau distillée) et l'albumine sérum de bœuf (Sigma, France) comme standard.

La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm, et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de bœuf (1 mg/ml) selon les indications ci-dessous.

**Tableau 02:** Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>Solution d'albumine (µl)</b>	0	20	40	60	80	100
<b>Eau distillée (µl)</b>	100	80	60	40	20	0
<b>Réactif BBC (ml)</b>	4	4	4	4	4	4

## **II. Synthèse des résultats précédents**

La métribuzine (C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>) est une substance phytosanitaire du groupe triazinone, à Usage d'herbicide de certaines graminées et de nombreuses dicotylédones, leur activité est due à une interférence avec le transport des électrons de photosystème II (Inhibiteur de photosynthèse) (Archibald & William, 1987), expose à différents effets nocifs. Pour l'exposition à court terme Et pour Une forte exposition et à long terme ou répétée. (Pohanish, 2012).

### **II.1. La toxicité de la métribuzine**

Il existe plusieurs études menées par des chercheurs sur la métribuzine, ils ont trouvé que la métribuzineprovoque des effets toxiques sur différentes espèces non visé.

SelonMarian *etal.* 1984, le métribuzine est toxique chez la souris lorsqu'elle était administrée par voie intrapéritonéale à des doses sublétales de 150 à 250 mg/kg. Quatre anomalies dose-dépendantes étaient observées. D'autre recherche ont démontré qu'une exposition à la métribuzine à 53 mg/L des poissons (*Daniorerio*)était associée à une mortalité accrue(Lucie *et al.*, 2012).

Des résultats similaires ont prouvé qu'une exposition chronique des écrevisses *Pacifastacus leniusculus* à la métribuzine à des concentrations de 0,52 µg.l<sup>-1</sup> et 3,06 mg.l<sup>-1</sup> (10% 96hLC<sub>50</sub>), entraînée des dommages oxydatifs aux lipides cellulaires, des modifications de l'activité antioxydante dans les tissus d'écrevisses et pathologiques modifications des hépatopancréas (Dalibor *et al.*, 2014).

Aussi, Chiali *et al.*,2013, ilsont conclu que la métribuzine est toxique chez les rats wistar, à une exposition chronique à des faibles doses (D1 : 1,3 mg / kg ou D2 : 13 mg / kg) pendant 3 mois, ceci induisait une réduction significative du poids corporel, des aliments ingestion et une modification indésirable des paramètres biochimiques telles qu'une augmentation de la glycémie plasmatique, des triglycérides, taux d'urée, de créatinine, d'ALT et d'AST.

### **II.2. Effet de la métribuzine sur les biomarqueurs**

#### **II.2.1. Le malondialdéhyde MDA :**

Le malondialdéhyde (MDA) est un produit final de peroxydation lipidique et un produit secondaire du thromboxane A<sub>2</sub> synthèse. (Giera *et al.*, .2012). Les mesures des niveaux de MDA dans les fluides biologiques ont été largement utilisées comme mesure de la peroxydation lipidique et une mesure indirecte de la production de prostaglandines (Yagi, K ,1982), (Smith,

*et al., 1976*), De plus, ce n'est pas seulement un biomarqueur du stress oxydatif, mais sa forte réactivité et la toxicité soulignent le fait que cette molécule est plus que «Juste» un biomarqueur.

Selon *Oropesa et al.(2009)*. Une augmentation des taux du malondialdéhyde réduits dans les tissus chez les crabes espèce habitant l'un des les étangs contaminés par des résidus de simazine. Des travaux similaires de *Martin et al.(2012)* ont trouvé qu'après une exposition sub-chronique à la terbuthylazine et à la métribuzine à des concentrations de 0,9, 160, 520 et 820 µg L<sup>-1</sup> et de 0,9, 4, 14 et 32 mg L<sup>-1</sup> respectivement de la carpe commune *Cyprinus carpio* aux stade larvaie; Une augmentation des taux du malondialdéhyde.

Aussi, d'après l'étude *Sabrine et al.(2015)*, menées sur le niveau d'expression transcriptionnelle et les marqueurs biochimiques du stress oxydant chez le ver de terre *Eisenia andrei* après exposition à Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) substance active d'un herbicide. Cette étude a révélé une augmentation prononcée de l'accumulation de formaldéhyde (MDA).

Selon *Fadila et al.(2017)*, deux espèces de bryophytes (*Orthotrichum affine* et *Scleropodium purum*), bioindicateurs de la région de Souk Ahras (Algérie) qui ont des propriétés tout à fait différents (classification, cycle de reproduction ...) sont traités en conditions hydroponiques par 125, 250, 500, 1000 et 1500 mg / L d'herbicide Sencorate (Metribuzin) pendant 3, 7, 14 et 21 jours. Cette étude a révélé une augmentation des taux de malondialdéhyde MDA.

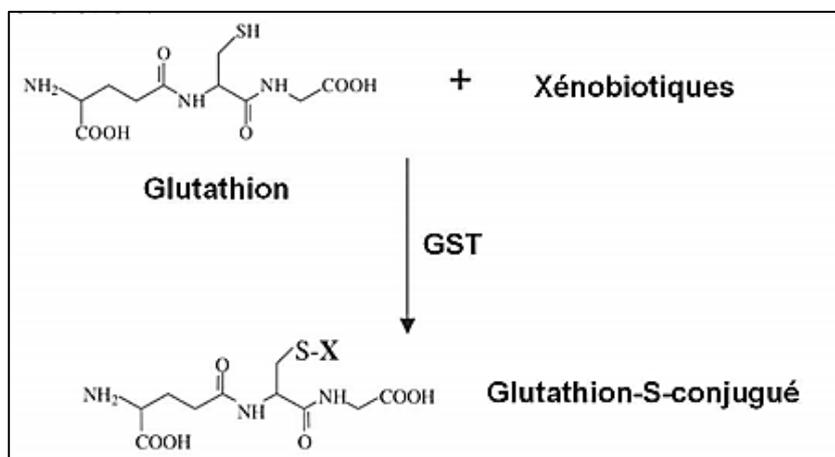
Dans l'étude de *Betul et al.,(2007)*, menée sur la puissance du trichlorfon, un insecticide organophosphoré, pour induire une réponse au stress oxydatif chez érythrocytes humains in vitro. Ont trouvé qu'après une incubation à des solutions de trichlorfon à différentes concentrations et des solutions d'érythrocytes à 37 C pendant 60 min, une augmentation de la formation de MDA en fonction de la concentration.

### **II.2.2. La glutathion S transférase**

Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobies et neutralise les réactions chimiques intermédiaires produites par voie endogène et/ou le métabolisme des xénobiotiques. L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress chimique (*Winston & Di Giulio., 1991*).

Les GST (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 et al., 1991). L'activité des glutathion S-transférases augmentait dans les organismes en fonction de la concentration en xénobiotiques dans le milieu (Van veld & Lee, 1988).



**Figure 7.** Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisé par une GST. (Benradia, 2016).

D'après Oropesa et al, 2009. Une augmentation de l'activité de la glutathion-S-transférase GST dans les tissus chez les crabes espèce habitant l'un des les étangs contaminés par des résidus de simazine. Aussi, dans des travaux similaires de Martin et al, 2012 on trouvé qu'après une exposition subchronique à la terbuthylazine et à la métribuzine à des concentrations de 0,9, 160, 520 et 820  $\mu\text{g L}^{-1}$  et de 0,9, 4, 14 et 32  $\text{mg L}^{-1}$  respectivement de la carpe commune *Cyprinus carpio* aux stade larvaie; Une augmentation des taux de l'activité enzymatique la GST.

De plus, dans l'étude Sabine et al, 2015 menées sur le niveau d'expression transcriptionnelle et les marqueurs biochimiques du stress oxydant chez le ver de terre *Eisenia andrei* après exposition à Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) substance active d'un herbicide. Cette étude a révélé une augmentation de l'activité enzymatique de la GST.

Aussi d'après l'étude de Lawrence & Isioma, (2010), qui a été réalisée pour évaluer les effets du pesticide organochloré, l'endosulfan, le diazinon sur l'activité de la GST dans différentes parties tissus du crapaud commun africain, *Bufo regularis* pendant une exposition de 28 jours à des différentes concentrations de pesticides ; l'activité de la GST des crapauds exposés aux pesticides différenciellement augmenté de manière significative avec l'augmentation des concentrations.

# *Conclusion & Perspectives*

## Conclusion & perspectives

Cette étude est réalisée dans le cadre d'obtention d'un diplôme de fin d'étude de Master en Toxicologie. Elle vise à évaluer l'effet cytotoxique de la métribuzine, un herbicide appartenant à la famille chimique des triazines sur l'espèce non visée *Helix aspersa*.

### **Ce présent travail a été réalisé selon les axes de recherche suivants :**

*Une synthèse bibliographique* : qui nous a permis d'acquérir des connaissances sur l'herbicide (ces caractères physicochimiques, la famille dans laquelle il appartient, ainsi que son mode d'action) ; et d'autre part, des connaissances sur l'intérêt du modèle biologique étudié comme espèce bio-indicatrice, bio-accumulatrice de la pollution des sols et un maillon qui fait parti de la chaîne trophique

En effet, le mode d'action de la métribuzine au niveau des mauvaises herbes est dû à une interférence avec le transport des électrons de photosystème II dans les chloroplastes situés dans la membrane des thylakoïdes des plantes ce qui conduit à la production des ROS.

*Une synthèse des travaux scientifiques* : permettant de nous renseigner sur les protocoles utilisés par les chercheurs afin d'évaluer la toxicité de la métribuzine, ainsi que son effet sur certains biomarqueurs du stress oxydatif : le malonaldéhyde MDA et la glutathion-S-transférase GST.

Selon les travaux précédents réalisés sur la métribuzine, révèlent que l'herbicide est toxique à des concentrations différentes pour plusieurs espèces non visés tel que les poissons, les rats, le vers de terre et les algues ;

De plus, plusieurs travaux réalisés sur l'effet toxique du métribuzine sur les paramètres biochimiques, approuvent qu'elle provoque une augmentation dans les taux du malonaldéhyde MDA, et une augmentation de l'activité de la glutathion S transférase GST chez plusieurs espèces : *Cyprinus carpio L*, *Eisenia andrei*, *wistar albino*, *Chlamydomonas reinhardtii*.

La somme des travaux ultérieurs réalisés, nous a permis de conclure que la métribuzine est capable d'exercer une activité cytotoxique envers l'espèce non visée *Helix aspersa*.

Comme perspective il serait intéressant de réaliser l'expérimentation sur l'espèce non visée *Helix aspersa*.

# *Résumés*

## Résumés

### 1. Résumé

La présente étude consiste à évaluer l'effet cytotoxique de la métribuzine, herbicide qui est commercialisé sous la forme de Sencor en Algérie, sur le taux des deux biomarqueurs glutathion S transférase (GST) et Le malondialdéhyde (MDA) à l'égard d'une espèce non visée *Helix aspersa*.

La métribuzine est l'un des herbicides ayant un mode d'action qui provoque l'inhibition de la photosynthèse au niveau des mauvaises herbes, produisant ainsi, un stress oxydatif. Cet effet nocif a été prouvé chez plusieurs espèces non visées après une exposition à la métribuzine à des concentrations différentes, ou elle a provoqué une augmentation des deux biomarqueurs le malonaldéhyde MDA et la glutathion-S-transférase GST.

L'ensemble des études qu'on a exploré montre que la métribuzine capable de présenter une activité cytotoxique a l'égard de l'espèce non visée *Helix aspersa*.

**Mots clés :** Pollution, herbicide, métribuzine, stress oxydatif, *helix aspersa*, toxicité, GST, MDA.

**2. Abstract:**

The present study consists in evaluating the cytotoxic effect of metribuzin, a herbicide which is marketed in the form of Sencor in Algeria, on the rate of the two biomarkers glutathion S transferase (GST) and Malondialdehyde (MDA) with regard to a non-target species *Helix aspersa* .

Metribuzin is one of the herbicides having a mode of action which causes the inhibition of photosynthesis in weeds, thus producing an oxidative stress, This harmful effect has been proven in several non-target species after exposure to metribuzin at different concentrations, where it caused an increase in the two biomarkers malonaldehyde MDA and glutathione-S-transferase GST.

All the studies that have been explored show that metribuzin is able to exhibit cytotoxic activity with regard of the specie non-target *Helix aspersa* .

**Mots clés :** Pollution, herbicide, metribuzin, oxidative stress, helix aspersa, toxicity, GST, MDA.

## 3. الملخص

هذه الدراسة تتعلق بتقييم التأثير السيتوتوكسيكي لمادة الميتريبيوزين، المسوقة على شكل سانكور بالجزائر، على معدل المؤشرين الحيويين الجلوتاثيون س ترانسفيراز و مالونديالديهيد الموثرة على النوع غير المستهدف هيليكس اسبيرسا. الميتريبيوزين هي احدى المبيدات التي تعمل على منع عملية التركيب الضوئي على مستوى الاعشاب الضارة، حيث تتسبب في ظهور الإجهاد التأكسدي، هذا التأثير الضار ثبت على العديد من الانواع غير المستهدفة بعد التعرض للميتريبيوزين بتركيز مختلف، او تحدث زيادة في المؤشرين الحيويين الجلوتاثيون س ترانسفيراز و مالونديالديهيد.

مجموعة الدراسات التي اطلعنا عليها بينت ان الميتريبيوزين بإمكانها ان تحدث نشاطا سيتوتوكسيكي علي النوع غير المستهدف هيليكس اسبيرسا.

**الكلمات الرئيسية:** التلوث، مبيدات الأعشاب، ميتريبيوزين، الإجهاد التأكسدي، هيليكس اسبيرسا، السمية

GST,MDA

*Références*  
*Bibliographies*

## Référence bibliographique

## A

- Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E. and Hochstein, P. (1981).** "Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis." *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(11), **6858-6862**.
- Almeidaa.A., Gomesa.T., Langforda.K., KevinV.Thomasa.,Tollefsena.K ,(2019).**Aquatic Toxicology, Oxidative stress potential of the herbicides bifenox and metribuzin in the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, journal homepage, **210, 117–128**.
- Anísio Francisco SOARES. (2005).** effets du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : adiponectine et prostaglandines, these de doctorat. Devant l'institut national des sciences appliquees de lyon,**40p**.
- Archibald .B., William .R ., (1987) .**Weeds: An Illustrated Botanical Guide to the Weeds of Australia, Ed Elsevier, Hungary,**255p**.
- Atamer.A.,(2008).** the importance of paraoxonase 1 activity, nitricoxide and lipidperoxidation in hepatosteatosi. *J. Int. Med.Res*, **36: 771-776p**.
- Abbott, C. D. (1925).** *Howard Pyle, a Chronicle by Charles D. Abbott, with an Introduction by NC Wyeth and Many Illustrations from Howard Pyle's Works*. New York &London,: Harper &brothers.

## B

- Bairi, Y., Sifi, K., Soltani, N. (2018).**Growth and Responses of Biomarkers in the Snail*Helix aspersa* (Mollusca, Gastropoda) Used as Bioindicator of Soil Pollution in Northeast of Algeria. In *Euro-MediterraneanConference for EnvironmentalIntegration* (pp. **339-341**). Springer, Cham.
- Barker.G.M.,(2001).** The Biology of TerrestrialMolluscs. CAB Intrnational, Oxon, Wallingford, UK, **567 pages**.
- Belhadi, A., Mehenni, M., Reguieg, L., &Yakhlef, H. (2016).** Pratiques phytosanitaires des serristes maraîchers de trois localités de l'est des Ziban et leur impact potentiel sur la santé humaine et l'environnement. *Revue Agriculture, 1*, 9-16.
- Bérard A., (1994).** Pesticides, quels sont les risques? *Aqua revue*, **53,12-15**.
- Bliss, C. I. (1938).** The transformation of percentages for use in the analysis of variance.

- Bleeke.M.,Smith.M,Casida.A., (1985).** Metabolism and Toxicity of Metribuzin in Mouse Liver', PESTICIDE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY , **23, 123-130** .
- Bleeke.M.S,MartynT.Smith,and Johne E. Casida, (1984).** Metabolism and Toxicity of Metribuzin in Mouse Liver.vol **23, 123-130**.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L. (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain. INRA. ISBN: 978-2-7380-0247-1. **124p**.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., Vrillon, J.L., (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain. INRA. **pp.1-5**
- Bourbia Ait –Hamlet S., (2013).**Evaluation de la toxicité de mixture de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *H. aspersa*. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, **110 p**.
- Bougeutof,. A, Djaballah, .S, (2016).**Evaluation de la toxicité potentielle d'une mixture de pesticides (Oxychlorure de cuivre et Thiaméthoxam) sur l'escargot *Helix Aspersa*, MEMOIRE DE MASTER, Université de Larbi Tébessi –Tébessa-,**4-5 p**.
- Boukhallout, F., & Touati, K. (2016).** Nantoxicité de Séléniure de Cadmium (NPs) sur les paramètres de stress oxydatif d'un modèle cellulaire biologique alternatif *Helix aspersa*. Mémoire De Master en Toxicologie, Xénobiotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi –Tébessa ,**96p**.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgramquantities of proteinutilizing the principle of protein-dye binding. *Analyticalbiochemistry*, **72(1-2), 248-254**.

## C

- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benott P., CharnayH M-P et Coquet Y., (2005).**Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Ed.France Agricole, Paris. 637 p.
- Carr, A.C. Zhan, B.Z. Frei, B. (2002).** Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and alpha-tocopherol (vitamin E). Circulation Research published by the American Heart Association, Vol 7(5), pp. **349-354**.
- CEC., (2002).**Making the environment Healthier for Our Kids - An overview of environmental challenges to the health of North America's children.
- Center. S.A & Randolph. J.F, (2004).**Influence of SAME on erythrocytes and liver tissue in

healthy cats (abstract). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol **14**, p **357**.

**Champ, P. A., Bishop, R. C., Brown, T. C., McCollum, D. W. (1997).** Using donation mechanisms to value nonuse benefits from public goods. *Journal of environmental economics and management*, **33(2)**, **151-162**.

**Chiali.F.Z ., Merzouk .H ., Merzouk . S.A, Medjdoub .A , Narce.M .,(2013).**Chronic low level metribuzin exposure induces metabolic alterations in rats, *Pesticide Biochemistry and Physiology* , journal homepage, **106**, **38–44**.

**Coulibaly,H.,(2005).** Le SCV (Semis direct sous Couverture Végétale), un élément stratégique de gestion durable des terres agricoles : une expérience française comme base de réflexion pour le Mali. Mémoire (DEPA. France). Chapitre 2 (p**13-20**).

**CIRAD-CA GEC AMATROP, (2000).** Les herbicides. agroecologie.cirad.fr /2007/docs/1015714804.pdf. **P1-7**.

**Cicolella A., (mai2000), Évaluation des risques : un outil d'aide à la décision, La Lettre de l'ARET** (Association pour la recherche en toxicologie).

**Clémentine POISSON. (2013).** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique, thèse de doctorat, université paris-sud **11.117p**.

**Clémentine POISSON.(2013).**Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat, université paris-sud **11.121p**.

**Clémentine POISSON,(2013).**Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. Thèse de doctorat, université paris-sud, **11.129p**.

**Clémentine POISSON, (2013).**Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. thèse de doctorat, université paris-sud, **11.141p**.

**Clémentine POISSON., (2013).**Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique.thèse de doctorat, université paris-sud ,**11.127p**

**CyclOpe/Veolia., (2006)** *Du rare à l'infini : panorama mondial des déchets*, Éditions Economica.

**Chevalier, L., Desbuquois, C., Le Lannic, J., & Charrier, M. (2001).** Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie*, **324(11)**, **979-987**.

**Cœurassier, M., Vaufleury, A. G., Badot, P. M. (2000).** Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in land snail *Helix aspersa*

aspersa. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **19(10)**, 2571-2578.

**Cœurduassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C., Badot, P. M. (2002).** Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails?. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **53(3)**, 425-431.

## D

**Davies, M.J., Fu, S., Wang, H., and Dean, R.T. (1999).** Stable markers of oxidant damage to proteins and their application in the study of human disease. *Free Radic. Biol. Med.* **27**, 1151–1163.

**Dalibor .K., Alzbeta .S., Zuskova.E ., Antonin. K., Velisek.J.,(2014),**the effect of subchronic metribuzin exposure to signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus* Dana 1852), *Neuroendocrinology Letters*, **Vol35**, 51–56.

**Depledge, M.H & Fossi, M.C. (1994).**- The role of biomarker in environmental assessment (2). *Ecotoxicol.*, **3**, 161-172.

**Deaton, CM. Marlin, DJ. (2003).** Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, Vol 2(3), pp. 278-291.

**Delattre J, Beaudoux J-L, Bonnefont-Rousselot D. (2005).** radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 547 pages.

**Draper, H. H., & Hadley, M. (1990).** Malondialdehyde determination as index of

**Den Besten, P.J., Postma, J.F., de Valk, S., Dubbeldam, M. et Everaarts, J.M. (2001).** Environmental monitoring in the North Sea by combining biomarkers studies in the sea stars *Asterias rubens* with sediment quality assessment based on sea urchin bioassays. *Biomarkers in Marine Organisms : A Practical Approach*, Ph. Garrigues, H. Barth, C.H. Walker et J.F. Narbonne, editors (Amsterdam; New York : Elsevier Science), pp. 279-330.

**De vaufleury, A., & Gimbert, F. (2009).** Bio-indication et unités (concentrations vs quantités) : comparaison des cinétiques d'accumulation et d'élimination du Cd, Pb et Zn chez l'escargot *Helix aspersa*. *Etude et gestion des sols*, 16, 3/4, 243-252p.

**Djeffal Assia,(2013).**Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C.thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba.17p

**Djeffal Assia,(2013).**Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez

le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C.thèse de doctorat.Université Badji Mokhtar-Annaba.**18p**

**Djadouri,J. D., & Ben Dahra.I ,(2014).** *Effets potentiels antioxydant et anti Inflammatoire de l'homogénat d'Helix aspersa dans un modèle expérimental de colite chimio-induite* Diplôme de Master en Immuno-oncologie, Université de Constantine I,**126p.**

**Desmots, F., Rissel, M., Loyer, P., Turlin, B. and Guillouzo, A. (2001),** "Immunohistological analysis of glutathione transferase A4 distribution in several human tissues using a specific polyclonal antibody." *J Histochem Cytochem* 49(12): **1573-1580.**

**De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J., Lekeux P. (2005).** Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval.**149: 1-9.**

**Dominique ,M. ,(2004).**etude des apports en herbicides et en nutriments par la charente :modelisation de la dispersion de l'atrazine dans le bassin de marnnes-oleron,these de doctorat de l'universite pierre et marie curie paris VI,**61p.**

**Douafer, L., (2015).**Réponses in situ et en laboratoire de deux espèces communes de gastéropodes (*Helix aspersa* et *Helix aperta*) à une contamination des agrosystèmes par un insecticide néonicotinoïde (Actara) : activité de l'AChE et stress oxydatif. Thèse de Doctorat en Biologie et Physiologie Animale, Université Badji-Mokhtar-Annaba, **162p.**

**Douafer,L ,(2010).** Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa* (Mollusca, Gasteropoda): inventaire, activité enzymatique et composition physico-chimique du sol.thèse de Magister de Magister de universite badji mokhtar-annaba ,faculte des sciences,departement de biologie ,laboratoire de biologie animale appliquee.**13p.**

**Ducruet J.M., (1991).** Les herbicides inhibiteurs du photosystème II. In « Les herbicides, mode d'action et principes d'utilisation », INRA [Ed.], sous la direction de R. Scalla, **79-114.**

**Demple, B., Amábile-Cuevas, C. F. (1991).** Redox redux: the control of oxidative stress responses. *Cell*, **67(5), 837-839.**

**Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC et DOC. Paris. **1- 405.**

**De Vaufleury, A. G., &Pihan, F. (2000).** Growing snailsused as sentinels to evaluateterrestrialenvironment contamination by trace elements. *Chemosphere*, **40(3), 275-284.**

# E

- EdelahiD,M.C, (2004).** Contribution à l'étude de dégradation un situ des pesticides par procédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées. Thèse (docteur de l'Université de Marne la Vallée). Chapitre 1 (p22-25).
- EL Azzouzi E., (2013).** Processus Physico-chimiques d'Elimination des pesticides dans l'environnement : Cas de l'Imazéthapyr. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V – Agdal, Rabat, **108 p.**
- El Mrabet .K, (2006),** thèse de doctorat, paris.
- Environnement Canada/Agriculture Canada,(1987).** Sondage auprès des fabricants de pesticides enregistrés, rapport de 1986. Direction des produits chimiques commerciaux, Conservation et Protection, Environnement Canada, Ottawa

# F

- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), **108-117.**
- Favier, V., Cavaille, J. Y., Canova, G. R., Shrivastava, S. C. (1997).** Mechanical percolation in cellulose whisker nanocomposites. *Polymer Engineering & Science*, **37(10)**, **1732-1739.**
- FAO, (1990).** Code international de conduite pour la distribution et l'utilisation des pesticides (Version amendée), **39 p.**
- Fdil.F, (2004).** Etude de la dégradation des herbicides chlorophénoxyalcanoïques par des procédés photochimique et électrochimique. Applications environnementales. Thèse (Docteur de l'Université de Marne-La-Vallée). Chapitre 1 (p 8-25).
- Fritsch, J., Scheerer, P., Frielingsdorf, S., Kroschinsky, S., Friedrich, B., Lenz, O., Spahn, C. M. (2011).** The crystal structure of an oxygen-tolerant hydrogenase uncovers a novel iron-sulphur centre. *Nature*, **479(7372)**, **249-252.**

- Fritsch, C., Coeurdassier, M., Gimbert, F., Crini, N., Scheifler, R., & De Vaufleury, A. (2011).** Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaeanemorialis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicology*, **20(4)**, 739-759.
- Fisher, R. A., & Yates, F. (1957).** Student's t-test of significance. *Statistical tables for agricultural, biological and other research workers*. Edinburgh: Oliver and Boyd, 157.
- Finney, J. L. (1975).** Volume occupation, environment and accessibility in proteins. The problem of the protein surface. *Journal of molecular biology*, **96(4)**, 721-732.

## J

- Jawich, D. (2006).** Etude de la toxicité de pesticides vis-à-vis de deux genres de levures: approche cinétique et moléculaire (Doctoral dissertation).

## H

- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1990).** "Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview." *Methods Enzymol* **186**: 1-85.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. vol 62 : 10 : 628-638.
- Hispard, F., Schuler, D., De Vaufleury, A., Scheifler, R., Badot, P. M., & Dallinger, R. (2008).** Metal distribution and metallothionein induction after cadmium exposure in the terrestrial snail *Helix aspersa* (Gastropoda, Pulmonata). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **27(7)**, 1533-1542.
- Hamdi-Ourfella, A. N., & Soltani, N. (2017).** *Biodiversité des Gastéropodes en Algérie. Bioindicateur Helix aperta*. Éditions universitaires européennes.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974).** Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, **249(22)**, 7130-7139.

## I

**IICC (1994).**- INSA/INRA/CRIDEAU/CNRS : Investigation sur les différentes approches de la définition et de la qualification des sites et sols pollués. Rapport **93-503**, Lyon Association Record .

## G

**Geyer, H., Politzki, G. et Freitag, D. (1984).** Prediction of ecotoxicological behaviour of chemicals: relationship between n-octanol/water partition coefficient and bioaccumulation of organic chemicals by alga *Chlorella*. *Chemosphere*, **13**: 269 .

**Gueye, P. M. (2007).** Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).

**Grune, T., Blasig, I. E., Sitte, N., Roloff, B., Haseloff, R., & Davies, K. J. (1998).** Peroxynitrite increases the degradation of aconitase and other cellular proteins by proteasome. *Journal of Biological Chemistry*, **273(18)**, 10857-10862.

**Gomot, A., Rerat, A., Nordmann, R., Boudene, C. (1997).** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. Discussion: Pollution des sols et santé de l'homme. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, **181(1)**, 59-75.

**Gimbert, F. (2006).** Cinétiques de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargots. *University of Franche-Comté, Besançon, France*, **192**.

**Gimbert, F., Morin-Crini, N., Renault, F., Badot, P. M., & Crini, G. (2008).** Adsorption isotherm models for dye removal by cationized starch-based material in a single component system: error analysis. *Journal of Hazardous Materials*, **157(1)**, 34-46.

**Grara, N., Boucenna, M., Atailia, 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, Risques & Santé*, **11(3)**, 221-229.

# K

- Kerney M., Cameron R., Bertrand A., (2006).** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe, French ed. Paris, Delachaux et Niestlé SA. **97 p.**
- Khalil .A., (2002),** [Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis] *Can J Physiol Pharmacol.*, vol 80(7), **p.662-669.**

# L

- Le Calve, D. (1989).** Influence des conditions d'incubation des œufs sur les six premières semaines de la croissance d'escargots petits-gris, *Helix aspersa* Müller (Gasteropode, Pulmone, Stylommatophore). *Bulletin de la Société zoologique de France*, **114(1), 101-110.**
- Lucie .P, Stanislava . S, Eva P, Lucie .C, Lenka . Z, Lenka .D, Misa . S, Vladimira .P, Iveta. B, Zdenka. S. (2012).**The Effects of Subchronic Exposure to Metribuzin on *Danio rerio*.doi:10.1100/2012/728189.
- Lefevre, G., Beljean-Leymarie, M., Beyerle, F., Bonnefont-Rousselot, D., Cristol, J. P., Therond, P., & Torreilles, J. (1998, May).** Evaluation of lipidperoxidation by assaying the thiobarbituricacid-reactive substances. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 56, No. 3, pp. 305-19).

# M

- Madani, E. L., Toumi, M., & Benkhalifa, A. (2016).** Recueil des résumés “Ethnobotanica 2. Phytothérapie.
- Mathias, K. (2011).** *Etude bibliographique sur les bio-indicateurs et biomarqueurs des effets des perturbations des écosystèmes par les pesticides.* [En ligne]. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Diplôme de 3ème Cycle d'ingénieur agronome, p1, Disponible sur :

<https://www.memoireonline.com/01/13/6745/Etude-bibliographique-sur-les-bio-indicateurs-et-biomarqueurs-des-effets-des-perturbations-des-ecosy.html> (consulté 24/03/2020).

- Marrs, T. T. , B. Ballantyne ,(2004).** Pesticide Toxicology and International Regulation, John Wiley & Sons.
- Martin .G , Henk. L ,Wilfried. M, Niessen.A ,(2012),** Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview.**vol 75:433–440.**
- Martin. H, Jana. B, Lucie .P, Stanislava. S, Eva. P, Petr .M, Zdenka .S,(2012),**Oxidative stress parameters in early developmental stages of common carp (*Cyprinus carpio* L.) after subchronic exposure to terbuthylazine and metribuzin.**vol 33:124–129.**
- Marc.J, (2004),** Effets toxiques d’herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l’embryon d’oursin. Thèse (docteur de l’université de Rennes1). Chapitre (p 13-19).
- Matés.J, Perez-Gomez.C, Nunez Castro. I, (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry Journal*, Vol 32, pp. 595-603.
- Mishra .A ,Devi .Y ,(2013)** Histopathological alterations in the brain (optic tectum) of the fresh water teleost *Channa punctatus* in response to acute and subchronic exposure to the pesticide Chlorpyrifos, *Acta Histochem*, **116: 178-181.**
- Middlekauf ,R., n., (1986).** Pesticides residue in food: Legal and scientific issues. *Food drug cosmetic law*. **1.42 :251-264.**
- Moreland D.E., (1967).** Mechanisms of action of herbicides. *Ann. Ftev. Plant Physiol.*, 18, 365-386.
- Monaco, T. J., S. C. Weller, and F. M. Ashton. (2002).** *WeedScience: Principles and Practices*. New York: John Wiley&Sons.
- Marasco, F., Murciano, C. (2000).** *Guía completa de la cría de caracoles. Sistema de helicicultura de ciclo biológico completo*. Editorial de Vecchi.

## 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.

## O

**OMS, (1994)**, Prévention des risques pour la santé lors de la préparation et de l'embaJ Pesticides, **80** p.

**Oropesa.A.L, Garcia-Cambero.J.P, Soler.F, (2009)**,Glutathione and malondialdehyde levels in common carp after exposure to simazine.vol **27** : **30–38**.

## P

**Pelletier.F, 1992**. Impact de différentes pratiques culturales sur la persistance de l'herbicide atrazine et sur la biomasse microbienne du sol. Mémoire INRS-Eau (Québec). Chapitre 1(p 6-18) et chapitre 2 (**p30-36**).

**Plhalova .L, Stepanova.S, Praskova.E, Chromcova.L,Zelnickova.L, Divisova.L, Skoric.M, Pistekova.V,Bedanova.I, Svobodova.Z,(2012)**, The Effects of Subchronic Exposure toMetribuzin on Danio rerio, The ScientificWorld Journal, Article **ID 728189**, **6** pages.

**Pohanish RP (2012)**, Sittig'sHandbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens, Volume 1. Ed: 6. Elsevier, USA. **3040p**.

**Pol, D. (2006)**. Elevage de l'escargot. In : Fondation La main à la pâte [en ligne]. (18 /9/2006) Disponible sur :

<http://www.fondation-lamap.org/fr/page/11571/elevage-de-lescargot>(Consulté le 25/03/2020).

**Pritchard, P.H,Fate of pollutants, J. Water Pollut. Control Fed. (1986)**, **58(6): 636**.

**Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., &Defraigne, J. O. (1999)**. Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **4(4)**, **6-11**.

## R

**Rhind.SM,(2009).** Anthropogenic pollutants: a threat to ecosystem sustainability Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences **364**, 3391-3401.

**Rivière.J. L, (1998).**- Evaluation du risque écologique des sols pollués. Association Record ,Lavoisier Tec & Doc, Paris, **230 pp.**

## S

**Sandermann. H., (2004).** Molecular ecotoxicology of plants. Trends in Plant Science **9**, 406-413.

**Serdar.Z, Aslan.K, Dirican.M, Sarandol.E,Yeşilbursa.D, Serdar.A, (2006),** Lipid and protein oxidation, Vol 39(8), pp. **794.**

**Simic MG, Jovanovic SV,(1989),** Antioxidation mechanisms of uric acid. J Am chem Soc.,**111: 5778-5782.**

**Sies H,(1991),** Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* **91:31-38.**

**Smith, J. B., Ingerman. C. M.. and Silver. M. J., (1976),** 1. Lrrh. <‘fizz. Med. **88, 167 .**

**Sabrine. H , Itab .B , Hamadi .B , Aldo .V, Mohamed. B , SusannaS. f ,(2015).**Transcriptionalexpressionlevelsandbiochemicalmarkersofoxidative stress in the earth worm *Eisenia andrei* after exposure to 2,4-dichloro phenoxy aceticacid(2,4-D) .vol **122:76–82.**

**Schuetz, E. G., Strom, S., Yasuda, K., Lecureur, V., Assem, M., Brimer, C., ... &Venkataramanan, R. (2001).** Disrupted bile acidhomeostasisreveals an unexpected interaction amongnuclear hormone receptors, transporters, and cytochrome P450. *Journal of Biological Chemistry*, 276(42), 39411-39418.

**Stadtman, E. R. (1990).** Metal ion-catalyzedoxidation of proteins:biochemicalmechanism and biologicalconsequences. *Free Radical Biology and Medicine*, **9(4), 315-325.**

**Stadtman, E. R. (1993).** Oxidation of free aminoacids and aminoacidresidues in proteins by radiolysis and by metal-catalyzedreactions. *Annualreview of biochemistry*, **62(1), 797-821.**

**Sen, G. C. (2001).** Viruses and interferons. *AnnualReviews in Microbiology*, **55(1), 255-281.**

**Scheifler, R., Gomot-De Vaufleury, A., Toussaint, M. L., Badot, P. M. (2002).** Transfer and effects of cadmium in an experimentalfoodchaininvolving the snail *Helix aspersa*

and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*, **48(6)**, 571-579.

**Scheifler, R., Gomot-De Vaufleury, A., Badot, P. M. (2002).** Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **53(1)**, 148-153.

**Scheifler, R., Brahim, M. B., Gomot-De Vaufleury, A., Carnus, J. M., & Badot, P. M. (2003).** A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. *Environmental Pollution*, **122(3)**, 343-350.

**Scheifler, R., Coeurdassier, M., Morilhat, C., Bernard, N., Faivre, B., Flicoteaux, P., ... & De Vaufleury, A. (2006).** Lead concentrations in feathers and blood of common blackbirds (*Turdus merula*) and in earthworms inhabiting unpolluted and moderately polluted urban areas. *Science of the Total Environment*, **371(1-3)**, 197-205.

## T

**Tissut M., Severin F., (1984).** Plantes Herbicides et Désherbage, bases scientifiques et techniques, eds ACTA, 128-131.

## V

**Vanderoost, R., Beyers, J., Vermeulen, N. (2003),** fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review . environmental toxicologie and pharmacology **13**: 57- 149.

**Van Veld, P. A., & Lee, R. F. (1988).** Intestinal glutathione S-transferase activity in flounder *Platichthys flesus* collected from contaminated and reference sites. *Marine Ecology Progress Series*, **61-63**.

## W

**WenJun .Z , FuBin .J, JianFeng .O, (2011) ,** Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus , Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, **vol 2:125-144 .**

**Winston, G. W., & Di Giulio, R. T. (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic toxicology*, **19(2), 137-161.**

## **Y**

**Yagi. K.,(1982),** in “Lipid Peroxides in Biology and Medicine” (K. Yagi. Ed.). **p. 223.** Academic Press.New York.

## **Z**

**Zaafour , M. (2014),** Étude écophysiological de la reproduction de l’escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersaaspersa*, Gastropoda:Stylommatophora; Helicidea) dans la région Nord-Est d’Annaba – Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Badji Mokhtar-Annaba, **109p.**

## Résumés

### 1. Résumé

La présente étude consiste à évaluer l'effet cytotoxique de la métribuzine, herbicide qui est commercialisé sous la forme de Sencor en Algérie, sur le taux des deux biomarqueurs glutathion S transférase (GST) et Le malondialdéhyde (MDA) à l'égard d'une espèce non visée *Helix aspersa*.

La métribuzine est l'un des herbicides ayant un mode d'action qui provoque l'inhibition de la photosynthèse au niveau des mauvaises herbes, produisant ainsi, un stress oxydatif. Cet effet nocif a été prouvé chez plusieurs espèces non visées après une exposition à la métribuzine à des concentrations différentes, ou elle a provoqué une augmentation des deux biomarqueurs le malonaldéhyde MDA et la glutathion-S-transférase GST.

L'ensemble des études qu'on a exploré montre que la métribuzine capable de présenter une activité cytotoxique a l'égard de l'espèce non visée *Helix aspersa*.

**Mots clés :** Pollution, herbicide, métribuzine, stress oxydatif, *helix aspersa*, toxicité, GST, MDA.

### 2. Abstract:

The present study consists in evaluating the cytotoxic effect of metribuzin, a herbicide which is marketed in the form of Sencor in Algeria, on the rate of the two biomarkers glutathion S transferase (GST) and Malondialdehyde (MDA) with regard to a non-target species *Helix aspersa*.

Metribuzin is one of the herbicides having a mode of action which causes the inhibition of photosynthesis in weeds, thus producing an oxidative stress, This harmful effect has been proven in several non-target species after exposure to metribuzin at different concentrations, where it caused an increase in the two biomarkers malonaldehyde MDA and glutathione-S-transferase GST.

All the studies that have been explored show that metribuzin is able to exhibit cytotoxic activity with regard of the specie non-target *Helix aspersa*.

**Mots clés :** Pollution, herbicide, metribuzin, oxidative stress, *helix aspersa*, toxicity, GST, MDA.

### 3. الملخص

هذه الدراسة تتعلق بتقييم التأثير السيتوتوكسيكي لمادة الميتريبيوزين، المسوقة على شكل سانكور بالجزائر، على معدل المؤشرين الحيويين الجلوتاثيون س ترانسفيراز و مالونديالدهيد الموثرة على النوع غير المستهدف هيليكس اسبيرسا. الميتريبيوزين هي احدى المبيدات التي تعمل على منع عملية التركيب الضوئي على مستوى الاعشاب الضارة، حيث تتسبب في ظهور الإجهاد التأكسدي، هذا التأثير الضار ثبت على العديد من الانواع غير المستهدفة بعد التعرض للميتريبيوزين بتركيزات مختلفة، او تحدث زيادة في المؤشرين الحيويين الجلوتاثيون س ترانسفيراز و مالونديالدهيد.

مجموعة الدراسات التي اطلعنا عليها بينت ان الميتريبيوزين بإمكانها ان تحدث نشاطا سيتوتوكسيكي علي النوع غير المستهدف هيليكس اسبيرسا.

**الكلمات الرئيسية :** التلوث، مبيدات الأعشاب، ميتريبيوزين، الإجهاد التأكسدي، هيليكس اسبيرسا، السمية، GST,MDA