

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique
Université Chadli Bendjedid
El Tarf



جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

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

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا



THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTORAT EN SCIENCES

THÈME

*Évaluation de la toxicité de mixtures de
métaux lourds sur un bioindicateur de la
pollution des sols Helix aspersa*

Soutenue le : 09/04/2025

Présentée Par : GOUASMIA Yassine

Devant le jury composé de :

Pr LAZLI Amel	Présidente	Univ. Chadli Bendjedid- El Tarf
Dr RACHEDI Mounira	Direct. thèse	Univ. Chadli Bendjedid- El Tarf
Pr TADJINE Aicha	Co-direct. thèse	Univ. Chadli Bendjedid- El Tarf
Dr ALAYAT Amel	Examinatrice	Univ. Chadli Bendjedid- El Tarf
Dr DJEKOUN Meriem	Examinatrice	Univ. Badji Mokhtar- Annaba
Dr KLECHE Meriem	Examinatrice	Univ. Badji Mokhtar- Annaba

≈ Année universitaire 2024 - 2025 ≈

Remerciement

*Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein du Centre de Recherche en Biotechnologie à Constantine (CRBt). Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **AZIOUN Amar**, Directeur du Centre de Recherche en Biotechnologie, pour son soutien indéfectible et ses encouragements constants. Je remercie également le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique ainsi que la Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique (DGRSDT) pour avoir financé ces travaux.*

*Je tiens à adresser mes sincères remerciements au **Madame RACHEDI Mounira**, Maître de conférences à l'Université d'El Tarf et directrice de cette thèse, ainsi qu'au **Professeur TADJINE Aicha**, Professeure à l'Université d'El Tarf et co-directrice de cette thèse.*

Leur expertise en toxicologie, leur confiance, leur disponibilité et la richesse de nos échanges scientifiques, à la fois stimulants et constructifs, ont été d'une grande valeur. Sans elles, ce travail n'aurait pas été possible. Elles m'ont guidé tout au long de ce parcours, de la définition de la problématique à la rédaction des résultats, me permettant ainsi de m'épanouir en tant que chercheur.

*Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Madame **LAZZI Amel**, Professeur à l'Université d'El-Tarf, qui a eu l'honneur de présider ce jury. Sa bienveillance et son expertise ont grandement enrichi l'évaluation de ce travail.*

*Je remercie vivement Madame **ALAYAT Amel**, Maître de conférences à l'Université d'El-Tarf, pour avoir accepté d'examiner ce travail et y avoir apporté ses précieux commentaires, qui ont été d'une grande utilité.*

*Toute ma gratitude va à Madame **KLECHE Meriem**, Maître de conférences à l'Université d'Annaba, pour sa participation au jury et son engagement dans l'examen de cette thèse, ainsi qu'à Madame **DJEKOUN Meriem**, également Maître de conférences à l'Université d'Annaba, pour son implication et son expertise.*

*Je suis profondément reconnaissant envers Madame **ATAILIA Amira**, Maître de conférences à l'Université d'Annaba, pour sa disponibilité, son soutien constant et ses conseils avisés tout*

au long de ma formation. Ses compétences scientifiques et humaines m'ont été d'une aide précieuse, et je lui en suis infiniment reconnaissant.

*Je tiens à remercier chaleureusement **Dr REDJEB Ayad, Dr LAADJAL Abdessatar et Dr DJEDDI Khaled** pour leur aide continue et leur amitié. Leur soutien, leur bienveillance et leur disponibilité ont été essentiels à la réussite de ce travail.*

*Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à mes collègues chercheurs permanents au Centre de Recherche en Biotechnologie, à savoir **KASHI I., RAHAB H., RAHMANI A., BENHENIA K., CHERB N., HADAD R., CHACHA F., KHALDI T et DOUH M.** Leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils avisés ont grandement facilité mon parcours.*

*Je tiens à remercier chaleureusement mes collègues de Magister à savoir **BERGHICHE A., LOUCIF K., LAABACI R., HAMELA et DJEMIL K (rabi yarhmha)** ainsi que mes collègues du laboratoire de toxicologie à l'Université d'Annaba pour leur soutien, leurs conseils et leur camaraderie tout au long de ce travail.*

Enfin, je souhaite remercier chaleureusement tous mes collègues et amis du Centre de Recherche en Biotechnologie, de l'Université d'Annaba et de l'Université d'El-Tarf. Leur aide, leurs encouragements et leur générosité ont été d'une importance capitale, surtout dans les moments les plus difficiles. Leur présence a été un véritable soutien tout au long de ce projet.

Dédicace

À mes parents, sans qui rien n'aurait été possible, pour leur amour incommensurable et leur soutien inébranlable.

À ma femme, pour sa compréhension, sa patience et ses encouragements constants, qui m'ont permis de traverser chaque étape de ce parcours.

*À mes enfants, **Djasser, Qousai**, ainsi qu'à mes filles **Amona et Mawada**, qui sont ma plus grande source de motivation et mon inspiration au quotidien.*

*À mes frères **Mouaad, Issam et Abd Elhafid**, ainsi qu'à leurs adorables filles, **Tasnim et Noursin**, pour leur amour et leur soutien infaillibles.*

*À mes sœurs **Djihane et Fahima**, ainsi qu'à leurs précieuses filles, **Ritaj, Nada, Serin et Loulo**, pour leur présence réconfortante et leur générosité.*

À tous mes collègues et camarades de la promotion de Docteurs Vétérinaires de 2012,

*Un merci particulier à **Noureddine, Taki, Chouchou, Nacer, et Aissa**, pour leur précieuse amitié et leur présence inoubliable tout au long de ces années.*

*Au personnel de **la laiterie Dar El Moun**,*

*Et tout particulièrement à mon ami **Samir**, pour son soutien indéfectible et ses encouragements constants.*

À mes amis, pour leur constante présence, leur soutien et leurs encouragements qui m'ont aidé à persévérer.

À ma belle-famille, pour leur affection sincère et leur appui indéfectible, qui ont enrichi mon parcours.

Résumé

Cette thèse examine la toxicité d'une mixture de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de cadmium (Cd) sur *Helix aspersa*, un bioindicateur clé pour la biosurveillance environnementale. Menée au Centre de Recherche en Biotechnologie, l'étude a impliqué 180 escargots adultes exposés pendant 28 jours à un sol naturel contaminé par une concentration fixe de cadmium (1500 mg/kg) et des doses croissantes de ZnO NPs (250, 750, 2250, 6750, et 20250 mg/kg).

Les résultats ont révélé des altérations physiologiques importantes, notamment une perte de poids dose-dépendante des tissus mous et des organes (hépatopancréas et reins), traduisant un impact physiologique significatif. Des perturbations métaboliques ont également été constatées, avec une diminution du glutathion réduit (GSH), une augmentation du malondialdéhyde (MDA) et des déséquilibres en protéines totales, indiquant un stress oxydatif majeur.

Les systèmes antioxydants, bien que sollicités, n'ont pas pu compenser ces dommages, comme en témoignent l'inhibition dose-dépendante des enzymes GST, CAT et AChE, traduisant des dysfonctionnements de détoxification, des dommages neurologiques et une incapacité à protéger les cellules.

Par ailleurs, des lésions histopathologiques graves ont été observées dans les reins et l'hépatopancréas, reflétant des dégâts irréversibles. Ces résultats confirment la sensibilité des escargots *Helix aspersa* aux mélanges de ZnO NPs et de cadmium, renforçant leur rôle comme bioindicateurs de contamination environnementale. L'étude met en évidence les effets toxiques combinés de ces nanoparticules et appelle à des réglementations strictes pour limiter leur impact sur les écosystèmes terrestres.

Mots clés : *Helix aspersa*, nanoparticules d'oxyde de zinc, cadmium, CAT, GST, GSH, MDA, AChE, histopathologie, biomarqueurs, rein, hépatopancréas.

ملخص

تستعرض هذه الأطروحة سمية خليط من جزيئات أكسيد الزنك النانوية (ZnO NPs) والكادميوم (Cd) على *Helix aspersa*، وهو مؤشر حيوي رئيسي للرصد البيئي. أُجريت الدراسة في مركز البحث في التكنولوجيا الحيوية، وشارك فيها 180 حلزونًا بالغًا تعرضوا لمدة 28 يومًا لتربة طبيعية ملوثة بتركيز ثابت من الكادميوم (1500 ملغم/كغم) وكميات متزايدة من جزيئات أكسيد الزنك النانوية (250، 750، 2250، 6750، و20250 ملغم/كغم).

أظهرت النتائج حدوث تغييرات فيزيولوجية هامة، بما في ذلك فقدان الوزن المعتمد على الجرعة في الأنسجة الرخوة والأعضاء (الكبد والبنكرياس والكلية)، مما يشير إلى تأثير فيزيولوجي كبير. كما تم ملاحظة اضطرابات أيضية، مع انخفاض في الجلوتاثيون المختزل (GSH)، وزيادة في المالونديدهيد (MDA)، واختلالات في البروتينات الإجمالية، مما يدل على وجود إجهاد أكسدي كبير.

على الرغم من تفعيل الأنظمة المضادة للأكسدة، إلا أنها لم تتمكن من تعويض الأضرار، كما يتضح من تثبيط الإنزيمات GST وCAT وAChE بشكل معتمد على الجرعة، مما يعكس اختلالات في آليات التخلص من السموم، وأضرارًا عصبية، وعجزًا عن حماية الخلايا.

علاوة على ذلك، لوحظت إصابات نسيجية خطيرة في الكلية والكبد والبنكرياس، مما يعكس أضرارًا لا يمكن إصلاحها. تؤكد هذه النتائج حساسية *Helix aspersa* للمزيج من جزيئات أكسيد الزنك النانوية والكادميوم، مما يعزز دورها كمؤشر حيوي للتلوث البيئي. وتسلط الدراسة الضوء على التأثيرات السامة المجمعّة لهذه الجزيئات النانوية وتدعو إلى فرض لوائح صارمة للحد من تأثيراتها على النظم البيئية الأرضية.

الكلمات المفتاحية: *Helix aspersa*، جزيئات أكسيد الزنك النانوية، الكادميوم، CAT، GST، GSH، MDA، AChE، الأمراض النسيجية، المؤشرات الحيوية، الكلية، الكبد والبنكرياس..

Abstract

This thesis examines the toxicity of a mixture of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) and cadmium (Cd) on *Helix aspersa*, a key bioindicator for environmental biosurveillance. Conducted at the Center for Biotechnology Research, the study involved 180 adult snails exposed for 28 days to a natural soil contaminated with a fixed concentration of cadmium (1500 mg/kg) and increasing doses of ZnO NPs (250, 750, 2250, 6750, and 20250 mg/kg).

The results revealed significant physiological alterations, including a dose-dependent loss of weight in soft tissues and organs (hepatopancreas and kidneys), indicating a major physiological impact. Metabolic disturbances were also observed, with a decrease in reduced glutathione (GSH), an increase in malondialdehyde (MDA), and imbalances in total proteins, indicating major oxidative stress.

Although the antioxidant systems were activated, they were unable to compensate for the damage, as evidenced by the dose-dependent inhibition of the enzymes GST, CAT, and AChE, which reflect dysfunctions in detoxification, neurological damage, and an inability to protect cells.

Additionally, severe histopathological lesions were observed in the kidneys and hepatopancreas, reflecting irreversible damage. These results confirm the sensitivity of *Helix aspersa* to mixtures of ZnO NPs and cadmium, reinforcing their role as bioindicators of environmental contamination. The study highlights the combined toxic effects of these nanoparticles and calls for strict regulations to limit their impact on terrestrial ecosystems.

Keywords: *Helix aspersa*, zinc oxide nanoparticles, cadmium, CAT, GST, GSH, MDA, AChE, histopathology, biomarkers, kidneys, hepatopancreas.

Liste des abréviations

- AND:** Acide désoxyribonucléique
- ASS:** Acide Sulfosalicylique.
- ATP:** Adenosine triphosphate.
- BBC :** Bleu brillant de coomasie.
- BSA :**Serum Albumin Bovin.
- BCFs :** Facteurs de bioconcentration
- CAT:** Catalase
- Cd:** Cadmium
- Cr:** Chrome
- Cu :** Cuivre
- CDNB:** 1-Chloro,2,4-Dinitrobenzène.
- DDT:** Dichlorodiphényltrichloroéthane
- DO:** Densité optique
- DTNB:** Dithiobisnitrobenzoate
- EDTA:** Acide éthylène-diamine-tétraacétique
- ETM :** Elément Trace Métallique
- FBA s :** Facteur(s) de bioaccumulation
- Fe :** Fer
- GPx :** Glutathion peroxydase
- GSH :** Glutathion réduit
- GST :** Glutathion S transférase
- H2O2 :** Peroxyde d'hydrogène
- HCH :** Hexachlorocyclohexane
- Hg :** Mercure
- HSPs :** Hydrocarbure(s) aromatique polycyclique
- Mn :** Manganèse
- MTs :** Métallothionéines
- Ni :** Nickel
- OMS :** Organisation mondiale de la santé.
- Pb :** Plomb
- PCB :** Polychlorobiphényle
- PCPs :** Polychlorophénols

PH : Potentiel hydrogène

SH: Groupement thiol

SOD: Superoxyde dismutase

Zn : Zinc

ZnO : Oxyde de Zinc

ZnO NPs/Cd : combinaison de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de cadmium (Cd).

As: Arsenic

Co: Cobalt

Se: Sélénium

Liste des tableaux

Tableau 1. Principales propriétés physico-chimiques des ETM étudiés (Ouvoroff et al., 2022).....	14
Tableau 2. Table 2. Production et utilisation mondiales de zinc au cours des années 2019 à 2024, (Lead and Zinc Study Group (ILZSG). Available online: (accessed on 20 Aout 2024)).	34
Tableau 3. Voies d'exposition des contaminants chez les gastéropodes terrestres <i>Helix aspersa</i>.	56
Tableau 4. Paramètres physico-chimiques du sol prélevés dans la région de Guelma. ...	67
Tableau 5. Concentrations de Cadmium (Cd) et de Nanoparticules d'Oxyde de zinc (NPs ZnO) utilisées dans l'essai.	70
Tableau 6. Mortalité des escargots enregistrée à la fin de la période d'exposition	91

Liste des figures

Figure 1. Tableau périodique des éléments traces métalliques indiquant les éléments essentiels (Vatsala, 1998) (Bock von Wülfingen, 2019)	13
Figure 2. Explication schématique des métaux lourds dans l'environnement. (Mitra et al., 2022)	16
Figure 3. Notion de biodisponibilité et concepts associés, adapté, d'après Fritsch (2010).	19
Figure 4. Comportement, Spéciation et biodisponibilité des Éléments Traces Métalliques (ETM) dans le Sol (Bashar Hussein Qasim., 2015)	21
Figure 5. Schéma conceptuel du devenir Mobilité des ETM dans un sol (Guérin, Bataillard, Michel, & Beaucaire, 2012).	22
Figure 6. Positionnement de la taille des nanoparticules sur l'échelle du vivant et des matériaux (Brigitte et al., 2009).	27
Figure 7. Exemples d'utilisation des nanoparticules dans des domaines divers (Tsuzuki, 2009).	29
Figure 8. Différentes structures cristallographiques des oxydes de zinc (Gao & Li, 2009)	34
Figure 9. Escargot <i>Helix aspersa</i> (https://www.aquaportail.com)	41
Figure 10. A) Répartition de <i>Cornu aspersum</i> en tant qu'espèce invasive ; B) Distribution mondiale de <i>Cornu aspersum</i> (d'après Madec 1989; Jørgensen & Sørensen 2008; Ansart et al. 2009).	43
Figure 11. Critères de description et de mensuration de la coquille de <i>Helix aspersa</i> (Henry, 1977).	44
Figure 12. Morphologie externe de l'escargot (https://www.ikonet.com/)	45
Figure 13. La Masse Viscérale de l'escargot <i>Helix aspersa</i> (Atika Cohen, 2024).	46
Figure 14. Anatomie interne de l'escargot <i>Helix aspersa</i> Selon (Ikonet, 2024).	47
Figure 15. Système digestif de l'escargot <i>Helix aspersa</i> (Atika Cohen, 2024).	48
Figure 16. Système circulatoire, respiratoire et nerveux de l'escargot <i>Helix aspersa</i> Selon (Ikonet, 2024).	49
Figure 17. Système reproducteur de l'escargot <i>Helix aspersa</i> (Atika Cohen, 2024).	50
Figure 18. Différents niveaux dans les tests écotoxicologiques, adapté, d'après (Walker et al. 2005).	62

Figure 19. Localisation de la zone de récolte des escargots et Sol (Montagne Béni Saleh, Bouchegouf -Guelma) (Source : Google Earth).....	62
Figure 20. Préparation et analyse de Sol.....	62
Figure 21. Photographies au MEB des nanoparticules de ZnO. a) Nanoparticules de ZnO à une échelle de 1 µm, et b) Nanoparticules de ZnO à une échelle de 200 nm (Deylam et al., 2021).....	69
Figure 22. Mélange du sol avec le cadmium (Cd) et les nanoparticules de ZnO.....	71
Figure 23. <i>Helix aspersa</i> adulte	72
Figure 24. Collecte, Sélection et l'acclimatation des escargots <i>Helix aspersa</i>	74
Figure 25. Déroulement expérimental du test ex situ	76
Figure 26. Paramètres biométriques mesurés chez l'escargot : diamètre (D) et hauteur (H) de la coquille.....	78
Figure 27. Anatomie de <i>Helix aspersa</i> sorti de sa coquille, avec représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères et des principaux organes (Viard-La Rocca, 2004)	79
Figure 28. Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi	80
Figure 29. Effet de différentes mixtures ZnO NPs/Cd sur la diminution d'activité locomotrice des escargots (comportement grim pant).....	86
Figure 30. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots <i>Helix aspersa</i> pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs/Cd) après une semaine d'exposition.....	87
Figure 31. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots <i>Helix aspersa</i> pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après deux semaines d'exposition.	88
Figure 32. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots <i>Helix aspersa</i> pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après trois semaines d'exposition.....	89
Figure 33. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots <i>Helix aspersa</i> pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après quatre semaines d'exposition.	90
Figure 34. Mortalité des escargots <i>Helix aspersa</i> enregistrée à la fin de la période d'exposition	91
Figure 35. : Évolution du poids moyen (g) des escargots <i>Helix aspersa</i> au fil du temps..	92

Figure 36. Évolution du diamètre moyen de la coquille (mm) des escargots <i>Helix aspersa</i> au fil du temps.	94
Figure 37. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition	95
Figure 38. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen du rein des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition.....	96
Figure 39. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais de la masse molle des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition.....	97
Figure 40. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas.....	106
Figure 41. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau du rein.....	107
Figure 42. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du GSH au niveau de l'Hépatopancréas.....	108
Figure 43. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du GSH au niveau du rein.....	109
Figure 44. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas	110
Figure 45. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau du rein.....	111
Figure 46. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de GST au niveau de l'Hépatopancréas.....	112
Figure 47. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de GST au niveau du rein.	113
Figure 48. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau de l'Hépatopancréas.....	114
Figure 49. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau du rein.	115
Figure 50. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité de l'acétylcholinestérase.....	116
Figure 51. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'escargots <i>Helix aspersa</i> témoins.	129
Figure 52. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M1) après 28 jours.....	130
Figure 53. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.....	131
Figure 54. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M3) après 28 jours.....	132

Figure 55. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M4) après 28 jours.....	133
Figure 56. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M5) après 28 jours.....	134
Figure 57. Coupes histologiques du rein d'escargots <i>Helix aspersa</i> témoins.....	136
Figure 58. Coupes histologiques du rein d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.	137
Figure 59. Coupes histologiques du rein d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.	138
Figure 60. Coupes histologiques du rein d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M3) après 28 jours.	139
Figure 61. Coupes histologiques du rein d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M4) après 28 jours.	140
Figure 62. Coupes histologiques du rein d'<i>Helix aspersa</i> exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M5) après 28 jours.	141

Sommaire

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la pollution

1. Généralités sur la pollution	4
2. Classification de la pollution :.....	4
2.1. La pollution atmosphérique :.....	5
2.2. La pollution du sol :.....	5
2.3. La pollution de l'eau :	6
3. Origines et Classification des Polluants dans l'Environnement :	7
3.1. Origines des Polluants :	7
3.2. Classification des Polluants :	8
4. Principaux polluants.....	9
4.1 Polluants Organiques Persistants (POP).....	9
4.2 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).....	9
4.3 Polychlorobiphényles (PCB)	9
4.4 Pesticides	10
4.5 Éléments Trace Métalliques (ETM)	10
4.5.1 Généralités	10
4.5.2. Éléments Traces Métalliques : Origines, Distribution et Impacts	10
5. Généralités sur les Éléments-Traces Métalliques (ETM)	11
5.1. Terminologies Associées aux Éléments-Traces Métalliques (ETM)	12
5.1.1. Métaux	12
5.1.2. Métalloïdes.....	12
5.1.3. Métaux lourds	13
5.2. Propriétés et Origine des Éléments-Traces Métalliques (ETM).....	13
5.2.1 Propriétés des ETM.....	13
5.2.2 Origine des ETM.....	14
5.3. Impact des éléments-traces métalliques sur l'environnement (sol, eau et air)	16
5.3.1. Impact sur le sol	16
5.3.2. Impact sur l'eau	17
5.3.3. Impact sur l'air.....	17
5.4. Contamination des sols par les ETM, bioaccumulation et toxicité	17

5.5. Comportement, Spéciation et Mobilité des Éléments Traces Métalliques dans le Sol .	20
5.5.1. Comportement et Spéciation des ETM dans le Sol	20
5.5.2. Mobilité.....	20
5.6. Présentation de ETM pris en considération dans le cadre de cette étude	22
5.6.1. Le cadmium (Cd)	22
5.6.2. Origines du cadmium.....	23
5.6.3. Mobilité, biodisponibilité et toxicité du cadmium	24
6. Les Nanoparticules	26
6.1. Définitions, origine et applications.....	26
6.1.1 Définitions.....	26
6.2. Classification et Propriétés des Nanoparticules.....	29
6.2.1 Nanoparticules à Base de Carbone.....	30
6.2.2 Nanoparticules Inorganiques.....	31
6.2.3 Nanoparticules Organiques	31
6.3. Sources de nano-pollution	31
6.4. Impact Environnemental.....	32
6.5. Risques pour la Santé Humaine	32
6.6. Les NPs d'oxyde de Zinc :	33
6.6.1. Propriétés physico-chimiques de l'oxyde de zinc :.....	35
6.6.2. Domaines d'applications et propriétés des NPs d'oxyde de zinc :	35
6.6.3. Effet toxique des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO-NPs):.....	36

Chapitre II : L'escargot *Helix aspersa*

1. Introduction	38
2. Histoire et origine.....	38
3. Étymologie et terminologie	39
3.1 Étymologie de l'escargot.....	39
3.2 Noms communs et vernaculaires de l'Escargot Petit-Gris en Algérie	39
4. Présentation et classification de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	40
4.1. Distribution géographique « Répartition »	41
5. Morphologie de l'Escargot <i>Helix aspersa</i>	43
5.2. La coquille	43
5.1. Le Corps Mou :.....	44
5.1.1. Le pied	44
5.1.2. La Tête	45

5.1.3. La Masse Viscérale	45
6. Organes internes d'un escargot :	46
6.1. Système digestif	47
6.1.1. Intestin.....	47
6.1.2. Hépatopancréas	47
6.2. Système nerveux.....	48
6.3. Système circulatoire et respiratoire	49
6.4. Système reproducteur	49
6.5. Système excréteur.....	50
7. Physiologie et comportements des escargots	51
7.1.2. Activité saisonnière « Estivation et hibernation » :	51
7.2. Alimentation et Croissance.....	52
7.2.1. Alimentation	52
7.3. Reproduction :	53
8. Contribution des Mollusques, en particulier <i>Helix aspersa</i> , à l'Écotoxicologie et aux Processus de Bioaccumulation des Métaux	53
8.1. Les Mollusques comme Bioindicateurs de Contaminants Environnementaux	53
8.2. Utilisation de l'escargot <i>Helix aspersa</i> en écotoxicologie : Bioindicateur et outil de biosurveillance.....	55
8.3. Mécanismes de Transfert et Bioaccumulation des Métaux chez les Gastéropodes Terrestres	57
9. Les tests d'écotoxicité terrestre.....	59
9.1. Généralités et principes des tests d'écotoxicité.....	59
9.2. Types de tests d'écotoxicité sur escargots.....	60
9.2.1. Tests monospécifiques	60
9.2.2. Tests plurispécifiques.....	61

Partie expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Matériel et Méthodes.....	61
1.1. Prélèvement et Caractéristiques du Substrat Naturel (Sol)	61
1.1.1. Prélèvement.....	61
1.2. Caractéristiques physico-chimiques du substrat d'essai.....	63
1.2.1. Granulométrie	63
1.2.2. Potentiel hydrogène (pH).....	63
1.2.3. Conductivité électrique (CE)	64

1.2.4. Humidité résiduelle (%HR)	64
1.2.5. Matière organique (%MO).....	65
1.2.6. Capacité d'échange cationique (CEC)	65
1.2.7. Azote total (%N)	66
1.2.8. Calcaire total (%CaCO ₃ T).....	66
1.3. Résultats des Paramètres physico-chimiques du sol.....	67
1.2. Matériel Chimique.....	68
1.2.1 Nanoparticules d'Oxyde de Zinc (NPs ZnO).....	68
1.2.2 Cadmium (Cd)	69
1.3. Préparation des mixtures de Cd et de NPs ZnO	70
1.4. Modèle biologique	71
1.4.1. Choix de l'espèce modèle pour les tests (bioessai).....	71
1.4.2. Test d'écotoxicité sur les escargots <i>Helix aspersa</i>	73
1.5. Les Biomarqueurs physiologiques et comportementaux :.....	77
1.5.1. Effets comportementaux	77
1.5.2. Biomarqueurs physiologiques.....	77
1.6. Dissection et Prélèvement des Organes	78
1.7. Méthodes de mesure des Biomarqueurs Biochimiques :.....	81
1.7.1. Dosage des protéines totales :	81
1.7.2. Dosage de l'activité glutathion-S-transférase (GST)	81
1.7.3. Dosage de l'activité catalase :	82
1.7.4. Dosage du Glutathion (GSH) :.....	82
1.7.5. Dosage des malondialdéhydes (MDA)	83
1.7.6. Dosage de l'acétylcholinestérase :	84
1.8. Etude histologique	85
1.9. Analyse statistique des résultats	85

Résultats et Discussion

1. Réponses Physiologiques et Comportementales de <i>Helix aspersa</i> Exposés aux Mixtures de Nanoparticules d'Oxyde de Zinc et de Cadmium (ZnO NPs/Cd).....	86
1.1. Effets Comportementaux de l'Exposition aux Mixtures de Nanoparticules d'Oxyde de Zinc et de Cadmium (ZnO NPs/Cd) chez <i>Helix aspersa</i>	86
1.1. Effet sur les paramètres physiologiques.....	90
1.1.1. La mortalité	90

1.2.2.	Effet de différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'évolution du poids vif des escargots <i>Helix aspersa</i> au cours de l'exposition	92
1.2.3.	Effet de différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'évolution du diamètre moyen de la coquille des escargots <i>Helix aspersa</i> au cours de l'exposition	93
1.2.4.	Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition	95
1.2.5.	Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen du rein des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition	96
1.2.6.	Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de la masse molle (tissu mou) des escargots <i>Helix aspersa</i> après quatre semaines d'exposition.....	97
1.3.	Discussion.....	98
1.3.1.	Comportement des Escargots Exposés aux Mélanges ZnO NPs/ Cd	99
1.3.2.	Impacts Physiologiques chez les Escargots Exposés aux Mélanges ZnO NPs/ Cd	100
1.4.	Conclusion	104
2.	Effets de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs biochimiques et enzymatiques des escargots <i>Helix aspersa</i> :	106
2.1.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs biochimiques :	106
2.1.1.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales :	106
2.1.2.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du glutathion (GSH) :	107
2.1.3.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) :	109
2.2.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs enzymatiques :	111
2.2.1.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité GST :	111
2.2.2.	Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase :	113
2.3.	Discussion :	116
2.4.	Conclusion :	126
3.	Effets Histopathologiques de la Mixture ZnO NPs/Cd sur <i>Helix</i> :	128
3.1.	Observations des coupes histologiques de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> :	128
3.2.	Observations des coupes histologiques du rein d' <i>Helix aspersa</i> :	135
3.3.	Discussion :	142
3.4.	Conclusion	144
	Conclusion générale	145
	Perspective	147
	Références bibliographiques	148

Partie

bibliographique

Introduction

Introduction générale

La nanotechnologie, une discipline émergente, se concentre sur la manipulation des matériaux à l'échelle moléculaire, atomique, et subatomique. Elle offre un large éventail de perspectives dans des domaines variés tels que la médecine, l'agriculture, l'environnement, et l'électronique (**Barhoum et al., 2022 ; Elmer et White, 2018 ; Fincheira et al., 2021 ; Jalil et al., 2023a ; Khan et al., 2022 ; Pang et al., 2024 ; Piccinno et al., 2012 ; Sani et al., 2023 ; Nam et Luong, 2019**).

En particulier, l'application des nanoparticules (NP), telles que celles à base de zinc (ZnO), dans l'agriculture suscite un intérêt croissant en raison de leur capacité à améliorer la productivité des cultures et à favoriser leur résilience physiologique (**Adil et al., 2024 ; Alhaithloul et al., 2023 ; Haider et al., 2024 ; Hanif et al., 2024 ; Jalil et al., 2023b**). Toutefois, cette même efficacité soulève des préoccupations environnementales, car les nanoparticules peuvent s'accumuler dans le sol et les eaux de surface, générant ainsi un risque de contamination à long terme (**Adil et al., 2024 ; Gottschalk et al., 2009 ; Jan et al., 2022 ; Song et al., 2010 ; Wan et al., 2019**). Les nanoparticules de zinc, utilisées comme nano-engrais, sont par exemple susceptibles de polluer les écosystèmes aquatiques et terrestres, en raison de leur grande réactivité et de leur capacité à interagir avec les organismes vivants.

Les nanoparticules, en raison de leur petite taille, peuvent pénétrer dans les cellules des organismes vivants, induisant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui provoque un stress oxydatif et des dommages cellulaires (**Wang et al., 2015**). L'accumulation de ces substances dans les environnements naturels a conduit à des préoccupations croissantes concernant leur impact sur la santé des écosystèmes, en particulier en ce qui concerne les organismes qui y vivent. En effet, ces nanoparticules peuvent perturber les processus physiologiques des espèces sensibles, entraînant des effets toxiques et des altérations des fonctions biologiques normales (**Jan et al., 2022**).

Parmi les organismes les plus vulnérables à ces contaminants, les escargots terrestres, et plus particulièrement *Helix aspersa*, ont émergé comme des bioindicateurs efficaces pour évaluer l'impact des nanoparticules dans les écosystèmes terrestres. Les escargots terrestres sont utilisés dans l'évaluation de la contamination par les métaux lourds en raison de leurs caractéristiques biologiques uniques. Leur mode de vie sédentaire, leur capacité à accumuler des contaminants et leur grande sensibilité aux variations environnementales en font un modèle idéal pour les études écotoxicologiques (**Nica et al., 2013 ; Thanh-Nho et al., 2019**). Ces

organismes accumulent les métaux lourds présents dans le sol et dans la végétation ingérée, et cette bioaccumulation permet d'étudier directement la pollution dans les tissus des escargots (**Thanh-Nho et al., 2019**).

En particulier, le cadmium (Cd), un métal omniprésent et hautement toxique pour les organismes aquatiques et terrestres, représente une menace environnementale significative. L'exposition au cadmium entraîne la génération de ROS et un déséquilibre des antioxydants dans les cellules, induisant des dommages biologiques (**Gnatyshyna et al., 2023 ; Xu et al., 2017**). Les études sur *Helix aspersa* montrent que ces escargots peuvent être utilisés pour évaluer les effets du cadmium ainsi que d'autres contaminants environnementaux, y compris les nanoparticules (**Ait Hamlet et al., 2013 ; Grara, 2011**).

En outre, l'impact des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO), en particulier dans les sols et les systèmes terrestres, est encore mal compris. Ces nanoparticules présentent un potentiel d'utilisation dans l'assainissement de l'environnement, mais elles induisent également des effets toxiques, notamment en perturbant les fonctions biologiques des organismes vivants. Les nanoparticules de ZnO, en raison de leur taille nanométrique et de leur réactivité élevée, peuvent interagir avec les cellules des escargots et induire la formation de radicaux libres, entraînant un stress oxydatif et des dommages au niveau cellulaire (**Grara et al., 2015 ; Boucenna, 2016**). Des recherches récentes ont observé des altérations pathologiques dans les tissus des escargots exposés à ces nanoparticules, y compris des signes d'apoptose et de néphrotoxicité (**Wang et al., 2024 ; Zhao et al., 2019 ; Zhang et al., 2014**).

Ainsi, Cette recherche vise à évaluer les effets des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) et de cadmium (Cd) sur divers paramètres physiologiques chez l'escargot *Helix aspersa*, en particulier son comportement, son poids corporel, le diamètre de sa coquille, ainsi que le poids des principaux organes internes, tels que l'hépatopancréas et les reins. L'étude explore également le rôle du stress oxydatif dans la toxicité induite par l'exposition à une mixture de ces nanoparticules, en se concentrant sur les variations des taux protéiques et les mécanismes antioxydants impliqués dans la détoxification. Cela inclut la quantification de biomarqueurs de défense et de dommage pour évaluer la capacité d'adaptation des escargots à ce stress environnemental.

L'objectif final de ce travail est d'évaluer les impacts toxiques des nanoparticules ZnO et Cd sur les tissus essentiels, en particulier l'hépatopancréas et les reins, afin de mieux comprendre les mécanismes de toxicité et les altérations histopathologiques qui en résultent. Les conclusions de cette étude devraient également permettre de mieux appréhender les risques

écotoxicologiques associés à la présence de ces nanoparticules dans l'environnement, en mettant en lumière leurs effets sur des bioindicateurs de pollution tels que *Helix aspersa*.

Structure du travail :

1. **Revue des effets écotoxicologiques des nanoparticules de ZnO et Cd :** Cette section présente une analyse des impacts de ces nanoparticules sur les bioindicateurs de pollution, en particulier *Helix aspersa*, en explorant les mécanismes de toxicité et les processus de stress oxydatif induits par leur exposition.
2. **Évaluation de l'impact des nanoparticules sur la croissance et la survie des escargots :** Cette partie analyse les effets des nanoparticules sur les paramètres de croissance et de survie des escargots, en tenant compte des variations comportementales et physiologiques induites par l'exposition.
3. **Analyse des biomarqueurs du stress oxydatif :** Cette section se concentre sur l'évaluation des biomarqueurs enzymatiques et non enzymatiques du stress oxydatif chez *Helix aspersa*, après exposition aux nanoparticules de ZnO et Cd.
4. **Étude des altérations histopathologiques des tissus :** Cette partie explore les modifications histopathologiques observées dans les tissus vitaux des escargots, tels que l'hépatopancréas et les reins, suite à l'exposition aux nanoparticules.
5. **Conclusion générale et perspectives futures :** La conclusion discute des résultats obtenus, tout en identifiant les pistes de recherche à venir, notamment concernant l'évaluation des risques écotoxicologiques pour les écosystèmes.

Chapitre 01

Généralités

sur la

pollution

1. Généralités sur la pollution

La pollution, définie par **Holdgate (1979)** comme l'introduction de substances ou d'énergies nuisibles dans l'environnement, engendre des perturbations significatives des écosystèmes naturels et pose des risques majeurs pour la santé humaine ainsi que pour la biodiversité. Le rapport de 1965 du comité scientifique de la Maison Blanche identifie la pollution comme étant principalement due aux activités humaines, entraînant des modifications défavorables dans la distribution de l'énergie, les niveaux de rayonnement, et les propriétés physicochimiques de l'environnement, ce qui impacte finalement les espèces vivantes et les ressources agricoles (**Sandip et al., 2024**). **Ramade et Roche (2006)** décrivent cette altération anthropique des écosystèmes comme incluant non seulement des changements dans les concentrations chimiques naturelles, mais aussi l'introduction de substances artificielles et d'espèces exotiques.

L'industrialisation et l'urbanisation sont largement reconnues comme les principaux moteurs de ce phénomène. Les polluants, y compris les particules fines et les substances chimiques toxiques, dépassent souvent les seuils de sécurité, ce qui entraîne des conséquences graves pour la santé publique et une dégradation accrue de l'environnement (**Great et al., 2024**; **Sultan et al., 2024**). L'augmentation des décès attribuables à la pollution, particulièrement dans les pays à revenu faible et intermédiaire, met en lumière l'urgence d'adopter des stratégies d'atténuation efficaces. Ces stratégies incluent l'amélioration des systèmes de traitement des eaux usées et la promotion de pratiques durables, tout en mettant en œuvre une approche globale intégrant la sensibilisation du public, l'innovation technologique, et l'application stricte de politiques environnementales (**Laxmi et al., 2024** ; **Nidhi et al., 2024**). La pollution, en raison de sa complexité et de sa nature multifactorielle, demeure un défi majeur nécessitant des interventions concertées à l'échelle mondiale pour protéger les écosystèmes et la santé humaine (**Ajmal et Sajeev, 2023** ; **Sandip et al., 2024**).

2. Classification de la pollution :

La pollution peut être classée selon la nature du polluant en question, on parle donc : de pollution physique, chimique, biologique et les nuisances esthétiques. Ou encore selon le compartiment affecté : la pollution des eaux la pollution du sol et la pollution de l'air (**Biswal & Malik, 2021**).la pollution sonore. Chacune de ces catégories présente des caractéristiques spécifiques et nécessite des approches différentes pour sa gestion et sa réduction (**Galan, 2023**).

Il est essentiel de comprendre ces classifications pour mieux cibler les actions de prévention et de remédiation. En outre, chaque type de pollution présente des caractéristiques spécifiques qui nécessitent des approches adaptées pour leur gestion efficace (Liu et al., 2015 ; Zhang et al., 2021).

2.1. La pollution atmosphérique :

L'air est pollué «lorsque la présence d'une substance étrangère ou une variation importante dans la proportion de ses constituants est susceptible de provoquer un effet nuisible ou de créer un gène (Saxena & Sonwani, 2019).

Cette pollution peut provenir de sources naturelles, comme les volcans, ou d'activités humaines, telles que l'industrie et les transports.

Les principales causes naturelles de la pollution de l'atmosphère sont : le transport éolien des particules du sol et du pollen, les incendies de forêt et les émissions volcaniques. Les activités humaines, quant à elles, incluent les émissions industrielles, les gaz d'échappement des véhicules et l'utilisation de combustibles fossiles, qui contribuent significativement à la dégradation de la qualité de l'air. Ces sources de pollution entraînent des conséquences graves sur la santé humaine, notamment des maladies respiratoires et cardiovasculaires, ainsi que des impacts environnementaux tels que l'acidification des sols et la dégradation des écosystèmes. De plus, la pollution de l'air peut également affecter la biodiversité en perturbant les habitats naturels et en menaçant certaines espèces (Khelfi, 2018 ; Singh et al., 2022).

Le rejet intempestif de substances diverses dans l'atmosphère constitue sans aucun doute la plus évidente des dégradations de l'environnement par l'homme, ainsi la pollution de l'air et l'éventualité d'un réchauffement climatique font partie des grands problèmes environnementaux actuels (Al-Taai & al-Dulaimi, 2022).

2.2. La pollution du sol :

Les sols jouent souvent le rôle d'intermédiaire crucial entre l'atmosphère et l'hydrosphère, interceptant une partie des polluants émis par l'activité humaine dans l'air. Contrairement à la pollution atmosphérique, qui touche à la fois les zones urbaines et rurales, la pollution des sols est principalement un phénomène rural, résultant en grande partie de l'adoption de pratiques agricoles modernes. Bien que l'utilisation d'engrais chimiques améliore la productivité des cultures, leur application répétée à des doses élevées entraîne une accumulation de polluants dans les sols, en raison des impuretés qu'ils contiennent. Cette situation est également observée

avec l'utilisation de pesticides, qu'ils soient d'origine minérale ou organique (**Singh & Singh, 2020 ; Upadhyay et al., 2020**).

La simple présence d'un polluant dans le sol ne constitue pas nécessairement un danger. Le risque se manifeste lorsque ce polluant devient mobilisable et interagit avec l'environnement, affectant potentiellement la faune, la flore ou la santé humaine. Les métaux lourds, par exemple, peuvent être dissous dans les sols inorganiques par des mécanismes tels que l'absorption ou les échanges ioniques. Dans ce contexte, le sol ne fonctionne plus comme un « filtre » efficace, et ces métaux peuvent suivre divers trajets, contribuant à la contamination des écosystèmes environnants. De plus, l'accumulation de ces substances toxiques peut entraîner des effets cumulatifs, rendant la situation encore plus préoccupante pour la biodiversité et la santé publique (**Yadav et al., 2017 ; Kumar et al., 2023**).

2.3. La pollution de l'eau :

La pollution des eaux consiste en des déversements, écoulements, rejets, dépôts directs ou indirects de matières de toutes natures, et le plus généralement tout à fait susceptibles de provoquer ou d'accroître la dégradation des eaux, en modifiant leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques ou bactériologiques qu'il s'agisse d'eaux superficielles, souterraines ou des eaux de mer, dans la limite des eaux territoriales (**Schweitzer & Noblet, 2018 ; Viguier, 2023**).

L'eau est évidemment un élément particulièrement important pour les polluants en général et les métaux lourds en particulier, car elle va entraîner des réactions chimiques liées à l'acidité, l'alcalinité, la température et l'oxygénation. De ce fait, les milieux aquatiques sont très sensibles aux éléments traces par la coexistence de deux phénomènes de bio-accumulation et de bio-magnification et les ETM se concentrent au fur et à mesure des absorptions dans la chaîne alimentaire, par exemple, dans l'eau la mobilité et la biodisponibilité du Cadmium s'accroissent lorsque le pH, la dureté, la concentration de matières en suspension et la salinité sont faibles et lorsque le potentiel d'oxydoréduction est élevé (**Yunusa et al., 2023**).

Ces facteurs environnementaux influencent non seulement la toxicité des métaux lourds, mais également leur interaction avec les organismes aquatiques, ce qui peut avoir des conséquences graves sur la biodiversité et la santé des écosystèmes (**Garai et al., 2021**).

3. Origines et Classification des Polluants dans l'Environnement :

Les polluants, qu'ils soient d'origine naturelle ou anthropique, varient en termes de composition, de comportement et d'impact sur les écosystèmes et la santé humaine. Une substance est considérée comme un polluant lorsqu'elle est introduite dans l'environnement en concentration supérieure à celle observée dans des conditions non polluées, que cette substance soit d'origine chimique ou biologique. Lorsqu'un polluant pénètre dans un organisme vivant, il est alors qualifié de xénobiotique (**Chaukura, 2022**).

3.1. Origines des Polluants :

Les polluants peuvent provenir de sources naturelles ou anthropiques :

- **Pollution Naturelle** : Cette catégorie comprend les substances libérées par des phénomènes naturels ayant des effets marqués sur les écosystèmes. Par exemple, les éruptions volcaniques émettent du dioxyde de soufre (SO₂), ce qui contribue aux pluies acides, tandis que les incendies de forêt, souvent causés par la foudre, libèrent du dioxyde de carbone (CO₂), exacerbant l'effet de serre (**Milan et Sahu, 2024**). Les processus naturels tels que l'eutrophisation, causés par des proliférations d'algues dans les eaux stagnantes, peuvent également asphyxier la vie aquatique (**Yang, Z., 2023**). Ces phénomènes illustrent la complexité des interactions entre les processus naturels et la pollution. Il est crucial de noter que la distinction entre polluants naturels et anthropiques est souvent floue, les activités humaines pouvant intensifier les effets des sources de pollution naturelles (**Paul, 2023**).
- **Pollution Anthropique** : Les polluants d'origine humaine, tels que les gaz à effet de serre (GES), ont un impact significatif sur la biosphère. Bien que le dioxyde de carbone (CO₂) soit naturellement présent dans l'atmosphère, ses niveaux augmentent principalement en raison des activités humaines telles que les transports et la production industrielle, contribuant au changement climatique (**Antonin et al., 2024 ; Marat et al., 2024**). Les particules industrielles, comme celles observées dans le Svalbard, ajoutent une dimension à la complexité des interactions entre polluants naturels et anthropiques (**Filip et al., 2024**). Les dynamiques des émissions de polluants, notamment dans des pays comme la Chine, révèlent des changements dans les sources et types de pollution, soulignant la nécessité d'approches de gestion ciblées (**Huihang et al., 2023**).

3.2. Classification des Polluants :

Les polluants se classifient en plusieurs catégories selon leur comportement dans l'environnement :

- **Polluants Conservatifs** : Ce sont des substances qui ne sont pas facilement éliminées ou dégradées dans le milieu. Cela inclut les métaux lourds et les Polluants Organiques Persistants (POPs), tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les polychlorobiphényles (PCBs), et divers pesticides comme le DDT et le lindane (**Fitzgerald & Wikoff, 2014 ; Bari et al., 2021**). Ces polluants persistent dans l'environnement et peuvent s'accumuler dans les organismes vivants, causant des effets toxiques à long terme.
- **Polluants Dégradables** : Ces polluants peuvent être transformés ou éliminés par des processus naturels ou biologiques, bien que cette dégradation puisse parfois générer des sous-produits nocifs. Les exemples incluent certains hydrocarbures, détergents et produits phytosanitaires (**McClary, 2022**).
- **Polluants Non Conservatifs** : Ceux-ci disparaissent généralement au fil du temps, comprenant des éléments comme la matière organique, les sels nutritifs, ainsi que les bactéries et les virus (**Negrete-Bolagay et al., 2021**). Ces substances, bien qu'elles puissent être biodégradables, peuvent encore avoir des impacts environnementaux selon leur concentration et leur contexte.

Les polluants incluent une grande variété de substances, allant de molécules simples à des particules complexes, sous diverses formes telles que solides ou gazeuses (**Shuo et al., 2024**). Peuvent pénétrer dans les organismes vivants par inhalation ou ingestion, se diffusant ensuite dans leur système. Leur toxicité est souvent associée à des processus tels que le stress oxydatif et l'inflammation, qui dépendent de la composition chimique des polluants et des niveaux d'exposition (**Ana et al., 2023 ; Kukreja et al., 2023**). L'évaluation des risques environnementaux liés aux polluants repose sur plusieurs caractéristiques clés, notamment leur persistance dans le milieu, leur biodégradabilité, et leur potentiel à provoquer des phénomènes d'eutrophisation (**Mathew et al., 2017**).

4. Principaux polluants

4.1 Polluants Organiques Persistants (POP)

Les polluants organiques persistants (POP) sont des composés organiques qui demeurent dans l'environnement en raison de leur résistance à la dégradation par la lumière, les processus biologiques et chimiques. Ces substances, souvent halogénées, possèdent une faible solubilité dans l'eau mais une forte solubilité dans les graisses, ce qui conduit à leur accumulation dans les tissus adipeux. De plus, leur semi-volatilité leur permet de voyager sur de longues distances dans l'air avant de se déposer (**Rani et al., 2022**).

Ces caractéristiques font des POP des contaminants préoccupants pour la santé humaine et l'écosystème, car ils peuvent s'accumuler dans la chaîne alimentaire et provoquer divers effets néfastes, tels que des troubles endocriniens et des cancers (**Thompson et al., 2019**).

4.2 Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) figurent parmi les polluants organiques les plus répandus dans les sols et les déchets industriels. Les HAP, ainsi que des composés phénoliques et chlorés comme le phénol et le pentachlorophénol, sont les plus fréquemment observés (**Gholamalizadeh & Ahangar, 2010**).

Ces polluants, d'origine naturelle ou anthropique, proviennent de divers processus incluant la biosynthèse, les émissions de combustibles fossiles, et la combustion de matières organiques. Leur formation est principalement due aux activités humaines telles que l'incinération des déchets, les procédés industriels, et les émissions des moteurs (**Yadav et al., 2022 ; Abdel-Shafy & Mansour, 2016**) à combustion. Les HAP sont particulièrement préoccupants en raison de leur capacité à s'accumuler dans les tissus vivants et de leur potentiel cancérigène, ce qui soulève des inquiétudes quant à leur impact sur la santé humaine et l'environnement (**Szatyłowicz & Hawrylik, 2022**).

4.3 Polychlorobiphényles (PCB)

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des composés organiques omniprésents, fabriqués industriellement depuis 1929, qui se composent d'un noyau biphényle avec jusqu'à cinq atomes de chlore. Leur production a commencé par la chloration du biphényle avec du chlorure ferrique. Les PCB, utilisés dans des systèmes variés allant des systèmes clos contrôlables à ceux ouverts en contact avec l'environnement, présentent une stabilité chimique remarquable et sont peu solubles dans l'eau. Leur accumulation dans les tissus gras et leur faible toxicité aiguë

contrastent avec les effets nocifs observés lors d'une exposition chronique à faibles concentrations (**Hutzinger & Roof, 1980 ; Stohs, 2014 ; Kodavanti, 2014 ; Dave et al., 2021**).

4.4 Pesticides

Les pesticides se divisent en trois grandes catégories : inorganiques, organométalliques et organiques. Les pesticides organiques incluent plusieurs familles chimiques telles que les organochlorés, les organophosphorés, et les carbamates. Les propriétés physiques et chimiques de ces molécules influencent leur comportement environnemental et leur toxicité, y compris leur volatilité, hydrosolubilité, affinité pour les particules atmosphériques et adsorption sur les sols (**Luo & Wu, 2019 ; Rajmohan et al., 2020 ; Muniv, 2022**).

4.5 Éléments Trace Métalliques (ETM)

4.5.1 Généralités

Les éléments traces métalliques (ETM) sont présents en concentrations inférieures à 0,1% dans la croûte terrestre et représentent 0,6% de la lithosphère. Ces éléments, principalement des métaux et métalloïdes, se dispersent dans l'environnement par érosion et cycles biogéochimiques, mais aussi par activités humaines comme l'industrie et l'agriculture (**Alloway, 2013; Pacyna et al., 2016 ; Sahu & Basti, 2021**). Les ETM peuvent être géogènes ou anthropogènes et sont détectés même dans les zones les plus éloignées comme les pôles et les sommets himalayens (**Romić, 2012 ; Crombez et al., 2020**).

Certains ETM comme le cobalt, le cuivre et le zinc sont essentiels pour les fonctions biologiques, tandis que d'autres comme le cadmium et le mercure sont non essentiels et peuvent être nocifs (**Kabata-Pendias & Szteke, 2015 ; Yang, 2022**)

4.5.2. Éléments Traces Métalliques : Origines, Distribution et Impacts

Les éléments traces métalliques (ETM) sont présents en concentrations inférieures à 0,1% dans la croûte terrestre et représentent environ 0,6% de la lithosphère. Ces éléments, constitués principalement de métaux et de métalloïdes, se dispersent dans l'environnement par des processus naturels tels que l'érosion et les cycles biogéochimiques, ainsi que par des activités humaines telles que l'agriculture et l'industrie (**Alloway, 2013 ; Pacyna et al., 2016 ; Anand et al., 2024; Edward, 2022**). Les ETM peuvent être d'origine géogénique ou anthropique et sont détectés même dans les zones les plus isolées, telles que les pôles et les sommets himalayens (**Romić, 2012 ; Crombez et al., 2020**).

Certains ETM, tels que le cobalt, le cuivre et le zinc, sont essentiels pour diverses fonctions biologiques. En revanche, d'autres, comme le cadmium et le mercure, ne sont pas

nécessaires pour les processus biologiques et peuvent présenter des risques importants pour la santé et l'environnement (**Kabata-Pendias & Szteke, 2015 ; Yang, 2022**). Les recherches montrent que les niveaux élevés de perturbation des sols, liés notamment aux pratiques agricoles, sont corrélés à des concentrations accrues de certains ETM, ce qui indique une contamination potentielle (**Anand et al., 2024 ; F, Haque et al., 2023**). De plus, les pratiques agricoles intensives contribuent à l'accumulation de certains ETM dans les sols, accentuant les impacts anthropiques sur la qualité environnementale (**F, Haque et al., 2023**).

Ainsi, bien que certains ETM soient nécessaires à la vie, leur présence excessive, exacerbée par les activités humaines, peut entraîner des risques écologiques et sanitaires considérables (**Edward, 2022 ; Tarik, 2020**). La compréhension des origines, de la distribution et des impacts des ETM est cruciale pour évaluer et gérer les risques associés à ces éléments dans divers contextes environnementaux.

5. Généralités sur les Éléments-Traces Métalliques (ETM)

Les éléments-traces métalliques (ETM) désignent un groupe d'éléments chimiques présents en faible concentration dans la croûte terrestre, représentant collectivement environ 0,6 % de la lithosphère (**He et al., 2005 ; Baize, 2009**). Bien qu'ils soient présents en quantités infimes, ces éléments jouent un rôle crucial dans les processus biologiques et environnementaux. Ils comprennent à la fois des métaux essentiels, qui sont nécessaires au bon fonctionnement des organismes vivants, et des métaux non essentiels, dont certains peuvent être toxiques même à faible concentration (**Fraga, 2005 ; Kabata-Pendias, 2010 ; Hooda, 2010 ; Sahu & Basti, 2021**).

Les ETM incluent des éléments comme le cuivre, le zinc, le nickel et le fer, qui sont vitaux pour diverses fonctions biochimiques et physiologiques, y compris la formation de structures cellulaires et la catalyse enzymatique (**WHO, 1996 ; Valko et al. 2005 ; Festa & Thiele, 2011**). Ces éléments, bien que nécessaires en faibles quantités, peuvent devenir toxiques lorsqu'ils sont présents en excès dans l'environnement, provoquant des effets néfastes sur la santé humaine, animale et végétale (**Viard-La Rocca, 2004 ; Abreu et al., 2014**).

En revanche, des éléments comme le cadmium, le plomb, et le mercure, n'ont pas de fonction biologique reconnue et sont généralement considérés comme toxiques. Leur présence dans l'environnement est souvent due à des activités anthropiques telles que l'industrie, l'agriculture, et les transports, qui libèrent ces éléments en quantités significatives, augmentant

ainsi leur dispersion et leur accumulation dans divers compartiments de l'environnement (Adriano, 2001 ; Pacyna et Pacyna, 2001 ; Alloway, 2013 ; Arora et al., 2023).

Les ETM sont naturellement introduits dans les sols par l'altération des roches, mais leur concentration peut être fortement augmentée par les actions humaines. Les activités anthropiques ont conduit à une augmentation notable de la présence d'ETM dans des régions éloignées et sensibles, telles que les pôles et les hautes montagnes (Krachler et al. 2008 ; Lee et al. 2008 ; Howard, 2017). Cette dispersion généralisée des ETM, qu'ils soient d'origine géogène ou anthropogène, pose des défis significatifs pour la gestion de la qualité des sols et la protection des écosystèmes (Edelstein et Ben-Hur, 2018 ; Jiao et al., 2020).

5.1. Terminologies Associées aux Éléments-Traces Métalliques (ETM)

Les éléments-traces métalliques ont été désignés par divers termes tels que « métaux toxiques » ou « métaux-traces », mais le terme « métaux lourds » est le plus couramment utilisé. Il fait référence principalement à un groupe d'éléments ayant une densité supérieure à 5 g.cm^{-3} (Hooda, 2010 ; Marcovecchio et al., 2013). Toutefois, tous les éléments-traces ne sont pas nécessairement des métaux, ce qui nécessite une distinction claire entre les différentes catégories : métaux, métaux lourds, éléments-traces métalliques et métalloïdes :

5.1.1. Métaux

Par définition, un métal est un corps simple, caractérisé par un éclat particulier dit « éclat métallique », une aptitude à la déformation : tantôt ductile et malléable, comme le fer et l'argent, tantôt cassant, comme l'antimoine et le bismuth, une tendance marquée à former des cations, et enfin, et en générale, une bonne conduction de la chaleur et l'électricité (Duval, 1978 ; Lam & Chen, 2019).

5.1.2. Métalloïdes

Métalloïde est un terme utilisé pour désigner les éléments chimiques dont les propriétés sont intermédiaires entre celles des métaux et celles des non-métaux (Bienert et al., 2008)

Leur activité chimique s'explique par leur caractère d'accepteurs d'électrons. Les métalloïdes sont des oxydants qui se combinent avec les métaux pour former des sels, ils se combinent facilement avec des protons acides pour donner des acides et lorsqu'ils réagissent avec l'oxygène, ils donnent des anhydrides (Lombi et al., 2010 ; Porterfield, 2013). Les métalloïdes sont rassemblés dans une même zone du tableau périodique (Tableau 01) des éléments et comprennent : le bore (B), le silicium (Si), le germanium (Ge), l'arsenic (As), l'antimoine (Sb), le tellure (Te), et le polonium (Po) (Bonchev, 1981 ; Bienert et al., 2008).

5.1.3. Métaux lourds

On appelle généralement métaux lourds les éléments métalliques naturels, caractérisés par une masse volumique élevée supérieure à 5 g.cm^{-3} . Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de l'environnement, mais en général en quantités très faibles, ou encore sous forme de traces. Il s'agit de tous les éléments de transition possédant une orbital d'insaturée (Fourest, 1993 ; Mitra, 2015 ; null, 2022). Ces métaux sont présentés dans la **figure 01**.

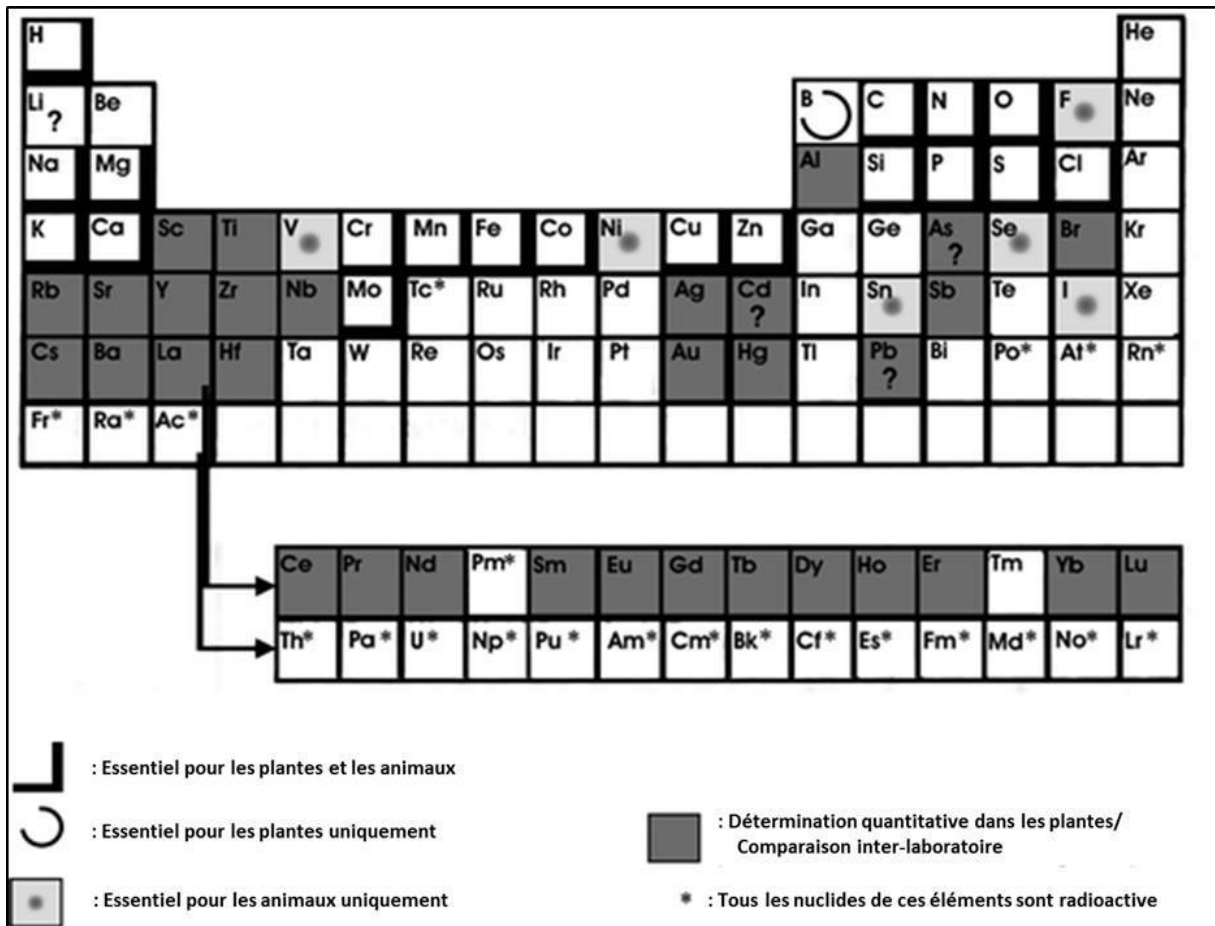


Figure 1. Tableau périodique des éléments traces métalliques indiquant les éléments essentiels (Vatsala, 1998 ; Bock von Wülfigen, 2019)

5.2. Propriétés et Origine des Éléments-Traces Métalliques (ETM)

5.2.1 Propriétés des ETM

Malgré les préoccupations environnementales qu'ils soulèvent, certains ETM sont indispensables à l'humanité en raison de leurs propriétés physico-chimiques uniques. Ces éléments sont intégrés dans une vaste gamme de produits industriels, pharmaceutiques, énergétiques, et chimiques, rendant leur substitution difficile (Sahu & Basti, 2021). Dans cette

thèse, nous nous concentrons sur les éléments Cadmium (Cd) et Zinc (Zn), dont les principales propriétés physico-chimiques sont répertoriées dans le tableau 01 ci-dessous.

Tableau 1. Principales propriétés physico-chimiques des ETM étudiés (Ouvoroff et al., 2022)

Élément	Symbole	Numéro atomique	Masse atomique (g•mol ⁻¹)	Densité (g•cm ⁻³)	Point de fusion (°C)
Cadmium	Cd	48	112,41	8,65	321,05
Zinc	Zn	30	65,38	7,13	419,55

5.2.2 Origine des ETM

Les ETM sont naturellement présents dans les sols, où leur concentration constitue le bruit de fond géochimique ou fond pédo-géochimique naturel, principalement issu de la roche mère sur laquelle les sols se sont développés. La teneur en ETM d'un sol dépend donc de la composition en ETM de cette roche mère, ce qui explique la variation des fonds pédo-géochimiques à l'échelle mondiale en fonction de la géologie et du type de genèse de la couche supérieure (**Viard-La Rocca, 2004 ; Shaughnessy, 2022**). Toutefois, les ETM peuvent également provenir d'activités humaines, d'où leur origine anthropique.

5.2.2.1 Apports telluriques naturels : érosion, transport, sédimentation

Les métaux sont présents naturellement dans la croûte terrestre et participent à un cycle géochimique depuis la formation de la Terre, ce qui conduit à une distribution inégale de leurs concentrations à la surface du globe (**Siegel, 2002**). Bien qu'ils soient présents dans tous les compartiments de l'environnement, leurs concentrations restent généralement faibles, sauf dans certaines zones spécifiques, comme autour des massifs granitiques. L'érosion de l'écorce terrestre peut enrichir les cours d'eau en ETM, ceux-ci étant libérés des roches sous forme d'oxydes ou de silicates, peu altérables chimiquement. En revanche, les ETM sous forme de sulfures et de carbonates sont facilement dissous dans l'eau par des processus chimiques (**Chang & Cockerham, 2019**). De plus, des apports par voie atmosphérique, tels que le volcanisme, l'érosion éolienne, le transport d'aérosols d'origine océanique, et les feux de forêts, peuvent également contribuer à leur présence. Certaines eaux souterraines, notamment dans les régions volcaniques ou les nappes profondes, sont également très riches en ETM (**Chang & Cockerham, 2019**).

5.2.2.2 Apports anthropiques

En raison de leurs propriétés physiques précieuses, tels que leur conductivité thermique et électrique, leur dureté, leur malléabilité, leurs possibilités d'alliages, et leurs propriétés catalytiques, les ETM sont largement exploités par l'homme (Alloway, 2013 ; Linhares et al., 2020 ; Makarov, 2022). Les principales sources anthropiques des ETM incluent (Figure 02):

- Les dépôts atmosphériques résultant de la combustion de charbon, de bois, et de carburants (Nriagu, 1989) ;
- L'extraction, la fusion, et la fabrication de métaux ferreux et non ferreux ;
- L'incinération des déchets, la production d'engrais phosphatés et de ciment ;
- L'épandage de boues d'épuration, de fumier animal, et d'autres déchets organiques provenant de l'agriculture et des industries alimentaires ;
- Les rejets et déchets industriels ;
- L'agriculture et de l'utilisation massive des engrais (avec leur impuretés), des pesticides, de l'épandage de boues d'épuration, des lisiers (Senesi et al., 1999 ; Shaughnessy, 2022)
- L'industrie et ses rejets de poussières contenues dans les fumées émises, ou ses rejets d'effluents gazeux ou liquides (Singh et al., 2009).
- L'urbanisation et ses décharges de déchets urbains, l'augmentation de la circulation automobile et de la combustion de sources d'énergie fossile (Munsif et al., 2021).



Figure 2. Explication schématique des métaux lourds dans l'environnement. (Mitra et al., 2022)

5.3. Impact des éléments-traces métalliques sur l'environnement (sol, eau et air)

Les éléments-traces métalliques (ETM), tels que le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le zinc (Zn), et le cuivre (Cu), sont des contaminants environnementaux omniprésents issus d'activités industrielles, agricoles, et urbaines. Leur dispersion dans l'environnement affecte plusieurs compartiments, y compris le sol, l'eau, et l'air, ce qui entraîne des conséquences écologiques et sanitaires significatives (Simándi & Sóvágó, 2003 ; Sahu & Basti, 2021).

5.3.1. Impact sur le sol

Dans les sols, les ETM peuvent s'accumuler en raison de leur faible mobilité et de leur persistance. Ces métaux lourds peuvent altérer la structure du sol, réduire sa fertilité, et inhiber la croissance des plantes en perturbant les processus physiologiques essentiels, tels que la photosynthèse et la respiration racinaire (Patinha et al., 2018). Les ETM affectent également la microflore et la microfaune du sol, entraînant une diminution de la biodiversité et une perturbation des cycles biogéochimiques. De plus, la contamination des sols par les ETM peut avoir des répercussions sur la chaîne alimentaire, car les plantes absorbent ces métaux, qui

peuvent ensuite être transférés aux herbivores et, finalement, aux prédateurs, y compris les humains (Wang et al., 2022).

5.3.2. Impact sur l'eau

Les ETM peuvent se retrouver dans les écosystèmes aquatiques par le ruissellement, le lessivage des sols contaminés, et les rejets industriels. Dans l'eau, ces métaux peuvent se lier aux particules en suspension, s'accumuler dans les sédiments, et être absorbés par les organismes aquatiques, provoquant des effets toxiques à divers niveaux trophiques (Kumar et al., 2019). Les mollusques, par exemple, bioaccumulent les ETM, ce qui peut entraîner des risques pour la santé des prédateurs, y compris les humains (Us Saher & Kanwal, 2019).

5.3.3. Impact sur l'air

Les ETM peuvent également être présents dans l'air sous forme de particules fines résultant de l'érosion des sols contaminés, des émissions industrielles, et de la combustion de combustibles fossiles. Ces particules peuvent être inhalées par les organismes vivants, provoquant des effets toxiques sur les systèmes respiratoire et circulatoire (Ngô & Van de Voorde, 2014 ; McCawley, 2015). Plus, les ETM dans l'air peuvent être déposés sur les surfaces terrestres et aquatiques, contribuant à la contamination des sols et des eaux (Kokilavani et al., 2023).

La gestion des ETM dans l'environnement nécessite des approches intégrées qui prennent en compte la prévention des sources de pollution, la restauration des sites contaminés, et la surveillance continue des niveaux de contamination dans le sol, l'eau, et l'air. L'évaluation des risques écotoxicologiques reste essentielle pour protéger la santé des écosystèmes et des populations humaines contre les effets néfastes de ces polluants persistants (Ashraf & Faheem, 2020).

5.4. Contamination des sols par les ETM, bioaccumulation et toxicité

Un site pollué est caractérisé par la présence d'un risque durable, réel ou potentiel, pour la santé humaine ou l'environnement, résultant de pollutions issues d'activités humaines passées ou actuelles (Soares, 2010). Concernant les éléments traces métalliques (ETM), la contamination d'un sol est confirmée lorsque la concentration d'un élément dépasse le niveau "naturel" du sol, c'est-à-dire le fond pédogéochimique naturel, en l'absence d'influence anthropique (Efremova et al., 2020).

La contamination des sols par les ETM constitue une dégradation chimique significative, représentant un danger environnemental majeur. Ces micropolluants inorganiques peuvent

menacer les écosystèmes, les chaînes alimentaires et la santé humaine en raison de leurs effets toxiques sur les micro-organismes, les plantes, les animaux, et les humains (**Patinha et al., 2018**). Cependant, la toxicité des ETM est influencée par leur concentration dans les sols et surtout par leur forme chimique, ou spéciation. La spéciation détermine leur biodisponibilité, soit la facilité avec laquelle ils peuvent être absorbés par les plantes et les organismes vivants, ainsi que leur mobilité, ou capacité à être transportés vers les eaux souterraines ou de surface (**Saha et al., 2017 ; Mane, 2019**)

Les métaux lourds sont bien connus pour leur tendance à s'accumuler dans les organismes, un processus appelé bioaccumulation, où l'organisme assimile et concentre ces métaux à des niveaux supérieurs à ceux présents dans l'environnement (**Murtaza et al., 2014 ; Gasparatos, 2023**). Deux phénomènes principaux contribuent à cette accumulation :

- **la bioconcentration**, qui est le transfert direct des substances du milieu environnant (comme l'eau ou les sédiments) vers les tissus et organes, et l'amplification, qui résulte du transfert des contaminants le long des niveaux trophiques de la chaîne alimentaire (**Daley et al., 2014 ; Wang, 2016**).
- **La bioaccumulation** de substances toxiques peut entraîner des modifications comportementales, structurelles et métaboliques, ainsi que des changements morphologiques, histologiques et cellulaires chez les organismes affectés (**Abdullahi Ibrahim et al., 2021**). Les ETM se caractérisent souvent par une accumulation lente et une persistance prolongée dans les sols, agissant comme des tampons naturels facilitant leur transport vers l'hydrosphère et la biocénose. Leur persistance et leur biodisponibilité favorisent ainsi la contamination de la chaîne trophique, des micro-organismes jusqu'à l'homme (**Zeliger, 2008 ; Uddin et al., 2017**).

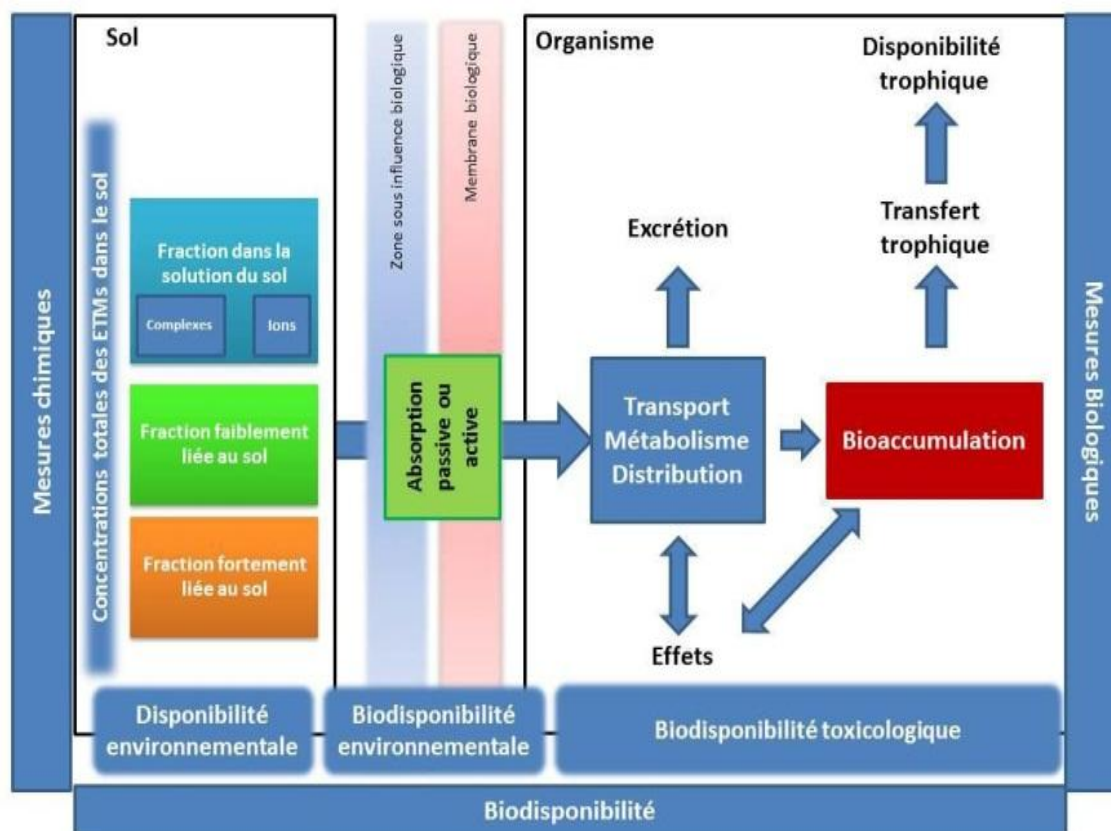


Figure 3. Notion de biodisponibilité et concepts associés, adapté, d'après Fritsch (2010).

Enfin, la toxicité d'un métal dépend de sa forme chimique et des facteurs environnementaux. Les métaux lourds peuvent exister sous forme d'ions libres ou liés à des particules de sol, mais seuls les ions libres sont biodisponibles et donc toxiques pour les organismes vivants (Bathla & Jain, 2016). Les cations métalliques interagissent avec les particules organiques ou minérales chargées négativement dans le sol, et la balance entre ces formes libres et fixées détermine leur toxicité (Jin, 2008). Au niveau cellulaire, les ETM traversent la membrane plasmique hydrophobe via des ligands-transporteurs, et sont ensuite piégés par des systèmes de "piégeage cinétique" spécifiques à chaque métal pour limiter leur diffusion extracellulaire (Jin, 2008).

Ces processus complexes influencent la biodisponibilité et la mobilité des métaux lourds, déterminant ainsi leur impact toxique sur les écosystèmes et la santé humaine (Kaur et al., 2019 ; Ungureanu & Mustățea, 2022).

5.5. Comportement, Spéciation et Mobilité des Éléments Traces Métalliques dans le Sol

5.5.1. Comportement et Spéciation des ETM dans le Sol

Les figures 03 et 04 illustrent le comportement des ETM dans les sols. Ces métaux traces existent sous diverses formes chimiques et peuvent se lier à différents composants du sol. Les conditions physico-chimiques influencent leur spéciation, modifiant ainsi leur mobilité et leur biodisponibilité pour les organismes vivants (**Caporale & Violante, 2016**). Ces transformations incluent des phénomènes tels que l'adsorption physique et chimique, la complexation et la précipitation (**Rule, 1999**), qui dépendent fortement du pH, de la température et de la composition organique du sol.

5.5.1.1. Adsorption

L'adsorption est un processus de surface où des atomes, ions ou molécules (adsorbats) se fixent sur une surface solide (adsorbant) à partir d'une phase gazeuse, liquide ou d'une solution solide (**Rule, 1999**). Il existe deux types d'adsorption (**Harvey, 2022**) :

- Adsorption physique : Due à l'attraction électrostatique entre un soluté et une surface polarisée, elle est généralement réversible et contribue à la capacité d'échange cationique (CEC) d'un matériau (**Pourhakkak et al., 2021**).
- Adsorption chimique : Ici, les molécules se lient à la surface par des liaisons ioniques ou covalentes, rendant cette adsorption plus spécifique et souvent irréversible (**Ogawa, 2001**).

5.5.1.2. Complexation

La complexation implique la formation de liaisons stables entre un micropolluant cationique et un site de surface. Les types de liaisons et les phases solides impliquées varient selon le micropolluant (**Barbosa, 2023**).

5.5.1.3. Précipitation

La précipitation est la transition d'une espèce dissoute à l'état solide, souvent sous forme d'hydroxyde, de carbonate, de phosphate ou de sulfure dans les sols naturels (**Lewis, 2017**).

5.5.2. Mobilité

La mobilité des ETM est définie par leur capacité à migrer dans les différents compartiments du sol où ils sont moins retenus énergiquement (**Kabata-Pendias, 1993 ; Hannula, 2022**). Les ETM peuvent être :

- Adsorbés sur les phases hydroxydes de fer, d'aluminium et de manganèse,

- Intégrés dans les réseaux cristallins des minéraux primaires et secondaires,
- Adsorbés sur les matières organiques (Melamed, 1998).

Les variations des conditions physico-chimiques (pH, température, force ionique, etc.) influencent directement la mobilité des ETM en provoquant des transformations de forme. Ces transformations activent des mécanismes biogéochimiques de mobilisation, d'immobilisation et de transport, impliquant des processus de dissolution/précipitation, désorption/adsorption et complexation (Louie et al., 2014). La mobilité et la biodisponibilité des ETM sont donc étroitement liées à leur spéciation chimique, bien que la détermination précise de cette spéciation reste souvent complexe et parfois impossible (Melamed, 1998) (Figure 04).

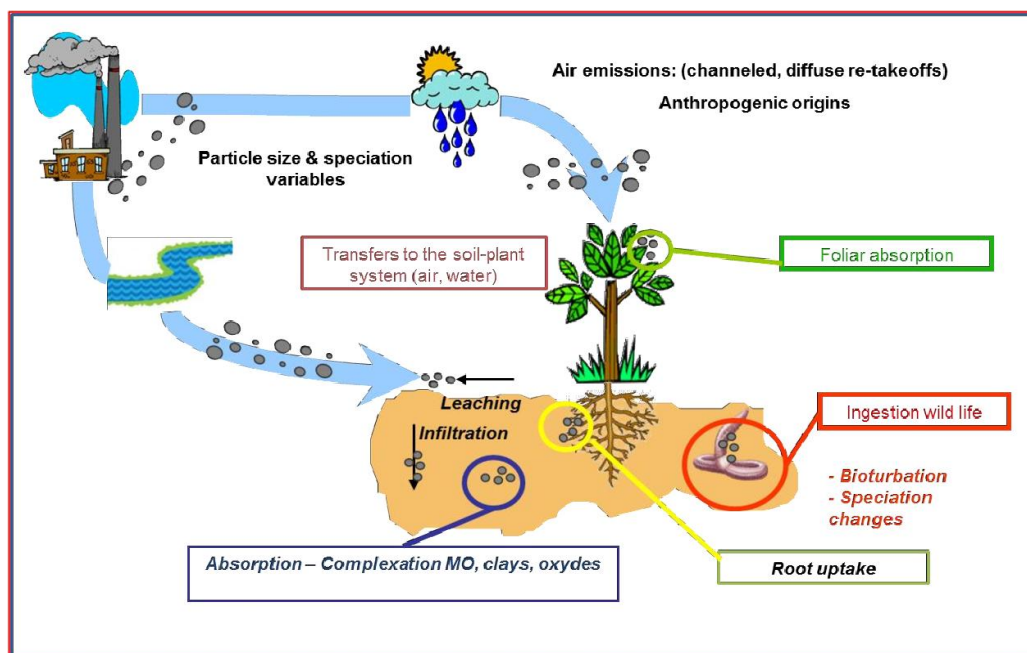


Figure 4. Comportement, Spéciation et biodisponibilité des Éléments Traces Métalliques (ETM) dans le Sol (Bashar Hussein Qasim., 2015)

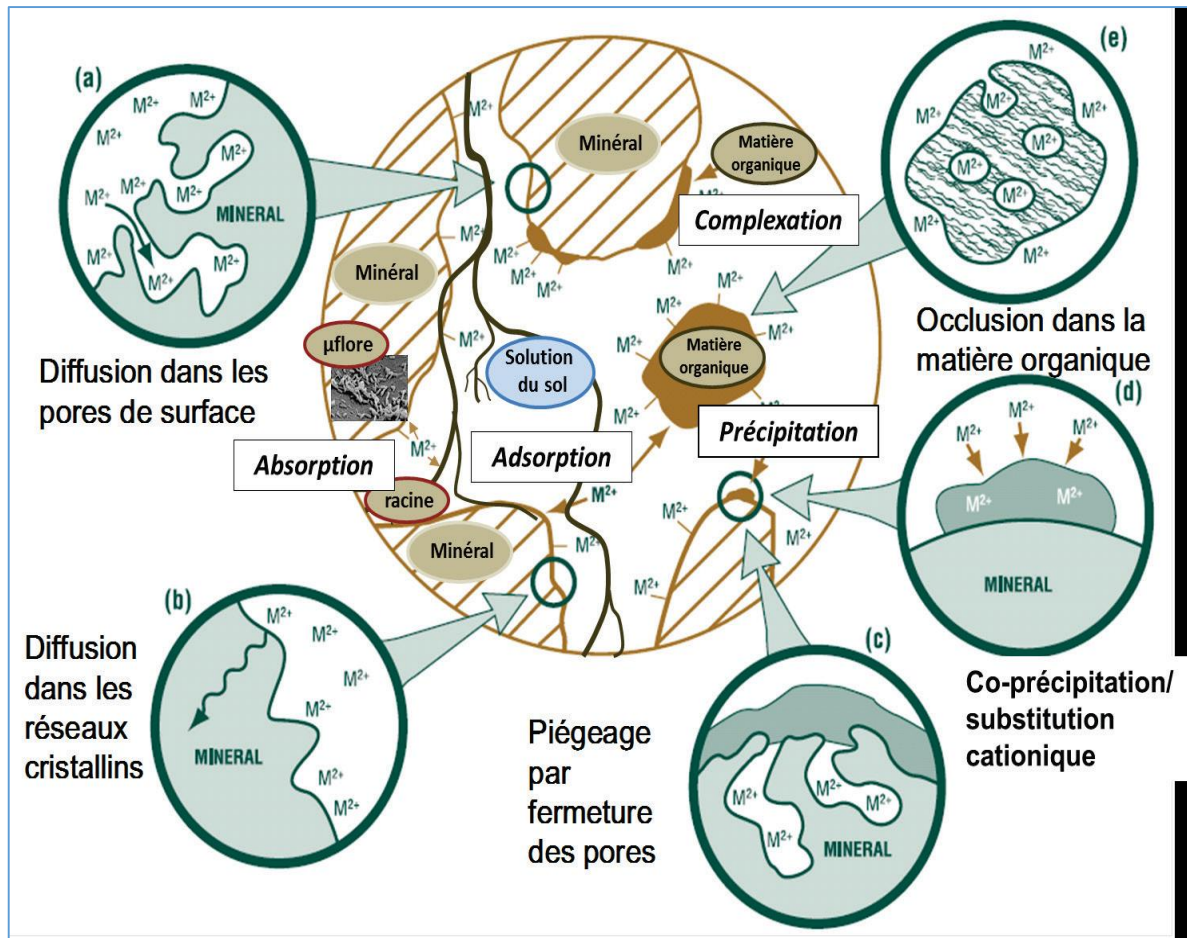


Figure 5 : Schéma conceptuel du devenir et de la Mobilité des ETM dans un sol (Guérin, Bataillard, Michel, & Beaucaire, 2012).

(a) A diffusion dans les micropores de surface ; (b) la diffusion dans le réseau des solides ; (c) le piégeage des ETM par fermeture des pores suite à la précipitation d'une phase minérale ; (d) la co-précipitation, la substitution cationique voire la précipitation lente de certains composés ; (e) la formation de complexes organiques stables et l'occlusion dans les composés type humine.

5.6. Présentation de ETM pris en considération dans le cadre de cette étude

5.6.1. Le cadmium (Cd)

Le cadmium (Cd) est un métal non essentiel, présent naturellement dans tous les sols sous forme de cation divalent (Cd^{2+}) et fait partie du groupe 12 du tableau périodique avec une masse atomique de 112,4 g/mol (Loganathan et al., 2012.). Bien que naturellement présent dans la croûte terrestre à des concentrations variant entre 0,1 et 0,5 ppm, le Cd est largement reconnu pour sa toxicité environnementale et son absence de rôle biologique bénéfique (Zang & Bolger, 2014 ; Huang, Mubeen, Yang, et Wang, 2022). Il est principalement émis dans l'environnement par des activités anthropiques telles que l'utilisation d'engrais phosphatés, la

combustion de combustibles fossiles, et la métallurgie (Nordberg et al., 2015.). Ces émissions représentent plus de 90 % des rejets totaux de Cd dans l'environnement, tandis que les sources naturelles, telles que les émissions volcaniques et les particules de sol, ne contribuent qu'à environ 10 % (Cadmium, 2022). Le Cd est également présent en tant qu'impureté dans les minerais de zinc, de plomb, et de cuivre, ce qui entraîne des rejets substantiels lors de la fusion du Zn et d'autres processus industriels (Hayat et al., 2019). Les principaux consommateurs de Cd sont la Chine, la Belgique et le Japon, où il est largement utilisé dans les stabilisateurs de plastique, les pigments, les batteries, et les panneaux solaires (Bernard, 2008). Contrairement à de nombreux métaux, le cadmium n'a aucun rôle métabolique connu, et ne semble pas biologiquement essentiel ou bénéfique au métabolisme des êtres vivants (Adedapo & Adeoye, 2014). Pour l'homme, une exposition chronique au Cd peut provoquer des effets néfastes sur divers systèmes biologiques, notamment les reins, le système respiratoire, et le système reproducteur, et il est classé comme agent cancérigène par l'IARC (1993) (Adedapo & Adeoye, 2014 ; Nordberg et al., 2015).

5.6.2. Origines du cadmium

5.6.2.1. Origines naturelles

Les sources naturelles d'émissions de cadmium (Cd) comprennent principalement les particules de sol en suspension, les embruns marins, les feux de forêt, les volcans, les matières biogènes et les cheminées hydrothermales (Rehkämper et al., 2012). Parmi celles-ci, les particules de sol constituent la source prédominante, suivies par les incendies de forêt et de brousse, le sel marin, les émissions volcaniques et la poussière météorique. L'altération des roches, en particulier des roches mafiques et ultramafiques, contribue également de manière significative à la libération de Cd dans l'environnement (Cheng et al., 2014 ; Kubier et al., 2019). Cependant, les sources naturelles ne représentent que 10 % de la contamination totale du sol par le Cd, les 90 % restants étant attribués à des sources anthropiques (Zhi et al., 2016). Le Cd est un élément relativement rare dans la croûte terrestre, où il se présente principalement sous forme de composés cristallins tels que le greenockite (CdS) et l'otavite (CdCO₃). La mobilité du Cd dans les sols dépend fortement du pH, les conditions acides augmentant sa disponibilité (Nordberg et al., 2015).

5.6.2.2. Origine anthropique et dispersion du cadmium

Les sources anthropiques majeures de cadmium (Cd) incluent l'utilisation d'engrais phosphatés, la combustion de combustibles fossiles, les usines métallurgiques, les déchets de l'industrie du ciment, les boues d'épuration, les déchets municipaux et industriels, ainsi que

l'exploitation minière et la fonte des minerais métalliques (**Rehkämper et al., 2012**). Le Cd est également présent dans les minerais de zinc (Zn), de plomb (Pb) et de cuivre (Cu), ainsi que dans les phosphates naturels, et est libéré dans l'environnement lors des processus industriels tels que la fusion du Zn, qui émet des poussières riches en cadmium (**Campbell, 2006 ; Yuan et al., 2019**).

Le cadmium est principalement utilisé dans les stabilisateurs de plastiques, les pigments, les panneaux solaires, les batteries et pour le cadmiage des surfaces métalliques. La production mondiale de cadmium en 2020 a atteint environ 24 500 tonnes, avec la Chine, la Corée du Sud et le Japon comme principaux producteurs. Les activités minières, en particulier, contribuent significativement à la dispersion du Cd dans les sols environnants (**Indian Minerals Yearbook, 2021**).

Le cadmium, bien que rare dans l'écorce terrestre, se trouve sous forme de cristaux comme la greenockite (CdS), et est naturellement dispersé dans l'atmosphère principalement par l'activité volcanique. Les principales sources de contamination du Cd dans les sols et les systèmes aquatiques incluent l'application d'engrais phosphatés, l'épandage de déchets urbains et les activités industrielles. Le Cd est également employé dans la galvanoplastie, les accumulateurs alcalins et les pigments industriels, notamment ceux à base de sulfures, qui offrent des propriétés de résistance à la lumière et à la chaleur (**Adedapo & Adeoye, 2014 ; Cadmium, 2022**).

5.6.3. Mobilité, biodisponibilité et toxicité du cadmium

5.6.3.1. Mobilité et biodisponibilité du cadmium dans les sols

La mobilité du cadmium dans les sols dépend de plusieurs facteurs, notamment le pH, la texture du sol et la présence de matières organiques, Son comportement en solution du sol et aux interfaces solution/solide ou solution/plante est fortement influencé par des paramètres biogéochimiques tels que la nature du sol, le contexte microbiologique et les formes chimiques du cadmium (**Pavel et al., 2009**). Les principales formes du cadmium en solution incluent Cd^{2+} , CdSO_4^0 , CdCl^+ et CdHCO_3^+ en l'absence de ligands organiques (**Krishnamurti & Naidu, 2003**). La formation de complexes avec des acides organiques peut modifier la mobilité du cadmium, notamment dans les sols calcaires où la solubilité du carbonate de cadmium (CdCO_3) est très faible, limitant ainsi la concentration du métal en solution (**Loganathan et al., 2012**).

Les paramètres physico-chimiques, tels que le pH, jouent un rôle crucial dans la solubilité et la mobilité du cadmium. Par exemple, le cadmium est principalement présent sous forme de cation divalent Cd^{2+} en solution, et sa solubilité est plus élevée en milieu oxydant qu'en milieu réducteur, où il peut être piégé sous forme de sulfure (CdS) (Holm et al., 1993; Garrido et al., 2008). De plus, le cadmium est souvent transporté sous forme particulaire, adsorbé à la surface de colloïdes minéraux et/ou organiques, avec près de 95 % du cadmium transporté par les rivières sous cette forme (Gray et al., 1999 ; Adedapo & Adeoye, 2014)

La microflore des sols influence indirectement la mobilité du cadmium via des processus de biosorption, bioaccumulation et solubilisation, tels que la minéralisation de la matière organique et la production de composés solubles par les bactéries et les champignons (Majewska et al., 2007). Ces processus peuvent modifier significativement la solubilité et la biodisponibilité du cadmium dans les sols.

5.6.3.2. Toxicité du cadmium chez l'humain et les organismes

Le cadmium (Cd) est un métal lourd particulièrement toxique, présent dans diverses sources environnementales telles que l'eau potable, les aliments et la fumée de cigarette. En raison de sa haute mobilité et de sa capacité d'accumulation dans les organismes vivants, le cadmium pose un risque important pour la santé humaine et animale (Zang & Bolger, 2014). Chez l'humain, la demi-vie biologique du cadmium est estimée à 20 ans, avec une accumulation prédominante dans les reins et le foie, bien qu'il puisse également s'accumuler dans d'autres organes tels que la rate, le cerveau, les poumons, les muscles et le sang. Les effets toxiques du cadmium sont principalement liés à la perturbation du métabolisme du zinc et d'autres éléments essentiels tels que le calcium, le fer et le cuivre, ce qui peut entraîner des conséquences graves comme l'induction de cancers (Adedapo & Adeoye, 2014). Chez les organismes aquatiques, la biodisponibilité du cadmium est décrite par le modèle de l'ion libre (FIAM), qui illustre comment la forme chimique du métal détermine son transfert à travers les membranes biologiques (Worms et al., 2006). Le cadmium, analogue du calcium en raison de leur rayon ionique similaire, peut traverser les membranes via des canaux calciques, s'accumulent ainsi dans les tissus, notamment les branchies et les organes de détoxification tels que les reins et le foie (Pejović et al., 2022). L'exposition au cadmium entraîne également l'induction de métallothionéines (MT), qui perturbent la régulation des métaux essentiels et contribuent à la toxicité cellulaire.

Les effets environnementaux du cadmium sont exacerbés par son accumulation dans la chaîne alimentaire, où il peut être transféré des proies aux prédateurs, entraînant des niveaux

élevés d'accumulation chez ces derniers (**Zhang & Reynolds, 2019**). La toxicité du cadmium est amplifiée par les conditions environnementales telles que la dureté de l'eau et le pH, qui influencent sa spéciation et son entrée dans les organismes (**Zang & Bolger, 2014 ; Andresen et al., 2016**).

Enfin, le cadmium est reconnu comme un cancérigène de groupe I par l'International Agency for Research on Cancer (**IARC, 1993 ; Hartwig, 2013**), avec des expositions environnementales ou professionnelles liées au développement de divers cancers, notamment de la prostate, des reins et du foie (**Kazantzis, 1994 ; Ali et al., 2022**). Les apports anthropiques de cadmium dans les sols, principalement par les activités industrielles et l'utilisation d'engrais phosphatés, contribuent de manière significative à sa présence environnementale et à ses effets toxiques (**Hartwig, 2013 ; Ali et al., 2022**).

6. Les Nanoparticules

6.1. Définitions, origine et applications

6.1.1 Définitions

Les nanoparticules (NP) sont définies comme des matériaux dont au moins une dimension se situe dans la gamme nanométrique (1-100 nm), présentant des propriétés uniques dues aux effets quantiques et à des rapports surface/volume accrus. Ces propriétés entraînent des différences significatives de comportement par rapport aux matériaux en vrac, ce qui a un impact sur leurs applications dans divers domaines, notamment la médecine et la science des matériaux (**Ruchira et al., 2024 ; Null et al., 2024**). Selon la norme ISO 80004-1:2023, les nano-objets comprennent les nanoparticules, les nanofibres et les nanofeuilles, chacune caractérisée par des critères dimensionnels spécifiques (**Ruchira et al., 2024**). La classification des nanoparticules en zérodimensionnelles (0D), unidimensionnelles (1D), bidimensionnelles (2D) et tridimensionnelles (3D) met en évidence leurs diverses formes structurelles et fonctionnalités (**Idrees et al., 2024**). Les propriétés dépendantes de la taille des nanoparticules, telles que leur réactivité et leurs capacités catalytiques, sont cruciales pour les applications en catalyse, administration de médicaments et diagnostic (**Onwaeze et al., 2024 ; Rajni et al., 2024**). Dans l'ensemble, les caractéristiques uniques des nanoparticules soulignent leur potentiel pour faire progresser la technologie et relever des défis scientifiques complexes (**Null et al., 2024 ; Idrees et al., 2024**) (Figure06).

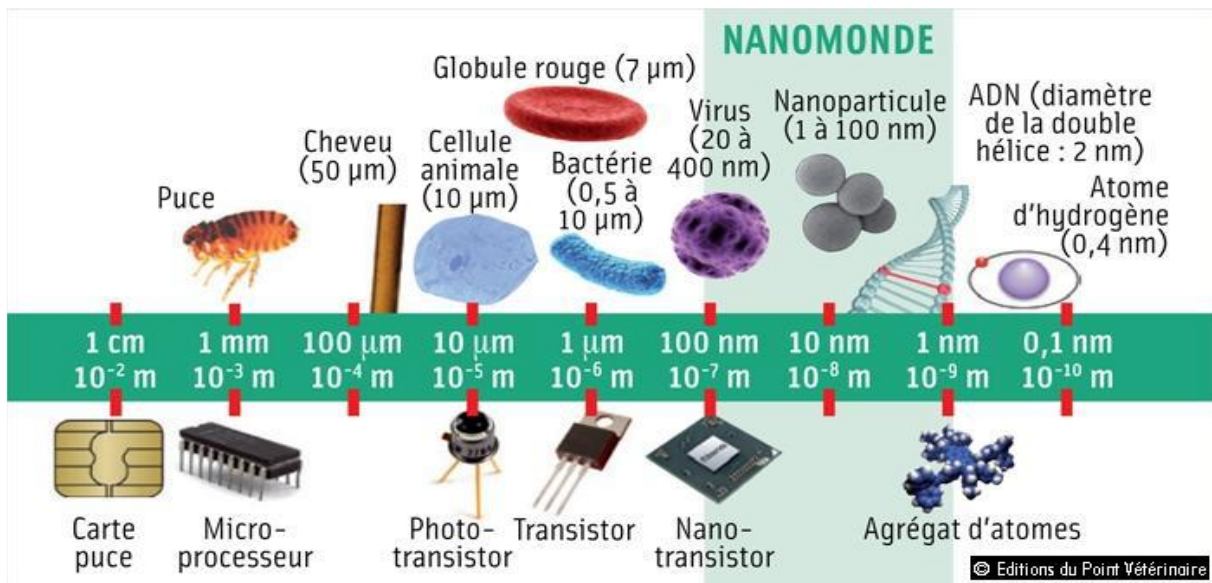


Figure 6. Positionnement de la taille des nanoparticules sur l'échelle du vivant et des matériaux (Brigitte et al., 2009).

Les définitions des nanoparticules dans les produits cosmétiques s'accordent généralement sur les critères de taille, mais divergent quant à d'autres aspects, tels que la solubilité et la biopersistance. Selon le règlement européen (CE) n° 1223/2009, les nanoparticules doivent être intentionnellement produites, insolubles ou biopersistantes, ce qui complexifie les cadres réglementaires en raison des incertitudes entourant la définition des mélanges nanoparticulaires (Ferreira et al., 2023). La recommandation de 2011 de la Commission européenne spécifie qu'au moins 50 % des particules doivent mesurer entre 1 nm et 100 nm, mais le seuil applicable aux mélanges reste ambigu à l'échelle internationale (Ferreira et al., 2023). La littérature souligne les avantages des nanoparticules pour optimiser l'efficacité et la sécurité des produits cosmétiques, comme une meilleure distribution des actifs et une réduction des effets secondaires (Prajapati et Kumar, 2024 ; Foteva, 2023). Selon Biola-Clier (2016), une nanoparticule est définie comme un "matériau naturel, accidentel ou manufacturé, contenant des particules libres, sous forme d'agrégats ou d'agglomérats, dont au moins 50 % présentent une ou plusieurs dimensions comprises entre 1 nm et 100 nm".

6.1.1.1 Origine et applications

Les nanoparticules présentes dans l'environnement proviennent de sources naturelles et anthropiques, ce qui a des conséquences importantes sur la santé écologique. Les nanoparticules naturelles proviennent d'événements tels que les incendies de forêt et les éruptions volcaniques, tandis que les nanoparticules anthropiques sont produites par des activités industrielles et l'utilisation de la nanotechnologie dans divers produits. La concentration de nano-objets dans

l'air ambiant varie considérablement, les estimations allant de 10 000 particules/ml dans les milieux naturels à 700 000 particules/ml à proximité des aéroports et d'autres sites industriels (**Roy et al., 2024 ; Abbas et al., 2024**). La libération de nanoparticules manufacturées (MNP) dans l'environnement peut entraîner une bioaccumulation et une toxicité chez les organismes, souvent exacerbées par leurs propriétés uniques, telles qu'une réactivité élevée et une petite taille (**Tran et al., 2023 ; Sharma et al., 2023**).

Malgré leurs avantages potentiels dans des applications telles que la dépollution, la persistance environnementale et les risques pour la santé associés aux nanoparticules nécessitent une réglementation stricte et des recherches plus poussées pour comprendre leur sort et leur impact (**El-Kalliny et al., 2023**). Une approche équilibrée est donc essentielle pour exploiter les avantages des nanoparticules tout en atténuant leurs risques environnementaux.

La recherche sur les nanoparticules est motivée par leurs caractéristiques industrielles uniques, en particulier à l'échelle nanométrique, qui confèrent des propriétés absentes des matériaux plus grands. Par exemple, les nanocatalyseurs présentent une activité catalytique améliorée en raison de leur rapport surface/volume élevé, facilitant une plus grande interaction avec les réactifs et améliorant l'efficacité de diverses réactions chimiques (**Shrivastava, 2024 ; Basu et Banik, 2024**). Cette réactivité accrue s'étend cependant au-delà des applications industrielles (**Figure 07**) ; elle présente également des risques potentiels pour les systèmes biologiques, ce qui nécessite une caractérisation approfondie de leurs effets sur la santé humaine (**Mustufa et Dawre, 2024 ; Kotb et Alabdallah, 2024**). Alors que les nanozymes démontrent des activités de type enzymatique bénéfiques pour les applications biomédicales, leur stabilité et leur réactivité dans des conditions extrêmes soulignent à la fois leur promesse et la nécessité d'une évaluation minutieuse de la toxicité et de l'impact environnemental (**Kotb et Alabdallah, 2024**). Ainsi, alors que les nanoparticules offrent de vastes opportunités dans de nombreux domaines, leur double nature – bénéfique et potentiellement nocive – souligne l'importance de poursuivre les recherches sur leur sécurité et leur efficacité (**Kirchhoff et al., 2023**) (**figure 07**).

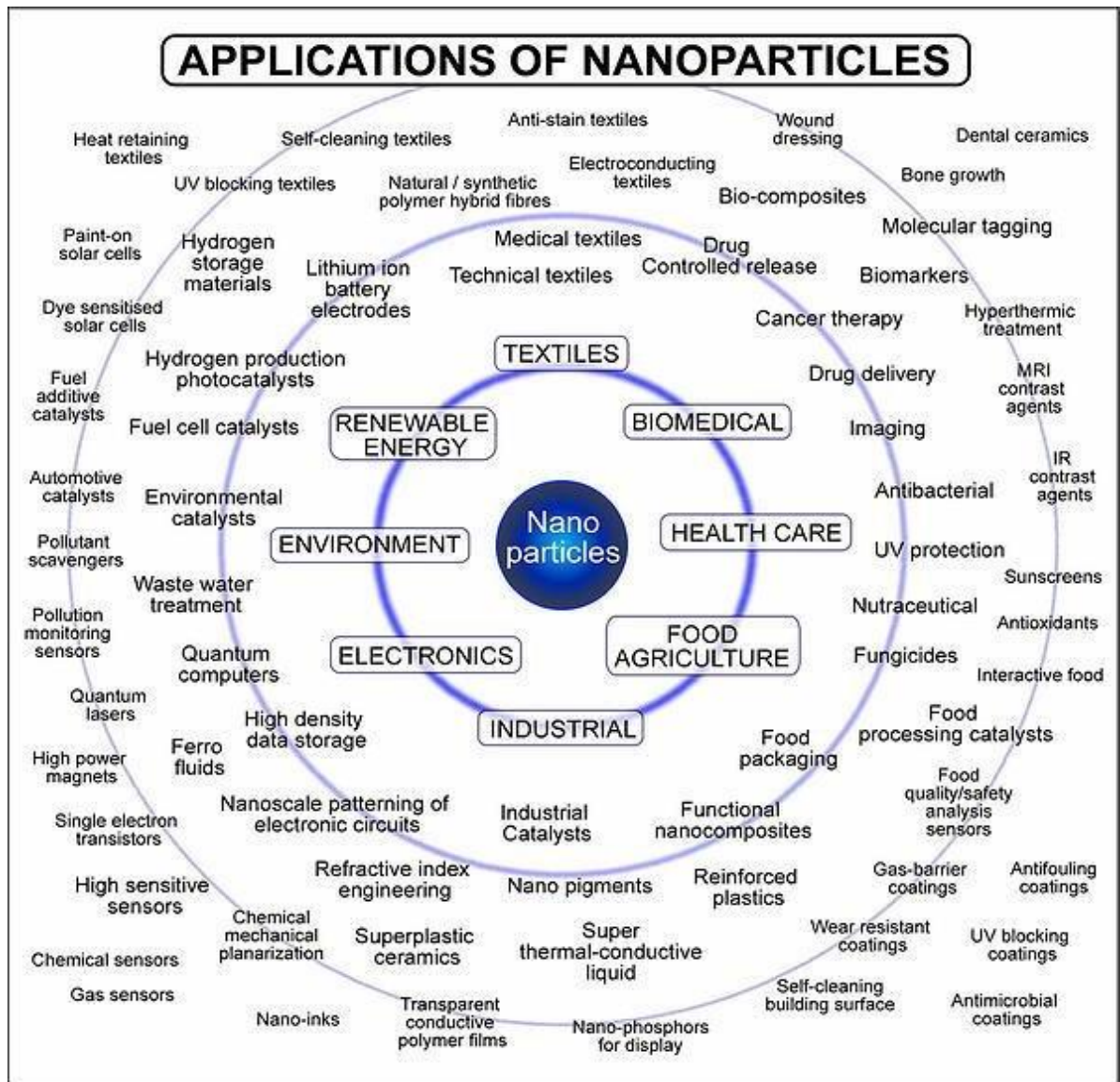


Figure 7. Exemples d'utilisation des nanoparticules dans des domaines divers (Tsuzuki, 2009).

6.2. Classification et Propriétés des Nanoparticules

Dans le cadre de cette étude, seules les nanoparticules les plus couramment utilisés seront brièvement décrits, bien que la production de nouvelles nanoparticules constitue un domaine de recherche en pleine expansion (Khandbahale & Saudagar, 2017). Ces nanoparticules peuvent être classées en fonction de leur composition chimique, de leur forme et de leur taille, chacune présentant des propriétés uniques qui les rendent adaptées à diverses applications industrielles et médicales (Neoh et al., 2015).

6.2.1 Nanoparticules à Base de Carbone

6.2.1.1 Fullerènes

Les fullerènes sont des structures moléculaires en forme de cage composées d'atomes de carbone reliés par des liaisons sp^2 . Le C₆₀, également connu sous le nom de "buckyball", est la forme la plus étudiée, bien que des structures allant de 28 à 1500 atomes aient été identifiées. Ces nanoparticules présentent des propriétés remarquables, les rendant prometteuses pour des applications variées, notamment en électronique, dans le stockage d'énergie, ainsi qu'en médecine, où elles sont explorées pour le traitement du cancer et du VIH (Ray, 2012).

6.2.1.2 Nanofeuillets de Graphène

Le graphène se compose de couches uniques d'atomes de carbone arrangés en réseau hexagonal. Ces nanofeuillets présentent des propriétés exceptionnelles en termes d'électronique, d'optique, et de mécanique, ce qui leur confère un potentiel d'application dans le développement de composants électroniques flexibles et avancés (Mittal et al., 2020).

6.2.1.3 Nanotubes de Carbone

Les nanotubes de carbone (NTC) sont des structures cristallines cylindriques et creuses, dont les diamètres peuvent être aussi petits que 0,7 nm. Ils existent sous deux formes principales : monocouches (SWCNT) et multicouches (MWCNT). Grâce à leurs propriétés mécaniques et électriques extraordinaires, les NTC sont considérés comme des matériaux prometteurs pour diverses applications technologiques (Akiladevi & Basak, 2010).

6.2.1.4 Nanofibres de Carbone

Les nanofibres de carbone, similaires aux NTC, sont constituées de feuillets de graphène organisés en structures coniques ou en forme de coupe. Elles sont explorées pour des applications en tant qu'additifs dans les polymères, supports catalytiques, et matériaux de stockage des gaz (Desmaris et al., 2015).

6.2.1.5 Noir de Carbone

Le noir de carbone est un matériau graphitique partiellement amorphe utilisé depuis des décennies comme pigment et agent de renforcement dans les caoutchoucs, en particulier pour la fabrication de pneus (Spahr & Rother, 2016).

6.2.1.6 Nanomousses de Carbone

Les nanomousses de carbone, un cinquième allotrope du carbone, forment une structure tridimensionnelle légère et spongieuse, dotée de propriétés magnétiques transitoires (Maffini et al., 2022).

6.2.2 Nanoparticules Inorganiques

6.2.2.1 Métaux

Les nanoparticules métalliques, incluant celles d'or, d'argent, de platine, et de palladium, possèdent des propriétés uniques, telles que la résonance plasmonique dans le cas de l'or, les rendant particulièrement adaptées pour des applications en diagnostic médical et comme agents antimicrobiens (Chlumsky et al., 2021).

6.2.2.2 Oxydes Métalliques

Les oxydes métalliques, tels que la silice, l'oxyde de titane, et l'oxyde de zinc, sont produits à grande échelle et utilisés dans une variété de domaines, allant des cosmétiques aux matériaux de capteurs en raison de leurs propriétés physico-chimiques distinctes (Moezzi, 2012 ; Murthy et al., 2020).

6.2.2.3 Points Quantiques

Les points quantiques, constitués de divers éléments combinés, exhibent des propriétés optiques et électroniques singulières, ce qui les rend précieux pour des applications dans l'imagerie médicale, les écrans haute résolution, et le codage optique (Wagner et al., 2019).

6.2.3 Nanoparticules Organiques

6.2.3.1 Polymères Organiques

Les polymères organiques, tels que le chlorure de polyvinyle (PVC) et le latex, peuvent être synthétisés à des échelles nanométriques, leur conférant des applications potentielles en ultrafiltration, en régénération tissulaire, et en délivrance de médicaments. De nouvelles architectures, comme les dendrimères, permettent un contrôle précis de la synthèse des nanostructures, offrant des propriétés innovantes pour diverses utilisations (Kang et al., 2018).

6.3. Sources de nano-pollution

Les principales sources de nano-pollution incluent :

- **Fabrication industrielle :** Les processus de production de nanoparticules, comme la pulvérisation, la synthèse chimique et le broyage, génèrent des émissions contenant des nanoparticules. Ces particules peuvent se disperser dans l'air, l'eau, et les sols (Strambeanu et al., 2015).
- **Produits de consommation :** De nombreux produits contenant des nanoparticules, tels que les cosmétiques (ex. : crèmes anti-âge contenant des nanoparticules de zinc), les textiles (ex. : vêtements résistants aux taches), et les produits de nettoyage, peuvent

libérer des nanoparticules lors de leur utilisation et de leur élimination (**Pastrana et al., 2018**).

- **Gestion des déchets** : Les nanoparticules présentes dans les produits usagés ou les déchets industriels peuvent se retrouver dans les décharges ou les incinérateurs, où elles peuvent se disperser et contribuer à la pollution environnementale (**Jan et al., 2022 ; Holder et al., 2013**).

6.4. Impact Environnemental

Les impacts environnementaux des nanoparticules incluent :

- **Effets sur les écosystèmes aquatiques** : Les nanoparticules peuvent s'accumuler dans les sédiments aquatiques et interagir avec les organismes aquatiques (**Gökçe, 2021**). Elles peuvent altérer la structure et la fonction des écosystèmes aquatiques en affectant la croissance des algues, des plantes aquatiques, et des organismes invertébrés. Les études ont montré que les nanoparticules peuvent affecter la reproduction et la survie des poissons (**Kumari et al., 2018**).
- **Impacts sur le sol et les végétaux** : Les nanoparticules peuvent modifier les propriétés du sol, affecter la disponibilité des nutriments, et interférer avec les processus biologiques du sol (**He & Feng, 2017**). Les plantes peuvent absorber des nanoparticules par leurs racines, ce qui peut avoir des effets néfastes sur leur croissance, leur développement, et leur santé globale (**Nair, 2016**). De plus, l'accumulation de ces particules dans la chaîne alimentaire peut entraîner des conséquences imprévues pour les prédateurs et les écosystèmes terrestres (**Vázquez Núñez et al., 2018**).
- **Effets sur les microorganismes** : Les bactéries et autres microorganismes du sol peuvent être affectés par les nanoparticules, ce qui peut perturber les cycles biogéochimiques essentiels et affecter la fertilité du sol (**Simonin et al., 2015**). Les changements dans la communauté microbienne peuvent également influencer la dégradation des polluants et les processus de recyclage des nutriments (**Rafeeq et al., 2022 ; Jan et al., 2022**).

6.5. Risques pour la Santé Humaine

Les risques pour la santé humaine associés aux nanoparticules comprennent :

- **Voies d'exposition** : Les nanoparticules peuvent pénétrer dans l'organisme par inhalation, ingestion, ou contact cutané, notamment par l'intermédiaire de poussières, de brouillards, ou de produits contenant des nanoparticules (**Abedin et al., 2021**).
- **Effets sur la santé** : L'inhalation de nanoparticules peut entraîner des inflammations respiratoires, des troubles pulmonaires, et des maladies cardiovasculaires. Les nanoparticules ont également la capacité de franchir la barrière hémato-encéphalique, affectant ainsi le système nerveux central avec des risques neurotoxiques. Les études révèlent aussi des effets cytotoxiques, y compris des dommages cellulaires et génétiques pouvant conduire à des maladies chroniques comme le cancer (**Sonwani et al., 2021 ; Bakand et al., 2012**).
- **Toxicité à long terme** : Les effets chroniques de l'exposition aux nanoparticules sont encore mal compris. Des recherches en cours visent à évaluer l'impact à long terme de ces particules sur la santé humaine et les écosystèmes (**Jan et al., 2022 ; Leonenko & Leonenko, 2017 ; Mohammadpour et al., 2019**).

6.6. Les NPs d'oxyde de Zinc :

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO-NPs) sont des composés inorganiques appartenant à la catégorie des métaux de transition, largement étudiés pour leurs nombreuses applications. Les ZnO-NPs se présentent sous diverses formes, y compris des particules, tubes, anneaux, bien que la forme particulaire soit la plus couramment utilisée en raison de ses propriétés catalytiques et thermiques, particulièrement exploitées dans des domaines tels que l'électronique et l'optique (**Pujalté, 2011 ; Jaenicke, 2023**). Ces nanoparticules existent sous différentes variétés, telles que ZnS, ZnSe, et les points quantiques CdSe/ZnS. Toutefois, l'oxyde de zinc de type Wurtzite, de structure hexagonale (**Figure 08**), est le plus répandu dans l'industrie et la recherche, étant thermodynamiquement stable et un bon conducteur (**Izaki et al., 2007 ; Awasthi, 2021**)

L'oxyde de zinc, de formule chimique ZnO, se présente généralement sous forme de poudre blanche. Cette poudre est largement utilisée comme additif dans divers matériaux, tels que les céramiques, le verre, le ciment, les lubrifiants (**Hernandezbattez, 2008 ; Frey, 2022**), ainsi que dans les peintures, adhésifs, mastics, piles, et retardateurs de feu. Bien qu'il soit présent dans la croûte terrestre sous forme de zincite minérale, la majorité du ZnO utilisé dans l'industrie est synthétisé, notamment pour des applications dans les produits cosmétiques tels que les pommades et les écrans solaires.

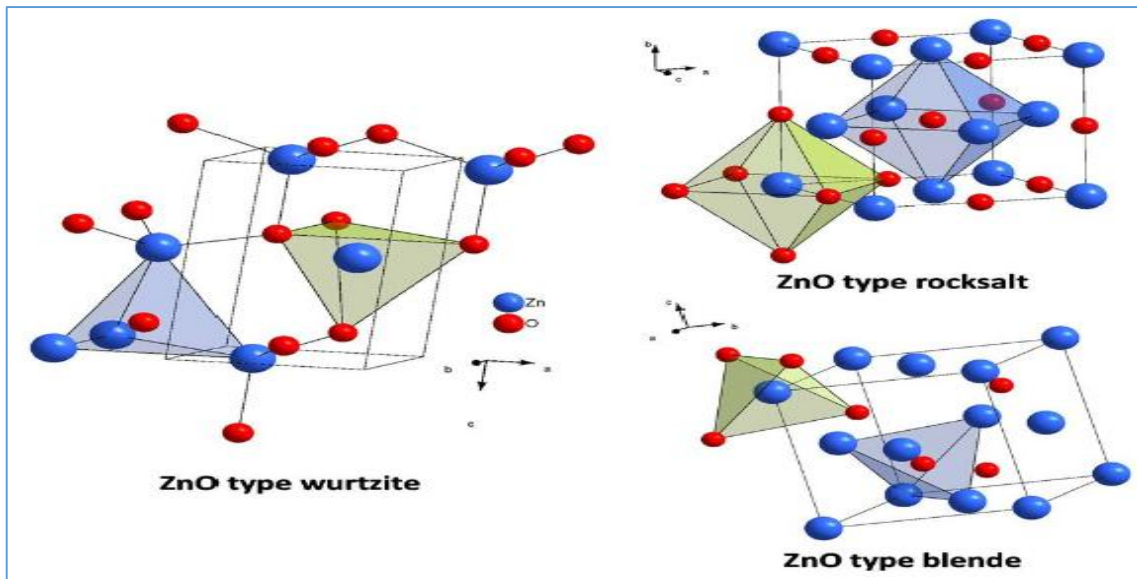


Figure 8. Différentes structures cristallographiques des oxydes de zinc (Gao & Li, 2009)

Les ZnO-NPs sont également reconnus pour leur polyvalence dans divers secteurs, y compris les applications biomédicales, la remédiation environnementale, et les utilisations industrielles. Les bonnes propriétés du zinc et la demande croissante entraînent une augmentation continue de la production de zinc, le zinc est actuellement produit chaque année, dont plus de **12 million** de tonne proviennent de la production minière (**Tableau 02**).

Leur synthèse peut être réalisée par des méthodes traditionnelles ou par des approches plus écologiques, comme la synthèse verte utilisant des systèmes biologiques tels que les algues (**Durga et al., 2024 ; Azad et al., 2024**). En outre, les ZnO-NPs possèdent des propriétés antimicrobiennes remarquables, leur conférant une efficacité contre une large gamme d'agents pathogènes et de biofilms, souvent résistants aux antibiotiques conventionnels (**Anoop et al., 2024 ; Mohammad et al., 2023**).

Tableau 2. Table 2. Production et utilisation mondiales de zinc au cours des années 2019 à 2024, (Lead and Zinc Study Group (ILZSG). Available online : (accessed on 20 Aout 2024)).

Mille tonne						Janv-Mai		2024			
	2019	2020	2021	2022	2023	2023	2024	Fev	Mar	Avr	Mai
Production minière	12,799	12,244	12,787	12,486	12,244	4,921	4,714	888,4	973,4	930,3	985,5
Production de metal	13,582	13,823	13,939	13,408	13,935	5,664	5,681	1,0733	1,1708	1,1152	1,1633
Utilisation de métal	13,830	13,345	14,061	13,462	13,624	5,334	5,488	1,0033	1,0954	1,0999	1,1550

6.6.1. Propriétés physico-chimiques de l'oxyde de zinc :

L'oxyde de zinc se présente sous forme d'une poudre blanche dont les caractéristiques physico-chimiques sont les suivantes (**Bakri, 2012 ; Herrera-Rivera et al., 2013**).

- ✓ La masse molaire : $M=81337\text{g}$
- ✓ Une température de fusion très élevée = $1975\text{ }^\circ\text{C}$
- ✓ Mode de réseau hexagonale
- ✓ Paramètre de maille $a= 3.249\text{ \AA}$, $c=5.205\text{ \AA}$
- ✓ La densité : $d=5.06\text{g/cm}^3$
- ✓ La force de la liaison chimique de Zn est de 66Kcal/mol
- ✓ Une résistivité électronique a $1073\text{ }^\circ\text{K}$ $p=67\text{ }\Omega\cdot\text{m}$ et a $1623\text{ }^\circ\text{K}$ $p=1.2\cdot 10^{-2}\Omega\cdot\text{m}$
- ✓ Il se volatilise entre $1370\text{ }^\circ\text{C}$ et $1400\text{ }^\circ\text{C}$ et se dissocie à $1950\text{ }^\circ\text{C}$
- ✓ La pression de la vapeur de Zn a $1300\text{ }^\circ\text{C}$ est de 200N/m^2 a $1400\text{ }^\circ\text{C}$ est de 400N/m^2 et a $1500\text{ }^\circ\text{C}$ est de 1387N/m^2
- ✓ L'oxyde de zinc n'est pas soluble dans l'eau
- ✓ Il réagit avec l'oxyde de baryum suivant la réaction :
$$\text{ZnO(S)} + \text{BaO(s)} \longrightarrow \text{BaZnO}_2\text{(s)} \text{ à } 1100\text{ }^\circ\text{C}$$
- ✓ Il est soluble dans l'acide chlorhydrique et forme ZnCO_2
- ✓ Il est soluble dans l'acide acétique et forme d'acétate de Zinc, de formule $(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$.

6.6.2. Domaines d'applications et propriétés des NPs d'oxyde de zinc :

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO-NPs) présentent des propriétés uniques et polyvalentes qui les rendent précieuses dans divers domaines scientifiques et industriels. Ces particules se distinguent par leurs caractéristiques électriques, mécaniques, optiques et magnétiques, ce qui explique leur large utilisation dans des applications technologiques avancées (**Ahmad et al., 2020**). Elles sont particulièrement recherchées pour leurs performances catalytiques, leurs rôles dans les cellules photovoltaïques, les textiles et les polymères, et leur faible coût et disponibilité (**Thakur et al., 2021 ; Naveed Ul Haq et al., 2017**).

Les ZnO-NPs, avec leur grande surface spécifique ($57\text{ à }83\text{ m}^2/\text{g}$), offrent des capacités antimicrobiennes et catalytiques remarquables, les rendant efficaces dans le traitement des eaux usées et la lutte contre les agents pathogènes, y compris les biofilms (**Badaka et al., 2024 ; Anoop et al., 2024**).

Leur capacité à dégrader les colorants grâce à des propriétés photocatalytiques, ainsi que leur photoluminescence, les rendent particulièrement utiles pour l'assainissement environnemental (Ana et al., 2024 ; Das et al., 2024).

Avec une large bande interdite de 3,34 eV, les ZnO-NPs sont des semi-conducteurs prometteurs pour l'électronique avancée (Badaka et al., 2024).

Leur stabilité mécanique est également valorisée dans les matériaux de construction, bien que leur intégration puisse modifier certaines propriétés du béton (Ana et al., 2024). De plus, elles sont largement utilisées dans les textiles, les dispositifs médicaux et les emballages alimentaires pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques (Song et al., 2010 ; Sharma et al., 2011).

La transparence des ZnO-NPs à la lumière visible et leur absorption des rayons UV les rendent idéales pour les applications optoélectroniques et la fabrication de cellules photovoltaïques, contribuant à l'amélioration de l'efficacité énergétique (Karthik et al., 2018 ; Habba, 2017).

Leur morphologie adaptable et leur haute mobilité électronique renforcent leur potentiel dans des techniques avancées comme l'immunofluorescence, la détection immunohistochimique, et l'étude confocale des protéines membranaires (Sturikova et al., 2018).

Les ZnO-NPs sont également utilisées dans le développement de nano-générateurs électriques et de composants optoélectroniques tels que des sondes et nano-résonateurs (Premanathan et al., 2011).

En tant que catalyseurs efficaces, elles facilitent la dégradation et la minéralisation des polluants environnementaux, incluant les hydrocarbures et les pesticides, dans le traitement des eaux (Kumar, 2015).

Leurs propriétés anticorrosives les rendent utiles dans les peintures, colorants, et dans la fabrication de polymères, céramiques, et ciments pour améliorer leur stabilité et résistance (Heng et al., 2011). Enfin, en raison de leur capacité à absorber les rayons UV, elles sont couramment intégrées dans les crèmes solaires et autres produits cosmétiques (Jeng & Swanson, 2006 ; Osman et al., 2010).

6.6.3. Effet toxique des nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO-NPs) :

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO-NPs) sont connues pour leurs effets ambivalents, présentant à la fois des bénéfices biologiques et des risques toxiques. Le zinc, en tant qu'élément essentiel, joue un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques, incluant le

métabolisme, la prolifération cellulaire et la régulation de l'expression génique, principalement en tant que composant structural de divers facteurs de transcription (**Kindermann et al., 2005**). Toutefois, un excès de zinc, en particulier sous forme de ZnO-NPs, peut perturber l'homéostasie cellulaire, conduisant à des désordres oxydatifs (**Muller et al., 2010**).

Les ZnO-NPs, par la libération d'ions Zn^{2+} , sont capables de passer d'un rôle antioxydant à un rôle pro-oxydant, induisant ainsi la formation de radicaux libres et inhibant les défenses antioxydantes en interagissant avec les thiols du glutathion (**Parat et al., 1997; Premanathan et al., 2011**). Cette activité pro-oxydante entraîne une série de dysfonctionnements cellulaires, tels que la peroxydation des lipides, l'altération de la fonction mitochondriale et des lésions membranaires (**Vannini et al., 2013**). Par ailleurs, les ZnO-NPs peuvent aussi modifier les protéines du réticulum endoplasmique et vacuolaires liées à la régulation du redox, perturbant davantage l'homéostasie cellulaire (**Bouarroudj, 2017**).

Les recherches récentes montrent que l'exposition aux ZnO-NPs peut entraîner une cytotoxicité significative, notamment par l'induction de l'apoptose et des dommages aux organes olfactifs, comme observé chez le poisson zèbre (**Sheren et al., 2023 ; Vanessa et al., 2023**). Bien que certaines études suggèrent que les ZnO-NPs peuvent atténuer le stress causé par d'autres métaux toxiques, tels que le cadmium, leur toxicité globale reste préoccupante, en particulier en ce qui concerne leurs effets environnementaux et sanitaires (**Zhao et al., 2024 ; Abdul et al., 2023**). Ainsi, malgré les applications prometteuses des ZnO-NPs dans divers domaines, leur potentiel toxique justifie une évaluation approfondie de leur sécurité. De plus, il est essentiel d'explorer des alternatives moins nocives et de développer des stratégies de gestion des risques pour minimiser leur impact sur les écosystèmes

Chapitre 02

Offre une vue d'ensemble approfondie des organismes *Helix aspersa*, en explorant leur systématique, anatomie, physiologie, dynamique d'invasion, écologie, ainsi que leur rôle en biosurveillance et en écotoxicologie. Il se poursuit par une section méthodologique détaillant le site de prélèvement, les protocoles de mesure pour le sol et les escargots, ainsi que les analyses en laboratoire, incluant la physico-chimie des sols, la contamination des organismes, et l'évaluation des biomarqueurs."

1. Introduction

Les invertébrés du sol, notamment divers arthropodes, annélides et autres espèces non vertébrées, contribuent de manière significative au réseau dynamique de la vie sous nos pieds. Leurs actions affectent la structure du sol, modifient les schémas d'activité microbienne, influencent la dynamique de la matière organique du sol et contribuent au cycle des nutriments (Stork & Eggleton, 1992 ; Freckman & Ettema, 1993 ; Parmelee et al., 1993 ; Linden et al., 1994) (Bonnet et al., 2019). L'environnement du sol est incroyablement complexe et abrite une grande diversité d'organismes (Reddy et al., 2023). Les invertébrés terrestres sont des éléments essentiels des écosystèmes et sont fondamentaux pour la structure, les fonctions et les services fournis par le sol (González et al., 2020).

L'herbivore et l'escargot *Helix aspersa*, l'un de ces invertébrés, est important pour de nombreux écosystèmes. Il peut par conséquent être un vecteur de transfert de contamination dans la chaîne alimentaire, puisqu'il est la proie de plusieurs prédateurs, y compris les oiseaux, les mammifères et les invertébrés. C'est pourquoi l'influence de la pollution sur de nombreux processus physiologiques et comportementaux est de plus en plus évaluée à l'aide de ce gastéropode terrestre (Aït-Hamlet, 2019).

2. Histoire et origine

Les escargots font partie de l'alimentation humaine depuis les temps les plus anciens. Les coquilles découvertes par des archéologues dans les cavernes où vivaient nos ancêtres attestent que les escargots étaient récoltés pour la consommation à cette époque (Jean-Claude, 2019). L'escargot, souvent présent dans la mythologie, a alimenté les fantasmes de nos ancêtres, comme le montre un texte grec du IV^e siècle où Dédale utilise un escargot pour résoudre un défi posé par Minos Christinger. Salluste décrit comment un soldat romain suivit des escargots pour trouver une brèche dans un fort ennemi Salluste, "**La Guerre contre Jugurtha**". En Gaule, un personnage mythique revêtu d'une armure de coquilles d'escargots annonçait le beau temps. Les escargots sont consommés depuis la préhistoire, avec des preuves archéologiques de leur consommation. Déjà un mets festif au Ve siècle av. J.-C. en Grèce et à Rome, ils étaient élevés pour leurs différentes espèces Pline l'Ancien. Leur capacité à se conserver vivants a été exploitée dès le Moyen Âge. Au XIX^e siècle, le commerce des escargots était bien établi en France, avec des espèces comme le Bourgogne et le Petit-gris ayant des valeurs marchandes spécifiques Locard. L'élevage moderne débute au XX^e siècle avec des manuels techniques pour

guider les éleveurs, et cette pratique a récemment montré des résultats économiquement intéressants (**Bonnet et al., 2019**).

Il reste inconnu ce qui a déclenché l'apparition de *Helix aspersa* et comment elle s'est propagée. **Pallary (1901)** mentionne cette espèce dans "presque tous les dépôts quaternaires de l'Afrique du Nord", tandis que **Taylor (1910)** liste des découvertes fossiles et sous-fossiles, notamment à Villefranche-sur-Mer (Pléistocène moyen), à Bastia en Corse (**Caziot, 1911**) et dans les dépôts argilosables de Montalban et le Petit Piol (**Mauray, 1912**). **Taylor** remet en question l'existence de l'espèce dans les îles britanniques avant l'Holocène, mais elle est trouvée en Angleterre dans des débris néolithiques, probablement introduite par les Romains (**Evans, 1972**). **Morel (1974)** découvre un *Helix aspersa* dans des formations quaternaires de Nice. Les marins espagnols et portugais, se ravitaillant à La Rochelle, ont probablement introduit l'espèce aux Antilles. Les informations géologiques sur le bassin méditerranéen oriental manquent, laissant incertaine la propagation de l'espèce durant le Pléistocène inférieur ou moyen ou sa présence principalement dans le bassin occidental (**Henry, 1977**).

3. Étymologie et terminologie

3.1 Étymologie de l'escargot

Le mot espagnol « caracol » est probablement à l'origine du mot français « escargot », introduit en France via La Rochelle, où les marins espagnols et portugais venaient se ravitailler. D'autres termes sont utilisés pour désigner l'escargot, tels que « hélice » (en référence à la forme de sa coquille), « limaçon » et « colimaçon ». Selon les régions, le Petit-gris est connu sous des noms variés : « hélice chagrine », « luma » ou « limât », « tapada » (Provence), « cagouille » (Bordeaux - Charentes), « carago » (Marseille), « cacalan » (Provence), « cantareu » (Nice), « casaraulau » (Languedoc), et « casaulada » (Roussillon) (**Bonnet et al., 2019**).

3.2 Noms communs et vernaculaires de l'Escargot Petit-Gris en Algérie

Les espèces d'escargots connues sous le nom de *Helix aspersa*, parfois appelées "Petit-Gris", "Z'gargou", ou "Boujaghlel" en Algérie, sont très répandues sur le front méditerranéen d'Alger. L'Afrique du Nord et l'Europe sont incluses dans sa gamme écobiogéographique. En 1774, le scientifique danois Otto Friedrich Müller a décrit l'espèce.

Les noms communs et vernaculaires de l'escargot Petit-Gris en Algérie sont variés selon les régions et les langues. En arabe dialectal algérien et langage populaire, on l'appelle "Z'gargou", "S'gargou", "Babbouch", "Boujaghlel", "Boujaghlelou", et "Boukrar". En kabyle,

l'escargot et sa coquille sont désignés par les termes "Avellarousse", "Aarousse", et "Averjehlellou". En chaoui, il est appelé "Ajoughlel" ou "Bouchkham". Enfin, en arabe littéraire, on utilise les noms "Al-halazoune" et "Al-bazzague".

4. Présentation et classification de l'espèce *Helix aspersa*

Le gastropode pulmonaire mollusc *Helix aspersa* (**Figure 09**) est un membre de la famille des helicidae, sous-famille des helicinae, et de l'ordre des stylommatophores (**Beaumont et Cassier ; 1998**).

Comme il est décrit par **Bonnet et al. (1990)**, l'*Helix aspersa* escargot est classé comme suit :

- **Règne** : Animalia
- **Embranchement** : Mollusca
- **Classe** : Gastropoda
- **Sous-classe** : pulmonés
- **Ordre** : Stylommatophora
- **Sous-ordre** : Helicina
- **Super-** : Helicoidea
- **Famille** : Helicidae
- **Genre** : Hélix
- **Espèce** : *Hélix aspersa*
- **Sous-espèce** : *aspersa* (**Barker, 2001**)



Figure 9. Escargot *Helix aspersa* (<https://www.aquaportail.com>)

4.1. Distribution géographique « Répartition »

Le petit-gris, *Cornu aspersum* (anciennement *Helix aspersa*), s'est répandu mondialement, notamment dans les climats méditerranéens, tempérés et subtropicaux (Jørgensen & Sørensen 2008 ; Ansart, Madec & Guiller 2009). Cette vaste distribution est le résultat de nombreuses introductions historiques (Guiller & Madec 2010 ; Guiller et al. 2012). L'origine nord-africaine de l'espèce est désormais bien confirmée, avec une différenciation génétique marquée entre les populations du Maghreb occidental et celles des régions plus orientales, probablement due à divers événements géomorphologiques et climatiques (Guiller & Madec 2010).

La majorité des populations hors Afrique du Nord descend de la lignée « occidentale » de *C. aspersum*, qui a colonisé l'Europe après le dernier maximum glaciaire (Guiller & Madec 2010 ; Guiller et al. 2012). Depuis le XVII^e siècle, l'espèce a été introduite dans d'autres régions, souvent comme source de nourriture ou accidentellement via le commerce (Ansart et al. 2009). L'introduction en Californie a servi de point de départ pour d'autres introductions dans les Amériques et au-delà, certaines populations invasives, comme en Nouvelle-Zélande, résultant de plusieurs introductions successives (Guiller et al. 2012). Dans ces nouvelles régions, *C. aspersum* est souvent considérée comme une espèce invasive et un nuisible important, attaquant notamment les vergers d'agrumes en Californie (Sakovitch 2002) et les cultures de vignes en Afrique du Sud, Australie et Nouvelle-Zélande (Ansart et al. 2009; Cowie 2011b).

De nombreuses études ont conduit à la reconnaissance de plusieurs formes endémiques de **C. aspersum**, comme la forme « gros-gris » ou **forma maxima**, dont l'origine reste incertaine (**Taylor, 1914**). La lignée occidentale s'est probablement étendue vers l'Europe via la route tyrrhénienne et le détroit de Gibraltar (**Guiller & Madec 2010**). Les discontinuités génétiques témoignent de la différenciation entre les lignées orientales et occidentales, influencée par les événements climatiques et géomorphologiques du Pléistocène et du Tertiaire.

Aujourd'hui, la lignée occidentale de **C. aspersum** est devenue largement anthropochorique, colonisant divers paysages perturbés par l'homme (zones agricoles, urbaines, suburbaines) dans des régions méditerranéennes, tempérées et subtropicales. Elle est désormais présente en Amérique du Nord et du Sud, en Afrique, aux Mascareignes, en Océanie et en Asie, souvent grâce aux activités humaines (**Barker, 2002**). Au Canada, **C. aspersum** a été observé pour la première fois en Nouvelle-Écosse dans les années 1850, bien qu'il n'y soit plus retrouvé aujourd'hui. Il a été signalé à Terre-Neuve dans les années 1970, mais sa présence actuelle reste incertaine. Des observations sporadiques à Vancouver et sur l'île de Vancouver suggèrent que **C. aspersum** n'est présent au Canada que dans les environs de Victoria (**Grimm et al., 2009**).

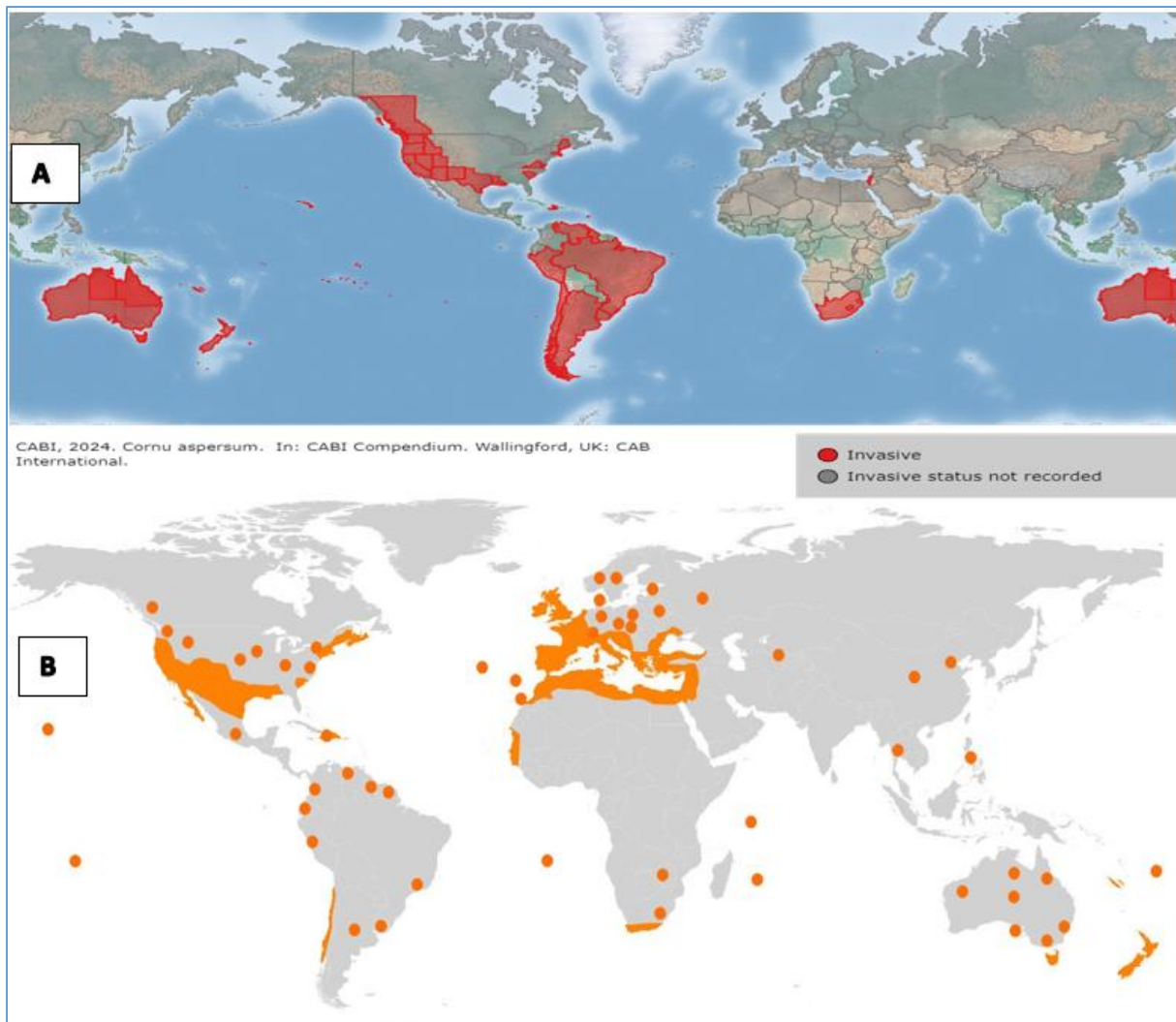


Figure 10 : A) Répartition de *Cornu aspersum* en tant qu'espèce invasive ; B) Distribution mondiale de *Cornu aspersum* (d'après Madec 1989 ; Jørgensen & Sørensen 2008; Ansart et al. 2009).

5. Morphologie de l'Escargot *Helix aspersa*

La morphologie de l'escargot *Helix aspersa* est caractérisée par sa coquille distincte et son corps mou.

5.2. La coquille

La coquille de l'escargot est un tube calcaire en forme de spirale, avec une base concave. Son sommet, correspondant au point culminant du cône, est constitué des tours les plus anciens. Selon **Daguzan (1983)**, ces tours s'unissent pour former une ligne de suture. Conformément aux critères de mesure et de description illustrés dans la **figure 11**, l'ouverture de la coquille est délimitée par le péristome après le dernier tour (**Stiévenart et Hardouin, 1991 ; Nader, Butto, 2023**).

La coquille d'*Helix aspersa*, de forme globulaire et spiralée (Larba, 2014 ; Nader, Butto, 2023), présente une grande variété de couleurs et de formes, se répartissant en deux groupes principaux : généralement, des coquilles de teinte sombre et d'autres aux colorations plus vives (Taylor, 1910).

Environ un tiers du poids frais d'un escargot est constitué de la coquille, laquelle est composée à 98 % de carbonate de calcium, incluant la calcite et l'aragonite comme principaux minéraux (Chevalier, 1992 ; Bintoro et al., 2023). Des sols pauvres en calcium peuvent constituer un facteur limitant à la croissance des escargots, le calcium étant un élément indispensable à la formation de la coquille (Dallinger et al., 2001 ; Rygalo-Galewska et al., 2023).

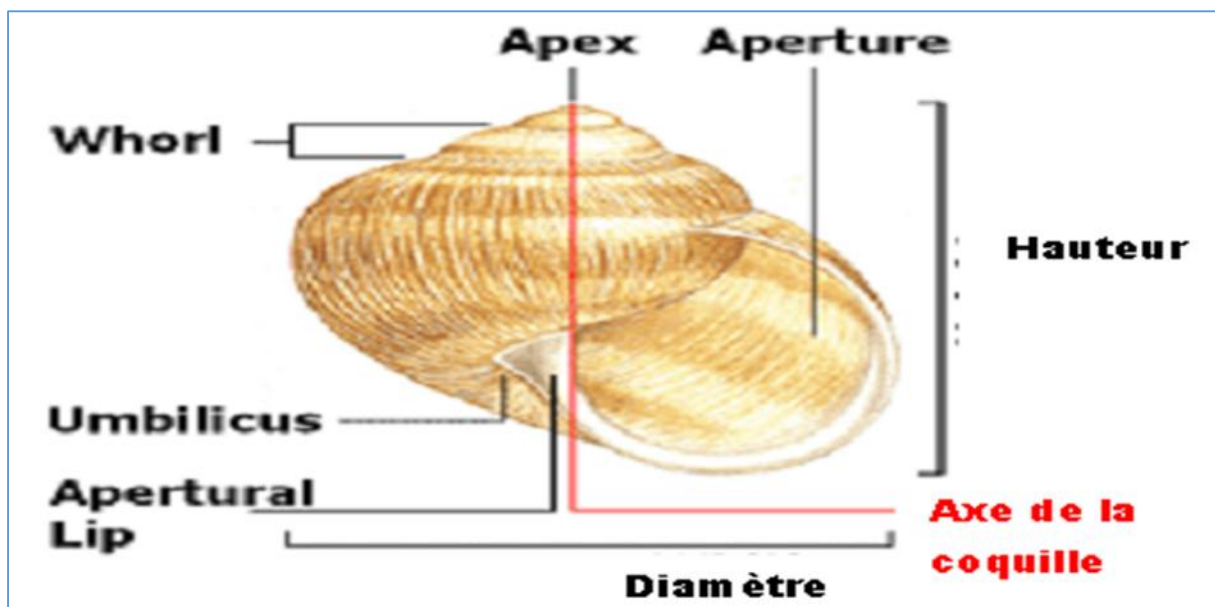


Figure 11. Critères de description et de mensuration de la coquille de *Helix aspersa* (Henry, 1977).

5.1. Le Corps Mou :

Le corps de l'escargot est mou, visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de trois parties : la tête, le pied et la masse viscérale (Figure 12) (Bonnet et Vrillo, 1990).

5.1.1. Le pied

Le pied de *Helix aspersa* soutient le corps et facilite la locomotion par reptation. Musculeux, large et plat, il soutient une coquille calcaire en spirale et forme une sole de reptation en contact avec le sol. Cette sole laisse une trace brillante de mucus lors du déplacement de l'escargot (Cadart, 1955).

Le pied comprend la tête et deux paires de tentacules (**Figure 12**). À l'extrémité du pied, près du bord de la coquille, se trouvent les ouvertures respiratoire et anale (**Mebirouk, 2017**).

5.1.2. La Tête

Sa tête comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens constitués de deux paires de tentacules. Les tentacules inférieures, tactiles, sont dirigés vers le bas, les tentacules supérieures, oculaires, portant un oeil simple et un organe olfactif, qui sont dirigés vers le haut (**Figure 13**). (**Bonnet et Vrillo, 1990**).

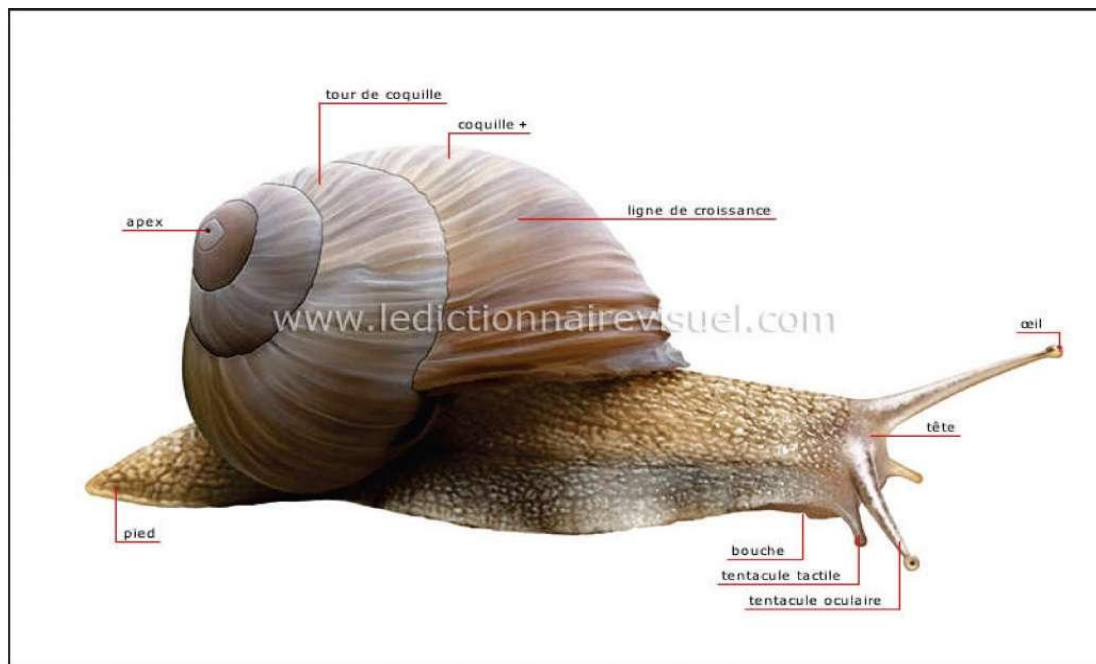


Figure 12. Morphologie externe de l'escargot (<https://www.ikonet.com/>)

5.1.3. La Masse Viscérale

La masse viscérale dont la plus grande partie est enfermée dans la coquille (**Chevalier, 1982**), contenant presque tous les organes ; elle est richement vascularisée.

Les viscères correspondent aux organes situés à l'intérieur de la coquille et comprennent le rein, l'hépatopancréas, le cœur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge également dans le pied. Ce dernier comporte essentiellement la sole pédieuse, musculeuse, la partie antérieure du tube digestif et le système nerveux.

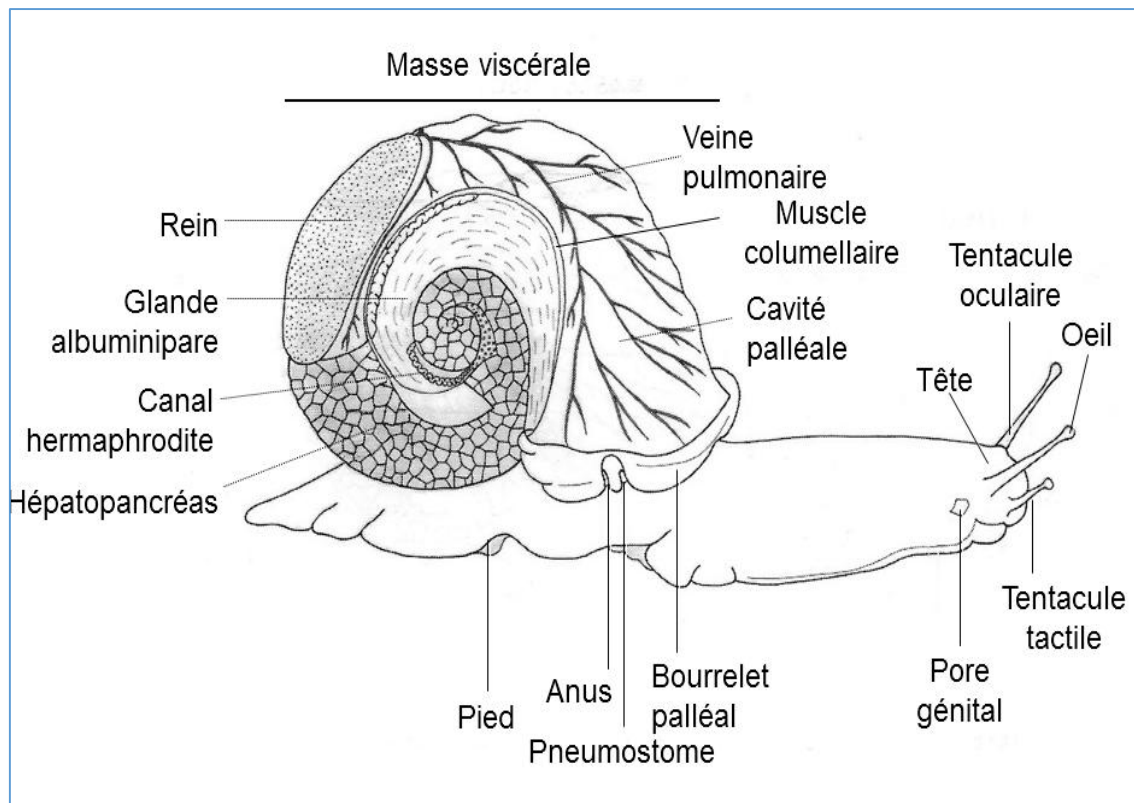


Figure 13. La Masse Viscérale de l'escargot *Helix aspersa* (Atika Cohen, 2024).

6. Organes internes d'un escargot :

Les Organes internes de l'escargot sont adaptés à son mode de vie, avec des structures spécialisées pour la locomotion, la nutrition, la respiration, la reproduction et l'excrétion. Ces caractéristiques permettent à l'escargot de survivre dans divers environnements, que ce soit sur terre ou dans l'eau.

- **Système digestif** : Bouche, Œsophage, Jabot, Estomac, Intestin et l'hépatopancréas.
- **Système nerveux**
- **Système respiratoire** : Poumon.
- **Système circulatoire** : Cœur.
- **Système reproducteur** : Ovotestis, Canal hermaphrodite, Spermathèque et l'Orifice génital.
- **Système excréteur** : Rein.

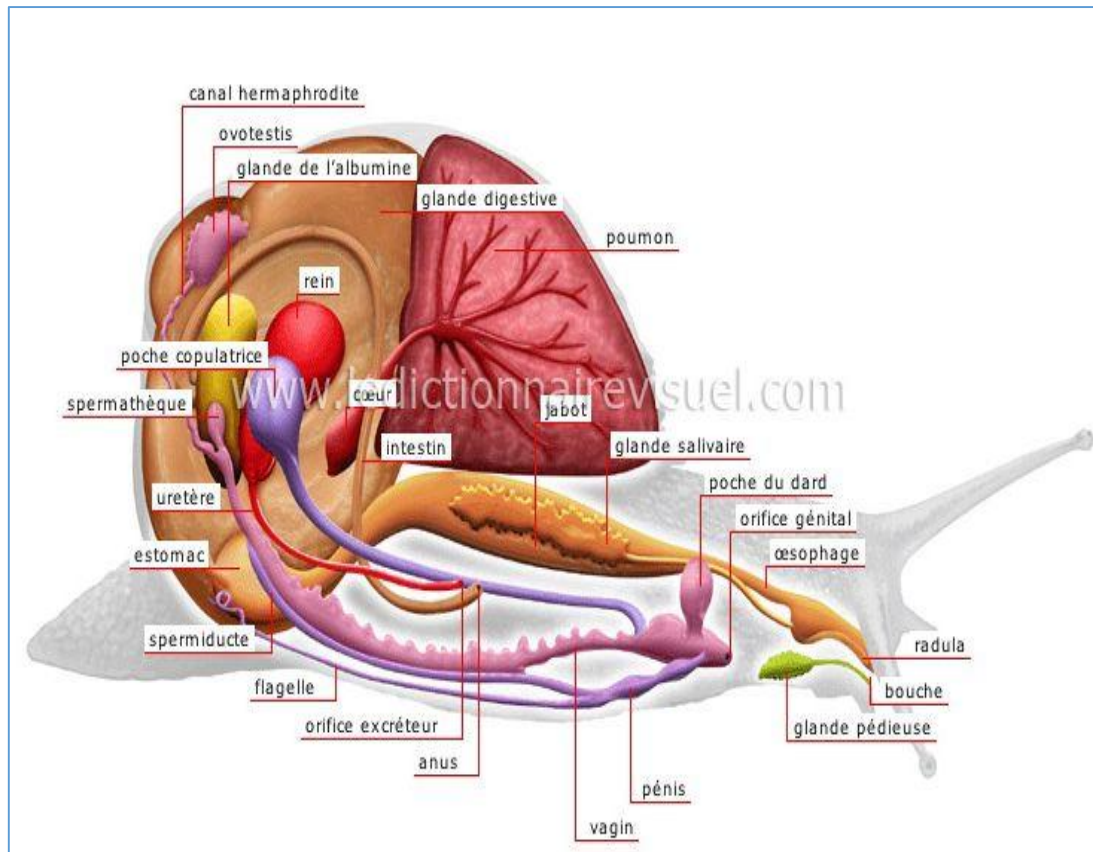


Figure 14. Anatomie interne de l'escargot *Helix aspersa* Selon (Ikonet, 2024).

6.1. Système digestif

L'anus est ramené vers l'avant par une boucle formée par le tube digestif. L'œsophage, l'estomac, les intestins, les glandes salivaires, le bulbe buccal, la radule et l'hépatopancréase (Figure 15) créent une double circonvolution qui se termine dans l'anus (Thompson, 2005).

6.1.1. Intestin

L'intestin se développe de la lumière à la périphérie et à une forme tubulaire avec un diamètre constant et des plieuses élevées, elle est formée :

- Composant une couche alternante de cellules revêtues, cellules ciliées et cellules glandulaires dans un simple épithélium prismatique. une tunique peu épaisse faite de tissu conjonctif.
- Comprend une couche de fibres musculaires lisses qui est sous-développée (Sandrine et Henri, 2011).

6.1.2. Hépatopancréas

L'hépatopancréase, un organe considérable dans la masse viscérale, se compose de deux lobes reliés par un canal hépatopancréatique et est entouré de tissu conjonctif et de fibres

musculaires lisses. De nombreux tubules sont disposés l'un à côté de l'autre pour créer son enveloppe, avec des lacunes pour la circulation hémolymphe. Un épithélium droit et élevé constitue la paroi des tubules hépatopancréatiques. Il est composé de trois types de cellules, chacune ayant une morphologie distincte :

- **Les cellules sécrétoires** sont responsables de la digestion extracellulaire des nutriments et sont chargées de créer les enzymes digestives qui sont pompées dans la lumière des tubules.
- **les cellules absorbant** qui effectuent la digestion intracellulaire en phagocytosant les particules alimentaires à partir de la lumière des tubules.
- **les cellules basales** qui permettent la régénération d'autres types de cellules (**Sandrine et Henri, 2011**).

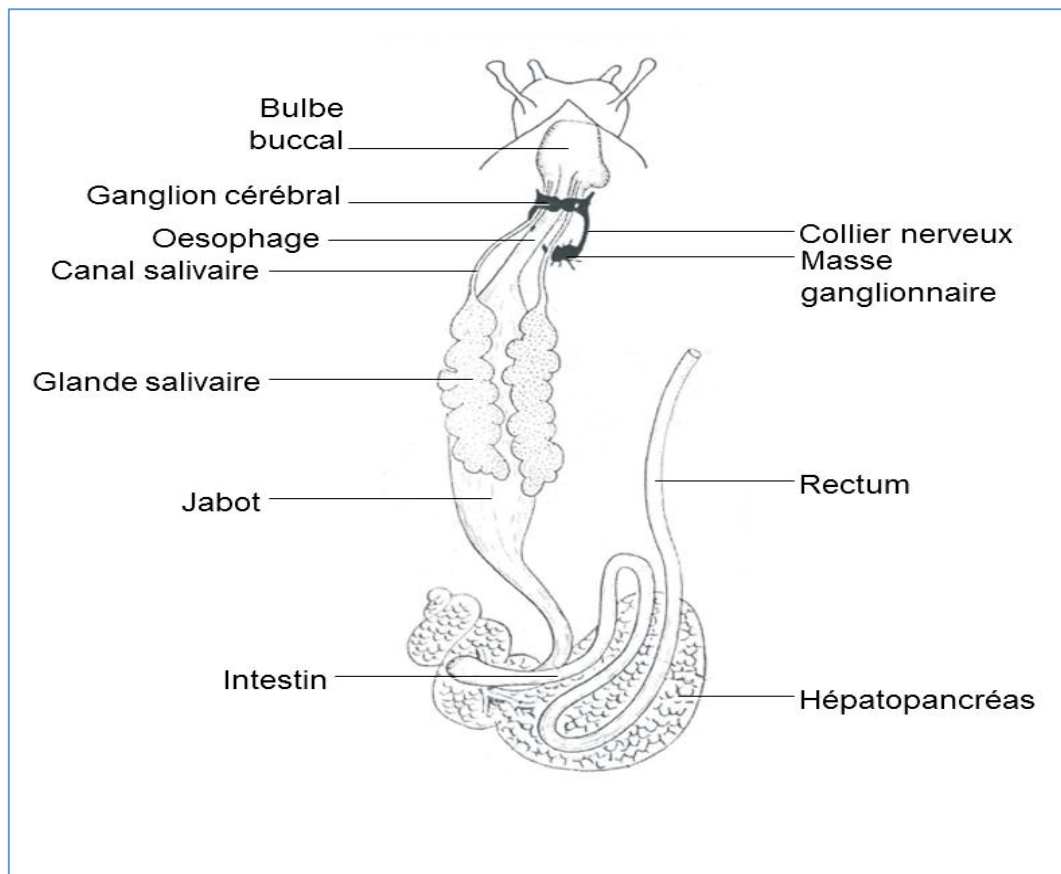


Figure 15. Système digestif de l'escargot *Helix aspersa* (Atika Cohen, 2024).

6.2. Système nerveux

Helix aspersa a un système nerveux sympathique composé de nodules oraux et cérébroïdiens reliés par des cordes nerveuses et un système neuronal central logé dans la région cérébrale composé d'un collier double périphérique esophagien compliqué (**Pirame, 2003**).

6.3. Système circulatoire et respiratoire

Les composantes de son système circulatoire et respiratoire sont les suivantes :

- Le cœur qui a une seule oreillette et un ventricule.
- *Helix aspersa* ainsi que d'autres mollusques terrestres et marins, produisent du sang ou de l'hémolymphe comme liquide physiologique. Un système veineux et une artère sont utilisés pour circuler l'hémolymphe. Il y a deux aortes qui la conduisent dans le réseau artériel. Les hémocytes, une sorte de cellule, et l'hémocyanine sont tous les deux présents (Sanchez et al., 1998 ; Adamowicz et Bolaczek 2003).
- Le poumon est un compartiment fait d'épithélium pallial qui est irrigué par les artères pulmonaires et dans lequel l'air est circulé par des mouvements de contraction du pneumostome (Sandrine et al., 2003).
- L'hémocyanine est un membre de la famille des protéines métalliques qui ressemble à une protéine et fonctionne comme un transporteur d'oxygène (Markl, 2013).

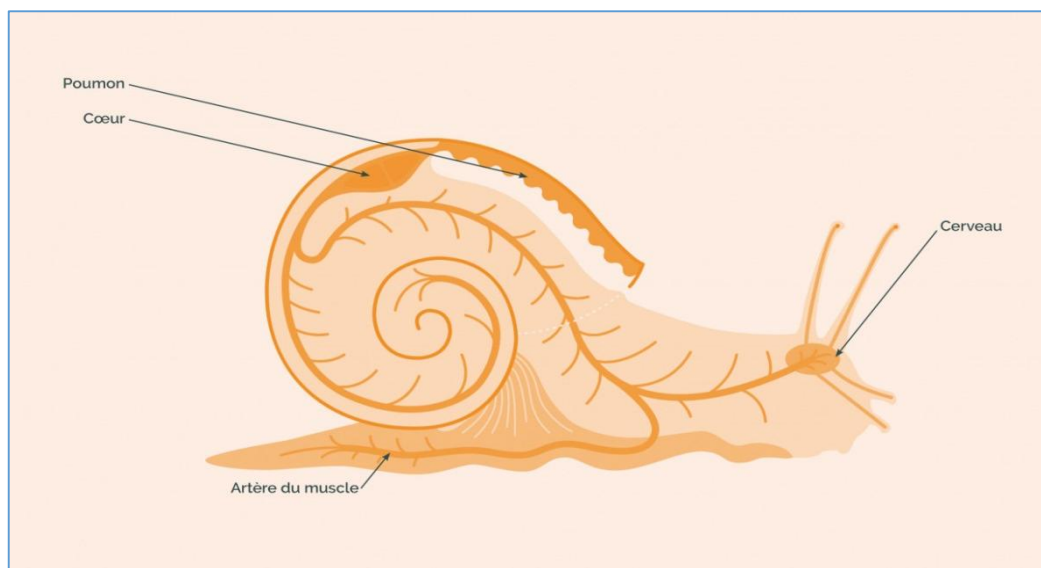


Figure 16. Système circulatoire, respiratoire et nerveux de l'escargot *Helix aspersa* Selon (Ikonet, 2024).

6.4. Système reproducteur

L'appareil reproducteur complexe de l'escargot (**figure 17**) comprend à la fois des organes mâles et femelles, tels que la glande génitale, un canal hermaphrodite pour l'évacuation des gamètes, une glande albumine pour les réserves de vitellus, et un ovispermiducte pour le transport des spermatozoïdes et des œufs. Ces organes sont propres à l'escargot.

Le système génital est divisé en deux voies :

- ✓ La voie mâle, qui contient le spermatophore et le canal déférent.
- ✓ La voie femelle, qui comprend le vagin et la poche à dard, responsable de la sécrétion du dard calcaire pendant l'accouplement. Les deux voies sont essentielles pour assurer une reproduction réussie (Sandrine et al., 2003).

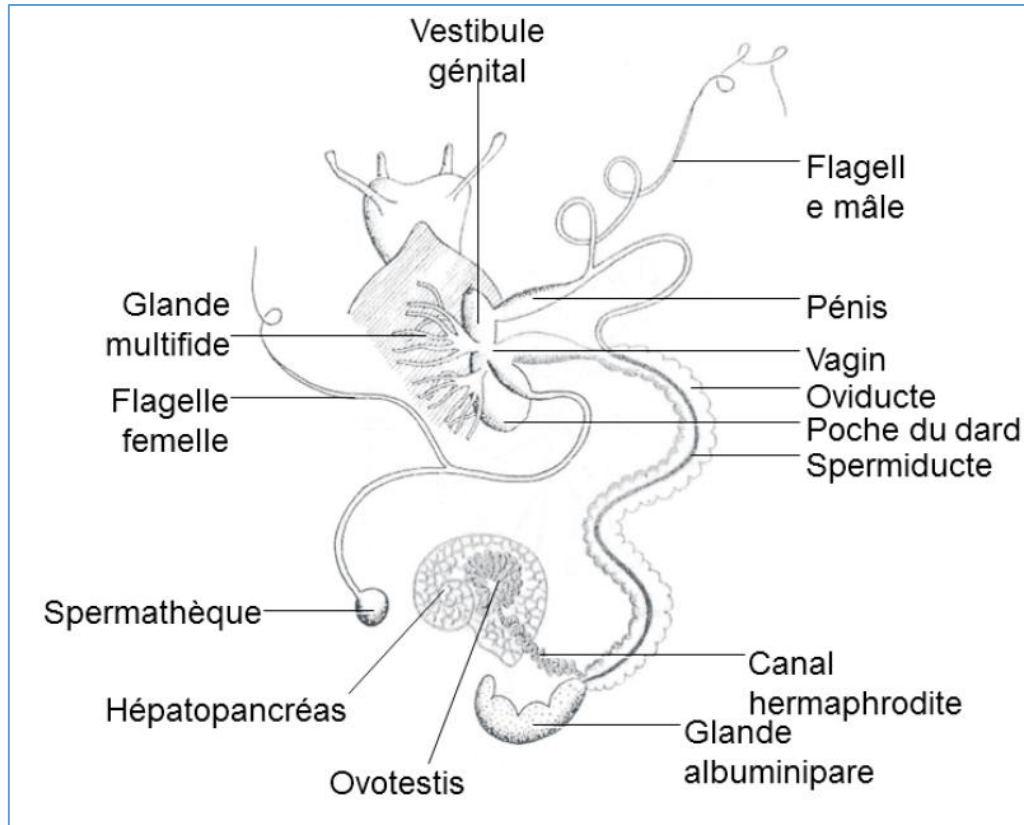


Figure 17. Système reproducteur de l'escargot *Helix aspersa* (Atika Cohen, 2024).

6.5. Système excréteur

Le système excréteur, représenté uniquement par le rein, également appelé organe de Bojanus, est un organe triangulaire de couleur gris-jaune situé entre le cœur et le rectum. Il se compose de deux parties : une partie excrétrice principale et une vessie d'accumulation, d'où un mince canal urinaire conduit à un orifice d'excrétion situé entre l'anus et le pneumostome (Popple et Tribune, 2002).

Le système excréteur est essentiel pour maintenir l'équilibre interne de l'escargot, en régulant non seulement l'élimination des déchets, mais aussi l'équilibre hydrique et électrolytique. Cela est particulièrement important pour les escargots vivant dans des environnements terrestres, où la gestion de l'eau est cruciale pour leur survie.

7. Physiologie et comportements des escargots

7.1. Activité journalière saisonnière

7.1.1. Activité journalière

L'activité des escargots gris est essentiellement nocturne, s'alignant sur la photopériode naturelle et débutante au coucher du soleil, pour une durée allant jusqu'à six heures (**Panayiotou et al., 2012**). Des facteurs environnementaux tels que l'humidité, la température et l'intensité lumineuse influencent considérablement cette activité. Plus précisément, les escargots présentent un comportement actif lorsque l'humidité relative dépasse 80 % et que les températures nocturnes restent supérieures à 9 °C (**Exeler, 2022**). Des conditions négatives, telles que les basses températures et l'humidité, peuvent perturber leurs schémas d'activité, qui sont étroitement liés à la photopériode (**Lala et al., 2024**). Les recherches indiquent qu'après leur phase active, les escargots entrent dans une période d'inactivité qui dure moins de 18 heures (**Rickards et al., 2015**). Cette synchronisation avec les conditions environnementales met en évidence l'adaptabilité des escargots à leurs habitats, bien qu'elle souligne également leur vulnérabilité aux changements climatiques qui pourraient affecter les niveaux d'humidité et de température (**Checon et al., 2021**). Ainsi, le maintien de conditions optimales est crucial pour leur survie et leur activité.

7.1.2. Activité saisonnière « Estivation et hibernation » :

- L'incapacité de contrôler la température corporelle, selon **Daguzan (1981)**, caractérise l'activité saisonnière des escargots poïkilothermes, comme *Helix aspersa*, est caractérisée par des adaptations physiologiques distinctes aux fluctuations de température, notamment l'estivation et l'hibernation.
- l'estivation, qui se produit dans des conditions chaudes et sèches, les escargots réduisent leur activité et se renferment dans leur coquille à l'aide d'une couche de mucus, conservant ainsi l'eau et l'énergie malgré des fonctions respiratoires normales (**Bloomfield et al., 2022**).
- l'hibernation est déclenchée par des températures plus froides, où les escargots deviennent paresseux, s'appuyant sur leurs réserves de glycogène et perdant potentiellement jusqu'à 30 % de leur poids corporel (**Morley et al., 2007 ; Suljević et al., 2019**). Le début de l'hibernation est influencé par des facteurs environnementaux, notamment des chutes de température en dessous de 15 °C et une diminution de la lumière du jour (**Plummer, 2004**).

- Ces deux processus sont essentiels à la survie, permettant aux escargots de gérer efficacement les taux métaboliques et les réserves d'énergie tout au long des changements saisonniers (**Panayiota et al., 2012**). Cette adaptabilité souligne l'importance des conditions environnementales dans la formation des cycles de vie de ces organismes.

7.2. Alimentation et Croissance

7.2.1. Alimentation

L'escargot de jardin *Helix aspersa* représente une menace notable pour les plantes potagères en raison de ses diverses habitudes alimentaires, qui englobent la phytophagie, la coprophagie, la détritivation, et parfois le cannibalisme. Cet escargot est doté de microbes intestinaux spécifiques qui jouent un rôle crucial dans la digestion des matières végétales. En hiver, ces microbes sont particulièrement actifs dans la dégradation du mucus intestinal, ce qui aide à la digestion (**Cleveland et al., 2019**). De plus, *Helix aspersa* a montré une tendance marquée à se nourrir la nuit sur de grandes feuilles d'ortie, ce qui indique une préférence pour certaines plantes et peut affecter la biodiversité et la santé des jardins (**Green, 2007**). L'interaction entre l'escargot et sa communauté microbienne est essentielle, non seulement pour l'absorption des nutriments, mais aussi pour sa condition physique globale et son efficacité alimentaire (**Villa et García, 2017**).

7.2.2. Croissance

Les phases de croissance des escargots, telles que décrites par **Gomot (1997)**, comprennent quatre stades distincts :

- Phase infantile durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g,
- Phase juvénile relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6,0 g.
- Phase de maturation sexuelle ou phase préadulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6 g.
- La phase adulte à croissance nulle durant laquelle les animaux sont aptes à se reproduire. Ils sont alors bordés et pèsent entre 6 et 14 g.

Chaque phase est marquée par des changements spécifiques, tels que la maturation de l'appareil génital et l'activation de la gamétogenèse. La croissance est influencée par des

facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'éclairage, la composition du sol, et la disponibilité de la nourriture, qui affectent les taux métaboliques et la reproduction (Nabhitabhata et al., 2022 ; Nandy et al., 2023). En milieu naturel, la durée de vie moyenne des escargots est de 6 à 7 ans, avec une maturité sexuelle atteinte généralement au cours du deuxième ou du troisième été après la naissance (Edmonds et al., 2021 ; Roberts et al., 2021). La croissance est également affectée par les cycles saisonniers d'estivation et d'hibernation, soulignant l'importance des conditions environnementales dans la croissance et la reproduction (George et al., 2021).

7.3. Reproduction :

La période de reproduction des escargots du genre *Helix*, y compris *Helix aspersa*, s'étend généralement de début mai à mi-septembre, caractérisée par une fécondation réciproque par échange de spermatophores. Bien que l'autofécondation soit rare dans ce genre, elle a été documentée chez d'autres espèces, ce qui indique une variabilité des stratégies de reproduction dans différents environnements (Shen, 2006). Le temps entre l'accouplement et la ponte peut varier considérablement, sous l'influence des conditions environnementales ; des conditions optimales donnent lieu à un intervalle de ponte d'environ dix jours, tandis que des conditions défavorables peuvent prolonger cet intervalle jusqu'à un ou deux mois (Sulikowska-Drozd et al., 2013). Le comportement de ponte implique que l'escargot creuse dans le substrat pour déposer des couvées d'une moyenne de 80 à 130 œufs, un nombre qui peut varier en fonction de facteurs individuels et environnementaux (Tomasini et al., 1996 ; Yang et al., 2010) . Cette flexibilité reproductive souligne l'adaptabilité des escargots *Helix* à leurs niches écologiques, bien que les études spécifiques sur *Helix aspersa* restent limitées (Qian et al., 2023) .

8. Contribution des Mollusques, en particulier *Helix aspersa*, à l'Écotoxicologie et aux Processus de Bioaccumulation des Métaux

8.1. Les Mollusques comme Bioindicateurs de Contaminants Environnementaux

Les mollusques, en particulier les gastéropodes, se distinguent par leur omniprésence dans divers écosystèmes marins, d'eau douce, et terrestres (Vinarski et al., 2020). L'absence d'exosquelette chez ces organismes les expose directement à leur environnement, ce qui augmente leur capacité à accumuler des contaminants (Walters, 2018). Ces organismes jouent un rôle crucial dans leurs écosystèmes, et certains gastéropodes terrestres, en raison de leur distribution limitée, sont particulièrement utiles pour les études à grande échelle (Parker et al., 2013 ; Strong et al., 2008).

Les escargots terrestres sont couramment utilisés comme bioindicateurs pour détecter les contaminants organiques et inorganiques dans leur environnement. Leur petite taille, leur mobilité restreinte, et leur abondance dans divers milieux les rendent particulièrement adaptés aux études de biomonitoring (**Elder et Collins, 1991 ; Stankovic et al., 2014**). La diminution des populations d'escargots dans certains habitats, comme les sols acides des forêts, a été associée à une réduction de la reproduction chez certaines espèces d'oiseaux, notamment les passereaux (**Pabian et Brittingham, 2007**).

Les escargots montrent une grande sensibilité aux polluants, tels que les pesticides et les métaux lourds. L'étude de leurs populations dans des zones contaminées fournit des informations précieuses sur les effets à long terme de l'exposition aux contaminants. Les paramètres biochimiques cellulaires mesurés en conditions naturelles sont essentiels pour évaluer leur sensibilité au stress environnemental (**Amadi et al., 2020 ; Authman et al., 2015**). La bioaccumulation des métaux dépend de leur absorption, que ce soit par ingestion ou par adsorption directe.

La diversité des modes de reproduction chez les escargots, tels que l'hermaphrodisme et la parthénogenèse, permet de surveiller les impacts des contaminants sur ces processus (**Zierold et al., 2007**). Certaines espèces ont des cycles de vie courts, permettant de détecter rapidement les effets des polluants, tandis que d'autres vivent plus longtemps, accumulant ainsi les contaminants sur une longue période. Les escargots, en raison de leur capacité limitée à excréter ou à métaboliser les polluants, sont particulièrement sensibles à l'accumulation de contaminants, ce qui en fait des systèmes d'alerte précoce pour les écosystèmes (**Abdallah, 2017**).

Il a été démontré que les polluants s'accumulent davantage dans les viscères que dans le pied des escargots, soulignant l'importance d'analyser séparément ces parties pour évaluer la biodisponibilité des polluants (**Eeva et al., 2010 ; Nica et al., 2013**). La bioaccumulation dépend de la durée d'exposition : les escargots sauvages, exposés toute leur vie, sont souvent fortement contaminés. Une période d'exposition de plusieurs semaines peut révéler des effets néfastes, indiquant que la bioaccumulation varie selon le type de pollution. Les escargots accumulent des minéraux et métaux toxiques dans leur coquille, ce qui est facilité par la modification de paramètres biologiques, tels que la croissance et le poids des organes, et de paramètres chimiques observés au cours de la phase de bioaccumulation (**Beeby et Richmond, 2011 ; Abdel-Halim et al., 2013 ; Gimbert et al., 2008**).

Leur capacité à concentrer les substances chimiques de l'environnement (sol, air, plantes) dans leurs tissus en fait **des bioindicateurs efficaces** pour la pollution terrestre et pour l'étude de la toxicité des métaux (**Druart et al., 2012 ; Kramarz et al., 2009**). L'analyse des éléments accumulés dans les escargots permet d'estimer les niveaux de pollution du sol et d'évaluer les risques de dispersion de substances nocives, telles que les pesticides, susceptibles de contaminer d'autres organismes vivants (**Scheifler et al., 2003 ; Gimbert et al., 2006**).

8.2. Utilisation de l'escargot *Helix aspersa* en écotoxicologie : Bioindicateur et outil de biosurveillance

Les escargots terrestres *Helix aspersa*, aussi connus sous le nom de petit-gris, jouent un rôle fondamental dans les études écotoxicologiques en raison de leur capacité à intégrer diverses sources de contamination provenant du sol, de l'air, et des plantes. Ces gastéropodes pulmonaires sont exposés aux polluants par différentes voies, notamment par ingestion, respiration, et contact cutané (Tableau 03), ce qui les rend particulièrement efficaces comme bioindicateurs de la qualité des sols et de la biodisponibilité des métaux lourds ainsi que d'autres contaminants organiques. Les adultes de cette espèce sont largement utilisés dans la biosurveillance en raison de leur régime alimentaire, qui inclut la consommation de plantes et l'ingestion de particules de sol (**Gomot et coll., 1989 ; Scheifler et coll., 2006 ; Regoli et al., 2006 ; Coeurdassier et coll., 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002**).

Tableau 3. Voies d'exposition des contaminants chez les gastéropodes terrestres *Helix aspersa*.

Voie d'exposition	Description	
Voie digestive	Ingestion d'aliments contaminés (plantes, débris organiques) et de particules du sol	
Voie respiratoire	Absorption de gaz et de particules atmosphériques à travers les ouvertures respiratoires (pulmones)	
Voie cutanée	Diffusion de contaminants à travers l'épithélium humide du pied (pied mouillé favorise l'absorption)	

L'inhibition de la croissance des escargots est un indicateur clé pour évaluer l'écotoxicité des sols contaminés, que ce soit par ingestion, contact cutané ou exposition directe. Cet effet sub-létal est crucial pour déterminer les risques associés à la contamination des sols (**Gomot-De Vaufleury, 2000 ; Coeurdassier et al., 2001**). *Helix aspersa*, qui est capable d'accumuler certains éléments traces métalliques (ETM) tout en éliminant d'autres (**Coughtrey et Martin, 1976 ; Gomot-De Vaufleury et Pihan, 2002 ; Viard La Rocca et al., 2004**), constitue un excellent modèle pour évaluer les résidus métalliques dans les tissus et surveiller leur biodisponibilité dans le sol (**Stürzenbaum et al., 2004 ; Van Straalen et al., 2005 ; Scheifler et al., 2006**).

En tant que bioindicateur, *Helix aspersa* possède plusieurs avantages : facilité d'identification et d'échantillonnage, large aire biogéographique, capacité élevée d'accumulation des polluants, et possibilité d'élevage en laboratoire avec un cycle biologique bien contrôlé. Leur réponse dose-dépendante en termes d'inhibition de croissance est

particulièrement informative par rapport à d'autres espèces telles que les vers de terre et les collemboles (Gomot-De Vaufleury, 2000 ; Vaufleury et Pihan, 2002). Ces caractéristiques font des escargots un outil précieux pour la surveillance des sols, les tests d'écotoxicité, et l'évaluation de la toxicité des polluants (Gomot et al., 1989 ; Gomot-De Vaufleury, 2000 ; Regoli et al., 2006 ; Fritsch et al., 2011 ; Louzon et al., 2020a).

Le genre *Helix* est reconnu comme un macro-concentrateur pour les ETM (Dallinger, 1993). L'Organisation internationale de normalisation (ISO) a mis au point en 2006 un test standardisé d'écotoxicité avec *Helix aspersa*, qui est couramment utilisé pour la biosurveillance des sols contaminés (Gomot-De Vaufleury, 1997 ; Swaileh et Ezzughayyar, 2000 ; Coeurdassier et al., 2001 ; Gimbert et al., 2006 ; Gimbert et al., 2008) et dans des études d'exposition alimentaire (Russell et al., 1981 ; Laskowski et Hopkin, 1996b ; Gomot-De Vaufleury, 2000).

L'importance des bioindicateurs pour résister à de fortes concentrations de polluants et détecter de subtils changements environnementaux est bien documentée (Fränzle, 2006). Des espèces d'escargots terrestres comme *Helix aspersa* (Snyman et al., 2003), *Lymnaea stagnalis* (Mahmoud et Desouky, 2006), *Potamopyrgus antipodarum* et *Lymnea luteola* (Sangita et Khangarot, 2010 ; Panget et al., 2012) sont utilisées pour des tests de toxicité des pesticides et comme biomarqueurs de contamination terrestre.

Des recherches récentes ont mis en évidence des perturbations physiologiques et métaboliques causées par divers insecticides sur *Helix aspersa*, notamment le thiaméthoxame, la téfluthrine, et la deltaméthrine (Aït-Hamlet et al., 2019 ; Zouaghi et al., 2020 ; Bakkouche et Said, 2021 ; Benbouch et Bendiaf, 2022). L'espèce est confirmée comme un bioindicateur efficace pour l'évaluation de la toxicité des sols et des polluants par différents modes d'exposition et de transfert (Chang et al., 2016).

8.3. Mécanismes de Transfert et Bioaccumulation des Métaux chez les Gastéropodes Terrestres

Les gastéropodes terrestres sont des modèles particulièrement pertinents pour étudier la cinétique du transfert et la bioaccumulation des Éléments Traces Métalliques (ETM) en raison de leur capacité à concentrer ces substances. Depuis près de quatre décennies, il est bien établi que ces invertébrés sont parmi les plus efficaces pour accumuler les métaux dans le règne animal (Coughtrey et Martin, 1977 ; Dallinger et Wieser, 1984 ; Dallinger, 1993).

Le transfert des ETM à la frontière entre le sol et l'organisme est largement influencé par des facteurs tels que la nature du sol, l'eau interstitielle, ainsi que les caractéristiques biologiques des gastéropodes, y compris leurs voies d'absorption et leurs mécanismes spécifiques de détoxification et d'excrétion (**Gimbert, 2006**). Les escargots jouent un rôle crucial dans le transfert de ces éléments le long des chaînes alimentaires, ce qui pourrait avoir des implications pour la contamination des niveaux trophiques supérieurs, y compris les humains (**Staikou et Lazaridou, 2013 ; Dar et al., 2019**). L'absorption des métaux par les escargots se fait par inhalation, contact avec les surfaces, et ingestion de lichens, herbes, algues, particules de sol, et mousses (**Bargagli, 2016**). La bioaccumulation des métaux comme le Cd, Zn, Cr, Hg, Cu, et Pb se produit principalement dans la glande digestive, où ils sont compartimentés dans des granules ou des vésicules, permettant ainsi aux escargots de se détoxifier et d'excréter ces éléments de manière efficace (**Boshoff et al., 2013 ; Regoli et al., 2006**).

La composition des tissus mous, une fois purgés du contenu intestinal, fournit une image précise des émissions de métaux environnementaux, comme cela a été observé dans les zones urbaines italiennes où des concentrations élevées de Pb ont été détectées (**Barca et al., 2014**). Les gastéropodes pulmonés terrestres possèdent des systèmes de détoxification qui leur permettent de séquestrer les ETM au sein de structures intracellulaires spécifiques tout en limitant leur excrétion pour préserver leur équilibre hydrique (**Dallinger et al., 2001b ; Gimbert, 2006**). Parmi les organes impliqués, l'hépatopancréas est celui où les concentrations en Cd, Pb et Zn sont systématiquement les plus élevées (**Dallinger et Wieser, 1984 ; Chabicoovsky et al., 2004 ; Viard et al., 2004**), tandis que la masse pédieuse participe à l'accumulation du Cu, souvent lié à l'hémocyanine (**Pihan, 2001 ; Chabicoovsky et al., 2003 ; Dallinger et al., 2004**).

Cependant, les escargots ne peuvent pas déposer de grandes quantités de métaux dans leurs coquilles, et leur résistance à l'accumulation de métaux peut entraîner la contamination de leurs prédateurs (**Viard et al., 2004 ; Coeurdassier et al., 2002**). Le manteau et la coquille, bien que moins impliqués dans l'accumulation des ETM, peuvent servir de réservoirs temporaires, notamment pour le Pb, en attendant une diminution de la charge toxique dans d'autres organes (**Beeby et Richmond, 1989, 2002 ; Newman et al., 1994**).

Une fois les barrières biologiques franchies, telles que l'épiderme et l'épithélium digestif, les ETM circulent dans l'organisme par l'intermédiaire de l'hémolymphe, se distribuant ensuite dans différents organes grâce au rôle crucial des hémocytes dans leur métabolisme et leur transport, facilitant la phagocytose des particules métalliques (**Cheng et Sullivan, 1984 ;**

Marigomez et al., 1998). Le passage des ETM à travers les membranes cellulaires s'effectue principalement par diffusion passive, mais aussi par des mécanismes actifs impliquant des protéines de transport membranaire ou l'endocytose.

Les escargots vivant dans des environnements fortement contaminés peuvent montrer des modifications physiologiques et morphologiques dues aux coûts énergétiques associés aux processus d'excrétion et de détoxification (**Radwan et al., 2010 ; Regoli et al., 2006**). Des mécanismes complexes de métabolisation, d'exportation, de stockage et d'excrétion des métaux sont activés en réponse à des conditions environnementales changeantes ou à des stress expérimentaux (**Bighiu et al., 2017**). Toutefois, une exposition prolongée à des doses élevées de métaux peut entraîner des effets graves, tels qu'une insuffisance rénale causée par l'arsenic inorganique et le cadmium (**Wang et Fowler, 2008 ; Nordberg et al., 2005**). La biodisponibilité des ETM peut être déterminée en mesurant la quantité de ces éléments dans les tissus des organismes après leur exposition à un environnement contaminé pendant une certaine durée.

9. Les tests d'écotoxicité terrestre

9.1. Généralités et principes des tests d'écotoxicité

Les tests d'écotoxicité sont essentiels pour évaluer l'impact des composés toxiques présents dans les sols sur divers organismes. Ces tests utilisent souvent une approche dose-réponse, exposant les organismes à des contaminants et mesurant les effets toxiques résultants, qui peuvent être réalisés en laboratoire ou sur le terrain. Bien que certains bio-essais soient standardisés, la disponibilité de tels tests spécifiquement pour la faune du sol reste limitée, comme le soulignent plusieurs études (**Thybaud, 1998 ; Coeurdassier et al., 2003 ; Viard-La Rocca, 2004 ; Ülker, 2023**). L'intégration de ces évaluations biologiques aux analyses physico-chimiques améliore la compréhension des risques pour les écosystèmes et du potentiel de dégradation (**Gimbert et al., 2006 ; Notten et al., 2006 ; Remelli et al., 2022 ; Bardina et al., 2022**). De plus, des recherches récentes soulignent la nécessité de développer des méthodes plus standardisées pour évaluer efficacement la contamination des sols, car les limitations actuelles entravent les évaluations complètes des risques écologiques (**De Vaufleury et al., 2012 ; Pauget et al., 2013 ; Romero Silva et al., 2020 ; Louzon et al., 2023**). Ainsi, l'amélioration des méthodologies de test d'écotoxicité est essentielle pour une meilleure protection et gestion de l'environnement.

9.2. Types de tests d'écotoxicité sur escargots

Les tests d'écotoxicité sur les escargots englobent une gamme de méthodologies, y compris des approches monospécifiques et plurispécifiques. Les tests monospécifiques se concentrent sur des espèces d'escargots individuelles, permettant une évaluation détaillée des impacts chimiques spécifiques, tandis que les tests plurispécifiques évaluent les effets sur plusieurs espèces, fournissant des informations sur les réponses à l'échelle de la communauté aux polluants (Calow, 2003 ; Walker et al., 2005). Les recherches indiquent que diverses substances chimiques peuvent affecter de manière significative le comportement, la reproduction et la survie des escargots, les études utilisant à la fois des conditions de laboratoire et de terrain pour évaluer ces impacts (Louzon et al., 2023 ; Souza-Silva, 2023). Par exemple, Souza-Silva (2023) souligne l'importance d'utiliser différentes espèces pour comprendre les implications écologiques plus larges des contaminants (Souza-Silva, 2023 ; De-Carvalho et al., 2022). De plus, il a été démontré que les études en microcosme simulent efficacement les environnements naturels, révélant des interactions complexes entre les espèces et leurs réponses aux polluants (Seddik Sahraoui et al., 2021 ; De-Carvalho et al., 2023). Cependant, l'extrapolation des résultats de laboratoire à des scénarios réels est limitée, ce qui souligne la nécessité d'approches intégrées dans les évaluations écotoxicologiques (Mangold-Döring et al., 2021 ; Sahraoui et al., 2023)

9.2.1. Tests monospécifiques

Les tests de laboratoire monospécifiques, qui impliquent l'exposition d'une seule espèce représentative à des contaminants, peuvent être classés en deux types principaux : les tests de toxicité aiguë et les tests de toxicité chronique.

- Les tests de toxicité aiguë évaluent les effets immédiats des contaminants sur une courte durée, mesurant généralement la mortalité ou les effets sublétaux en quelques heures à quelques jours. Ces tests sont privilégiés pour leur simplicité et leurs résultats rapides, ce qui les rend adaptés au dépistage initial des substances toxiques (Olkova, 2021).
- les tests de toxicité chronique évaluent les effets à long terme des contaminants, s'étalant souvent sur des semaines ou des mois, Ils permettent de déterminer des concentrations sans effet observé (NOEC) ou avec le plus faible effet observé (LOEC). et se concentrent sur des paramètres tels que la croissance, la reproduction et le comportement (Spurgeon et al., 2020 ; Quiroz, 2021).

Bien que les deux types de tests fournissent des informations précieuses sur la sensibilité et la reproductibilité des réponses des espèces aux polluants, ils peuvent ne pas saisir pleinement la complexité des interactions écologiques et de la dynamique multi-espèce, ce qui peut limiter leur applicabilité dans des scénarios réels (**Blasco et al., 2020 ; Wu et al., 2024**).

9.2.2. Tests plurispécifiques

Les mésocosmes et les microcosmes sont des outils précieux pour étudier les écosystèmes en simulant des environnements naturels avec des composantes abiotiques et biotiques contrôlées. La principale distinction entre ces deux systèmes réside dans leur échelle, les microcosmes étant plus petits et souvent utilisés pour des expériences plus contrôlées, tandis que les mésocosmes peuvent accueillir des interactions plus importantes et plus complexes entre espèces à travers différents niveaux trophiques (**Figure 18**) (**Caquet et al. 1996**). Cette différence de taille influence la représentativité des écosystèmes étudiés, car les mésocosmes peuvent mieux imiter les conditions naturelles, ce qui permet des évaluations écologiques plus complètes (**Calow, 2003**). Les recherches indiquent que les tests multi-spécifiques dans les mésocosmes peuvent révéler des interactions qui ne sont pas observables dans des configurations mono-spécifiques, soulignant l'importance de la biodiversité dans le fonctionnement des écosystèmes (**Guéguen, 2022 ; Loerracher et al., 2023**). Il existe cependant des limites, comme une simplification excessive des études en microcosme, qui risque de ne pas rendre pleinement compte de la complexité des écosystèmes plus vastes (**Adey, 2023 ; Loerracher et al., 2023**). Ainsi, les deux systèmes sont essentiels à la recherche écologique, chacun offrant des perspectives uniques sur la dynamique des écosystèmes (**Adey, 2024**).

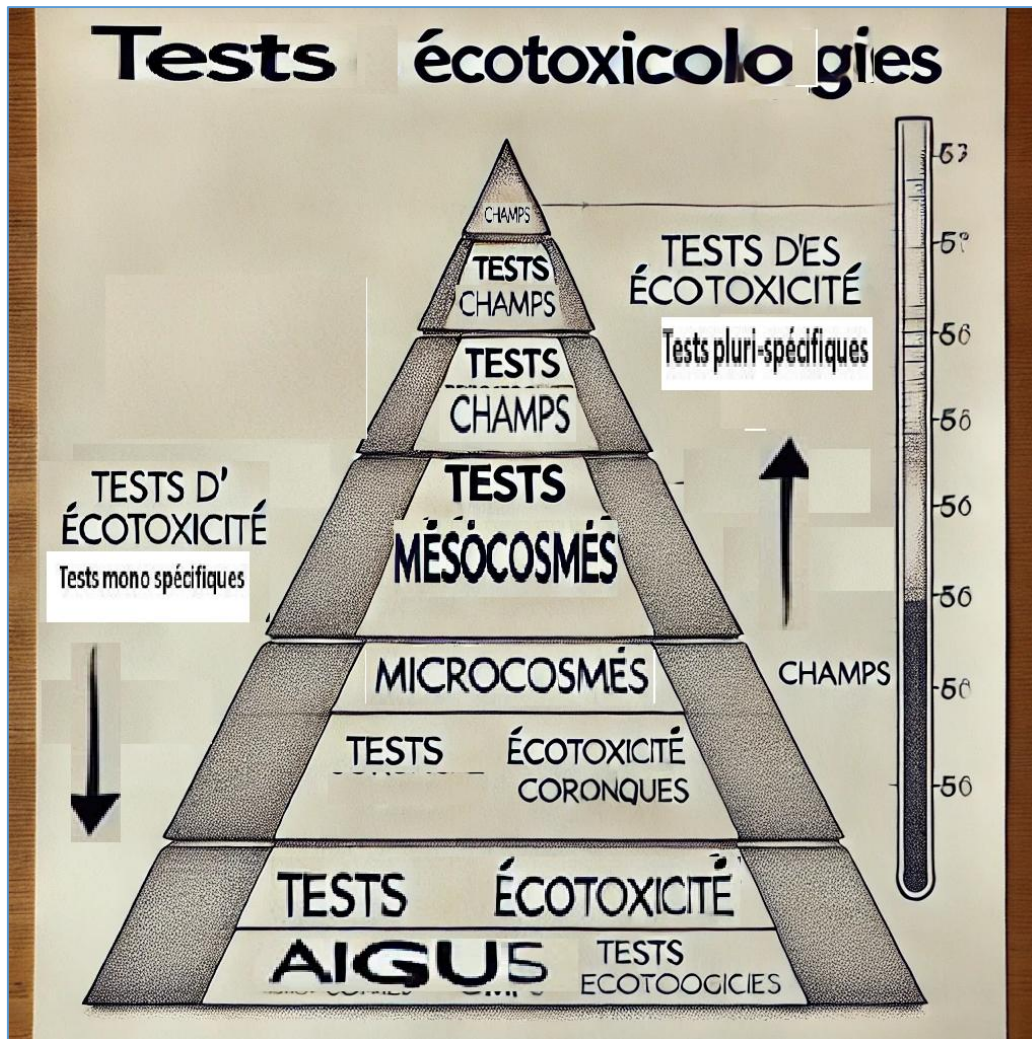


Figure 18. Différents niveaux dans les tests écotoxicologiques, adapté, d'après (Walker et al. 2005).

Partie Expérimentale

1. Matériel et Méthodes

Les bioessais de cette étude ont été menés au **Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt)**, où les conditions expérimentales ont été rigoureusement contrôlées pour garantir la fiabilité des résultats. L'élevage des spécimens (escargots) a été réalisé à l'Animalerie du centre, dans un environnement adapté pour minimiser le stress et optimiser la santé des animaux. Les analyses physico-chimiques et biochimiques, essentielles pour évaluer l'impact des conditions environnementales sur les spécimens, ont été effectuées dans le laboratoire spécialisé « Analyses Environnementales ».

Pour étudier les effets au niveau tissulaire, des coupes histologiques ont été réalisées avec soin au laboratoire « Histologie et Microscopie ». Les photographies des coupes, capturées avec une précision microscopique, ont permis de documenter les modifications cellulaires et tissulaires, fournissant ainsi des données visuelles cruciales pour l'interprétation des résultats.

1.1. Prélèvement et Caractéristiques du Substrat Naturel (Sol)

1.1.1. Prélèvement

Le substrat d'essai "sol" utilisé pour l'élevage a été prélevé dans la réserve naturelle de la forêt montagne de Béni Saleh, située au nord-est de la commune de Bouchegouf, dans la wilaya de Guelma, Algérie (Latitude : 36.81667, Longitude : 6.05). Cette région, l'un des principaux massifs forestiers de l'Est algérien (**Figure 19**), se distingue par son éloignement des perturbations anthropiques, en faisant un environnement propice à la reproduction de diverses espèces animales, telles que l'escargot *Helix aspersa*.

Avant utilisation, le sol a été séché à l'air libre pendant 15 jours, broyé à l'aide d'un mortier en porcelaine, puis tamisé à 4 mm pour l'élevage. Une fraction de ce sol, tamisée à 2 mm, a été employée pour analyser ses paramètres physico-chimiques, incluant le pH, la conductivité électrique, le calcaire total, la matière organique, l'azote total, et la capacité d'échange cationique (**Figure 20**). Ces caractéristiques influencent directement la qualité de l'habitat, essentiel pour la reproduction des espèces locales telles que les escargots, ainsi que des oiseaux. La forêt de Béni Saleh, en tant que refuge naturel, offre des ressources vitales pour ces espèces, favorisant une biodiversité accrue en raison de l'absence de perturbations humaines (**Brahmia et al., 2021 ; Squalli et al., 2022**).



Figure 19. Localisation de la zone de récolte des escargots et Sol (Montagne Béni Saleh, Boucheqouf -Guelma) (Source : Google Earth)



Figure 20. Préparation et analyse de Sol

1.2. Caractéristiques physico-chimiques du substrat d'essai

1.2.1. Granulométrie

La détermination de la granulométrie a été effectuée selon la méthode de Robinson normalisée (NF X 31-107) **selon l'AFNOR (2003)**. Les prélèvements et tamisages sont réalisés après destruction de la matière organique par l'eau oxygénée (H₂O₂) sur une prise d'essai d'environ 20 g. La méthode à la pipette est utilisée pour déterminer la fraction des particules les plus petites. La méthode est basée sur la différence de vitesse de sédimentation entre les particules. La sédimentation des particules résulte des deux forces opposées : gravité et friction entraînant un mouvement dans un milieu fluide. Dans la méthode "ROBINSON", un échantillon est pipeté à différentes périodes et à différentes profondeurs de la suspension du prélèvement dans une éprouvette.

Les proportions des classes de particules suivantes sont déterminées :

- Argiles (A) : < 2 µm.
- Limons fins (LF) : 2 µm à 20 µm.
- Limons grossiers (LG) : 20 µm à 50 µm.
- Sable très fin (STF) : 100 µm.
- Sables fins (SF) : 200 µm.
- Sables grossiers (SG) : 500 µm.

T=31 °C			
Temps de chute pour 10 cm			
Temps	35 Sec	3min et 40 Sec	6 h et 13 min
Fraction	A+LF+LG	A+LF	A

La détermination des fractions les plus fines (<50 µm) s'effectue via 3 prélèvements successifs, à la pipette de Robinson, dans une suspension de sol en cours de sédimentation.

1.2.2. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH est une propriété du sol importante à connaître. C'est le reflet de la concentration de la phase liquide du sol en ions H⁺ et la capacité de la phase solide à libérer des cations Al³⁺ (Calvet, 2013). Le pH est mesuré selon la méthode ISO 10390 (2004) dans une suspension de 10 g de sol dilué à 1/5 (fraction volumique) dans de l'eau (pH de H₂O). Il a été mesuré dans le surnageant à l'aide d'un pH mètre (Model Consort C6030) de terrain, étalonné avec des solutions dont le pH est connu. Il est exprimé en unité pH.

1.2.3. Conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique est la mesure de la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce dernier s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par un courant alternatif. La conductivité d'une solution dépend de la concentration des ions présents et de leur vitesse de migration sous l'influence de la force électromotrice appliquée. La conductivité d'un sol est une mesure de la quantité d'ions présents et qui pourraient se dissoudre en présence d'eau ; ainsi elle renseigne sur la salinité des sols.

Lors de l'analyse du sol, ce paramètre a été déterminé dans une suspension sol/eau distillée selon un rapport pondéro-volumique de 1/5 selon la méthode **ISO 11265 (1994)**. La conductivité électrique est mesurée sur le surnageant obtenu après centrifugation à l'aide d'un conductimètre (Model : Consort C6030). Elle est exprimée en ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

1.2.4. Humidité résiduelle (%HR)

En dessous du point de flétrissement, la quantité d'eau dans le sol peut continuer de diminuer par évaporation. Ce changement d'état peut se faire soit au contact de l'atmosphère, les molécules d'eau remontant en surface par capillarité, soit au sein des pores du sol en passant de l'état liquide à l'état gazeux. Lorsque l'eau présente dans les deux phases du sol, liquide et gazeuse, est en équilibre, le taux d'humidité résiduelle (HR) ou point d'hygroscopicité, est atteint (**Musy et Soutter 1991**). Même après une longue période de sécheresse, un sol contient toujours une fraction d'eau liée à la matrice du sol par adsorption. L'assèchement total d'un sol ne peut être obtenu que dans le cadre d'expérimentation en laboratoire (séchage au four à 105°C).

L'humidité résiduelle est déterminée par pesée différentielle du sol séché à l'air ambiant et chauffé à 105°C à l'étuve (Model Memmert). Un échantillon de sol (5 g) est séché à 105°C pendant 24 h, jusqu'à poids constant, puis pesé à nouveau après refroidissement dans un dessiccateur.

Soit en gramme :

P_v : Poids de la boîte à tare vide.

P_a : Poids de la boîte à tare plus le sol séché à l'air.

P_e : Poids de la boîte à tare plus le sol séché à l'étuve 105°C .

$H \% = 100 * (P_a - P_e) / (P_e - P_v)$

1.2.5. Matière organique (%MO)

La méthode **Walkley et Black (1934)** consiste à oxyder la matière organique sans chauffage externe par une solution sulfurique de bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) en excès qui sera ensuite dosé par une solution de fer ferreux, le sel de Mohr. Ce dosage a été effectué à l'aide du titrateur Crison qui est muni d'une électrode redox permettant de détecter la différence de potentiel au sein de la solution à doser permettant de déterminer la quantité de sel de Mohr ayant réagi avec le bichromate en excès. La quantité de sel de Mohr versée dans la solution à doser permet de calculer la quantité de carbone organique présente dans le sol. Elle ne peut être utilisée si les sols contiennent plus de 20 % de matière organique.

Considérant que 1 ml de dichromate de potassium 1N = 4 mg de carbone, le C exprimé en % est calculé selon la formule suivante :

$$C\% = (\text{ml de dichromate potassium 1N en excès} * 0.004 * 100) / \text{Poids du sol (g)}$$

1.2.6. Capacité d'échange cationique (CEC)

La capacité d'échange cationique (CEC) correspond à la quantité de charges positives portées par les cations susceptibles d'être fixés, de façon réversible, sur les sites chargés négativement de certains constituants du sol. On distingue les sites à charges permanentes dont le nombre varie peu avec les conditions de milieu et les sites à charges variables (matière organique) dont la quantité est fortement liée au pH. La méthode à l'oxalate d'ammonium dans la norme NF X31-130 **AFNOR (1999)** consiste à mesurer la CEC ou quantité de cations saturant fixe caractérisant un état d'équilibre entre l'échantillon de sol et un environnement expérimental donné. Les valeurs obtenues sont fonction de milieu (cation saturant, pH, ...) ainsi que des conditions de réalisation influençant le rendement des réactions d'échange.

$$T = ((V_2 - V_1) * C * 50 * 2 * 100) / (P * F)$$

Soit :

- T : capacité d'échange cationique exprimé en meq/100g du sol. V2 : volume de titration du témoin en ml.
- V1 : volume de titration d'échantillon en ml.
- C : concentration de l'acide de titration en mol/l. P : prise d'essai en g.
- F : volume du filtrat en ml.

1.2.7. Azote total (%N)

L'azote se trouve dans toutes les fractions des matières organiques du sol, dans des composés très divers, libres ou liés aux minéraux et aux substances humiques (Calvet, 2013). La détermination de l'azote total a été effectuée selon la méthode **Kjeldahl selon la norme ISO 11261 (1995)**. L'azote du sol est minéralisé se forme de NH_4^+ en utilisant de l'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Le NH_4^+ est transformé en NH_3 en présence de soude (NaOH) en excès. Le NH_3 est ensuite déplacé par distillation et piégé dans une solution d'acide borique (H_3BO_3) où il est titré à l'aide de H_2SO_4 1N, en présence d'un indicateur coloré, le vert de bromocrésol et rouge de méthyl. Les résultats sont exprimés en % selon la formule suivante :

$$\text{N (\%)} = \text{N} ((\text{V1}-\text{V0}) \times \text{M} \times 14 \times 100) / \text{m}$$

Soit :

- V1 : le volume en ml d'acide sulfurique utilisé pour la titration de l'échantillon. V0 : le volume en ml d'acide sulfurique utilisé pour la titration de l'essai à blanc. M : la concentration de l'acide sulfurique.
- m : la masse, en grammes, de l'échantillon de sol séché à l'air. 14 : la masse molaire de l'azote.

1.2.8. Calcaire total (%CaCO₃ T)

Les carbonates de calcium sont les constituants majeurs qui interviennent dans la fixation des ETM, soit par adsorption, soit par précipitation d'hydroxydes ou de carbonates, ou encore par insertion dans le réseau de CaCO_3 (Perrono, 1999). Ce paramètre a été déterminé à l'aide de calcimètre de Bernard selon la norme **NF-ISO 10693 (1995)**. Cette technique est basée sur le dosage des carbonates dont la quantité est proportionnelle au volume de CO_2 dégagé lors de leur réaction avec l'acide chlorhydrique selon la réaction ci-dessous où une mole de CO_2 correspondant à une mole de CaCO_3 :



Cette réaction permet d'utiliser une méthode gazométrique puisqu'une mole de carbonate de calcium (CaCO_3) d'un échantillon de sol permet le dégagement, par action de l'acide chlorhydrique (HCl), d'une mole du gaz carbonique (CO_2). Les taux en calcaire total sont exprimés en % selon la formule suivante :

$$\text{CaCO}_3\% = (\text{V}' \times 0.3 \times 100) / (\text{V} \times \text{P})$$

Soit :

- V' : volume de CO₂ produit par 0.3 g de CaCO₃ sec et pur en ml.
- V : volume de CO₂ produit par la quantité de CaCO₃ contenu dans un poids P de sol en ml. P : prise d'essai en g.

1.3. Résultats des Paramètres physico-chimiques du sol

La caractérisation physico-chimique du sol prélevé dans la région de Guelma, pour effectuer les tests de bioessai, a porté sur les propriétés suivantes : la granulométrie, le potentiel hydrogène (pH), la conductivité électrique (CE), l'humidité résiduelle (%HR), le carbone (%C), la matière organique (%MO), la capacité d'échange cationique (CEC), l'azote (%N), et le calcaire total (%CaCO₃ T). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 4. Paramètres physico-chimiques du sol prélevés dans la région de Guelma.

Paramètre	Moyenne ± SD
Granulométrie	Argile : 49,27 %, Limon : 47,06 % Sable : 3,65 %
pH	7,40 ± 0,04
CE (µS/cm)	178.88 ± 0
HR (%)	3,73 ± 0,11
MO (%)	6,63 ± 0,31
C (%)	3,85 ± 0,18
CEC (meq/100g du sol)	49, 83 ± 2,25
N (%)	0,75 ± 0
CaCO₃ T (%)	11,22 ± 0,86

Les caractéristiques du sol utilisées pour l'essai biologique avec *Helix aspersa* sont cruciales pour assurer une croissance et une survie optimales des escargots. La composition du sol de la région de Guelma, notamment sa teneur élevée en argile et en limon, ainsi que son pH légèrement alcalin, crée un environnement riche en nutriments, favorable à la santé de *H. aspersa*. Cette analyse met en évidence plusieurs aspects clés de l'aptitude du sol pour les essais biologiques.

- La présence de 49,27 % d'argile et de 47,06 % de limon assure une excellente rétention de l'eau et des nutriments, ce qui est essentiel pour la survie des escargots (**Nadji et al., 2024**).
- Une capacité d'échange cationique élevée (49,83 meq/100 g) facilite la disponibilité des nutriments essentiels, en particulier du calcium, nécessaire à la formation de la coquille (**Rygalo-Galewska et al., 2023**).
- Le pH légèrement alcalin de 7,40 favorise une absorption optimale des nutriments, essentielle à la croissance de *H. aspersa* (**Nadji et al., 2024**).
- La faible conductivité électrique (178,88 $\mu\text{S}/\text{cm}$) indique une salinité minimale, ce qui est bénéfique pour la santé des escargots (**Nadji et al., 2024**).
- Une teneur en matière organique de 6,63 % favorise un habitat propice pour *H. aspersa*, améliorant sa croissance et sa reproduction (**Louzon et al., 2023**).
- Bien que l'humidité résiduelle soit faible (3,73 %), les conditions de laboratoire peuvent être ajustées pour maintenir des niveaux d'humidité optimaux pendant l'essai biologique (**Nadji et al., 2024**).

En résumé, les caractéristiques du sol de Guelma sont bien adaptées à la réalisation d'essais biologiques sur *Helix aspersa*, fournissant un environnement propice à l'évaluation des effets toxiques de contaminants tels que les nanoparticules d'oxyde de zinc et le cadmium.

1.2. Matériel Chimique

Le matériel chimique utilisé dans cette étude comprend des nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) et le métal lourd cadmium (Cd). Ces substances sont choisies pour leurs propriétés spécifiques et leur pertinence dans les études de toxicité environnementale.

1.2.1 Nanoparticules d'Oxyde de Zinc (NPs ZnO)

Les nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) utilisées dans cette étude sont des nanoparticules synthétiques de haute pureté, achetées auprès de Sigma-Aldrich Chemical Company (Dorset, Royaume-Uni).

Ces nanoparticules présentent les caractéristiques suivantes :

- Taille moyenne : 10 à 50 nm
- Pureté : +99%
- Densité : 5,606 g/cm^3
- Surface spécifique : Environ 20-60 m^2/g

Les nanoparticules se présentent sous forme de poudre blanche à jaune, inodore, avec une structure cristalline hexagonale. Elles sont identifiées par le numéro CAS 1314-13-2. En raison de leurs propriétés uniques, telles que la photostabilité, la capacité antibactérienne, et les propriétés optoélectroniques, ces nanoparticules sont largement utilisées dans divers domaines industriels et scientifiques.

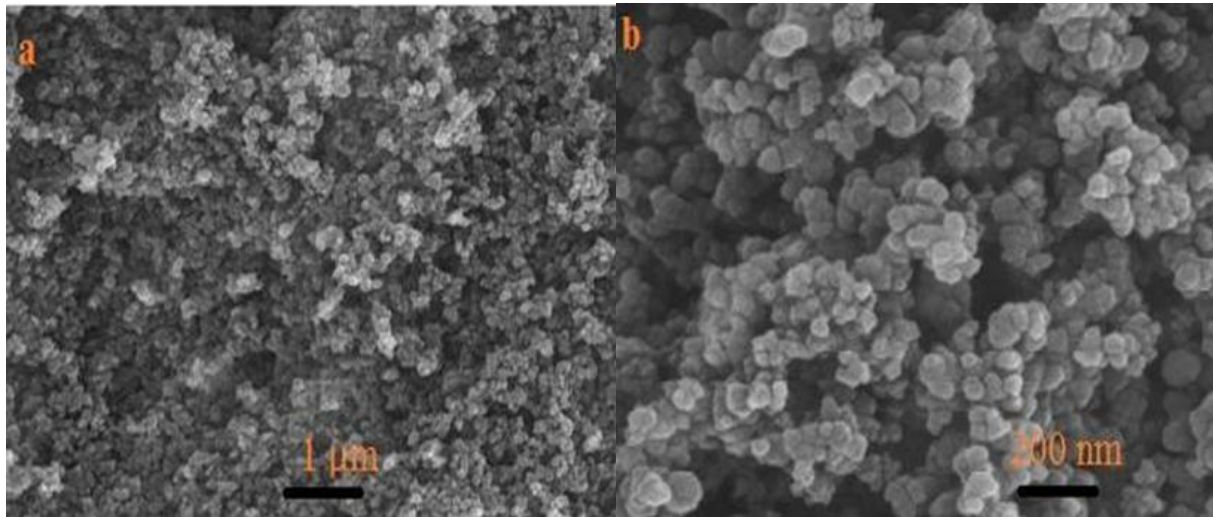


Figure 21. Photographies au MEB des nanoparticules de ZnO. a) Nanoparticules de ZnO à une échelle de 1 µm, et b) Nanoparticules de ZnO à une échelle de 200 nm (Deylam et al., 2021).

1.2.2 Cadmium (Cd)

Le cadmium utilisé dans cette étude est sous la forme de chlorure de cadmium (CdCl_2), également fourni par Sigma-Aldrich Chemical Company (Dorset, Royaume-Uni). Le cadmium est un élément chimique identifié par le numéro CAS 7440-43-9. C'est un métal mou, malléable et ductile, de teinte argentée. Le cadmium est couramment utilisé dans divers secteurs industriels, notamment pour la fabrication de batteries, de pigments, de revêtements, et comme stabilisateur dans les plastiques.

Cependant, le cadmium est reconnu pour sa toxicité élevée et ses effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. Il est classé parmi les métaux lourds en raison de sa toxicité et de sa persistance dans l'environnement, ce qui nécessite une manipulation prudente et l'application de mesures de sécurité rigoureuses.

Tous les autres réactifs utilisés dans cette étude étaient de qualité analytique et ont été acquis auprès de fournisseurs locaux fournis par Sigma-Aldrich Chemical Company (Dorset, Royaume-Uni).

1.3. Préparation des mélanges de Cd et de NPs ZnO

Les mélanges des différentes concentrations de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) et de cadmium ont été soigneusement préparés en les intégrant dans un substrat de sol naturel prélevé dans la région de Guelma. Le mélange a été homogénéisé afin d'assurer une distribution uniforme des substances dans le sol. Chaque concentration a ensuite été fractionnée et répartie dans cinq boîtes en polystyrène, perforées au niveau du couvercle et des parois latérales pour permettre une bonne aération (**Figure 22**).

Les concentrations préparées pour cette étude sont les suivantes :

- Cadmium (Cd) : Une concentration fixe de 1500 mg Cd/kg de sol sec a été utilisée pour chaque traitement.
- Nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs ZnO) : Les concentrations testées pour les nanoparticules de ZnO sont de 0, 250, 750, 2250, 6750, et 20250 mg ZnO/kg de sol sec (voir Tableau 05).

Tableau 5. Concentrations de Cadmium (Cd) et de Nanoparticules d'Oxyde de zinc (NPs ZnO) utilisées dans l'essai.

Traitement	Code	Concentrations de Cd/kg du sol	Concentrations de NPs ZnO/kg du sol
Témoin	T	0 mg	0 mg
Mixture 1	M1	1500 mg	250 mg
Mixture 2	M2	1500 mg	750 mg
Mixture 3	M3	1500 mg	2250 mg
Mixture 4	M4	1500 mg	6750 mg
Mixture 5	M5	1500 mg	20250 mg

Les mélanges ainsi préparés ont été utilisés pour évaluer la toxicité des nanoparticules d'oxyde de zinc et du cadmium sur le bioindicateur *Helix aspersa*, en étudiant leurs effets combinés sur les paramètres biologiques et écotoxicologiques du sol.



Figure 22. Mélange du sol avec le cadmium (Cd) et les nanoparticules de ZnO.

1.4. Modèle biologique

1.4.1. Choix de l'espèce modèle pour les tests (bioessai)

Lors des essais visant à évaluer la qualité des matrices environnementales telles que le sol, l'eau, et les sédiments, il est crucial de sélectionner une espèce représentative tout en tenant compte des contraintes de faisabilité. L'espèce *Helix aspersa* (Figure 23), communément appelée escargot des jardins ou Petit-gris, a été choisie pour cette étude en raison de ses caractéristiques pertinentes. En effet, *Helix aspersa* est reconnue comme le premier modèle biologique recommandé par la norme **ISO 2018**.

L'Helix aspersa possède une capacité d'accumulation notable des éléments traces métalliques (ETM), ce qui en fait un bioindicateur de choix pour la surveillance environnementale. Plusieurs études ont démontré son potentiel d'accumulation élevé, rendant cette espèce particulièrement efficace pour évaluer la contamination des sols (**Dallinger, 1993; Gomot-De Vaufleury et al., 1989; Gomot-De Vaufleury, 2000; Scheifler et al., 2002; Regoli et al., 2006; Fritsch et al., 2011; Gomot-De Vaufleury, 2015; Louzon et al., 2020a, b**). Cette espèce est particulièrement efficace pour évaluer la contamination des sols en raison de ses caractéristiques morphologiques distinctes et de sa distribution étendue, en particulier dans des régions comme le nord-est de l'Algérie (**Louzon, De Vaufleury, & Capelli, 2023**).

Elle est facilement identifiable grâce à ses caractéristiques morphologiques distinctes. Utilisé dans nos expériences, cet escargot adulte mesure entre 25 et 35 mm de hauteur et entre

25 et 40 mm de largeur, avec une coquille globuleuse brun pâle comportant 4,5 à 5 tours et un ombilic complètement fermé (**Figure 23**) (**O.F. Müller, 1774**).

Helix aspersa présente une capacité élevée de bioaccumulation de métaux, tels que le plomb, et des études ont montré des augmentations dose-dépendantes des concentrations de métaux dans ses tissus (**Nadji et al., 2024**). Sa capacité à refléter les niveaux de contamination des sols en fait un indicateur fiable pour la surveillance environnementale (**Louzon, De Vaufleury, & Capelli, 2023**). L'espèce a été utilisée dans diverses évaluations écotoxicologiques, révélant des altérations des paramètres biochimiques et histologiques dues à l'exposition aux métaux (**Nadji et al., 2024**).



Figure 23. *Helix aspersa* adulte

L'adaptabilité de *Helix aspersa* à une variété d'habitats, allant des zones anthropisées aux milieux naturels tels que les dunes, les bois, les rochers, les haies, et les zones cultivées, souligne son intérêt écologique et sa pertinence pour les programmes de surveillance. En outre, elle présente des réponses physiologiques et biochimiques aux polluants environnementaux, telles que des modifications des activités métaboliques et de la santé reproductive, qui sont essentielles pour évaluer les impacts environnementaux (**Douafer, Zaidi, & Soltani, 2020**).

Les biomarqueurs comme les protéines de choc thermique et les métallothionéines chez *Helix aspersa* fournissent des indications précieuses sur les effets métaboliques de la pollution des sols (**Douafer, Zaidi, & Soltani, 2020**). De plus, les niveaux d'activité du glutathion et de l'acétylcholinestérase chez ces escargots montrent une corrélation avec les concentrations de métaux dans le sol, ce qui témoigne de leur sensibilité aux polluants (**Baroudi, Al Alam, Fajloun, & Millet, 2020**).

En dépit de ses nombreux avantages d'utilisation *Helix aspersa*, pour avoir une compréhension plus approfondie de la santé environnementale.

1.4.2. Test d'écotoxicité sur les escargots *Helix aspersa*

1.4.2.1. Collecte, Sélection et l'acclimatation

Les escargots *Helix aspersa* ont été collectés dans une ferme d'élevage située à Bouchegouf, dans la wilaya de Guelma, entre 2020 et 2021. Environ 300 individus ont été soigneusement sélectionnés et transportés au laboratoire pour les besoins de cette étude.

Une fois au laboratoire, les escargots ont été triés selon leur taille et leur poids, avec une moyenne pondérale de $9,58 \pm 0,55$ g. Avant de les soumettre aux traitements expérimentaux, les escargots ont été placés dans des microsomes pour une phase initiale d'acclimatation. Cette acclimatation, réalisée dans un environnement contrôlé, est cruciale pour préparer les escargots aux essais ultérieurs. Elle vise à les habituer à des conditions spécifiques de température, d'humidité et de lumière, facteurs influençant significativement leurs réponses physiologiques et comportementales. Les escargots ont été maintenus dans des conditions environnementales strictement contrôlées :

- Cycle lumineux : Un cycle de 16 heures de lumière (à une intensité de 50-100 lux) suivi de 8 heures d'obscurité, reproduisant les conditions naturelles, est essentiel pour préserver le rythme circadien des escargots et leur bien-être général (**Francisco Bozinovic et al., 2016**).
- Température : La température a été stabilisée à 20 ± 2 °C, comme le souligne **Amalina Brahim et David J. Marshall (2020)**, pour maintenir des conditions thermiques optimales.
- Humidité : Le taux d'humidité relative a été maintenu entre 80 et 85 %, ce qui favorise des taux d'éclosion et des niveaux d'activité plus élevés (**Olusegun Micheal Oshiyemi, 2011**).
- Les escargots ont ensuite été répartis dans des terrariums en plastique transparent de dimensions 25x15x15 cm (5625 cm^3), perforés pour assurer une ventilation adéquate, évitant ainsi le stress lié à la stagnation de l'air, essentiel pour leur acclimatation (**Samah Abdel-Kader et M.H.E. Lokma, 2018**) (**Figure 24**).

Pour maintenir un niveau optimal d'humidité, chaque terrarium contenait une éponge humidifiée. Les escargots étaient nourris principalement de salade verte fraîche et de farine de blé, disposées dans des boîtes de Pétri. Afin de prévenir la formation de moisissures et de

maintenir un environnement sain, les terrariums étaient nettoyés quotidiennement pour éliminer les excréments et les restes d'aliments, et l'alimentation était renouvelée chaque jour.



Figure 24. Collecte, Sélection et l'acclimatation des escargots *Helix aspersa*

1.4.2.2. Principe du Test d'Écotoxicité, Plan Expérimental et Conditions de Déroulement des Tests

Les tests d'écotoxicité réalisés dans cette étude sont de type semi-statique, effectués en conditions contrôlées conformément aux recommandations de la norme **ISO 15952 (2018)**. Ces tests ont pour objectif d'évaluer l'impact de la contamination du sol par une mixture de cadmium et de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) sur une population adulte d'*Helix aspersa*. Le sol utilisé pour ces tests a été prélevé dans la région de Guelma, et la contamination a été effectuée avec des concentrations croissantes de la mixture toxique (**Tableau 05**), sur une durée de 28 jours, suivant les directives de l'OCDE pour les essais de produits chimiques (OCDE 243).

Le sol préparé précédemment pour les tests a été homogénéisé, tamisé à 4 mm, puis séché à 40°C pendant 24 heures. Chaque test a été réalisé dans des terrariums en plastique transparent (25 cm x 15 cm x 15 cm) contenant 100 g de sol humide contaminé par des concentrations croissantes de la mixture.

Chaque terrarium contenait cinq escargots, avec cinq répétitions par concentration, conformément aux recommandations de la norme **ISO 15952 (2018)**. Afin de suivre la croissance de chaque individu, chaque escargot a été marqué par un numéro avec un marqueur blanc. Les escargots avaient un poids frais moyen de $09,58 \pm 0,55$ g et un diamètre de coquille de $35,4 \pm 1,1$ mm.

Durant toute la période du test, les escargots ont été nourris ad libitum avec de la laitue fraîche non contaminée et de la farine de blé, conformément aux pratiques décrites par la norme **ISO 15952 (2018)**. Les aliments étaient fournis tous les deux jours pour satisfaire les besoins énergétiques des escargots et minimiser l'effet d'autres facteurs de stress. Pour assurer un apport suffisant en calcium, essentiel à la formation de la coquille, du carbonate de calcium (CaCO₃) a été mélangé à la nourriture à une concentration de 18% (p/p).

L'humidité à l'intérieur des terrariums a été maintenue élevée en pulvérisant de l'eau déminéralisée sur les parois et directement sur le sol, après l'élimination quotidienne des excréments et des déchets alimentaires, pour éviter la formation de moisissures. Les terrariums ont été placés dans une chambre climatisée sous un éclairage faible (50-100 lux) avec une lumière artificielle, suivant un cycle de 18 heures de lumière et 6 heures d'obscurité, et une température maintenue à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (**Figure 25**).



Figure 25. Déroulement expérimental du test ex situ

1.5. Les Biomarqueurs physiologiques et comportementaux :

1.5.1. Effets comportementaux

Au cours de l'exposition aux différents traitements, nous avons également cherché à caractériser les effets des mixtures testés sur les comportements plus ou moins perturbés de *Helix aspersa*. Lorsqu'il est inactif, nous avons observé que *Helix aspersa* a tendance à se réfugier sur des supports situés à quelques cm du fond de la boîte (position haute). Ceci a déjà été rapporté par d'autres auteurs (**Chevallier, 1992**). A partir de ces observations, certains comportements peuvent être observés, comme se nourrir normalement ou fuir la nourriture, ou en fonction de l'activité des animaux et de leur position spatiale dans l'enceinte d'essai : par exemple, actif ou inactif en position haute ou sur les supports, ou encore, actif ou inactif sur la nourriture.

Ces comportements sont observés chaque 12 heures. Si la position dans les enceintes peut être facilement relevée, l'activité des animaux est notée de la façon suivante : la boîte est ouverte et le couvercle retourné est posé sur la paille. Après une minute, les escargots en mouvement sont considérés comme actifs, ceux qui restent immobiles sont inactifs.

L'activité ainsi observée représente donc plutôt un état de réceptivité et une capacité à réagir à une stimulation mécanique (déplacement et ouverture de la boîte). Les résultats sont exprimés sous forme d'observations hebdomadaires de chaque comportement vis-à-vis des concentrations de mixture par rapport au témoin.

1.5.2. Biomarqueurs physiologiques

Plusieurs paramètres biométriques sont considérés, à savoir :

- la mortalité : le contrôle de la vitalité des individus de *Helix aspersa* au cours des essais est effectué au moment des renouvellements de nourriture, de chaque jour de test. Dans tous les cas, les individus morts sont évacués des enceintes d'essai. La mort d'un individu est généralement facile à déterminer : le pied flasque et jaunâtre est le plus souvent sorti de la coquille. La sole pédieuse n'adhère à aucune surface. Le corps luisant et très visqueux indique que la liquéfaction des tissus est en cours. L'odeur nauséabonde que dégage l'escargot est également un indicateur. En cas de doute, le pied est stimulé à l'aide d'une aiguille ou d'une paire de pinces brucelles. L'absence de réaction permet de conclure à la mort de l'individu.

- le poids corporel de l'animal en utilisant une balance de précision (0,1 mg) Sortorius H11 ; le diamètre et la hauteur de la coquille sont relevés en utilisant le pied à coulisse gradué au 1/10 mm (Charrier, 1981) (Figure 26).
- Le poids frais de rein et le poids frais de l'hépatopancréas sont mesurés à l'aide de la même balance utilisée précédemment. Cette pesée est effectuée après le sacrifice des animaux, à la fin de la 4^{ème} semaine de traitement par les mixtures.

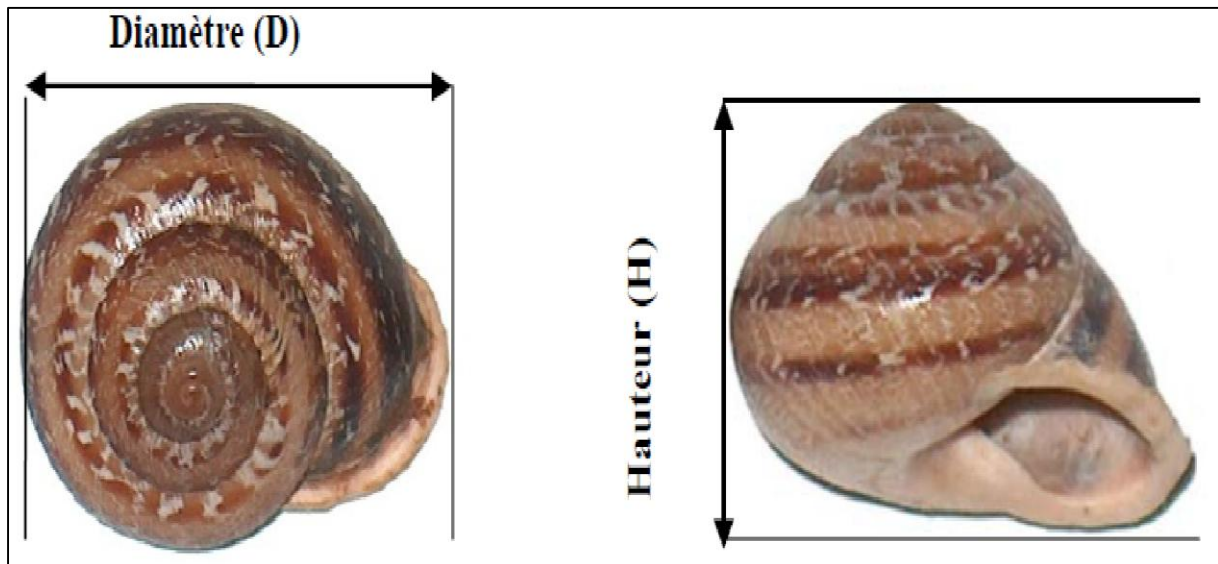


Figure 26. Paramètres biométriques mesurés chez l'escargot : diamètre (D) et hauteur (H) de la coquille.

1.6. Dissection et Prélèvement des Organes

Après la période d'exposition des escargots *Helix aspersa* aux conditions expérimentales, les animaux sont soumis à un jeûne de 48 heures. Cette période de jeûne est cruciale pour éliminer les résidus alimentaires et les fèces du tractus digestif, minimisant ainsi toute interférence lors de l'analyse des biomarqueurs (Nadji et al., 2024).

Les escargots sont ensuite sacrifiés par congélation rapide à -20°C , une méthode choisie pour réduire le stress et la douleur chez les animaux tout en préservant l'intégrité des tissus et des biomarqueurs à analyser. La congélation est reconnue comme une méthode éthique et efficace pour le sacrifice des gastéropodes en laboratoire, facilitant la manipulation lors des étapes suivantes de dissection et d'analyse biochimique (Nadji et al., 2024).

Une fois congelés, la dissection des escargots commence par la séparation du tissu mou de la coquille, suivie par la pesée de la coquille et du tissu mou séparément. Les viscères, incluant les organes internes tels que l'hépatopancréas et le rein, sont ensuite isolés et pesés

avec précaution pour éviter toute contamination croisée ou détérioration des échantillons (Fojet et al., 2022).

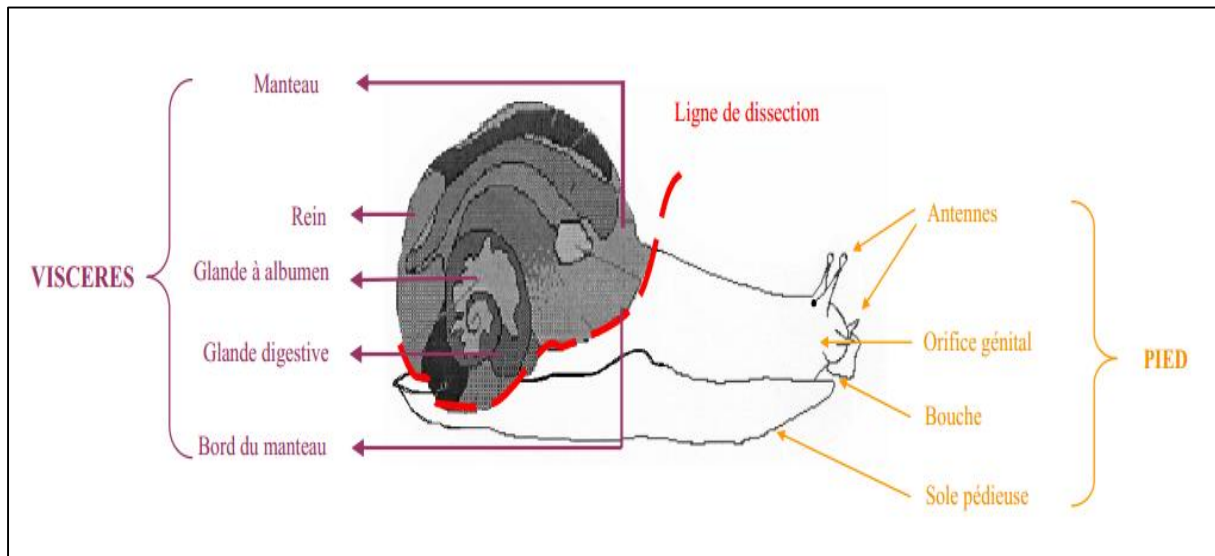


Figure 27. Anatomie de *Helix aspersa* sorti de sa coquille, avec représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères et des principaux organes (Viard-La Rocca, 2004)

Après la dissection, les organes prélevés sont immédiatement placés dans des conditions appropriées pour l'extraction des biomarqueurs et l'étude histologique. Les organes destinés à l'analyse biochimique sont généralement homogénéisés dans des tampons spécifiques qui stabilisent les enzymes et autres molécules d'intérêt avant d'être soumis à des protocoles d'extraction adaptés aux biomarqueurs ciblés. Les biomarqueurs analysés incluent, entre autres, les enzymes antioxydantes telles que la glutathion-S-transférase (GST), la catalase (CAT), ainsi que les niveaux de malondialdéhyde (MDA), un indicateur du stress oxydatif. Pour l'étude histologique, les organes sont immédiatement fixés dans du formol à 10 % afin de préserver la structure des tissus.

À la fin de la quatrième semaine d'exposition, les escargots sont pesés, et **5 individus** sont choisis aléatoirement dans chaque groupe traité. Ces escargots sont ensuite sacrifiés par décapitation, et la tête de chaque animal est rapidement excisée pour déterminer l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), un biomarqueur important dans l'évaluation de l'effet neurotoxique des contaminants.

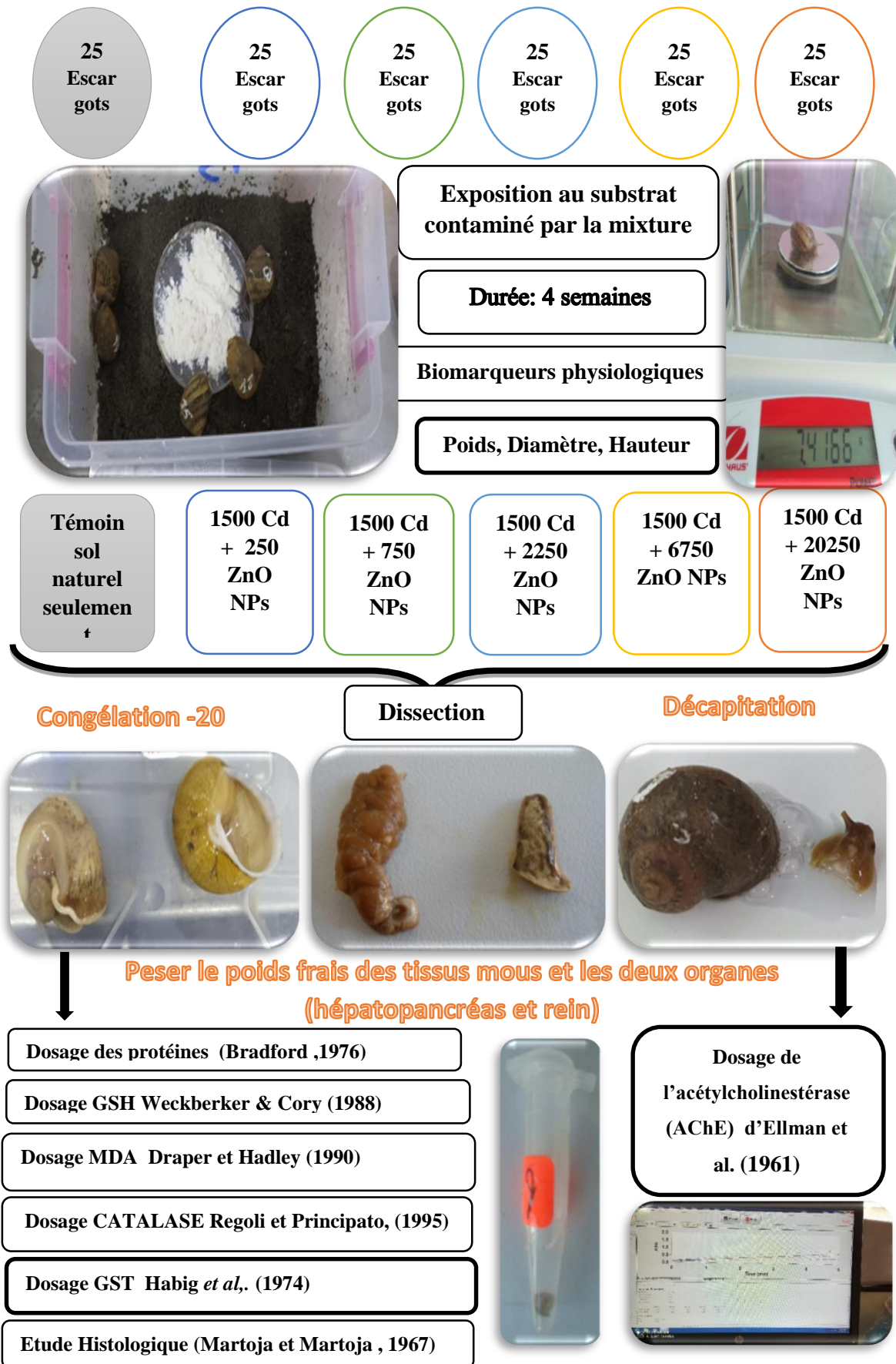


Figure 28. Schéma récapitulatif du protocole expérimental suivi

1.7. Méthodes de mesure des Biomarqueurs Biochimiques :

Les dosages des biomarqueurs sont effectués sur les Reins, et l'hépatopancréas

1.7.1. Dosage des protéines totales :

L'extraction des protéines de l'hépatopancréas et du rein a été réalisée selon la méthode de **Bradford (1976)**. Elle consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl du surnageant ou de la gamme étalon, 4 ml de réactif du bleu brillant de Coomassie (BBC) 250. La solution de BBC se prépare comme suit : dissoudre 50 mg de BBC dans 25 ml d'éthanol 95°. Après une agitation de 2 heures, on ajoute 50 ml d'acide ortho phosphorique à 85 % et on complète à 500 ml avec de l'eau distillée. La présence des protéines dans l'échantillon se révèle par une coloration bleue. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/ml.

1.7.2. Dosage de l'activité glutathion-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité glutathion-S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al, (1974)**. Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible/UV (JENWAY 6300).

Les échantillons 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 µl du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) [20.26 mg CDNB, 153.65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15' à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{mol/mn/mg protéine}) = (\Delta\text{DO} * \text{V}) / (\text{e} * \text{d} * \text{v} * \text{mg de protéine})$$

- ΔDO : la densité optique.
- V : volume totale de la cuve (1400 µl).
- e : coefficient d'extinction (9.6 μl^{-1}).
- d : épaisseur de la cuve.

- v : volume du surnageant.
- mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

1.7.3. Dosage de l'activité catalase :

L'activité catalase (CAT) est mesurée selon la méthode de **Regoli et Principato, (1995)** par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ($\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) en faisant réagir dans 100 Mm de tampon phosphate pendant 1mn à pH 7,5 100 μl de H_2O_2 (500 mM) sur 20 μl d'homogénat, à 25 °C. Les résultats sont exprimés en μmol d' H_2O_2 par minute et par mg de protéines.

Pour un volume final de 1 ml, le mélange réactionnel contient 20 μl de surnageant, 200 μL de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ($\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) et 780 μL de tampon phosphate. La réaction est déclenchée par l'addition de l'eau oxygénée. Le dosage s'effectue en suivant la cinétique de la réaction pendant 1 mn à la longueur d'onde 240 nm. L'activité spécifique de l'enzyme est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{mol/mn/mg protéine}) = (\Delta\text{DO} * 10) / (\epsilon * X * L * 0.05)$$

- ΔDO : la densité optique.
- ϵ : le coefficient d'extinction de l'eau oxygénée.
- X : mg de protéines (quantité de protéines exprimée en mg).
- L : Longueur de la cuve utilisée.

1.7.4. Dosage du Glutathion (GSH) :

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**, dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). Afin de protéger les groupements thiols du glutathion l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 25 % où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Après agitation le mélange est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 tours/ mn pendant 5 mn.

Une aliquote de 500 μl du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) et 0,025 ml de DTNB (0,01 M)]. La lecture des absorbances s'effectue à une

longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl du surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux du GSH } (\mu\text{M/mg de protéines}) = (\text{DO} * 1 * 1,525) / (13,1 * 0,8 * 0,5 * \text{mg de protéine})$$

- **DO** : densité optique.
- **1** : Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).
- **1,525** : Le volume total des solutions utilisées dans du GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA).
- **13,1** : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement -SH à 412 nm).
- **0,8** : Le volume de l'homogénat utilisé en ml.
- **0,5** : Le volume du surnageant utilisé en ml.
- **mg de protéines** : les protéines en mg.

1.7.5. Dosage des malondialdéhydes (MDA)

Les malondialdéhydes (MDA) sont dosés selon la méthode de **Draper et Hadley (1990)** basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm.

Les fragments sont broyés aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5). Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 mn à 10000 tours/mn et le surnageant récupéré servira au dosage du MDA. Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant additionnés de 2,5 ml de TCA. Après chauffage au bain marie à 100 °C pendant 15 mn et refroidissement dans la glace, une centrifugation est effectuée à 10000 tours/mn pendant 10 mn. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml de TBA. Après un second chauffage (100 °C, 15 mn) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/mn, 10 mn) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant les complexes

TBA/MDA est récupéré et une lecture des absorbances est effectuée à 532 nm contre un blanc où du tampon tris-HCl remplace le surnageant.

Le taux du MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{MDA } (\mu\text{M/mg de protéines}) = (\text{DO} * \text{Vt}) / ((156 * \text{Vs}) * \text{mg de protéines})$$

- **DO** : densité optique.
- **156** : coefficient d'extinction molaire du TBA.
- **Vt** : volume total dans la cuve : 1 ml [volume total du butanol récupéré renfermant les complexes TBA/MDA].
- **Vs** : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0.5 ml.
- **mg de protéines** : quantité de protéines exprimée en mg

1.7.6. Dosage de l'acétylcholinestérase :

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode **d'Ellman et al. (1961)** qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse par l'AChE libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5'-dithiobis-2-nitrobenzoate (DTNB) pour former un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm.

Le principe de la réaction est décrit ci-après :

Les fragments de tissu de la tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β - aminoethyl ether NNN'N' tetra-acétique), 1 ml triton X 100 %, 5,845g NaCl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)] à l'aide d'un homogénéiser à Ultrason (Sonifer B-30), puis centrifugés à 5000 tours/mn, 5mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme pour la mesure de l'activité de l'AChE. Une fraction aliquote de 100 μ l du surnageant est additionnée à 100 μ l de DTNB (0,1 M; pH 7) [39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃ Na (bicarbonate de sodium), 10 ml du tampon Tris (0,1 M, PH 7)] et 1 ml de tampon Tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 μ l du substrat acétylthiocholine préparé extemporanément (23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée) sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 min pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 μ l de la solution détergente remplace les 100 μ l du surnageant. L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est exprimée en μ M/min/mg de protéines ; elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{AChE } (\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = (\Delta \text{DO} * \text{Vt}) / (1,36 * 10^4 * \text{Vs} * \text{mg de protéines})$$

- ΔD0 : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.
- 1.36×10^4 : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M-1 cm-1),
- Vh : volume de l'homogénat (100 μ L),

- V_t : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 acétylthiocholine] (1 300 μ L),
- mg de prot : quantité de protéines exprimée en mg

1.8. Etude histologique

Les échantillons sont fixés dans le formol. Puis déshydratés dans l'éthanol 95° au moins deux fois pour éliminer l'excès d'acide picrique. Après déshydratation, les pièces sont conservées dans du butanol. Après imprégnation dans la paraffine (3 bains de 24 h.) les pièces sont coupées (2 μ m) à l'aide d'un microtome Anglia scientific 0325, étalées avec l'eau gélatinée et séchées à l'étuve (37 °C) pendant au moins 48 h. Les coupes sont par la suite déparaffinées avant d'être colorées à l'hémalum éosine (hématoxyline 1 g, iodate de sodium 0,2 g, chloral hydraté 150 g) qui permet une coloration différentielle .après déshydratation dans les bains suivants : éthanol 95°, éthanol à 95° et du xylène pur et enfin du xylène pur. Les pièces sont montées à l'aide du baume de Canada (**Martoja et Martoja, 1967**). Les observations des coupes sont effectuées avec une photo microscope LEICA DM 100.

1.9. Analyse statistique des résultats

Les données ont été fournies sous forme de moyenne \pm erreur standard (SE) et analysées statistiquement à l'aide du logiciel PrismPad. Des comparaisons multiples entre les groupes ont été effectuées à l'aide d'une ANOVA unidirectionnelle. Les valeurs de $P < 0,05$, $P < 0,01$, et $P < 0,001$ ont été considérées comme significatives pour toutes les analyses.

Résultats et Discussion

Réponses
Physiologiques et
Comportementaux
de *Helix aspersa*
Exposés à la
Mixture
ZnO NPs/Cd

1. Réponses Physiologiques et Comportementales de *Helix aspersa* Exposés aux Mixtures de Nanoparticules d'Oxyde de Zinc et de Cadmium (ZnO NPs/Cd)

1.1. Effets Comportementaux de l'Exposition aux Mixtures de Nanoparticules d'Oxyde de Zinc et de Cadmium (ZnO NPs/Cd) chez *Helix aspersa*

Les escargots exposés à la mixture ZnO NPs/Cd ont montré une série de symptômes (**Figure 29**) :

- Diminution d'activité locomotrice
- Diminution le taux de prise de nourriture
- Comportement en escalade et évitement des contaminants (comportement grimpant)

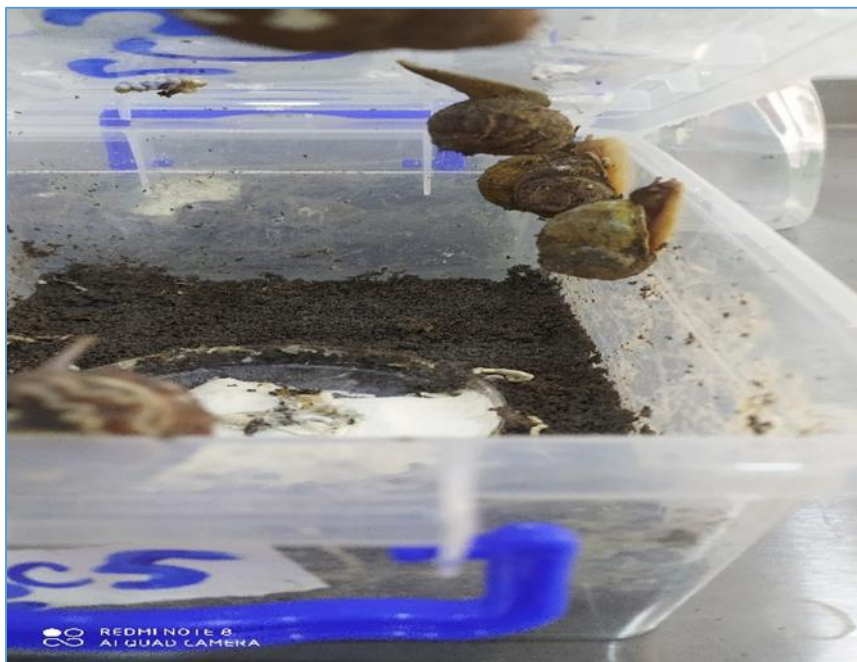


Figure 29. Effet de différentes mixtures ZnO NPs/Cd sur la diminution d'activité locomotrice des escargots (comportement grimpant).

Les résultats relatifs aux proportions hebdomadaires de chaque comportement aux différentes concentrations de ZnO NPs/Cd après une, deux, trois et quatre semaines d'exposition sont présentés respectivement par les figure : (30, 31, 32 et 33).

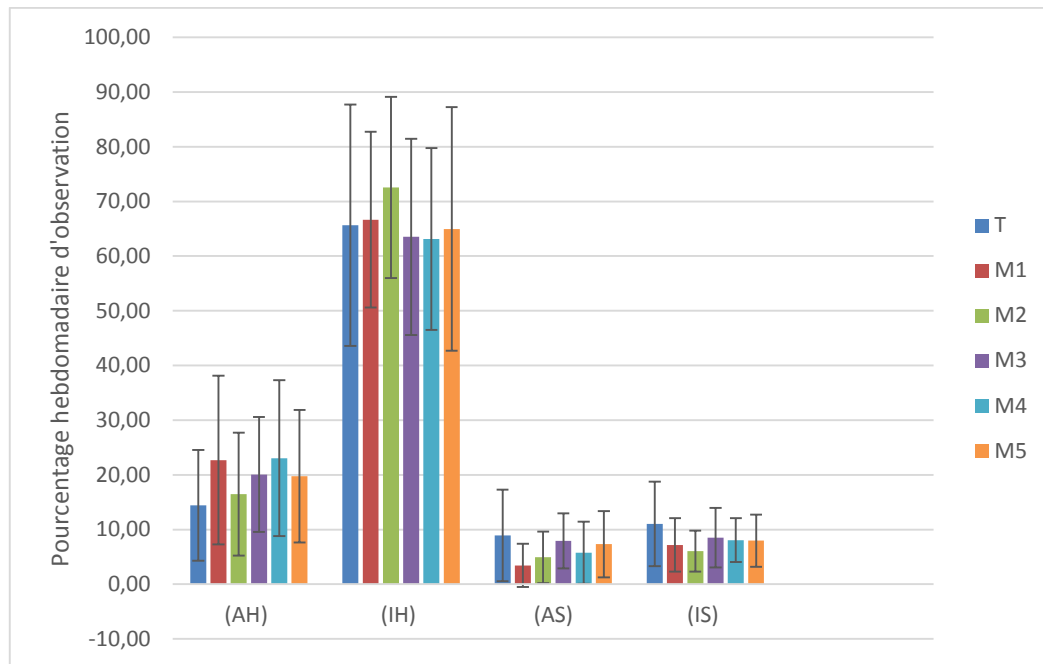


Figure 30. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots *Helix aspersa* pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs/Cd) après une semaine d'exposition.

Après **une semaine** d'exposition (figure 30) des escargots *Helix aspersa* à différentes concentrations de la mixture (ZnO NPs / Cd), les comportements observés ne montrent pas de différence statistiquement significative entre les groupes testés.

L'analyse ANOVA, avec une statistique p-valeur proche de 1, indique que les variations des comportements tels que l'activité haut (sommet des boîtes) **(AH)**, l'inactivité haut **(IH)**, l'activité sur-sol **(AS)** et l'inactivité sur-sol **(IS)** sont négligeables et peuvent être considérées comme aléatoires. Autrement dit, les différentes concentrations d'oxyde de zinc n'ont pas provoqué de modifications notables dans les comportements des escargots au bout d'une semaine. Cela suggère que l'effet toxique de mixture (ZnO NPs / Cd) ne se manifeste pas immédiatement, ou que les concentrations testées ne sont pas suffisantes pour induire des changements comportementaux à court terme.

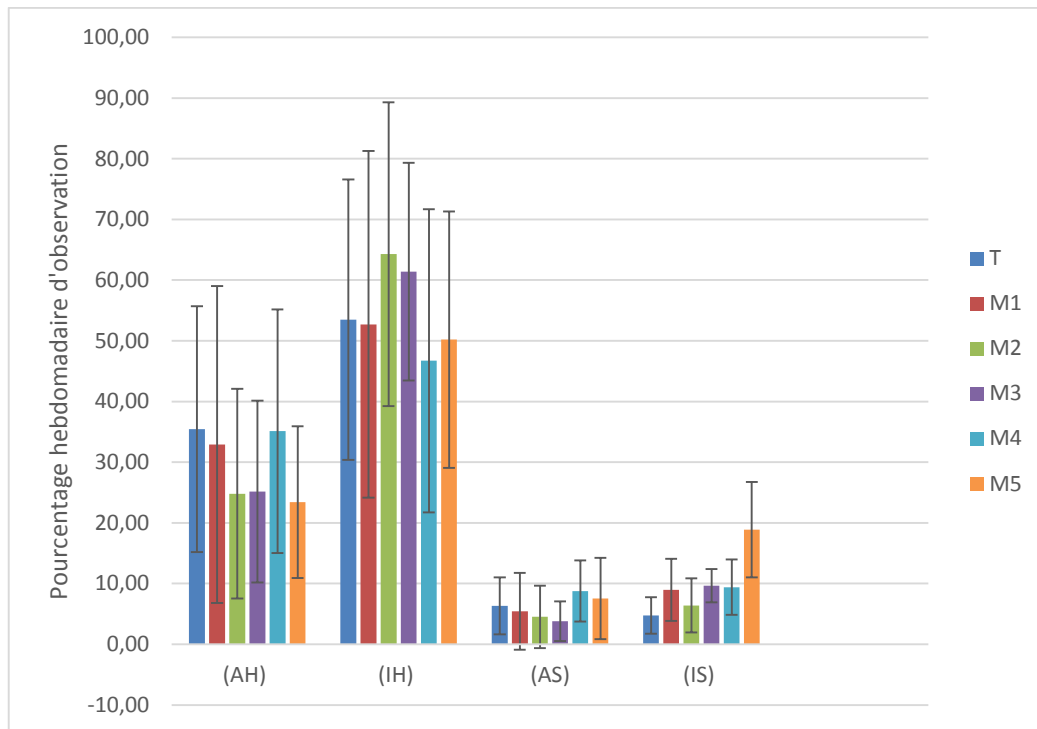


Figure 31. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots *Helix aspersa* pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après deux semaines d'exposition.

Après deux semaines d'exposition (**Figure 31**), les résultats demeurent similaires à ceux observés lors de la première semaine.

L'analyse ANOVA continue de révéler une absence de différence significative entre les groupes (p-valeur de 0.99). Cela signifie que, même avec une exposition prolongée à la mixture (ZnO NPs / Cd), les comportements des escargots restent inchangés. Cette stabilité des résultats laisse penser que, jusqu'à ce point, la mixture (ZnO NPs / Cd) ne perturbe pas suffisamment les fonctions neurologiques ou motrices des escargots pour que des changements comportementaux soient visibles. Il est possible que les escargots possèdent des mécanismes d'adaptation ou de résistance aux niveaux de concentration utilisés dans cette étude.

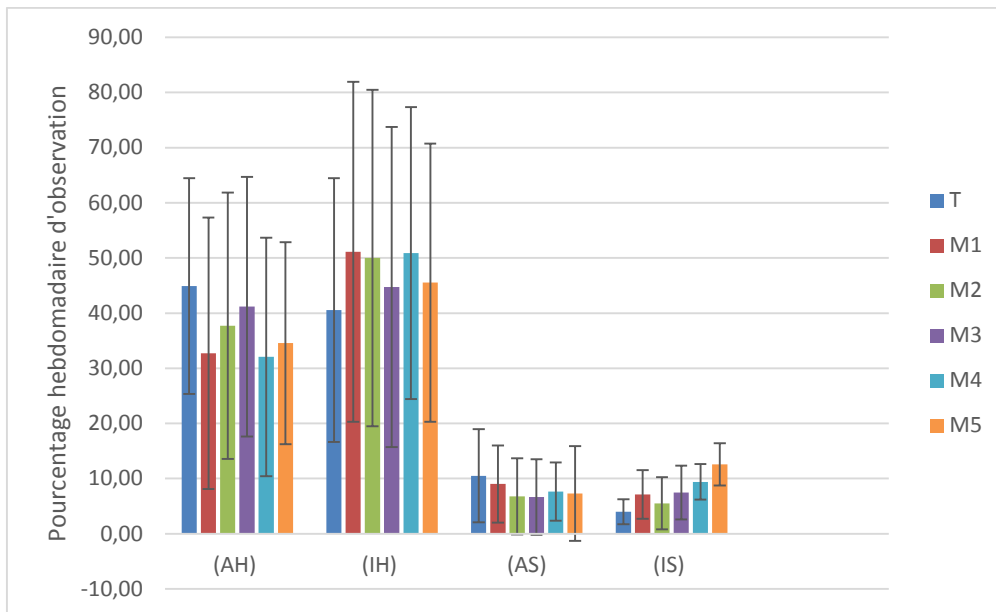


Figure 32. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots *Helix aspersa* pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après trois semaines d'exposition.

Après **trois semaines** d'exposition (**figure 32**), l'absence d'effet significatif de mixture (ZnO NPs / Cd) sur les comportements des escargots se maintient. L'analyse statistique (p-valeur de 1) confirme une nouvelle fois que les différences entre les groupes sont statistiquement insignifiantes. L'absence de changement même après une période plus longue d'exposition suggère que la mixture (ZnO NPs / Cd), aux concentrations testées, ne provoquent pas de perturbations comportemental mesurable sur *Helix aspersa*. À ce stade, il est raisonnable de penser que l'espèce peut tolérer ces niveaux de mixture (ZnO NPs / Cd) sans présenter de signes apparents de stress ou de dysfonctionnement comportemental.

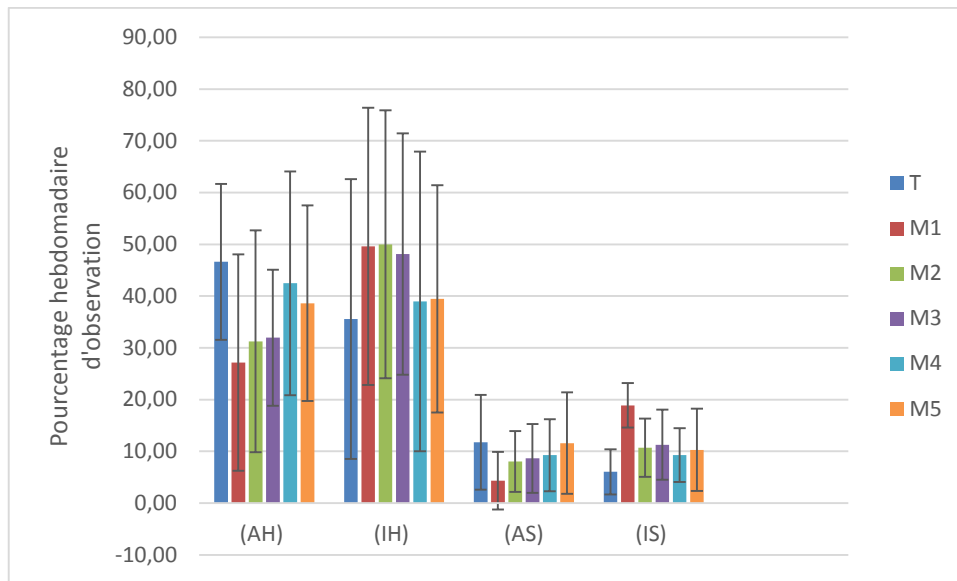


Figure 33. Pourcentage hebdomadaire des observations de chaque comportement chez les escargots *Helix aspersa* pour chaque concentration de mixture (ZnO NPs / Cd) après quatre semaines d'exposition.

À la fin de la **quatrième semaine** (figure 33) d'exposition, les résultats confirment encore une fois l'absence d'impact significatif de mixture (ZnO NPs / Cd) sur les comportements observés.

L'analyse statistique continue de refléter une grande uniformité dans les comportements des escargots à travers les différents groupes. Ces résultats suggèrent qu'une exposition prolongée sur quatre semaines à des concentrations de mixture (ZnO NPs / Cd) n'affecte pas de manière notable les fonctions comportementales des escargots. Ce constat est particulièrement important car il montre que même sur le long terme, les concentrations de mixture (ZnO NPs / Cd) testées dans cette étude ne provoquent pas de perturbations visibles chez les escargots. Il est possible que l'espèce soit capable de gérer cette exposition sans effets néfastes, ou bien que la mixture (ZnO NPs / Cd) n'atteigne pas les seuils toxiques critiques pour modifier leurs comportements.

1.1.Effet sur les paramètres physiologiques

En utilisant les procédures décrites ci-dessus, des données morphométriques (estimation de la mortalité, poids frais de l'escargot, hépatopancréas et rein) ont été recueillies auprès de tous les escargots de traitement analysés et témoins.

1.1.1. La mortalité

Les résultats de l'étude sur la mortalité des escargots exposés à des mélanges de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) et de cadmium (Cd) révèlent une relation dose-dépendante entre la

concentration des mixtures et l'augmentation de la mortalité. Sur les 150 escargots testés, 41 sont morts, ce qui représente un taux de mortalité de 27,33 % Selon le **tableau 06** et **figure 34**.

Tableau 6. Mortalité des escargots enregistrée à la fin de la période d'exposition

	T	M1	M2	M3	M4	M5	Mortalité totale
J7	0	1	3	2	2	5	13
J14	1	5	3	4	1	1	15
J21	0	0	2	1	3	2	8
J28	0	1	2	1	1	0	5
Mortalité totale	1	7	10	8	7	8	41

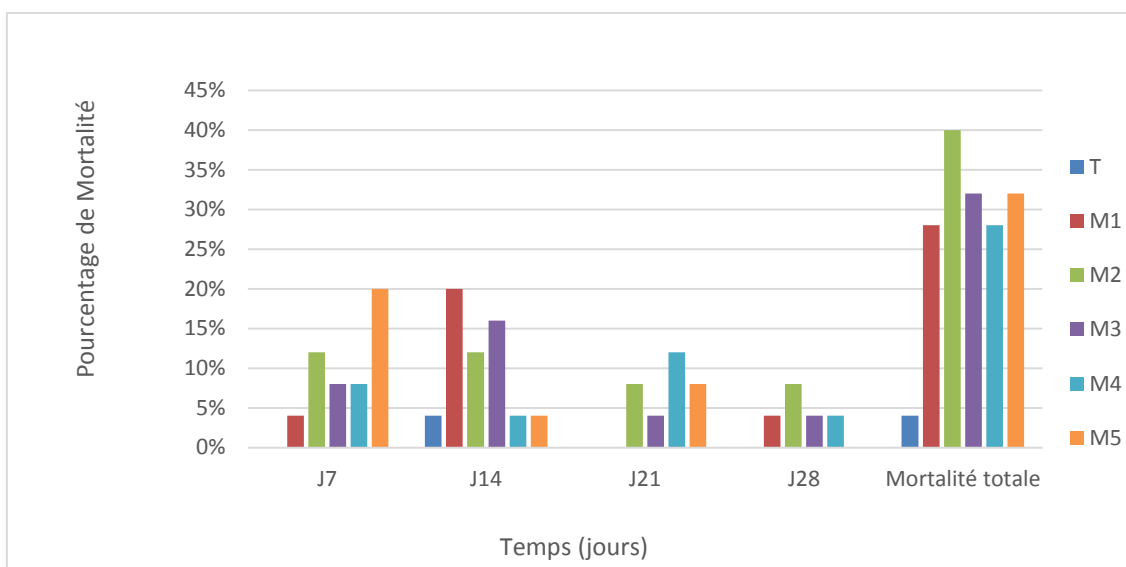


Figure 34. Mortalité des escargots *Helix aspersa* enregistrée à la fin de la période d'exposition

Les données indiquent que les escargots exposés aux concentrations les plus élevées (M5) ont présenté une mortalité accrue dès les premières semaines, atteignant un pic à J7. Ce phénomène peut être attribué à la toxicité aiguë des nanoparticules, amplifiée par la synergie avec le cadmium, entraînant stress oxydatif et dommages cellulaires irréversibles.

Bien que la mortalité ait diminué après J14, elle est restée plus élevée dans les groupes traités par rapport au groupe témoin, indiquant un effet cumulatif des contaminants. Au J7, 13 décès ont été notés, principalement dans les groupes traités, tandis que J14 a enregistré le nombre le plus élevé de décès, avec 15 escargots, suggérant une aggravation des effets toxiques, en particulier dans les groupes M1 et M3. À J21, la mortalité a chuté à 8 escargots, ce qui pourrait

indiquer une adaptation des survivants. Enfin, au J28, 5 décès ont été observés, suggérant que, bien que les effets des concentrations persistent, leur intensité semble diminuer.

Ces résultats soutiennent l'hypothèse d'une toxicité accrue des nanoparticules de ZnO et du Cd en fonction de la dose, tout en soulignant l'importance de la durée d'exposition. De plus, les données suggèrent un mécanisme de bioaccumulation, où les substances toxiques s'accumulent dans les tissus des escargots, entraînant des effets létaux progressifs. La légère diminution de la mortalité à J28 pourrait également refléter une adaptation des escargots ou la mortalité des individus les plus vulnérables durant les phases initiales d'exposition.

1.2.2. Effet de différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'évolution du poids vif des escargots *Helix aspersa* au cours de l'exposition

La figure (35) montre l'évolution du poids moyen des escargots dans le groupe témoin (T) et les cinq groupes traités (M1, M2, M3, M4, M5) au fil du temps.

À J0, les poids moyens des escargots sont similaires dans tous les groupes, autour de 9,55 g, sans différence significative entre le groupe témoin et les groupes traités. À partir de J7, une différence statistiquement significative est observée entre le groupe témoin et les groupes traités, notamment pour M1, M2, M3, M4 ($p \leq 0,01$), et M5 ($p \leq 0,05$), indiquant une baisse relative du poids des escargots exposés aux mixtures.

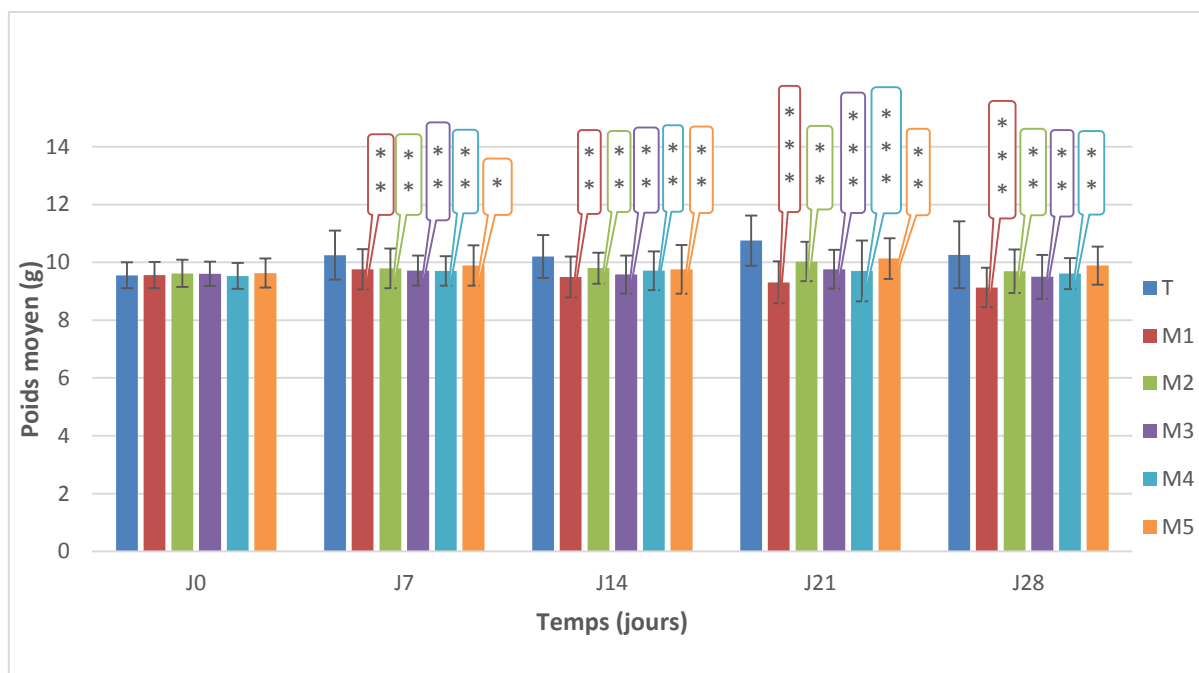


Figure 35. : Évolution du poids moyen (g) des escargots *Helix aspersa* au fil du temps (Les étoiles indiquent la significativité des comparaisons (* pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$).

À **J14**, la différence de poids entre le témoin et les groupes traités devient plus marquée. On observe une diminution du poids moyen chez tous les groupes traités comparé au témoin, avec une différence hautement significative pour tous les groupes ($p \leq 0,01$). Les escargots exposés à M1, M2, M3, M4 et M5 continuent de montrer des poids inférieurs à celui des témoins.

La tendance se poursuit à **J21**, où l'analyse statistique révèle une différence très hautement significative entre le témoin et M1, M3, et M4 ($p \leq 0,001$), ainsi qu'une différence hautement significative pour M2 et M5 ($p \leq 0,01$). Cela suggère une réponse dose-dépendante, où des concentrations plus élevées des mixtures ont un impact plus important sur la réduction du poids des escargots.

Enfin, à **J28**, une différence très hautement significative est notée entre le groupe témoin et M1 ($p \leq 0,001$). Pour M2, M3, M4 et M5, la différence reste hautement significative ($p \leq 0,01$), indiquant que l'exposition prolongée aux différentes mixtures entraîne une diminution marquée du poids des escargots par rapport au témoin.

1.2.3. Effet de différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'évolution du diamètre moyen de la coquille des escargots *Helix aspersa* au cours de l'exposition

La figure (36) montre l'évolution du diamètre moyen de la coquille des escargots dans le groupe témoin (T) et les cinq groupes exposés aux différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd (M1, M2, M3, M4, M5) au fil du temps. À **J0**, les diamètres moyens des coquilles sont similaires dans tous les groupes, autour de 3,53 mm, sans différence significative entre le groupe témoin et les groupes exposés.

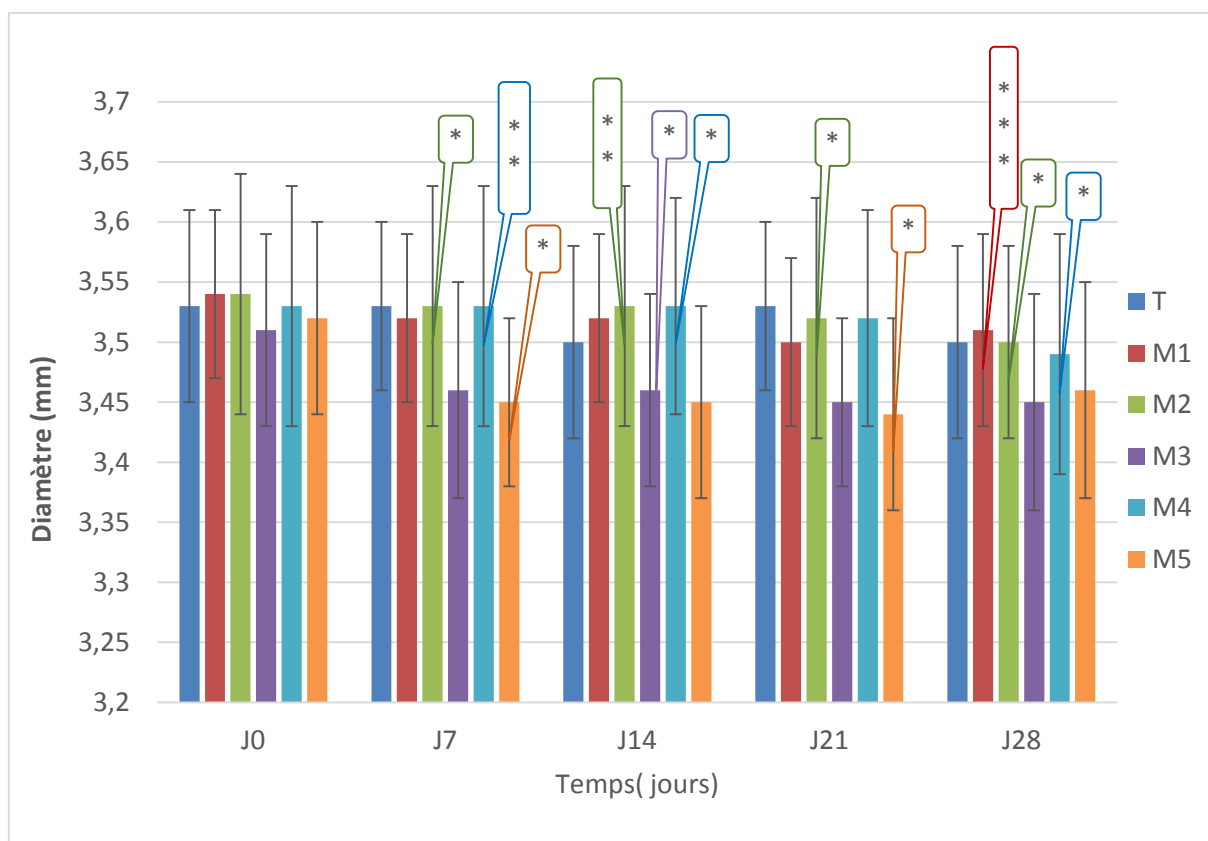


Figure 36. Évolution du diamètre moyen de la coquille (mm) des escargots *Helix aspersa* au fil du temps (Les étoiles indiquent la significativité des comparaisons (* pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, * pour $p < 0,001$)).**

Les résultats de l'analyse statistique des diamètres des escargots, mesurés à différents temps (J7, J14, J21, J28), révèlent des différences significatives entre le groupe témoin (T) et les mixtures ZnO NPs/Cd (M1 à M5). À **J7**, la comparaison entre T et M2, ainsi qu'entre T et M4, s'avère significative, tandis que d'autres comparaisons, comme celles avec M1 et M3, ne montrent pas de différence significative.

À **J14**, M2 et M3 affichent également une significativité, avec des valeurs p ($p \leq 0,01$), respectivement. En revanche, M1 et M5 ne montrent pas d'effet significatif. À J21, la comparaison entre T et M2 demeure significative ($p \leq 0,05$), tout comme celle avec M5 ($p \leq 0,05$), tandis que les autres mixtures ne présentent pas de différences notables. Enfin, à **J28**, M1 révèle une différence extrêmement significative par rapport au groupe témoin, avec une valeur p ($p \leq 0,001$), tandis que M2 et M4 montrent également une significativité ($p \leq 0,05$ respectivement). Ces résultats suggèrent que certaines mixtures ont un impact notable sur le développement des escargots au fil du temps.

1.2.4. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition

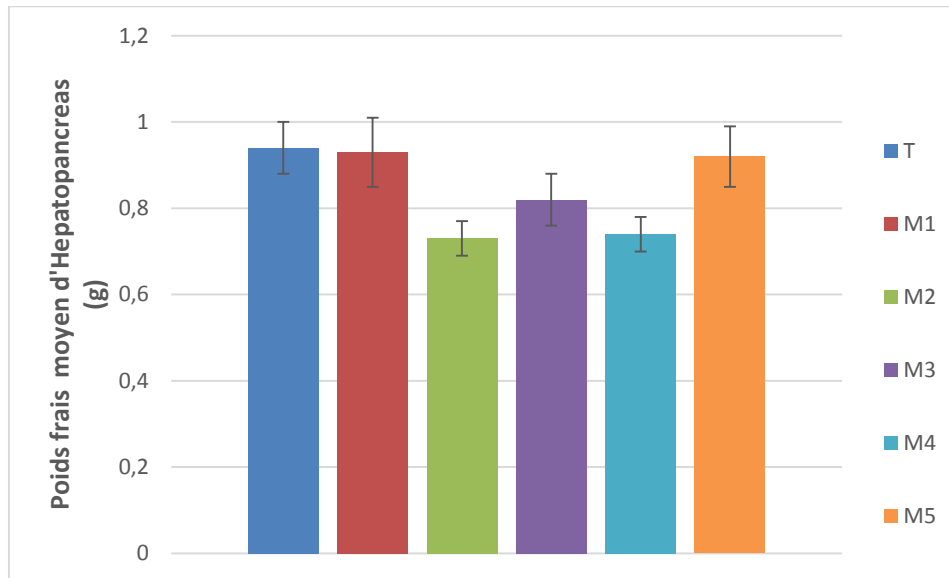


Figure 37. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition

Les résultats illustrés dans **la figure (37)** montrent l'effet des différentes mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition. Le groupe témoin (T) présente le poids le plus élevé, à environ 0,94 g, ce qui représente l'état de référence sans exposition aux mixtures. La mixture M1, avec un poids moyen de 0,93 g, se rapproche fortement du témoin, suggérant un effet négligeable de cette mixture sur la masse de l'hépatopancréas. En revanche, les mixtures M2 et M4 entraînent une diminution du poids, avec des valeurs respectives de 0,73 g et 0,74 g, indiquant un impact plus marqué sur l'organe étudié. La mixture M3 montre une réduction modérée du poids (0,82 g), se situant entre les effets observés avec M2 et M4 et ceux de M1 et M5. Enfin, la mixture M5, avec un poids moyen de 0,92 g, affiche une légère baisse par rapport au témoin, mais l'effet est minime.

1.2.5. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen du rein des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition

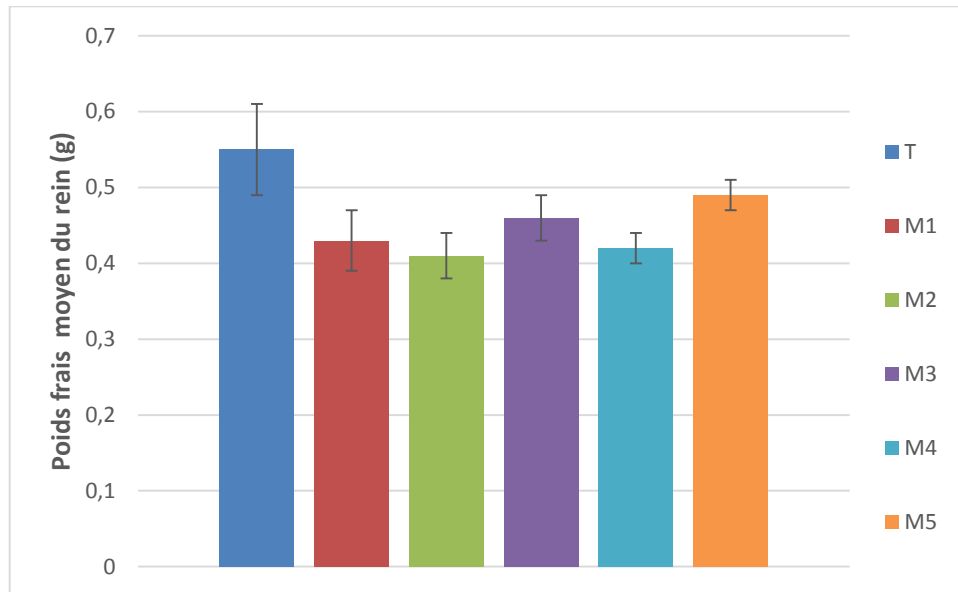


Figure 38. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen du rein des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition

Les résultats illustrés dans **la figure (38)** montrent l'effet des différentes mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen des reins des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition. Le groupe témoin (T) présente le poids le plus élevé, à environ 0,55 g, ce qui représente l'état de référence sans exposition aux mixtures. La mixture M1, avec un poids moyen de 0,43 g, montre une diminution par rapport au témoin, mais cette différence n'est pas statistiquement significative, suggérant que l'effet de cette mixture sur la masse des reins est négligeable. Les mixtures M2 et M4 affichent des poids moyens de 0,41 g et 0,42 g, respectivement, indiquant également une réduction du poids, mais sans signification statistique. La mixture M3 présente un poids moyen de 0,46 g, se situant entre les effets observés avec M2/M4 et ceux de M1. Enfin, la mixture M5, avec un poids moyen de 0,49 g, affiche une légère diminution par rapport au groupe témoin, mais cet effet reste minime.

1.2.6. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen de la masse molle (tissu mou) des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition

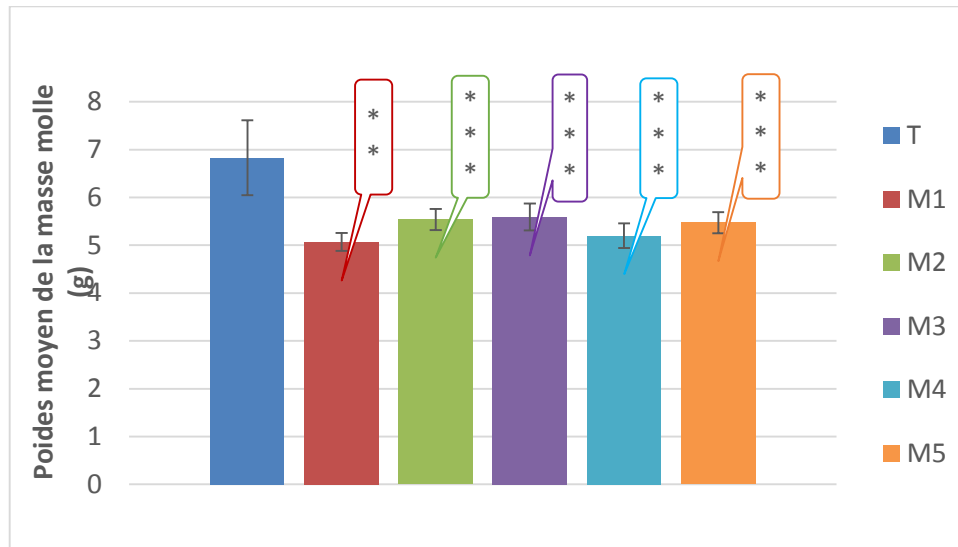


Figure 39. Effets des mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais de la masse molle des escargots *Helix aspersa* après quatre semaines d'exposition (* pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$).

Les résultats illustrés dans la figure (39) montrent l'effet des différentes mixtures ZnO NPs/Cd sur le poids frais moyen du tissu mou des escargots *Helix aspersa* après 28 jours d'exposition. Le groupe témoin (T) présente le poids le plus élevé, à environ 6,83 g, établissant un état de référence sans exposition aux mixtures. En revanche, la mixture M1 affiche un poids moyen de 5,07 g, montrant une réduction substantielle par rapport au témoin, ce qui indique un effet toxicologique marqué sur le tissu mou. Cette diminution est statistiquement très hautement significative, ce qui suggère que l'exposition à la mixture M1 a un impact prononcé sur la masse des escargots. Les mixtures M2 et M3 affichent des poids moyens de 5,54 g et 5,59 g, respectivement. Bien qu'elles soient également inférieures au poids du témoin, leurs effets sont moins prononcés que ceux de M1, mais restent statistiquement significatifs. La mixture M4, avec un poids moyen de 5,20 g, et M5, avec un poids de 5,47 g, montrent également des diminutions par rapport au groupe témoin, mais à des niveaux moindres.

Dans l'ensemble, les résultats soulignent que les mixtures ZnO NPs/Cd exercent un effet négatif sur le poids du tissu mou des escargots, avec des différences très hautement significatives par rapport au groupe témoin, ce qui indique un impact toxicologique important des concentrations appliqués.

1.3. Discussion

Au cours des dernières années, les biomarqueurs chez les escargots ont pris une place cruciale dans l'évaluation de la sécurité écologique et la détection des contaminants dans le sol. Les gastéropodes, en tant que bioindicateurs, sont particulièrement pertinents dans les études d'écotoxicologie en raison de leur exposition directe aux polluants environnementaux tout au long de leur cycle de vie. Cette sensibilité se manifeste principalement vis-à-vis des xénobiotiques tels que les métaux lourds, les pesticides et les nanoparticules (**Gomot-De-Vaufleury, 2000 ; Barker, 2001**). Les effets sublétaux, tels que les modifications des processus physiologiques clés (comportement, croissance, reproduction), constituent souvent des indicateurs précoces de toxicité des substances environnementales (**Newman, 1994**).

Helix aspersa, en particulier, se révèle être un modèle établi dans le domaine de l'écotoxicologie. Sa capacité à accumuler des métaux lourds comme le cadmium et le zinc en fait un excellent sujet d'étude pour analyser les mécanismes d'action des nanoparticules (**Ait Hamlet et al., 2013 ; Grara, 2011**). Les voies de contamination chez les escargots incluent l'absorption orale, cutanée et respiratoire (**Barker, 2001 ; Fritsch, 2010**). Les nanoparticules d'oxyde de zinc, en raison de leur taille réduite et de leur forte réactivité, interagissent facilement avec l'environnement cellulaire, favorisant la formation de radicaux libres et leur internalisation dans les cellules (**Grara et al., 2015 ; Boucenna, 2016**). Des études antérieures ont démontré que des expositions répétées à de faibles concentrations de contaminants, tels que les insecticides ou les biopesticides, peuvent réduire significativement le poids corporel et le poids des organes internes des escargots (**Ait Hamlet, 2012 ; Yousfi, 2024**).

Cette étude se concentre sur les effets du mélange de nanoparticules de ZnO et de Cd sur divers paramètres physiologiques des escargots, y compris leur comportement, le poids corporel, le diamètre de la coquille, ainsi que le poids des organes internes comme l'hépatopancréas et le rein. **Besnaci (2016)** souligne que les bioindicateurs de pollution environnementale, tels que *Helix aspersa*, sont sensibles aux variations physicochimiques de leur environnement, y compris la température (**Bride et al., 1993**), les fréquences électromagnétiques (**Regoli et al., 2006**) et la pollution urbaine (**Terfaya et al., 2009 ; Ait Hamlet, 2012 ; Grara, 2011**). Ils réagissent également aux xénobiotiques variés, notamment les hydrocarbures (**Ismart et al., 2002**), les éléments traces métalliques (ETM) (**Gomot, 1997**), les pesticides (**Coeurdassier et al., 2001 ; Vidal, 2001**) et les nanoparticules (**Grara et al., 2015 ; Boucenna, 2016**).

1.3.1. Comportement des Escargots Exposés aux Mélanges ZnO NPs/ Cd

L'analyse du comportement des escargots *Helix aspersa* exposés à des mélanges de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de cadmium (Cd) n'a révélé aucune différence comportementale significative, tant à court terme (une semaine) qu'à long terme (quatre semaines). Les analyses statistiques indiquent que les concentrations utilisées de ZnO NPs et de Cd n'ont pas affecté les comportements locomoteurs ou de repos des escargots, corroborant ainsi les résultats d'études antérieures qui ont démontré la capacité de certains gastéropodes à tolérer des niveaux modérés de contaminants métalliques (**Carbone & Faggio, 2019**).

Ces résultats sont en accord avec des études démontrant la plasticité comportementale des escargots dans des environnements contaminés. Par exemple, les escargots intertidaux *Littoraria sinensis* ont montré une réduction de leur activité dans des habitats plus chauds, adaptant leur comportement aux variations thermiques (**Zhang et al., 2024**). De même, *Helix aspersa* a souvent présenté des comportements d'évitement, tels que grimper fréquemment en surface, une stratégie visant à limiter l'exposition aux contaminants du sol, similaire aux ajustements comportementaux observés chez les escargots d'eau douce (**Cloyed & Dell, 2019**).

D'autres études ont également souligné ce comportement grimpant comme un mécanisme de protection pour éviter les effets neurotoxiques des contaminants (**Kandeil et al., 2024; Wang & Liu, 2023**).

La résistance observée chez *Helix aspersa* pourrait s'expliquer par des mécanismes de bioaccumulation et de détoxification des métaux lourds. Cette espèce mobilise des protéines telles que les métallothionéines, qui lient et neutralisent les métaux (**Regoli et al., 2006**). Ce mécanisme pourrait expliquer l'absence de signes de toxicité comportementale, malgré une exposition prolongée aux nanoparticules. Par exemple, des escargots provenant d'environnements pollués se sont révélés plus résistants aux conditions acides, ce qui suggère qu'une exposition antérieure peut influencer leurs réponses comportementales face à de nouveaux facteurs de stress (**Lefcort et al., 2015**). Bien que l'exposition à court terme n'ait pas entraîné de modifications comportementales visibles, les effets écotoxicologiques à long terme demeurent préoccupants. En effet, des études antérieures ont révélé que des expositions prolongées aux contaminants métalliques peuvent induire des effets sublétaux affectant la reproduction et le développement (**Fojt et al., 2022**). De plus, l'exposition aux nanoparticules pourrait perturber les systèmes de défense antioxydants des escargots, entraînant une augmentation du stress oxydatif (**Feidantsis et al., 2020**). La réduction de l'activité, observée dans le cadre de l'évitement des surfaces contaminées, pourrait également perturber

l'alimentation des escargots et, par extension, leur capacité à se reproduire à long terme (**Regoli et al., 2006; Nadji et al., 2024**). Les stratégies d'adaptation, telles que la grimpe et la réduction de l'alimentation, peuvent certes limiter l'exposition directe aux contaminants, mais elles pourraient aussi nuire à l'état nutritionnel et reproductif des escargots (**Wu et al., 2023**).

1.3.2. Impacts Physiologiques chez les Escargots Exposés aux Mélanges ZnO NPs/ Cd

Nos résultats révèlent une relation dose-dépendante significative entre les mélanges de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) et de cadmium (Cd) et la mortalité des escargots *Helix aspersa*, avec un taux global de mortalité de 27,33 %. Cette observation est en accord avec les études antérieures qui mettent en évidence l'influence de la concentration et de la nature des agents toxiques sur la survie des mollusques, démontrant leur vulnérabilité aux polluants environnementaux. Ainsi, les escargots exposés à la concentration la plus élevée (M5) ont présenté une augmentation de la mortalité dès les premières semaines, atteignant un pic au jour 7, probablement en raison de la synergie entre les nanoparticules et le cadmium, entraînant un stress oxydatif et des dommages cellulaires similaires aux effets toxiques observés chez d'autres espèces aquatiques, comme les poissons (**Fojt et al., 2022 ; Byzitter et al., 2012**).

En complément, l'exposition aux nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) a également produit des taux de mortalité élevés chez *Helix aspersa*, en particulier à des concentrations importantes, soulignant ainsi la sensibilité de cette espèce aux nanoparticules métalliques (**Besnaci et al., 2016**). De plus, des recherches montrent que des concentrations élevées de ZnO NPs provoquent des taux de mortalité élevés chez divers organismes aquatiques, avec une réduction progressive de la survie à mesure que les doses augmentent (**Tang et al., 2024 ; Ghafarifarsani et al., 2022**).

À J14, le nombre de décès demeure supérieur à celui du groupe témoin, indiquant un effet cumulatif des contaminants. Ce constat est cohérent avec les travaux de **Schuytema et al. (1994) et Ge et al. (2014)**, qui montrent que la toxicité est proportionnelle à la concentration. Néanmoins, la mortalité diminue après le 14^e jour, ce qui pourrait suggérer une adaptation des survivants ou l'élimination des individus les plus vulnérables. Ce phénomène de réduction de la survie avec une exposition prolongée a été observé par **Coeurdassier et al. (2001)**, qui insistent sur l'importance de la durée d'exposition pour évaluer la toxicité (**Alonso, 2023**). Ce type de mortalité différée a été documenté chez d'autres espèces, telles que *Ceriodaphnia dubia* et la truite arc-en-ciel (**Mebane et al., 2021**). D'autres études rapportent également des taux de mortalité variables selon les substances et la susceptibilité des espèces. Par exemple, **Yousfi (2024)** a observé une mortalité de 6,25 % chez des escargots exposés au bifenthrine,

hymexazole, HEO et à leurs combinaisons, inférieure aux 9,61 % rapportés par **Ait Hamlet (2012)** mais supérieure aux 13 % de **Schuytema et al. (1994)**. Par ailleurs, cette mortalité (6,25 %) était plus élevée que celle observée par **Gomot (1997)** (5 %) et **Scheifler et al. (2002)** (4,3 %), soulignant que la sensibilité des escargots varie en fonction de l'espèce et des composés testés.

L'exposition à la mixture ZnO NPs/Cd entraîne une perte progressive de poids chez *Helix aspersa*. Cette perte de poids, observée dès la première semaine, s'amplifie avec le temps d'exposition, confirmant un effet toxique des nanoparticules d'oxyde de zinc et de cadmium, et corroborant les observations de nombreuses études antérieures. Par exemple, **Abdel-Azeem & Osman (2021)** ont aussi observé une diminution graduelle du poids corporel des escargots avec une exposition accrue au ZnO NPs/Cd, renforçant l'idée de toxicité cumulative.

Les travaux de **Simkiss et Watkins (1990)** ont démontré que *Helix aspersa* pouvait détecter des contaminants élevés dans son alimentation, ce qui provoquait une réduction de la consommation de nourriture contaminée. Dans notre étude, un phénomène similaire semble se produire : la perte de poids pourrait être partiellement liée à une diminution de l'appétit pour la nourriture contaminée par la mixture ZnO NPs/Cd, un comportement également observé par **Viard et al. (2004)** avec le plomb. Cette réaction pourrait être une réponse autorégulatrice visant à limiter l'ingestion de contaminants, comme l'ont suggéré **Dallinger (1994)** et **Lam (1996)** pour les gastéropodes exposés aux métaux lourds, qui réduisent leur activité et métabolisme en réponse aux éléments toxiques.

Marie-Noële et al. (2011) ont également mis en évidence des mécanismes similaires, où une exposition au ZnO NPs/Cd conduit à une baisse de l'appétit et à un stress physiologique, conduisant à une perte de poids. En effet, **Besnaci et al. (2022)**, **Atailia et al. (2012)** et **Croteau et al. (2011)** ont montré que la réduction de l'apport alimentaire et les perturbations métaboliques induites par les nanoparticules de ZnO entraînaient une perte de poids significative chez *Helix aspersa*, des résultats qui corroborent les observations de notre étude.

De plus, **Salmi et al. (2017)** ont observé qu'une exposition à des nanoparticules de sélénium de cadmium provoquait un dysfonctionnement mitochondrial et un stress oxydatif, détériorant ainsi la santé et le poids des *Helix aspersa*. Ce mécanisme pourrait être similaire dans le cas des ZnO NPs/Cd, entraînant un stress physiologique croissant chez *Helix aspersa* en raison de la toxicité cumulative. Cette réponse physiologique semble également se manifester par une perte de poids progressive, comme le montre **Grara et al. (2015)** dans leurs travaux sur les nanoparticules de zinc.

Par ailleurs, **El-Gendy et al. (2011)** ont observé que des concentrations accrues de ZnO NPs augmentaient les effets néfastes sur la croissance et le comportement alimentaire, avec une diminution marquée de la consommation alimentaire, qui pourrait aussi contribuer à la baisse de poids des escargots dans notre étude. Les dommages histologiques, tels que la nécrose cellulaire et l'atrophie tissulaire, aggravaient encore ces effets, entraînant une perte de poids marquée (**Boucenna et al., 2015; Nedjoud et al., 2009**).

Enfin, nos résultats sont en accord avec ceux de **Yousfi (2024)**, qui a constaté qu'une exposition à d'autres substances toxiques provoquait une perte de poids et un stress physiologique chez des gastéropodes, confirmant ainsi que la perte de poids peut être un premier indicateur de toxicité des nanoparticules.

Une réduction progressive du diamètre moyen de la coquille des escargots *Helix aspersa* exposés à des concentrations croissantes de la mixture ZnO NPs/Cd au fil du temps. Cette réduction, significative dès la première semaine d'exposition et s'accroissant progressivement, illustre l'effet toxique cumulatif de ces nanoparticules sur le développement des escargots.

La diminution du diamètre de la coquille dans les groupes traités concorde avec des études antérieures. Par exemple, **Grara et al. (2015)** ont montré que l'exposition aux nanoparticules de ZnO entraîne des altérations de croissance similaires chez *Helix aspersa*. De même, **Ait Hamlet (2012)** a rapporté une réduction du diamètre et une perte de poids chez les escargots exposés à des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3), suggérant que la croissance de la coquille peut servir d'indicateur précoce de toxicité. **Gimbert et al. (2008)** ont observé une diminution de 30 % de la masse de la coquille après exposition au cadmium, indiquant que ces contaminants induisent des altérations structurelles de la coquille.

Des études révèlent également que des métaux lourds comme le plomb (Pb) et le cadmium inhibent la croissance de la masse et du diamètre de la coquille, en particulier chez les juvéniles, ce qui met en évidence les effets délétères des métaux lourds sur le développement de la coquille (**Beeby et al., 2002 ; Fojt et al., 2022**). Ces métaux induisent non seulement une réduction de la masse, mais aussi d'importants changements histopathologiques et biochimiques chez les escargots (**Nadji et al., 2024**).

En revanche, **Jordaens et al. (2006)** n'ont pas trouvé de relation significative entre la pollution des sols par des éléments traces métalliques (ETM) comme le Cd, Cr, Pb, et Zn, et la solidité des coquilles de *Cepaea nemoralis* dans des conditions naturelles. Cela suggère que la réponse

de la coquille aux polluants peut varier en fonction des espèces et des conditions d'exposition, soulignant l'importance des paramètres d'étude et du modèle biologique.

Enfin, les travaux de **Salmi (2017)** sur la toxicité d'une pollution mixte de séléniure de cadmium (CdSe) et de Novaluron chez *Helix aspersa* ont montré une diminution dose-dépendante du diamètre de la coquille, en cohérence avec les observations de cette étude. Ces réponses physiologiques, observées dans plusieurs études, soutiennent l'hypothèse que les escargots réduisent leur croissance pour minimiser l'absorption des toxines en présence de contaminants, un mécanisme proposé par **Dallinger (1994) et Lam (1996)** et corroboré par les travaux de **Simkiss et Watkins (1990)**, qui ont observé une réduction de la consommation alimentaire.

La réduction significative du poids des tissus mous et de l'hépatopancréas chez les escargots *Helix aspersa* exposés aux nanoparticules, en particulier l'oxyde de zinc (ZnO NPs) et Cadmuim (Cd), souligne les effets toxicologiques prononcés de ces substances. L'accumulation de nanoparticules engendre des perturbations métaboliques et accroît les coûts énergétiques liés à la détoxification, impactant ainsi la croissance et la santé des escargots (**Rukh et al., 2024**). Les diminutions observées du poids hépatopancréatique, notamment avec les mélanges M2 et M4, peuvent être attribuées à des facteurs de stress conduisant à une dépression métabolique et à un stress oxydatif. Dans des environnements contaminés, les escargots limitent leur consommation alimentaire pour éviter les toxines, induisant un état de jeûne prolongé qui contribue à la diminution de la masse hépatopancréatique (**Hopkin, 1995; Bibic et al., 1997; Notten et al., 2006**).

Certaines études montrent que des métaux s'accumulent dans la glande digestive, entraînant des dommages cellulaires (**Madoz-Escande, 2006**). L'hépatopancréas, un organe clé dans le stockage et la détoxification des métaux lourds, est particulièrement affecté (**Brooks et al., 1992**). Des perturbations du poids hépatopancréatique dues à des polluants ont également été observées par **Salmi (2017) et Marigomez et al. (1998)**. **Ait Hamlet (2012)** a rapporté une réduction du poids de l'hépatopancréas chez les escargots exposés aux insecticides thiaméthoxam et téfluthrine après six semaines. **Schuytema et al. (1994)** ont noté une réduction significative du poids chez les escargots traités avec différents pesticides, tandis que **Coeurdassier et al. (2001)** ont observé une diminution dose-dépendante de la croissance et de la survie induite par le diméthoate. Enfin, **Houda et al. (2022)** ont démontré que l'exposition à la lambda-cyhalothrine induit un stress oxydatif, entraînant des modifications de la fonction hépatopancréatique.

Concernant le poids des reins, bien que les variations observées ne soient pas significatives, les études de **Coeurdassier et al. (2002)** indiquent que le rein est également un organe cible pour l'accumulation du cadmium, un métal particulièrement toxique.

Les réductions significatives du poids des tissus mous chez *Helix aspersa*, exposés aux mélanges de ZnO NPs/Cd, illustrent l'impact toxique notable des nanoparticules métalliques, en accord avec les recherches de **Walker et al. (2001)**, qui soulignent le coût énergétique élevé de la détoxification. Ce phénomène peut freiner la croissance, notamment par compétition ionique, comme noté par **Besnaci (2016)** pour les NPs de Fe₂ O₃ qui interfèrent avec les échanges cellulaires en se substituant au calcium (**Coeurdassier et al., 2001**). De même, **Swaileh et Ezzughayyar (2001)** ont observé une réduction de l'ingestion alimentaire chez les animaux contaminés, ce qui pourrait expliquer la diminution du poids des tissus mous. La dépression métabolique, décrite par **Bishop et Brand (2000)**, pourrait également contribuer à cette diminution en limitant la disponibilité énergétique pour la croissance, un effet corroboré par les observations de **Rukh et al. (2024)** sur les coûts énergétiques de détoxification chez les gastéropodes, affectant leur reproduction et leur santé globale.

1.4. Conclusion

Cette étude souligne le rôle crucial des escargots, en particulier *Helix aspersa*, en tant que bioindicateurs pour évaluer l'impact des contaminants environnementaux, tels que les mélanges de nanoparticules d'oxyde de zinc et de cadmium (**ZnO NPs/Cd**). Bien que l'exposition à ces substances n'ait pas entraîné de modifications comportementales significatives à court terme, une relation dose-dépendante a été observée, indiquant une mortalité notable et une perte de poids progressive, témoignant des effets sublétaux de ces contaminations.

Les résultats suggèrent qu'en dépit de leur plasticité comportementale, les escargots sont vulnérables aux perturbations écologiques induites par ZnO NPs/Cd. Les mécanismes de détoxification et de bioaccumulation, notamment l'activation de protéines spécifiques, semblent jouer un rôle déterminant dans leur résistance apparente. Cependant, la perte de poids et les effets physiologiques observés soulèvent des inquiétudes quant à la viabilité à long terme des populations d'escargots exposées à de faibles concentrations de contaminants.

L'espèce *Helix aspersa* présente une sensibilité marquée aux mélanges de ZnO NPs/Cd, avec des impacts significatifs sur le gain de poids, la masse molle, l'hépatopancréas et le diamètre de la coquille. La survie, la consommation alimentaire et la mobilité de cette espèce

sont également affectées. Ces perturbations peuvent servir de biomarqueurs pour évaluer la contamination et les processus physiologiques essentiels, tels que la croissance et la reproduction, nécessaires à la survie de l'espèce. En définitive, *Helix aspersa* répond adéquatement aux critères des bioindicateurs et pourrait jouer un rôle clé dans la biosurveillance de l'environnement en lien avec les nanoparticules.

Réponses
Biochimiques et
Enzymatiques de
Helix aspersa
Exposés à la
Mixture
ZnO NPs/Cd

2. Effets de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs biochimiques et enzymatiques des escargots *Helix aspersa* :

2.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs biochimiques :

2.1.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales :

2.1.1.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas :

La figure (40) montre l'effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas. Nous constatons que le taux de protéines totales tend à augmenter de manière dose dépendante par rapport aux témoins, l'analyse statistique montre que cette augmentation est non significative pour les groupes exposé par rapport aux témoins.

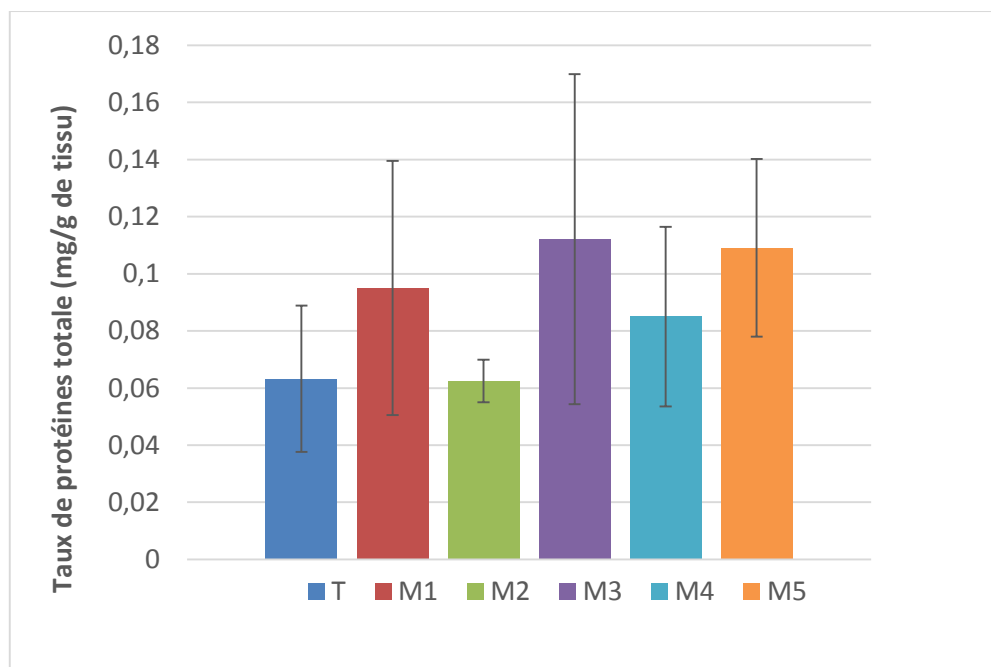


Figure 40. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas.

ns : non significative, ***** : significative, ****** : hautement significative, ******* : très hautement significative

2.1.1.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau du rein :

La figure (41) montre l'effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau du rein. On constate que le taux de protéines totales tend à augmenter de manière dose dépendante par rapport aux témoins.

L'analyse statistique chez les traites montre le taux de protéines totales augmenter de manière hautement significative pour la concentration M4 ($p \leq 0.01$), elle est très hautement significative pour les concentrations (M3, M2 et M5) avec ($p \leq 0.001$). En effet ce taux passe 0.029 mg/g de tissu chez les témoins à 0.058 mg/g de tissu pour la concentration M5.

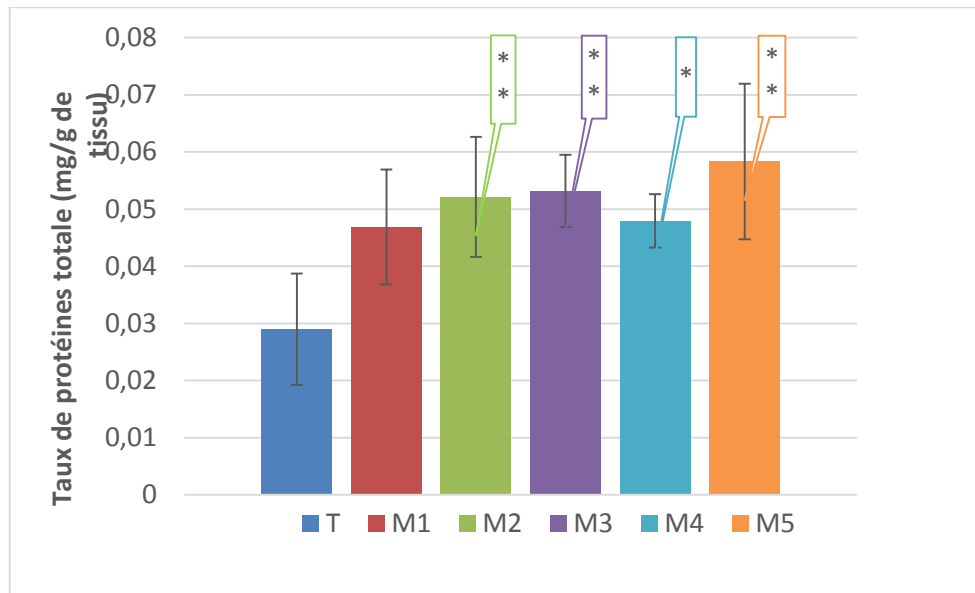


Figure 41. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de protéines totales au niveau du rein.

ns : non significative, ***** : significative, ****** : hautement significative, ******* : très hautement significative

2.1.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du glutathion (GSH) :

2.1.2.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas :

La figure 42 présente la variation du taux de glutathion réduit (GSH) dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd. Le GSH, antioxydant clé dans la lutte contre le stress oxydatif, voit son taux diminuer en réponse à la toxicité des nanoparticules, traduisant une perturbation du système antioxydant.

Le groupe témoin conserve un taux élevé de GSH, reflétant l'état basal de défense antioxydante en conditions normales. À l'opposé, le groupe exposé à la concentration M5 montre une réduction très hautement significative ($p \leq 0,001$), indiquant un stress oxydatif majeur dépassant les capacités antioxydantes. La concentration M2 ne provoque aucune variation significative ("ns"), suggérant une tolérance des escargots à cette dose. Les

concentrations M1, M3 et M4, quant à elles, entraînent des réductions significatives (M3) et hautement significatives (M1 et M4), témoignant d'un stress oxydatif croissant.

Les résultats montrent une réponse dose-dépendante, avec une diminution progressive du GSH à mesure que la concentration de la mixture augmente, ce qui indique un stress oxydatif croissant. Cela confirme la toxicité dose-dépendante des nanoparticules ZnO et du cadmium, les doses élevées perturbant davantage le système antioxydant et compromettant potentiellement la santé et la survie des escargots à long terme.

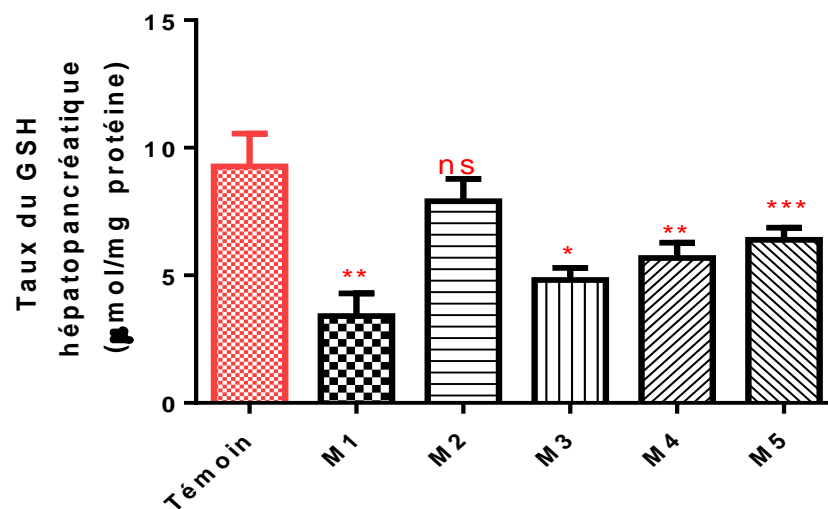


Figure 42. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du GSH au niveau de l'Hépatopancréas

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.1.2.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du glutathion (GSH) au niveau du rein :

La figure 43 illustre l'évolution du taux de glutathion (GSH) dans les reins des escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd (M1 à M5). Le GSH, un antioxydant essentiel pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS), voit son taux diminué en réponse au stress oxydatif. Le groupe témoin présente le taux de GSH le plus élevé, sans exposition à la mixture. À la concentration M1, aucune différence significative n'est observée, indiquant l'absence de stress oxydatif. Cependant, les groupes M2 et M3 montrent une réduction significative du GSH, suggérant un stress modéré, tandis que les groupes M4 et M5, avec des diminutions très significatives, révèlent un stress oxydatif sévère.

La baisse progressive du GSH, particulièrement marquée aux concentrations les plus élevées, souligne un effet dose-dépendant, où des doses plus élevées entraînent un stress

oxydatif accru, dépassant les capacités de neutralisation des radicaux libres des cellules rénales. Ces résultats mettent en évidence l'impact toxique dose-dépendant de la mixture ZnO NPs/Cd sur les reins, affectant potentiellement la santé et la fonction rénale des escargots.

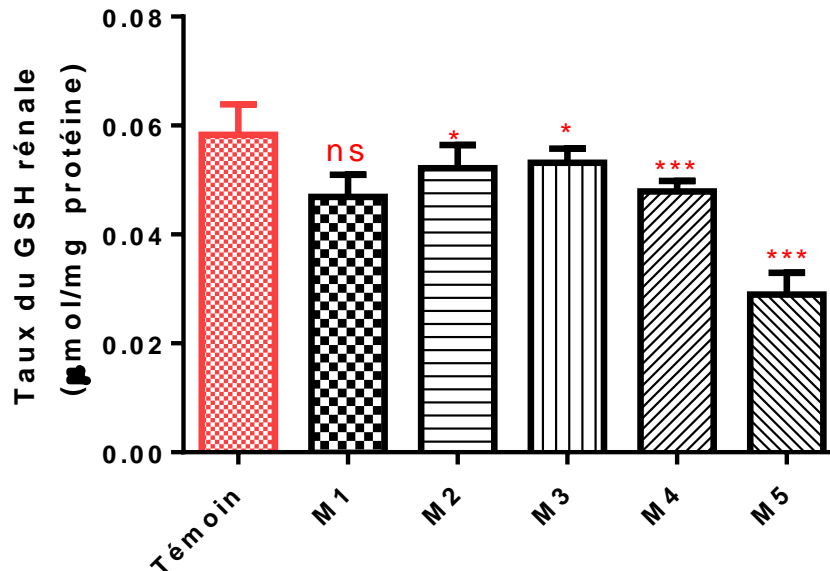


Figure 43. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux du GSH au niveau du rein.

ns : non significative, ***** : significative, ****** : hautement significative, ******* : très hautement significative

2.1.3. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) :

2.1.3.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas :

La figure 44 montre l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd. En tant que marqueur clé du stress oxydatif, le MDA reflète les dommages liés à la peroxydation des lipides membranaires. Une augmentation significative du MDA est observée aux concentrations M3 et M4, indiquant une accumulation accrue de produits de peroxydation lipidique et des dommages oxydatifs cellulaires. Cette augmentation suit une relation dose-dépendante, atteignant un pic marqué à la concentration M4, ce qui traduit une intensification du stress oxydatif avec l'augmentation de la dose.

Les niveaux élevés de MDA reflètent une insuffisance des défenses antioxydantes des escargots pour contrer l'excès de radicaux libres généré par le mélange ZnO NPs/Cd, en particulier aux doses élevées. Les différences très significatives entre le groupe témoin et les

groupes exposés (M3 et M4) confirment que ces effets sont directement liés à la toxicité de la mixture et non à des variations aléatoires. Ces résultats mettent en évidence une relation dose-réponse entre l'exposition au mélange et les dommages oxydatifs dans l'hétopancréas.

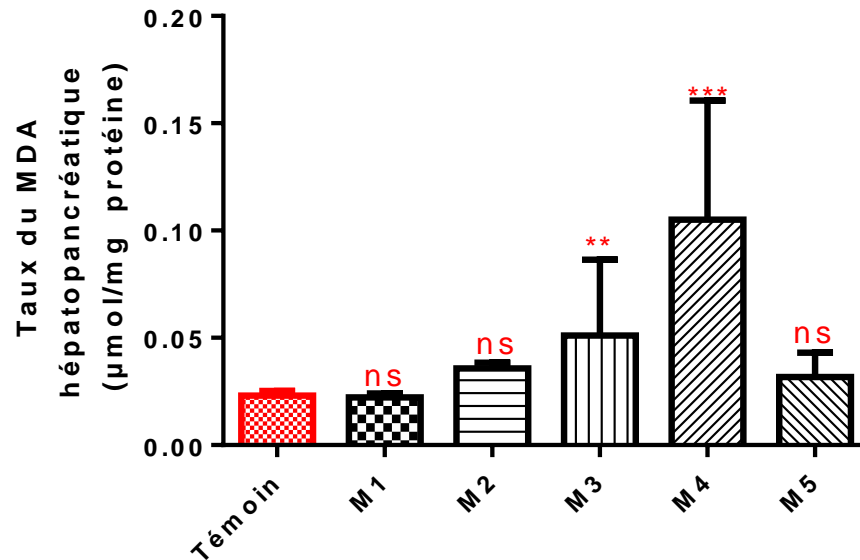


Figure 44. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hétopancréas

ns : non significative, ***** : significative, ****** : hautement significative, ******* : très hautement significative

2.1.3.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau du rein

La figure 45 montre l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) dans le rein des escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd.

Le MDA est un marqueur clé du stress oxydatif, dont l'augmentation traduit une intensification de la peroxydation lipidique, soit la dégradation des lipides cellulaires causée par les radicaux libres.

Les résultats révèlent une augmentation significative du stress oxydatif dans le rein uniquement pour le groupe M5. En effet, une hausse très hautement significative du taux de MDA ($p \leq 0,001$) est observée dans ce groupe, indiquant un niveau de stress oxydatif élevé dans le rein des individus traités avec M5, reflétant une peroxydation lipidique marquée. En

revanche, les groupes M1, M2, M3 et M4 ne présentent pas d'augmentation significative du MDA par rapport au groupe témoin.

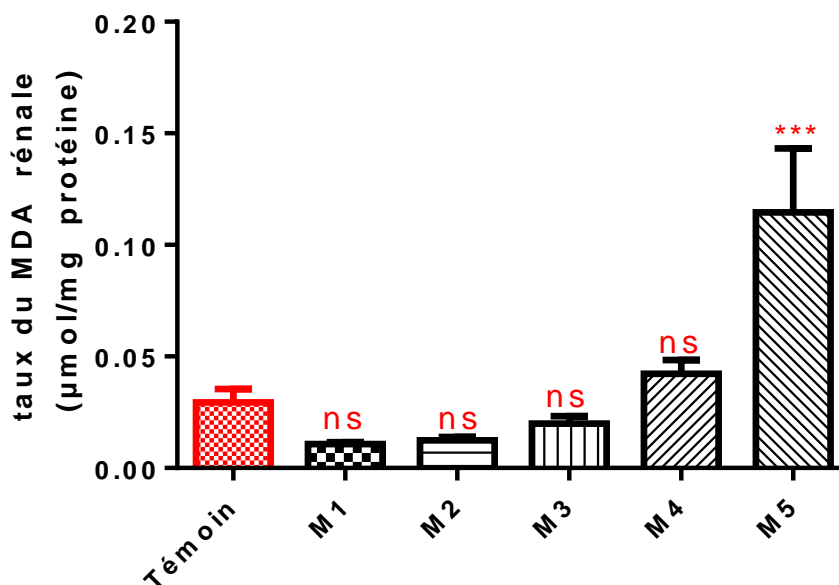


Figure 45. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de Malondialdéhyde (MDA) au niveau du rein.

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur les biomarqueurs enzymatiques :

2.2.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité GST :

2.2.1.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité GST au niveau de l'hépatopancréas :

La figure 46 montre l'évolution du taux de glutathion (GST) dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* exposés aux différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd (M1 à M5), comparées à un groupe témoin. Les résultats révèlent une diminution significative du GST dans les groupes M3, M4 et M5, avec une réduction particulièrement marquée dans les groupes M4 et M5, indiquant un stress oxydatif accru. En revanche, les groupes M1 et M2 ne présentent aucune différence significative par rapport au groupe témoin, suggérant une absence de stress oxydatif notable.

Les résultats suggèrent une relation dose-dépendante, où l'augmentation de la concentration de ZnO NPs/Cd (de M1 à M5) entraîne une réduction progressive du GST, ce qui reflète une capacité réduite des cellules à neutraliser les radicaux libres. Les concentrations M3,

M4 et M5 induisent un stress oxydatif important, tandis que M1 et M2 semblent avoir un impact minimal sur le système antioxydant dans les conditions expérimentales.

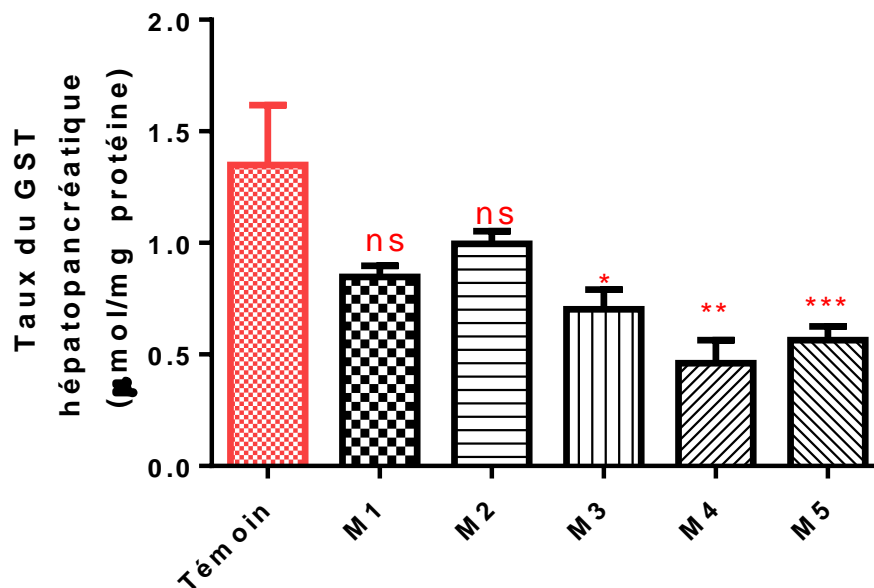


Figure 46. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de GST au niveau de l'Hépatopancréas.

ns : non significative, ***** : significative, ****** : hautement significative, ******* : très hautement significative

2.2.1.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité GST au niveau du rein :

La figure 47 montre l'évolution de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) dans le rein des escargots *Helix aspersa* exposés aux différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd (M1 à M5), par rapport à un groupe témoin. La GST, en jouant un rôle clé dans la détoxification cellulaire en conjuguant des molécules toxiques avec le glutathion pour faciliter leur élimination, est un indicateur important de la capacité antioxydante. Une diminution significative de l'activité de la GST est observée dans tous les groupes exposés (M1 à M5) par rapport au groupe témoin, avec une réduction particulièrement marquée dans les groupes M4 et M5. Cela suggère que ces concentrations ont un impact plus prononcé sur l'activité de la GST. De plus, une tendance générale à la baisse de l'activité de la GST est notée avec l'augmentation de la concentration (de M1 à M5), indiquant un effet dose-dépendant.

Ces résultats suggèrent que les concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd inhibent l'activité de la GST dans le rein, ce qui pourrait altérer la capacité de l'organisme à détoxifier efficacement les substances étrangères et à lutter contre le stress oxydatif, augmentant ainsi la susceptibilité aux dommages oxydatifs. L'effet dose-dépendant observé indique qu'une

concentration plus élevée de la mixture (M5) entraîne une inhibition plus marquée de l'activité enzymatique.

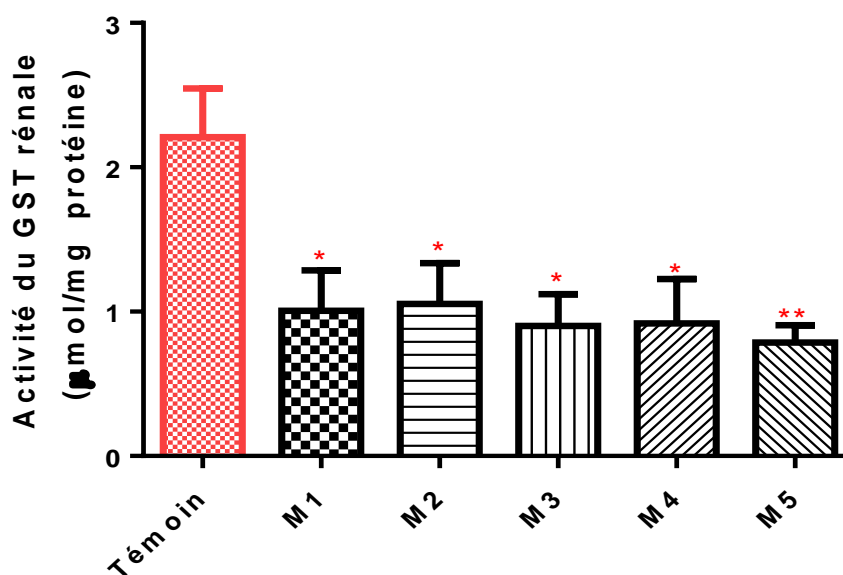


Figure 47. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur le taux de GST au niveau du rein.

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.2.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase :

2.2.2.1. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau de l'hépatopancréas :

La figure 48 présente les variations de l'activité de la catalase dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* sous l'influence de la mixture ZnO NPs/Cd. Nos résultats révèlent que l'activité de la catalase diminue de manière dose-dépendante en présence de ce xénobiotique.

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative pour les concentrations M3, M4 et M5, ainsi qu'une différence significative pour M1 et M2 par rapport au groupe témoin. Plus précisément, l'activité de la catalase chute de 36,43 µM/mn/mg de protéines chez les témoins à 17,17 µM/mn/mg de protéines pour la concentration M3. Cette diminution progressive de l'activité enzymatique pour chaque concentration (M1 à M5) suggère une inhibition dose-dépendante, avec un effet plus marqué aux concentrations les plus élevées (M4 et M5). La catalase, enzyme clé de détoxification du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène, voit donc son activité réduite, ce qui pourrait conduire à une accumulation de peroxyde d'hydrogène et, par conséquent, à un accroissement du stress oxydatif cellulaire.

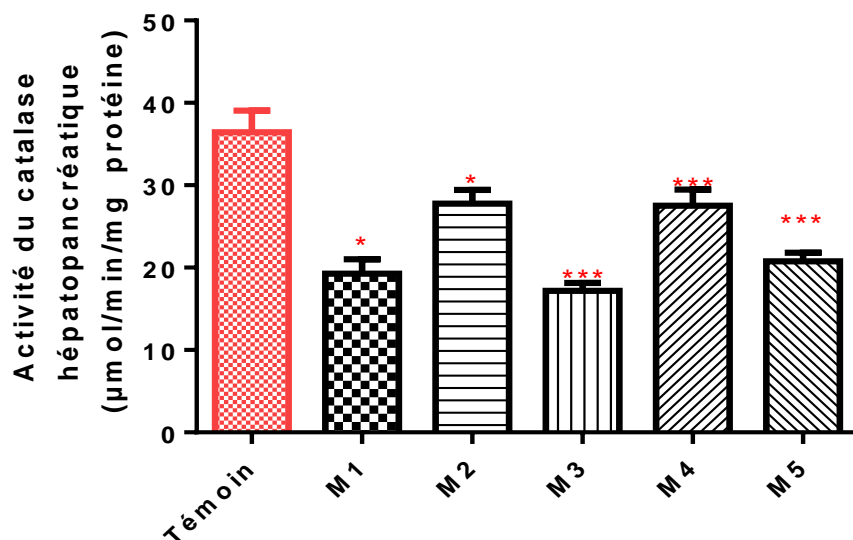


Figure 48. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau de l'Hépatopancréas.

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.2.2.2. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau du rein :

La figure 49 illustre l'effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité de la catalase dans le rein des escargots *Helix aspersa*. Nos résultats montrent que cette activité diminue de manière dose-dépendante en présence ZnO NPs/Cd.

L'analyse statistique révèle une différence hautement significative pour les concentrations M2, M3, M4, et M5 et significative pour M1 par rapport aux témoins. En effet, cette diminution entraîne une réduction de l'activité de 29,47 µM/min/mg de protéines chez les témoins à 8,47 µM/min/mg de protéines pour la concentration M5. La catalase, enzyme qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène, joue un rôle essentiel dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif. Une diminution de son activité, observée pour toutes les concentrations testées, expose ainsi les cellules à une accumulation de H₂O₂, accentuant le stress oxydatif.

Cette inhibition, plus marquée pour les concentrations M4 et M5, témoigne de l'effet dose-dépendant de la mixture, suggérant une inhibition croissante de la catalase avec l'augmentation de la concentration de la mixture.

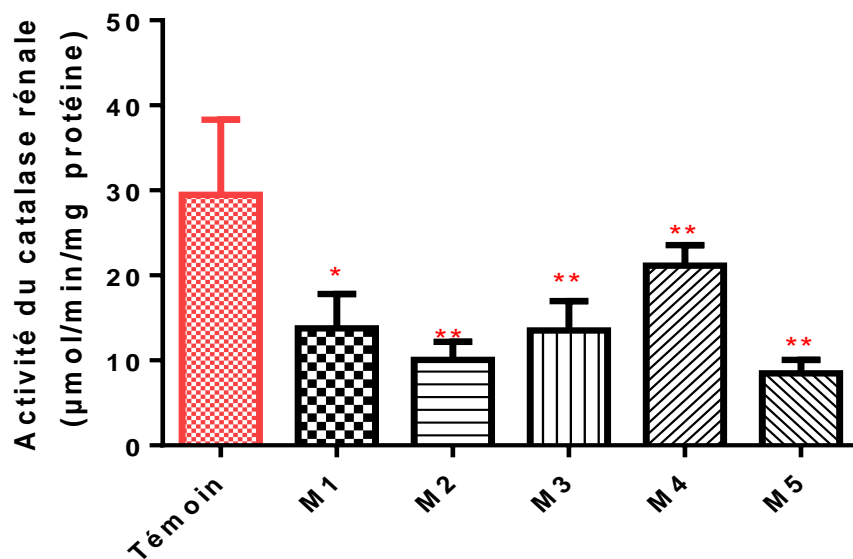


Figure 49. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité Catalase au niveau du rein.

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.2.3. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité de l'acétylcholinestérase

La figure 50 illustre l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE), exprimée en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines, chez les adultes *d'Helix aspersa* dans les groupes témoins et ceux traités par la mixture ZnO NPs/Cd. Les résultats montrent une inhibition de l'AChE qui est significative ($p \leq 0,05$) dès l'application de la mixture à la concentration M1. Cette inhibition devient très hautement significative ($p \leq 0,001$) pour les concentrations M2, M3, M4 et M5, avec un effet dose-dépendant bien marqué.

Les données indiquent ainsi une diminution substantielle de l'activité de l'AChE dans tous les groupes traités par rapport au groupe témoin, cette inhibition augmentant avec la concentration de ZnO NPs/Cd. L'effet maximal est observé avec la concentration M5, suggérant que cette concentration entraîne une inhibition presque totale de l'enzyme. Étant donné que l'AChE est essentielle à la transmission nerveuse, son inhibition peut provoquer une accumulation d'acétylcholine dans les synapses, perturbant la transmission et conduisant potentiellement à des troubles neurologiques. Ces résultats suggèrent que la mixture ZnO NPs/Cd exerce un effet neurotoxique notable, qui pourrait avoir des implications importantes pour la santé, notamment en termes de risques neurologiques.

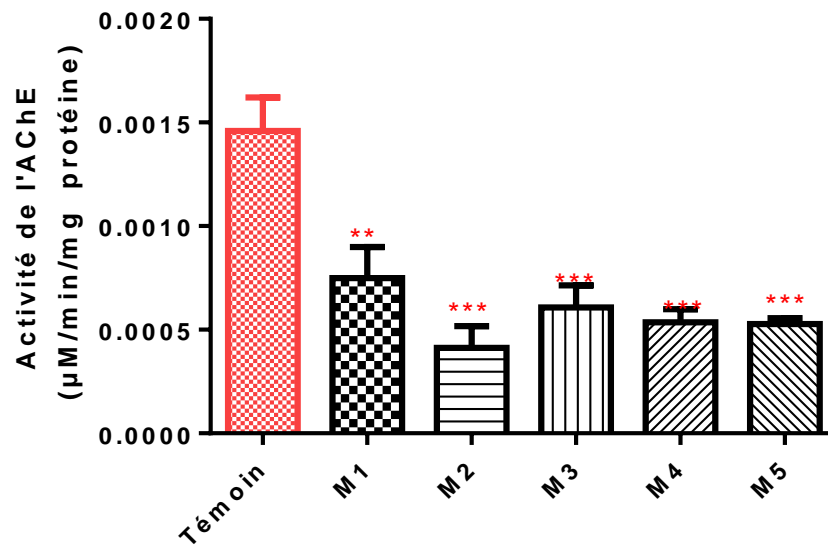


Figure 50. Effet de la mixture ZnO NPs/Cd sur l'activité de l'acétylcholinestérase

ns : non significative, * : significative, ** : hautement significative, *** : très hautement significative

2.3. Discussion :

Les gastéropodes, en particulier *Helix aspersa*, ont longtemps été utilisés comme bioindicateurs de la pollution environnementale en raison de leur sensibilité aux variations physico-chimiques de leur milieu, y compris la présence de métaux lourds et de polluants chimiques (Hopkin, 1989 ; Manzl et al., 2004). Ces substances, qui perturbent leur habitat naturel, peuvent entraîner des altérations biochimiques, histologiques ou morphologiques (Luo et al., 1999), et engendrer un stress oxydatif par la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO attaquent les macromolécules biologiques, notamment les lipides et les protéines, essentielles au métabolisme cellulaire et à la régulation hormonale (Choi et al., 2007 ; Jacob et Monod, 1961 ; Moumeni, 2016).

Dans les écosystèmes terrestres, les escargots sont exposés à des contaminants par ingestion, contact ou inhalation, ce qui les rend particulièrement vulnérables aux effets toxiques des nanoparticules (Amiard-Triquet et al., 2008 ; Salmi, 2018). En réponse, ces organismes mettent en place des mécanismes de défense pour tolérer le stress chimique, tels que l'activation d'enzymes antioxydantes (Lagadic et al., 1997 ; Mouneyrac et al., 2011). Ces mécanismes incluent la production de biomarqueurs enzymatiques comme la glutathion-S-transférase (GST) et la catalase (CAT), qui jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres et la prévention des dommages oxydatifs (Van der Oost et al., 2003 ; Otmani, 2018).

Le stress oxydatif, défini par un déséquilibre entre la production d'ERO et les défenses antioxydantes, constitue un facteur central des mécanismes de toxicité. Il peut être suivi par des biomarqueurs spécifiques tels que le glutathion réduit (GSH) pour le piégeage des radicaux libres, la malondialdéhyde (MDA) comme indicateur de la peroxydation lipidique, et l'acétylcholinestérase (AChE) pour les perturbations neurologiques (**Regoli et al., 2006**). Ces biomarqueurs fournissent des informations sensibles et précoces sur l'exposition et les effets des contaminants (**Forbes et al., 1997 ; McCarthy et Shugart, 1990**).

Dans le cadre de cette étude, nous avons cherché à élucider l'implication du stress oxydatif dans la toxicité induite par une mixture de nanoparticules d'oxyde de zinc et de cadmium chez *Helix aspersa*. Plus précisément, nous avons évalué les variations des taux de protéines et étudié les mécanismes antioxydants impliqués dans la détoxification. Cette approche repose sur la quantification des biomarqueurs de défense et de dommage, permettant ainsi d'évaluer la capacité des escargots à tolérer et à s'acclimater à ces conditions de stress environnemental.

Dans le cadre de notre travail, nous avons observé une augmentation du taux de protéines dans les organes des escargots exposés à la mixture ZnO NPs/Cd, avec une tendance dose-dépendante au niveau de la glande digestive. Toutefois, cette augmentation n'a pas été statistiquement significative par rapport aux témoins. En revanche, au niveau du rein, l'augmentation du taux de protéines totales a été significative, avec des différences hautement significatives pour la concentration M4 et très hautement significatives pour les concentrations M3, M2 et M5.

Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs études antérieures, telles que celles de **Tadjine (2007)**, **Redouane-Salah (2004)**, **Masaya et al. (2002)**, et **Peccini et al. (1994)**, qui ont rapporté une augmentation significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez différents modèles biologiques (têtards, protistes ciliés, lapins). Les travaux de **Atilia (2009)**, **Boucenna (2010)** et **Grara (2011)** ont également montré une augmentation du taux de protéines dans l'hépatopancréas et le rein des escargots traités par des métaux lourds. Ces effets sont similaires à ceux observés par **Bouaricha (2013)**, qui a constaté une induction de la synthèse protéique dose-dépendante suite à l'exposition aux biopesticides et aux insecticides chez les escargots et autres organismes (**Zeriri et al., 2012**).

De plus, **Köhler et al. (2009)** ont suggéré que l'exposition à des concentrations élevées de Cd, Pb et Zn induit la synthèse de protéines de stress, comme les HSP 70, ce qui pourrait être un biomarqueur précoce de l'exposition aux polluants chimiques. Cette induction de la synthèse

protéique semble liée à l'activation des enzymes de détoxification et de métabolisation, comme le suggèrent **Belhaouchet (2013)** et les résultats obtenus dans notre étude.

Les protéines, notamment les métallothionéines (MTs) et les protéines de stress, jouent un rôle clé dans la détoxification cellulaire et la protection contre les métaux lourds (**Chabicovsky, 2003 ; Dallinger et al., 2004**). L'induction des gènes HSPs et l'activation des mécanismes de détoxification ont été rapportées chez des invertébrés, y compris des mollusques (**Franzellitti et Fabbri, 2005 ; Kourtidis et al., 2006**). Ainsi, l'augmentation des protéines totales dans nos travaux pourrait refléter l'induction de la synthèse de ces protéines, en particulier en présence de particules métalliques.

Nos résultats s'ajoutent à une série d'études montrant que l'augmentation des protéines totales peut être utilisée comme biomarqueur précoce de l'exposition à des contaminants chimiques (**Besnaci, 2016**). Cela confirme également que la synthèse des protéines de stress, comme les métallothionéines et les protéines HSP, est un mécanisme crucial pour la détoxification et la survie des escargots face aux métaux lourds et autres xénobiotiques (**Hopkin, 1989; Peijnenburg et al., 1997**).

Le glutathion réduit (GSH) est un antioxydant clé intervenant dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la détoxification des xénobiotiques (**Winston et Di Giulio, 1991**). Dans notre étude, nous avons observé une diminution dose-dépendante du GSH chez les escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd, indiquant une altération progressive du système antioxydant face à un stress oxydatif croissant.

Au niveau de l'hépatopancréas, l'analyse des résultats a montré que le groupe témoin affichait des niveaux élevés de GSH, reflétant une défense antioxydante normale en conditions non stressantes. À l'inverse, une diminution significative du taux de GSH a été observée avec l'augmentation des concentrations de la mixture. Par exemple, la concentration M5 a induit une réduction très hautement significative, traduisant un stress oxydatif sévère dépassant les capacités compensatoires du système antioxydant. Ces résultats sont en accord avec les observations de **Wang et al. (2008)** chez les crabes d'eau douce exposés au cadmium, où une diminution dose-dépendante du GSH dans l'hépatopancréas a également été rapportée.

Au niveau des reins, une diminution similaire du GSH a été enregistrée chez les escargots exposés, particulièrement marquée pour les concentrations élevées (M4 et M5). Le stress oxydatif accru dans ces conditions pourrait s'expliquer par une génération excessive de ROS ou une déplétion en GSH, comme décrit par **Galaris et Evangelou (2002)**. Ces observations

concordent avec celles de **Bourbia-Aït Hamlet (2013)**, qui a rapporté une diminution du GSH chez *Helix aspersa* exposés à des pesticides, ainsi qu'avec les travaux de Belhaouchet et al. (2012) et **Atailia (2009)** concernant les métaux lourds.

La diminution du GSH pourrait être attribuée à son interaction directe avec les métaux présents dans la mixture ZnO NPs/Cd. En effet, le glutathion, par son groupement thiol (-SH), forme des complexes stables avec des métaux comme le zinc et le cadmium (**Regoli et Principato, 1995**). Ces réactions peuvent conduire à l'oxydation du GSH ou à la génération de radicaux libres, aggravant les dommages oxydatifs au niveau cellulaire (**Christova et al., 2003**). Cette interaction métal-glutathion, bien que protectrice dans une certaine mesure, devient insuffisante face à des concentrations élevées de métaux (**Barillet, 2007**).

Nos résultats s'inscrivent dans la lignée des travaux de **Grara et al. (2009)** et de **Viarengo et al. (1990)**, qui ont mis en évidence une réduction du GSH chez les mollusques exposés à divers polluants, notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les pesticides. De plus, **Zeriri (2013)** a également constaté une diminution du GSH chez des vers de terre traités au méthomyl, confirmant la généralité de ces effets toxiques pour différentes espèces. **Yousfi (2024)** a montré une diminution très hautement significative du GSH chez *Helix aspersa* exposés au bifenthrine et à d'autres pesticides, mettant en évidence une réponse universelle des gastéropodes au stress chimique.

Le glutathion joue un rôle central dans la défense intracellulaire contre le stress oxydatif, notamment par son implication dans l'activité de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion-S-transférase (GST) (**Arrigo, 1999**). Une diminution de GSH, comme observée dans notre étude, reflète un déséquilibre dans le système antioxydant, exposant les cellules à des dommages oxydatifs (**Droge, 2002**), affectant potentiellement leur fonctionnalité à long terme. L'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA), produit final de la peroxydation des lipides, dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* exposés à différentes concentrations d'un mélange de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de cadmium (Cd), révèle des résultats significatifs quant à l'impact de cette exposition sur le stress oxydatif. Le MDA est un biomarqueur largement utilisé pour évaluer l'intensité du stress oxydatif, car il est directement associé aux dommages des membranes lipidiques. Les résultats montrent une augmentation marquée du MDA dans l'hépatopancréas des escargots exposés aux concentrations M3 et M4 de la mixture ZnO NPs/Cd, par rapport au groupe témoin, suggérant que l'exposition à des concentrations plus élevées de ce mélange induit une accumulation notable de produits de peroxydation des lipides, ce qui reflète un stress oxydatif accru au niveau cellulaire. Cette

augmentation du MDA suit une tendance dose-dépendante, atteignant un pic pour la concentration M4. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Yousfi (2024)**, qui a observé une augmentation significative du MDA chez *Helix aspersa* exposé à divers biopesticides, notamment le bifenthrine, et des associations de traitements tels que le BF+HEO. L'élévation du MDA indique un stress oxydatif sévère dans l'hépatopancreas des escargots, suggérant que les radicaux libres produits par l'exposition à la mixture ZnO NPs/Cd causent des dommages importants aux membranes cellulaires, et que les défenses antioxydantes des escargots sont insuffisantes pour neutraliser ces radicaux. Cette interprétation est renforcée par des observations statistiques montrant des différences significatives entre les groupes exposés à M3 et M4 et le groupe témoin. Ces résultats soulignent l'impact toxique accru des nanoparticules de zinc et de cadmium, compromettant la stabilité des membranes lipidiques et pouvant affecter les fonctions physiologiques des escargots à long terme.

Au niveau du rein, une analyse similaire du taux de MDA dans les reins des escargots exposés à différentes concentrations de la mixture ZnO NPs/Cd révèle un effet plus marqué dans le groupe M5. En effet, une augmentation très significative du taux de MDA est observée dans ce groupe, ce qui témoigne d'un stress oxydatif élevé et de dommages aux lipides membranaires dans les reins des escargots. Cependant, les autres groupes (M1, M2, M3, M4) ne montrent pas d'augmentation significative du MDA par rapport au groupe témoin, indiquant que ces traitements n'ont pas induit de stress oxydatif détectable dans les reins des escargots. Ce résultat met en évidence une sensibilité particulière du rein à des concentrations plus élevées de la mixture ZnO NPs/Cd, ce qui est en accord avec les études de **Zeriri et al. (2012)**, qui ont rapporté une induction significative du MDA chez les vers de terre exposés au pesticide Métomyl. De plus, les résultats obtenus par **Dutta et al. (2012)** indiquent également une élévation des niveaux de MDA, corrélée à une production accrue de radicaux libres générée par l'illumination des nanoparticules d'oxyde de zinc. Ces données soulignent une relation dose-réponse dans l'effet toxique de la mixture sur les reins des escargots, avec un impact plus marqué à des concentrations élevées.

Le MDA est un produit des réactions de peroxydation lipidique qui se forme lorsque des lipides polyinsaturés sont attaqués par des espèces réactives de l'oxygène (ERO) générées dans certaines conditions de stress, particulièrement en présence de contaminants organiques et inorganiques. En accord avec **Bebianno et al. (2005)** et **Al-Mutairi et al. (2007)**, l'augmentation du taux de MDA est un indicateur de la peroxydation des lipides membranaires, ce qui entraîne la dégradation des structures membranaires et une perte de récepteurs et

d'enzymes membranaires (**Pampanin et al., 2005**). Des études précédentes, telles que celle de **Bouaricha (2013)** sur l'Emamectine benzoate, ont également observé une augmentation dose-dépendante du MDA dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa*, ce qui soutient nos résultats obtenus avec la mixture ZnO NPs/Cd. De plus, **Zeriri et al. (2012)** et **Dutta et al. (2012)** ont montré une élévation des niveaux de MDA chez les vers de terre exposés à des pesticides, ce qui est similaire à nos observations chez les escargots exposés aux nanoparticules de zinc et de cadmium.

Les résultats observés chez *Helix aspersa* traités avec la mixture ZnO NPs/Cd sont également en ligne avec les travaux de **Besnaci (2016)**, qui a constaté une augmentation significative du MDA dans l'hépatopancréas des escargots exposés aux nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3). De plus, l'étude de **Boucenna (2016)** soutient nos résultats, montrant une élévation du taux de MDA chez *Helix aspersa* exposé à des nanoparticules métalliques, ce qui renforce l'idée que la peroxydation lipidique est un phénomène universellement observé en réponse à l'exposition aux nanoparticules métalliques.

L'activité de la Glutathion S-Transférase (GST) constitue un biomarqueur clé de l'exposition à divers contaminants environnementaux, notamment les métaux lourds et les nanoparticules. En tant qu'enzyme essentielle dans les mécanismes de détoxification, la GST catalyse la conjugaison du glutathion réduit (GSH) à des substrats électrophiles, facilitant leur excrétion hors des cellules (**Hayes et Pulford, 1995; Solé et al., 2004; Salinas et Wong, 1999**). Cette enzyme joue également un rôle crucial dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et dans la régulation de l'équilibre redox (**Siritantikorn et al., 2007; Valko et al., 2006**).

Au niveau l'hépatopancréas les résultats obtenus dans cette étude montrent une diminution significative de l'activité GST dans l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* exposés aux traitements M3, M4 et M5 par rapport au groupe témoin. Cette réduction est particulièrement marquée dans les groupes M4 et M5, confirmant un effet dose-dépendant du mélange ZnO NPs/Cd. En revanche, aucune modification significative n'a été observée dans les groupes M1 et M2, suggérant que ces concentrations n'induisent pas de stress oxydatif mesurable dans les conditions expérimentales.

Ces observations corroborent les travaux de **Hui-zhe (2015)** qui a rapporté une diminution de l'activité GST dans l'hépatopancréas d'*Anodonta woodiana woodiana* exposé à des concentrations croissantes de cadmium, ainsi que ceux de **Torres et Mason (2002)** qui ont observé une inhibition de l'activité GST chez *Helix aspersa* exposés à des polluants organiques. **Atailia (2016)** a également noté une réduction dose-dépendante de l'activité GST chez des

escargots soumis à des poussières métalliques, confirmant ainsi le rôle de cette enzyme comme indicateur de stress oxydatif.

D'autres études, telles que celles de **Borkovic et al. (2013)** sur des mollusques bivalves exposés aux métaux lourds, attribuent cette inhibition de l'activité GST à la production accrue de ROS, réduisant ainsi les niveaux de GSH. De plus, **Roling et Baldwin (2006)** suggèrent que l'inhibition de la GST pourrait également résulter d'interactions avec les facteurs de transcription nucléaires (NF-kB, AP-1).

Dans les reins, une diminution significative de l'activité de la GST a été observée pour tous les traitements (M1 à M5), avec une réduction plus prononcée dans les groupes M4 et M5. Cette tendance dose-dépendante reflète une perturbation des mécanismes de détoxification et une susceptibilité accrue aux dommages oxydatifs. Ces résultats sont en accord avec les observations de **Radwan et Mohamed (2013)** qui ont rapporté une induction de l'activité GST chez *Theba pisana* exposé à un pesticide carbamate, ainsi qu'avec les travaux de **Grara et al. (2009)** et **Belhaouchet et al. (2012)** sur *Helix aspersa* exposés à des pesticides et des métaux lourds.

Les diminutions de l'activité GST observées dans cette étude concordent également avec celles rapportées par **Ugokwe et al. (2020)** et **Radwan et al. (2024)**, où l'exposition aux métaux lourds et aux nanoparticules a entraîné une inhibition enzymatique et une augmentation du stress oxydatif. Par ailleurs, **Ma et al. (2014)** ont démontré que la toxicité des liquides ioniques à chaîne alkyle plus longue provoque un stress oxydatif accru chez *Physa acuta*, confirmant la nature dose-dépendante des réponses antioxydantes.

Ces résultats s'alignent avec ceux de **Torres et al. (2002)** et **Gagné et al. (2006)**, qui ont montré une induction de l'activité GST chez des moules exposées aux métaux lourds. Cependant, ils divergent des observations de **Canesi et al. (1999)** et **Ait Hamlet et al. (2014)**, qui ont rapporté une induction de la GST chez des mollusques dans des environnements contaminés. Cette variabilité pourrait être attribuée à des différences d'espèces, de conditions environnementales, ou de mécanismes cellulaires propres aux polluants étudiés.

Enfin, **Abdel-Azeem & Osman (2021)** rappellent que l'hépatopancréas, en tant qu'organe majeur de la détoxification, est particulièrement vulnérable aux dommages causés par les contaminants. Nos résultats montrent clairement que les mélanges ZnO NPs/Cd, particulièrement aux concentrations élevées, altèrent de manière significative l'activité GST, confirmant son rôle central dans les réponses au stress oxydatif et la toxicité environnementale.

L'inhibition dose-dépendante de l'activité GST dans l'hépatopancréas et les reins des escargots *Helix aspersa* souligne l'impact toxique du mélange ZnO NPs/Cd, en accord avec les travaux de **Vrankovic et al. (2012)** et **Wu et al. (2023)**. Cette étude renforce le rôle de la GST comme biomarqueur sensible et met en évidence la nécessité d'évaluer l'effet des nanoparticules dans un contexte environnemental élargi.

L'activité de la catalase (CAT) dans l'hépatopancréas et le rein des escargots *Helix aspersa* sous l'influence de la mixture ZnO NPs/Cd a montré une diminution significative et dose-dépendante pour toutes les concentrations testées. Dans l'hépatopancréas, l'analyse statistique a révélé des différences très hautement significatives pour les concentrations élevées (M3, M4, M5) et significatives pour les concentrations plus faibles (M1, M2) par rapport au témoin. De manière similaire, au niveau du rein, une diminution significative de l'activité CAT a été observée, avec une différence très hautement significative pour M2, M3, M4, et M5 et significative pour M1. Ces résultats suggèrent une inhibition enzymatique croissante avec l'augmentation de la dose, particulièrement marquée pour les concentrations les plus élevées. Ces observations confirment que la catalase, enzyme clé de détoxification qui catalyse la conversion du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire, est fortement affectée en présence de la mixture ZnO NPs/Cd. La diminution de l'activité enzymatique expose les cellules à une accumulation de H_2O_2 , renforçant ainsi le stress oxydatif cellulaire.

Les résultats obtenus dans notre étude sont cohérents avec ceux rapportés par **Sturm et al. (2000)**, qui ont démontré que l'inhibition ou l'induction des biomarqueurs in vivo, tels que la catalase, est un indicateur sensible de l'exposition aux xénobiotiques. De même, **Livingstone (2001)** a identifié la catalase comme l'un des biomarqueurs les plus sensibles au stress oxydatif. Ces résultats sont également en accord avec les travaux de **Yousfi (2024)**, qui ont signalé une diminution très hautement significative de l'activité catalase dans des lots traités par des produits chimiques inducteurs de stress oxydatif, notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les PCB et certains pesticides.

L'inhibition observée dans notre étude est également soutenue par les travaux de **Pellerin-Massicotte (1994)** et **Pellerin-Massicotte et al. (1997)**, qui ont proposé que l'activité catalase est sensible aux variations subtiles des conditions environnementales, qu'elles soient naturelles ou anthropiques. En revanche, des études telles que celles de **Diguilio et al. (1993)** et **Labrot et al. (1996)** ont montré des réponses variables de l'activité CAT, tantôt augmentée, tantôt diminuée, en fonction des facteurs environnementaux.

L'impact des nanoparticules sur l'activité CAT a également été rapporté par **Siddiqui et al. (2015)**, qui ont observé une diminution de l'activité catalase dans des fibroblastes de souris exposés à des nanoparticules de molybdène (Mo-NPs). Ce stress oxydatif, associé à une réduction du potentiel membranaire mitochondrial (MMP), indique un lien possible entre l'activité mitochondriale et la toxicité des nanoparticules. De plus, les études de **Barata et al. (2005)** ont mis en évidence une induction des activités antioxydantes, y compris la catalase et la superoxyde dismutase (SOD), chez *Daphnia magna* en réponse au cadmium et au cuivre, démontrant des réponses pro- et antioxydantes dépendantes de la capacité de ces métaux à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Concernant les effets spécifiques des nanoparticules de ZnO, **Pei et al. (2023)** et **Al-Ragi et al. (2024)** ont rapporté des altérations biochimiques et histologiques dose-dépendantes, tandis que **El-Refai et al. (2024)** ont souligné leur impact systémique sur divers marqueurs de stress oxydatif et enzymes hépatiques. De plus, **Fahmy et al. (2014)** ont démontré que les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) inhibent également l'activité CAT, confirmant que la nature des nanoparticules influence leur toxicité. Enfin, des études antérieures, telles que celles de **Bo et al. (2007)**, ont montré une réponse biphasique de l'activité CAT en présence de cadmium, avec une augmentation initiale suivie d'une diminution à des concentrations plus élevées, indiquant une incapacité des systèmes enzymatiques à compenser les dommages oxydatifs au-delà d'un certain seuil.

L'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les adultes d'*Helix aspersa*, mesurée dans les groupes témoins et ceux traités par la mixture ZnO NPs/Cd, montre une inhibition significative de cette enzyme dès la concentration M1, et cette inhibition devient très hautement significative pour les concentrations M2, M3, M4 et M5. L'effet est clairement dose-dépendant, avec une inhibition marquée de l'AChE, qui atteint son maximum au traitement M5. Cette inhibition, observée à des concentrations croissantes de ZnO NPs/Cd, suggère une perturbation de la transmission nerveuse, en raison de l'accumulation d'acétylcholine dans les synapses, ce qui peut entraîner des troubles neurologiques. Ce phénomène est cohérent avec les observations de **Bocquené (1996)**, qui ont montré que l'inhibition de l'AChE provoque une accumulation d'acétylcholine dans l'espace synaptique, entraînant une transmission nerveuse permanente et la mort de l'individu. Ce marqueur de l'inhibition de l'AChE est utilisé pour évaluer l'exposition à divers contaminants, notamment les métaux lourds et certains produits phytosanitaires (**Salmi, 2018**).

Les résultats observés dans notre étude sont en accord avec ceux de **Salmi (2018)**, qui a montré une diminution progressive de l'activité de l'AChE après exposition à différentes concentrations de Novaluron, CdSe et leurs mélanges. Des travaux antérieurs, comme ceux de **Coeurdassier et al. (2001)**, **Salama et al. (2005)**, **Radwan et al. (2008)** et **Bouaricha (2013)**, ont également mis en évidence une inhibition de l'activité de l'AChE après exposition de *Helix aspersa* à des pesticides. L'inhibition de l'AChE induit une accumulation toxique d'acétylcholine au niveau des synapses, entraînant une surstimulation des récepteurs muscariniques et nicotiniques, ce qui peut conduire à des troubles comportementaux et à une inhibition de la croissance chez les escargots (**Bouaricha, 2013 et Salmi, 2018**).

Nos résultats sont également soutenus par les travaux de **Wang et al. (2009)**, qui ont démontré que différents types de nanoparticules (NP) possédaient des propriétés neurotoxiques, et l'AChE a été proposé comme biomarqueur pour évaluer ces effets. Par exemple, **Gomes et al. (2011)** ont observé une inhibition de l'AChE après 15 jours d'exposition des *M. galloprovincialis* aux CuO NP, tandis que **Zhao et al. (2011)** ont rapporté une inhibition de l'activité du cholinestérase chez les juvéniles de *Cyprinus carpio* exposés aux CuO NP, suggérant également leur potentiel neurotoxique. Des études menées sur des mammifères, des poissons et des invertébrés ont également signalé une inhibition de l'AChE par des métaux, dont le cadmium (**Schmidt & Ibrahim, 1994**). Par ailleurs, **Trielli et al. (2006)** ont observé une inhibition progressive de l'activité de l'AChE sous l'effet de composés organophosphorés sur des protistes terrestres, attribuée à des phénomènes d'oxydation et à la formation de ponts disulfures en réponse à la libération de radicaux libres.

L'effet neurotoxique observé dans notre étude s'inscrit également dans la lignée des travaux de **Coeurdassier et al. (2001)**, qui ont documenté une diminution de l'activité de l'AChE chez les escargots exposés aux organophosphorés, notamment le Diméthoate. Une inhibition similaire de l'AChE a été observée par **Belhaouchet (2012)** chez *Helix aspersa* traité par le biopesticide Spinosad, et par Radwan et **Salama (1999)**, qui ont identifié des pesticides carbamates tels que le méthomyl et le thiodicarbe comme de puissants inhibiteurs de l'AChE chez les escargots. Ces observations sont également corroborées par **Bourbia-Aït Hamlet (2013)**, qui a observé que des pesticides comme le thiaméthoxam et la téfluthrine, ainsi que leurs mixtures, inhibent significativement l'activité spécifique de l'AChE chez *Helix aspersa*. Ces données soulignent l'importance de l'AChE en tant que biomarqueur pour évaluer les effets neurotoxiques induits par les contaminants environnementaux.

L'AChE joue un rôle crucial dans l'inactivation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur essentiel pour la transmission synaptique. L'inhibition de l'AChE entraîne l'accumulation de l'acétylcholine dans les synapses cholinergiques, perturbant ainsi la transmission du signal et bloquant la synapse (Yousfi, 2024). L'inhibition de l'AChE est ainsi un indicateur spécifique de l'exposition aux nanoparticules et aux métaux lourds. Enfin, des travaux menés sur des invertébrés ont également mis en évidence l'existence de motoneurones cholinergiques et de récepteurs spécifiques à l'acétylcholine, ce qui souligne l'importance de l'AChE dans ces organismes (Weiss et al., 1993). Cela peut entraîner des dommages aux lipides membranaires et à l'ADN, aggravant ainsi les effets neurotoxiques et physiologiques. De telles observations ont également été rapportées par Aschner et al. (2024) et Shabir et al. (2023), qui ont documenté un stress oxydatif accru et une neuroinflammation chez des modèles exposés à des nanoparticules de ZnO.

2.4. Conclusion :

Cette étude démontre que l'exposition des escargots *Helix aspersa* à une mixture de nanoparticules d'oxyde de zinc et de cadmium induit des altérations métaboliques significatives, principalement via l'induction de stress oxydatif. Les variations des biomarqueurs de stress, tels que le glutathion réduit (GSH), le malondialdéhyde (MDA) et les protéines totales, indiquent une réponse dose-dépendante aux contaminants, avec des effets particulièrement marqués à des concentrations élevées. Les résultats révèlent une activation des mécanismes antioxydants, qui, bien que mobilisés, s'avèrent insuffisants pour compenser les dommages causés par les radicaux libres, en particulier dans les tissus sensibles tels que l'hépatopancréas et les reins.

L'inhibition dose-dépendante de l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST), de la catalase (CAT) et de l'acétylcholinestérase (AChE) souligne l'altération des systèmes de détoxification et de défense antioxydante, ainsi que des perturbations neurologiques, traduisant une incapacité des systèmes biologiques à compenser les effets toxiques cumulés. Ces observations confirment non seulement la sensibilité des escargots *Helix aspersa* aux nanoparticules de ZnO et au cadmium, mais également la pertinence de ces biomarqueurs pour l'évaluation de la toxicité environnementale.

Les résultats obtenus concordent avec les travaux antérieurs et mettent en lumière l'impact combiné des nanoparticules et des métaux lourds sur les organismes terrestres. Ils confirment le potentiel des escargots *Helix aspersa* comme modèles biologiques pour l'évaluation des contaminants environnementaux. De plus, cette étude souligne l'importance de l'utilisation de

biomarqueurs dans l'analyse des effets des nanoparticules et appelle à des réglementations plus strictes concernant leur usage, en raison de leurs impacts néfastes sur les écosystèmes terrestres.

Effets
Histopathologi
ques de la
Mixture
ZnO NPs/Cd
sur *Helix*
aspersa

3. Effets Histopathologiques de la Mixture ZnO NPs/Cd sur *Helix aspersa* :

3.1. Observations des coupes histologiques de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* :

Chez les escargots *Helix aspersa*, l'hépatopancréas occupe une partie importante de la masse viscérale et se compose de deux lobes reliés au mésentéron par un canal hépatopancréatique. Ces lobes sont entourés d'un tissu conjonctif associé à des fibres musculaires lisses formant une enveloppe. Ils sont constitués d'une multitude de tubules digestifs de formes et tailles variées, séparés par un espace intertubulaire contenant des sinus, des hémocytes hémolympatiques et une couche musculaire circulaire entourant chaque tubule. L'épithélium de ces tubules est constitué de plusieurs types cellulaires formant la lumière tubulaire. Trois types principaux de cellules sont identifiés : les cellules digestives, les cellules à calcium et les cellules excrétrices. Les cellules digestives, qui sont les plus abondantes, présentent une morphologie variable selon le stade de digestion (Heusser et Dupuy, 2011), tandis que les cellules à calcium et excrétrices sont moins nombreuses (Zaldibar *et al.*, 2008) (Fig 51).

Après 28 jours d'exposition aux cinq concentrations de mélanges ZnO NPs/Cd (M1 à M5), un examen microscopique des coupes histologiques de l'hépatopancréas a révélé des modifications tissulaires d'intensité variable et dose-dépendante. À la concentration M1 (Fig 52), un rétrécissement de la lumière tubulaire des acini avec un contour irrégulier ainsi qu'une altération de la membrane basale ont été observés. Pour la concentration M2 (Fig 53), des regroupements des tubules ont été notés en raison du rétrécissement de la lumière, accompagnés d'une rupture de la membrane basale des tubules, d'une dégénérescence des cellules digestives et de l'apparition d'infiltrats inflammatoires. Aux concentrations M3 (Fig 54) et M4 (Fig 55), les altérations étaient similaires mais plus marquées, incluant une dégénérescence accrue des cellules digestives, une rupture prononcée de la membrane basale, une quasi-obstruction des lumières tubulaires, une dégradation sévère du tissu conjonctif et l'apparition de structures cellulaires nécrosées accompagnées d'infiltrats inflammatoires. Enfin, à la concentration la plus élevée (M5) (Fig 56), les dommages étaient les plus graves, avec une destruction sévère du tissu conjonctif, des tubules digestifs et de leurs membranes, une dégénérescence avancée des cellules digestives et des cellules à calcium, ainsi qu'une inflammation intense marquée par des infiltrats inflammatoires.

Ces résultats mettent en évidence une progression dose-dépendante des effets histopathologiques induits par les mixtures ZnO NPs/Cd sur l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa*.

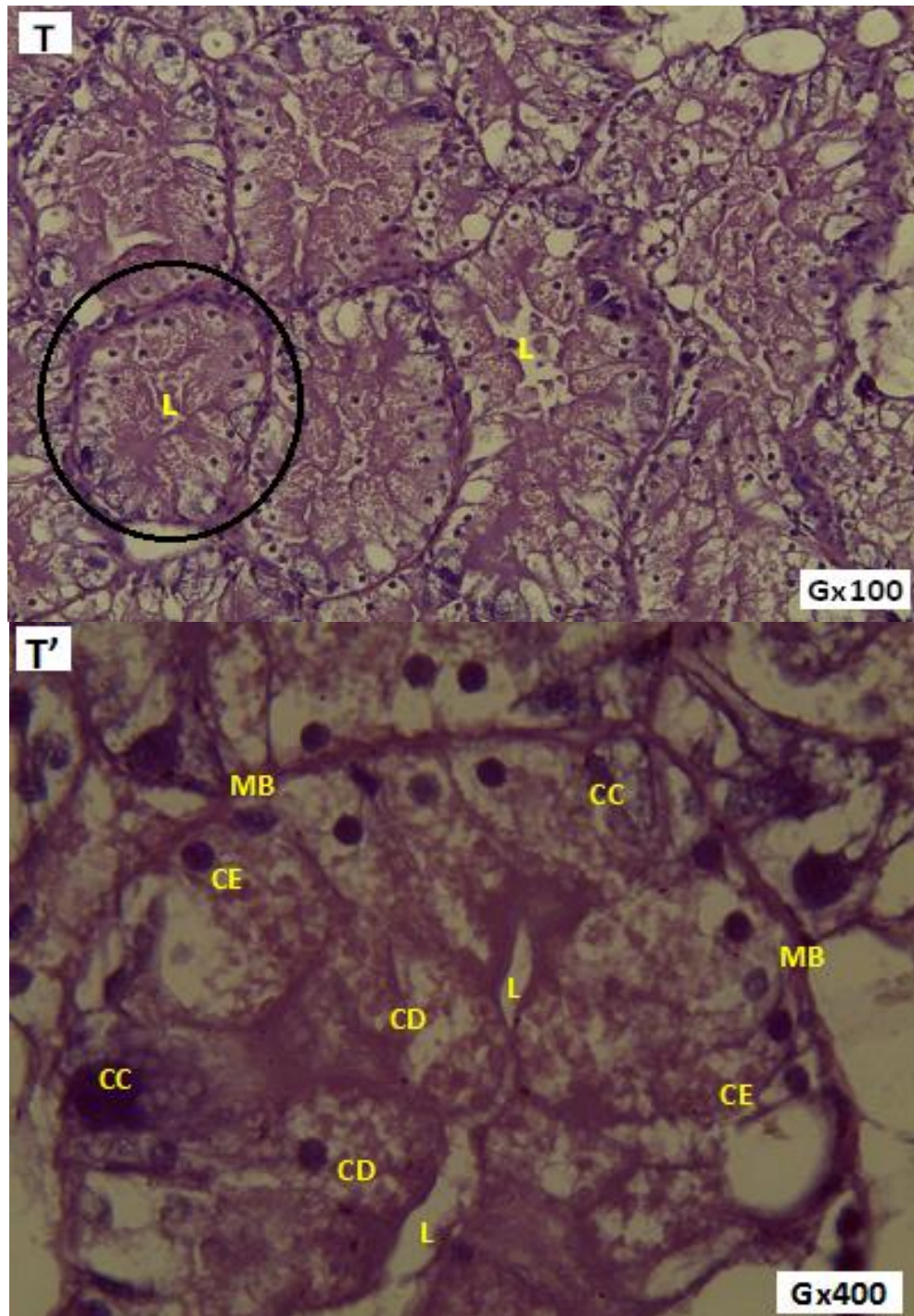


Figure 51. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'escargots *Helix aspersa* témoins. Les cellules digestives (CD), les cellules excrétoires (CE), les cellules à calcium (CC), la lumière des acini (L), membrane basale (MB) et, en cerclé, un tubule digestif. (T) Escargots témoins (grossissement $\times 100$), (T') Escargots témoins (grossissement $\times 400$).

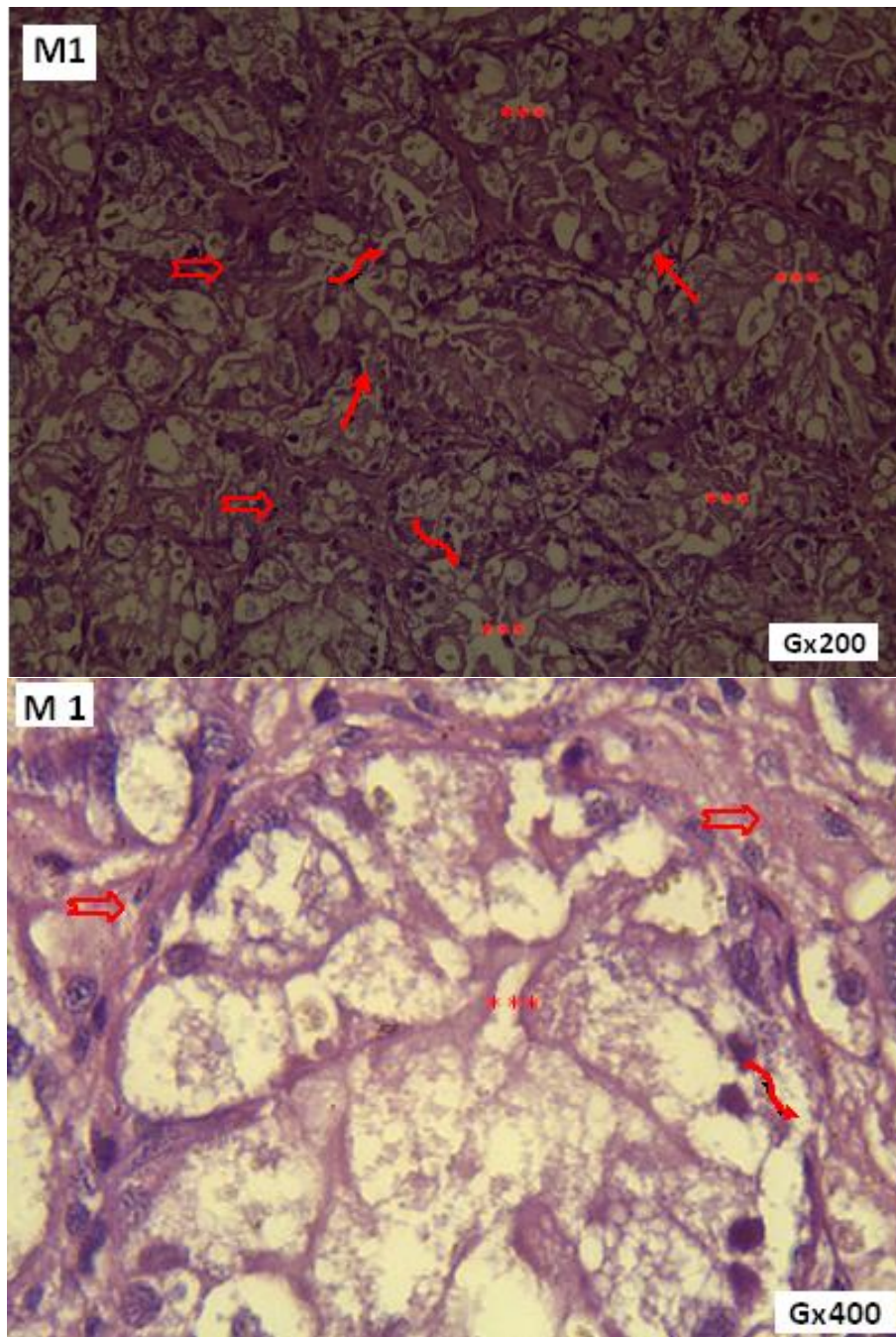


Figure 52. Coupes histologiques de l'hépatopancreas d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M1) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière, \nearrow Contour irrégulier de l'acini, \sim altération de la membrane basale, \Rightarrow infiltrat inflammatoire, \star Dégénérescences des cellules, ∇ nécrose, \diamond Débris cellulaires. (M1) mixture 01 (grossissement $\times 200$), (M1') mixture 01 (grossissement $\times 400$)

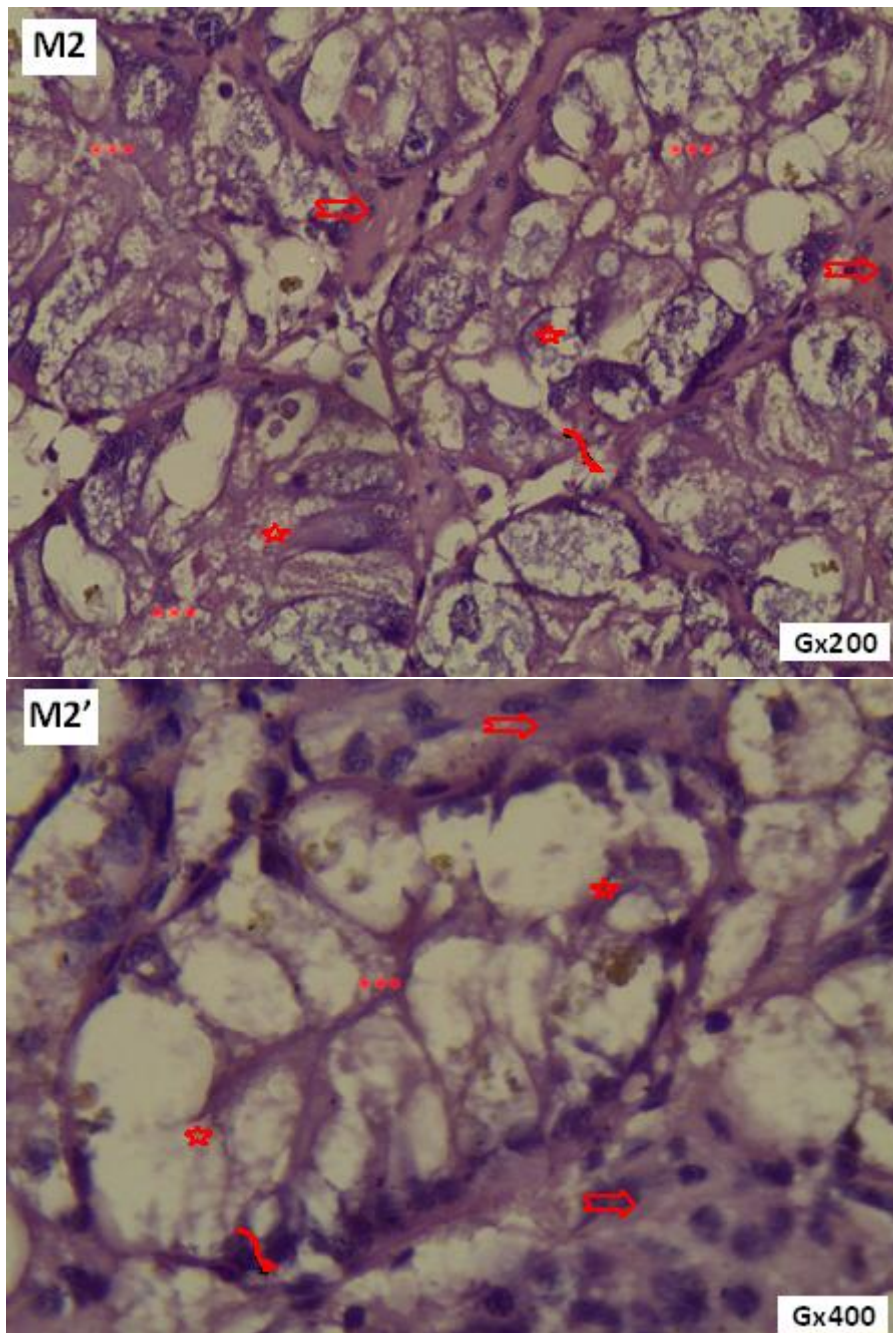


Figure 53. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière, \nearrow Contour irrégulier de l'acini, \lrcorner altération de la membrane basale, \Rightarrow infiltrat inflammatoire, \star Dégénérescences des cellules, ∇ nécrose, \diamond Débris cellulaires. (M2) mixture 02 (grossissement $\times 200$), (M2') mixture 02 (grossissement $\times 400$)

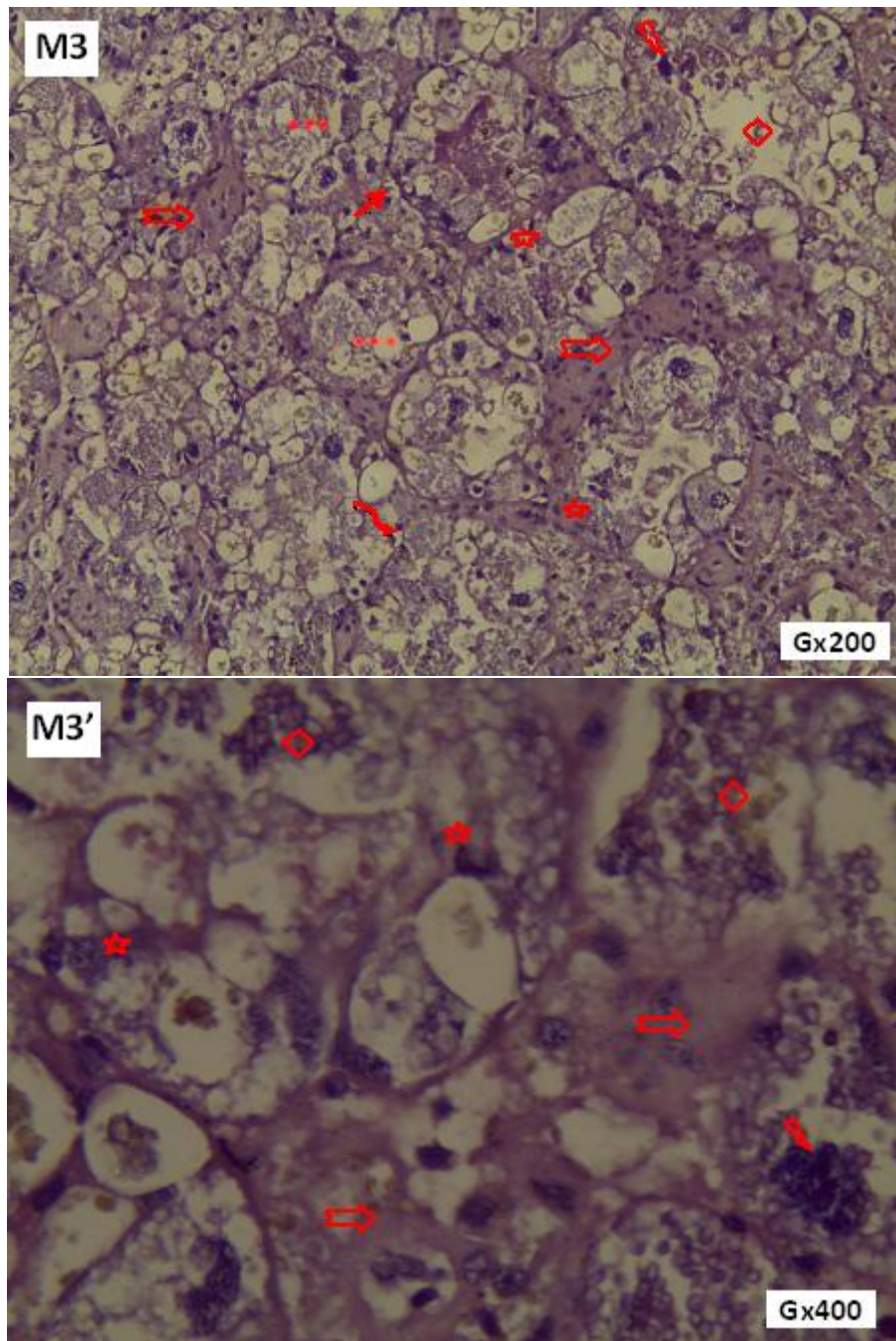








Figure 54. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M3) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini,  altération de la membrane basale,  infiltrat inflammatoire,  Dégénérescences des cellules,  nécrose,  Débris cellulaires. (M3) mixture 03 (grossissement $\times 200$), (M3') mixture 03 (grossissement $\times 400$)

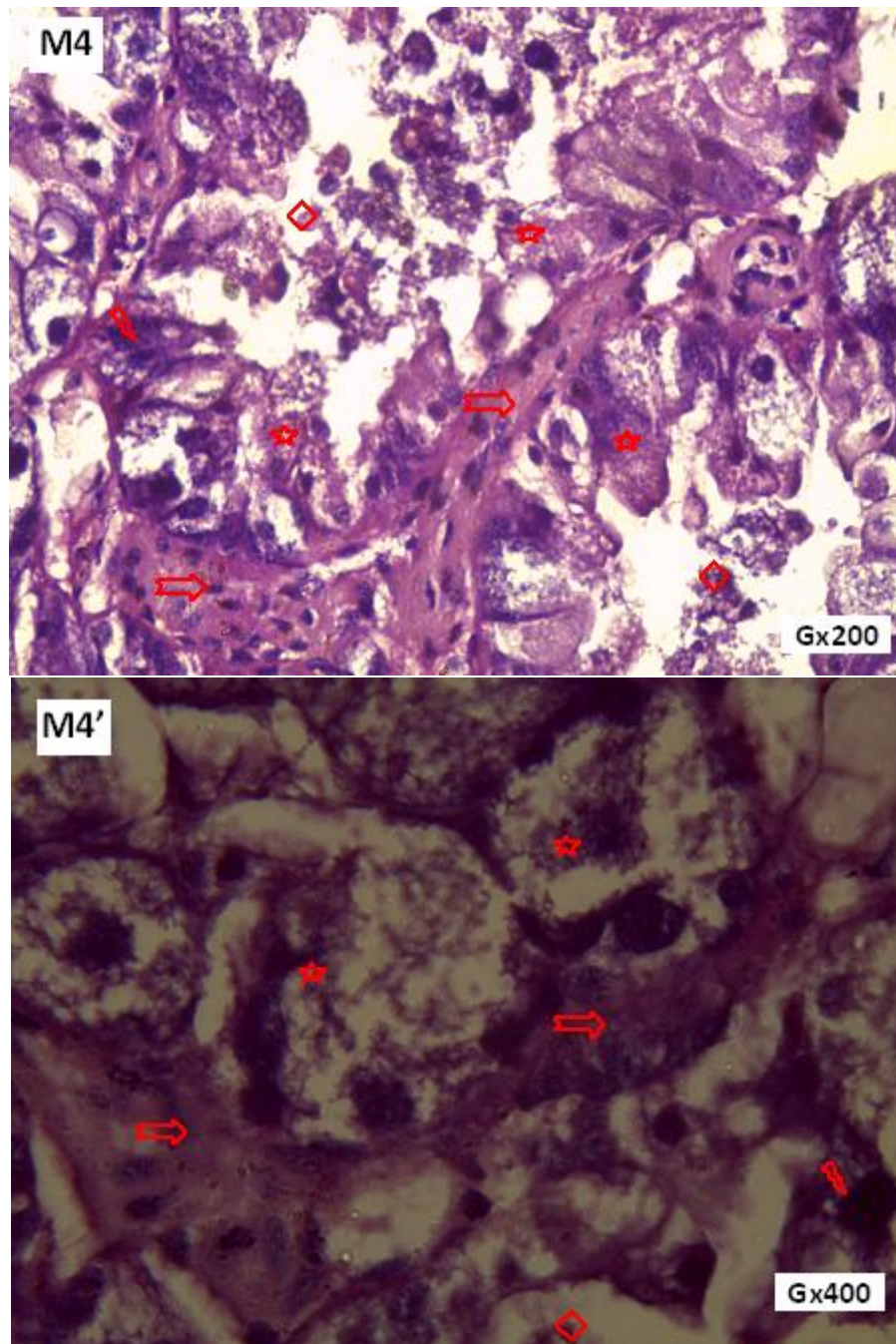







Figure 55. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M4) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini,  altération de la membrane basale,  infiltrat inflammatoire,  Dégénérescences des cellules, nécrose,  Débris cellulaires. (M4) mixture 04 (grossissement $\times 200$), (M4') mixture 04 (grossissement $\times 400$).

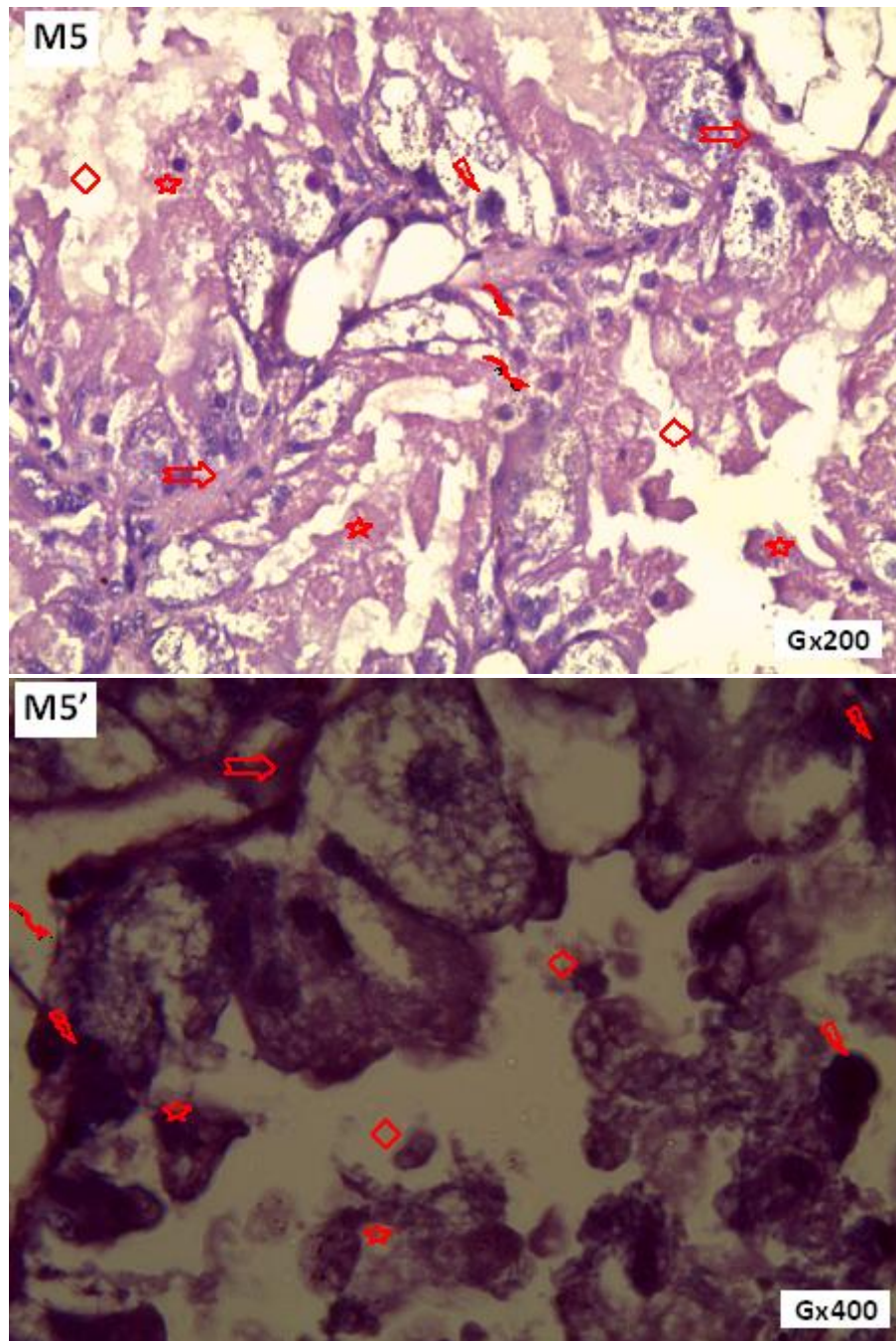








Figure 56. Coupes histologiques de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M5) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini,  altération de la membrane basale,  infiltrat inflammatoire,  Dégénérescences des cellules,  nécrose,  Débris cellulaires. (M5) mixture 05 (grossissement $\times 200$), (M5') mixture 05 (grossissement $\times 400$)

3.2. Observations des coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* :

Le rein des escargots est constitué d'un épithélium excréteur tapissé de lamelles rénales, elles-mêmes formées de lamelles conjonctives creuses et d'un sinus sanguin doté de fibres musculaires lisses. Cet épithélium est composé de cellules prismatiques munies d'une bordure en brosse. Il renferme un seul type de cellules excrétrices, qui présentent un noyau et une membrane granulaire. Ces cellules excrétrices se déclinent en deux formes principales : les cellules en bâtonnet, qui sont les plus nombreuses, et les cellules ciliées (**Chabicoovsky et al., 2003**). La production de l'urine primitive est assurée par les néphrocytes, qui réalisent l'ultrafiltration de l'hémolymphe circulant dans les lacunes des axes conjonctifs soutenant les replis de la paroi rénale. Ces néphrocytes produisent également des concrétions à partir des molécules prélevées dans l'hémolymphe, sous forme de dépôts de couches concentriques d'acide urique et de lipides autour d'un noyau d'urate de calcium. Ces concrétions, élaborées au sein des vacuoles, sont ensuite expulsées dans la lumière rénale (**Heusser et Dupuy, 2011**). L'aspect normal du tissu rénal chez les escargots témoins est illustré dans la **figure (57)**.

Après 28 jours d'exposition aux mixtures ZnO NPs/Cd, un examen histologique du rein des escargots a révélé des modifications dose-dépendantes. Chez les escargots exposés aux concentrations M1 (**Fig 58**) et M2 (**Fig 59**), un contour irrégulier des acini a été observé, accompagné d'un rétrécissement de la lumière et d'une hypertrophie des cellules excrétrices (néphrocytes). Pour les concentrations M3 (**Fig 60**), M4 (**Fig 61**) et M5 (**Fig 62**), des altérations plus marquées ont été notées, caractérisées par une atteinte globale du tissu rénal. Ces modifications incluaient l'apparition de foyers de nécroses, une hypertrophie et une dégénérescence des cellules excrétrices, ainsi qu'une prolifération excessive du tissu conjonctif, engendrant la disparition de la membrane des tubules. Ces altérations ont conduit à la présence de débris cellulaires à travers l'ensemble du tissu rénal et à une nécrose cellulaire généralisée.

Ces observations confirment l'impact toxique des mixtures ZnO NPs/Cd sur la structure et la fonction du rein des escargots *Helix aspersa*, avec des dommages croissants en fonction des concentrations.

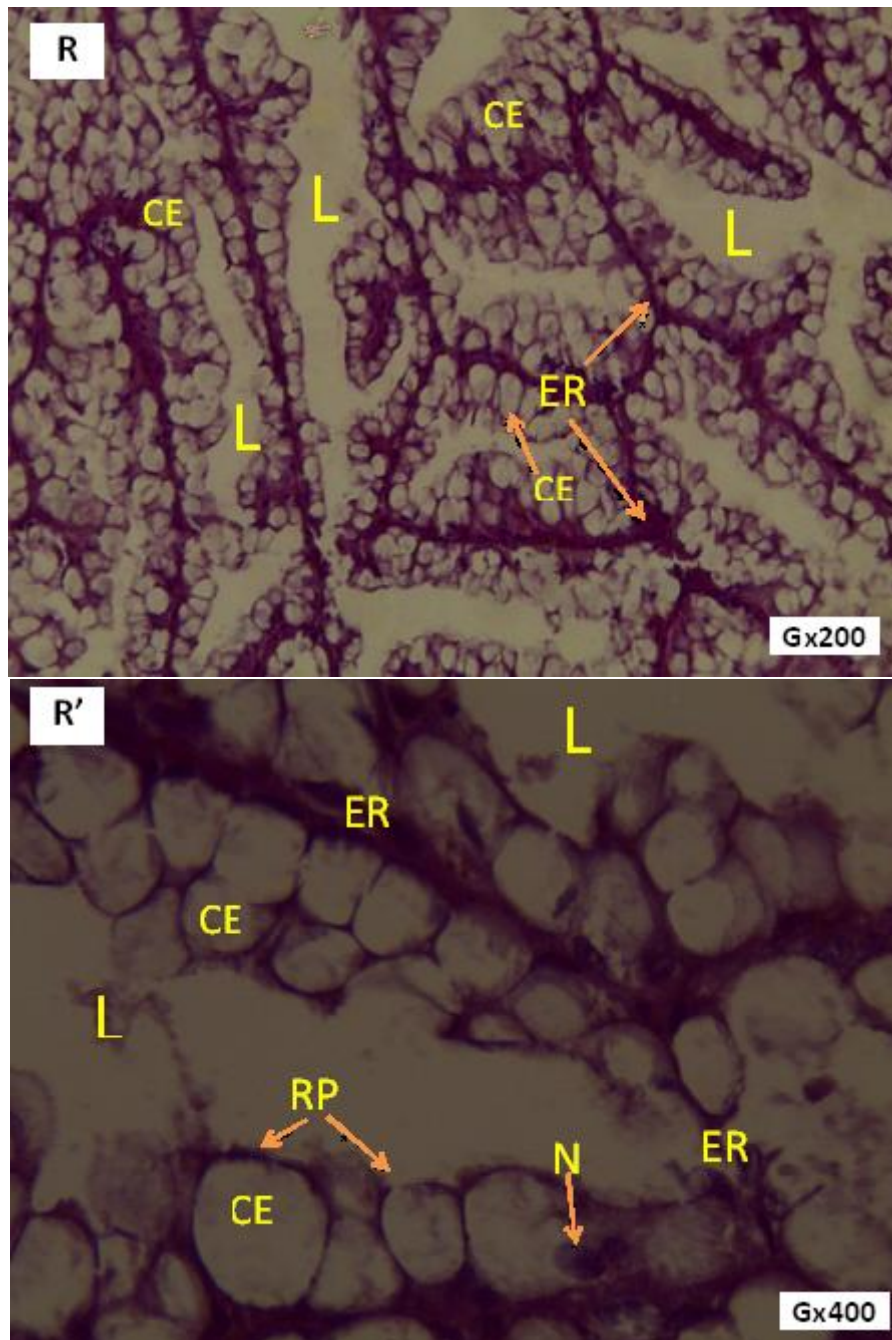


Figure 57. Coupes histologiques du rein d'escargots *Helix aspersa* témoins.

Épithélium rénal (ER), les cellules excrétoires (néphrocyte) (CE), la lumière des acini (L), noyau (N), repli de la paroi (RP), (R) Escargots témoins (grossissement $\times 100$), (R') Escargots témoins (grossissement $\times 400$).

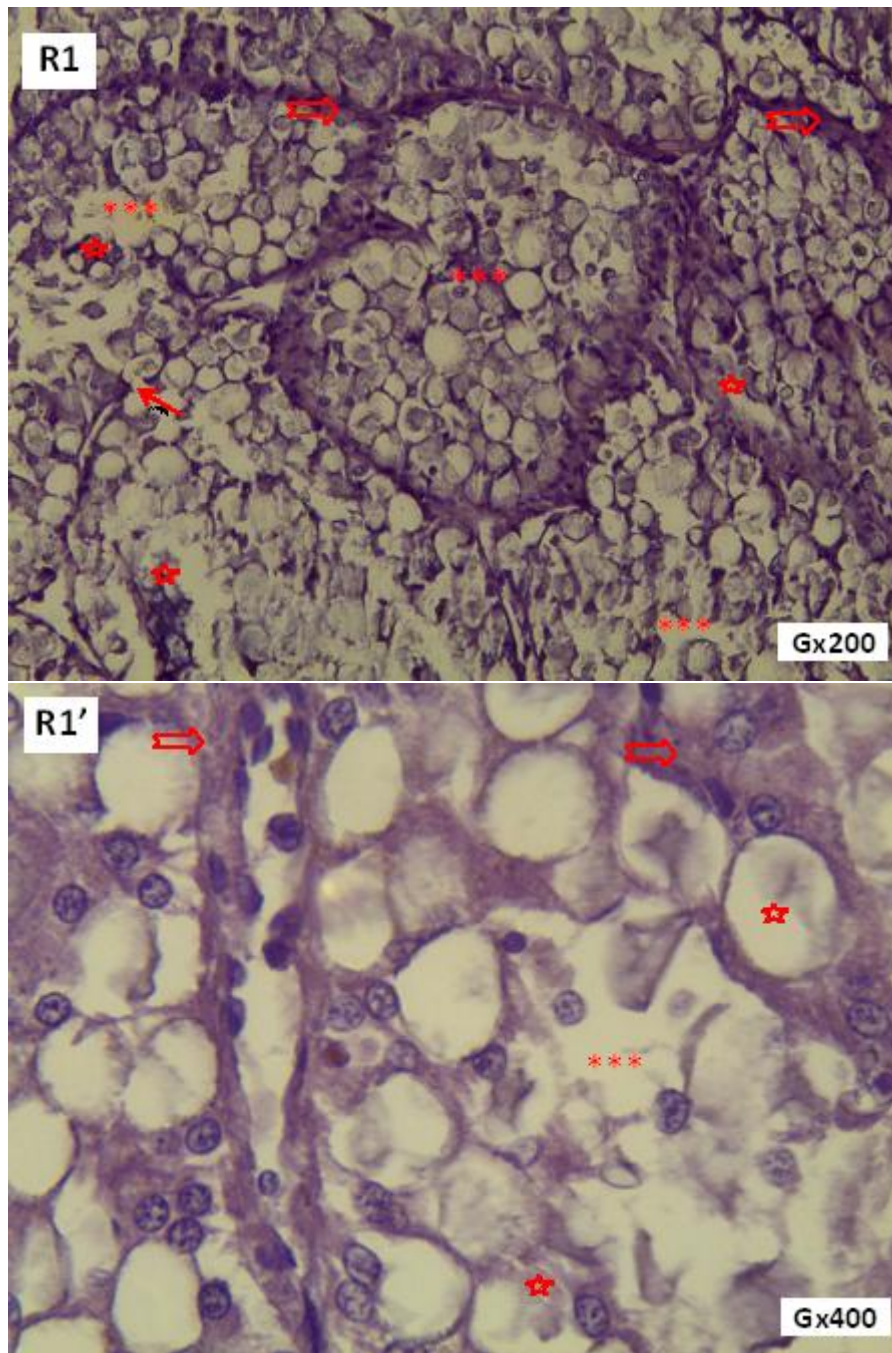







Figure 58. Coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini  infiltrat inflammatoire,  hypertrophies cellulaires,  nécrose,  Débris cellulaires. (R1) mixture 01 (grossissement $\times 200$), (R1') mixture 01 (grossissement $\times 400$).

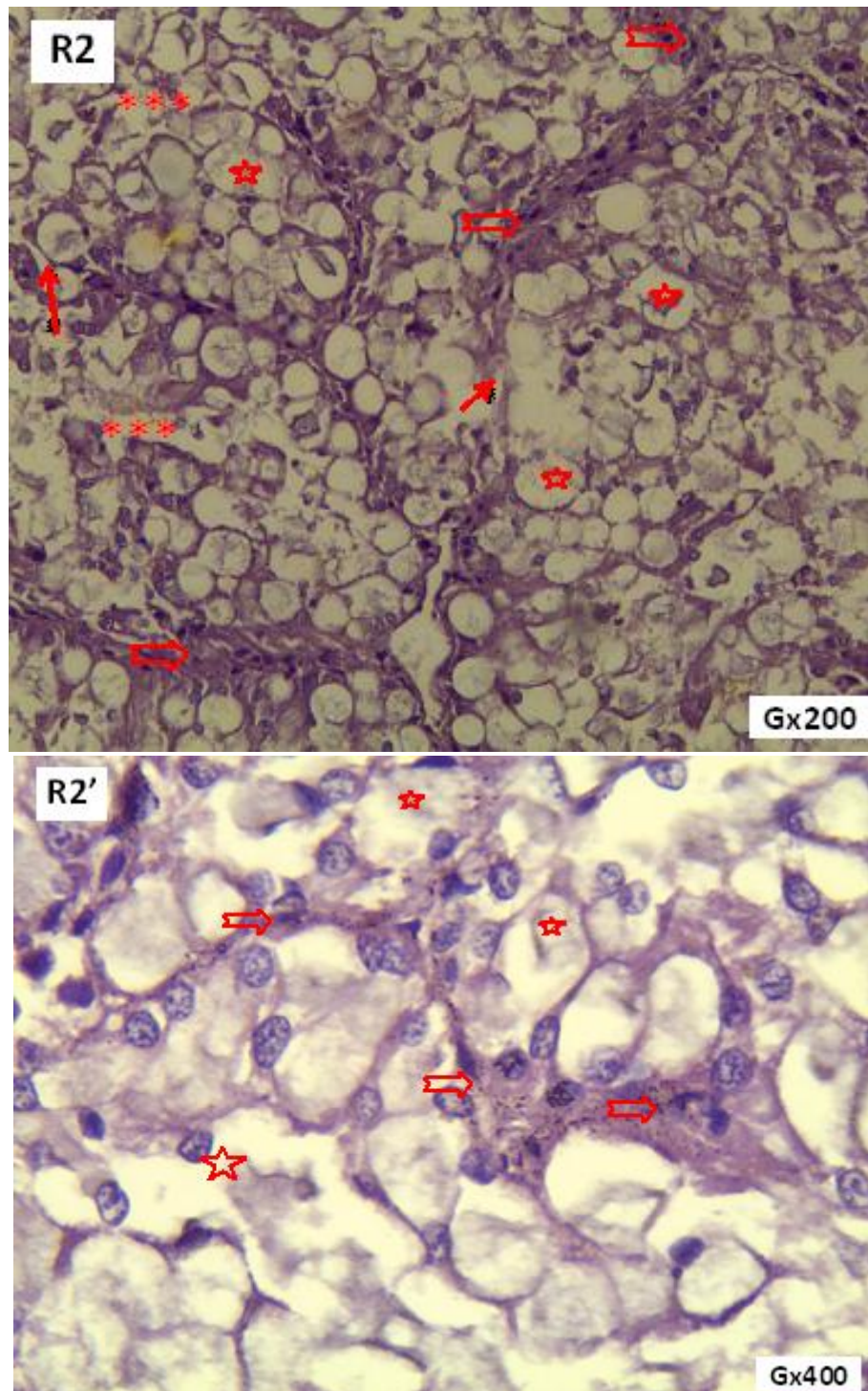







Figure 59. Coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M2) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini  infiltrat inflammatoire,  hypertrophies cellulaires,  nécrose,  Débris cellulaires. (R2) mixture 02 (grossissement $\times 200$), (R2') mixture 02 (grossissement $\times 400$).

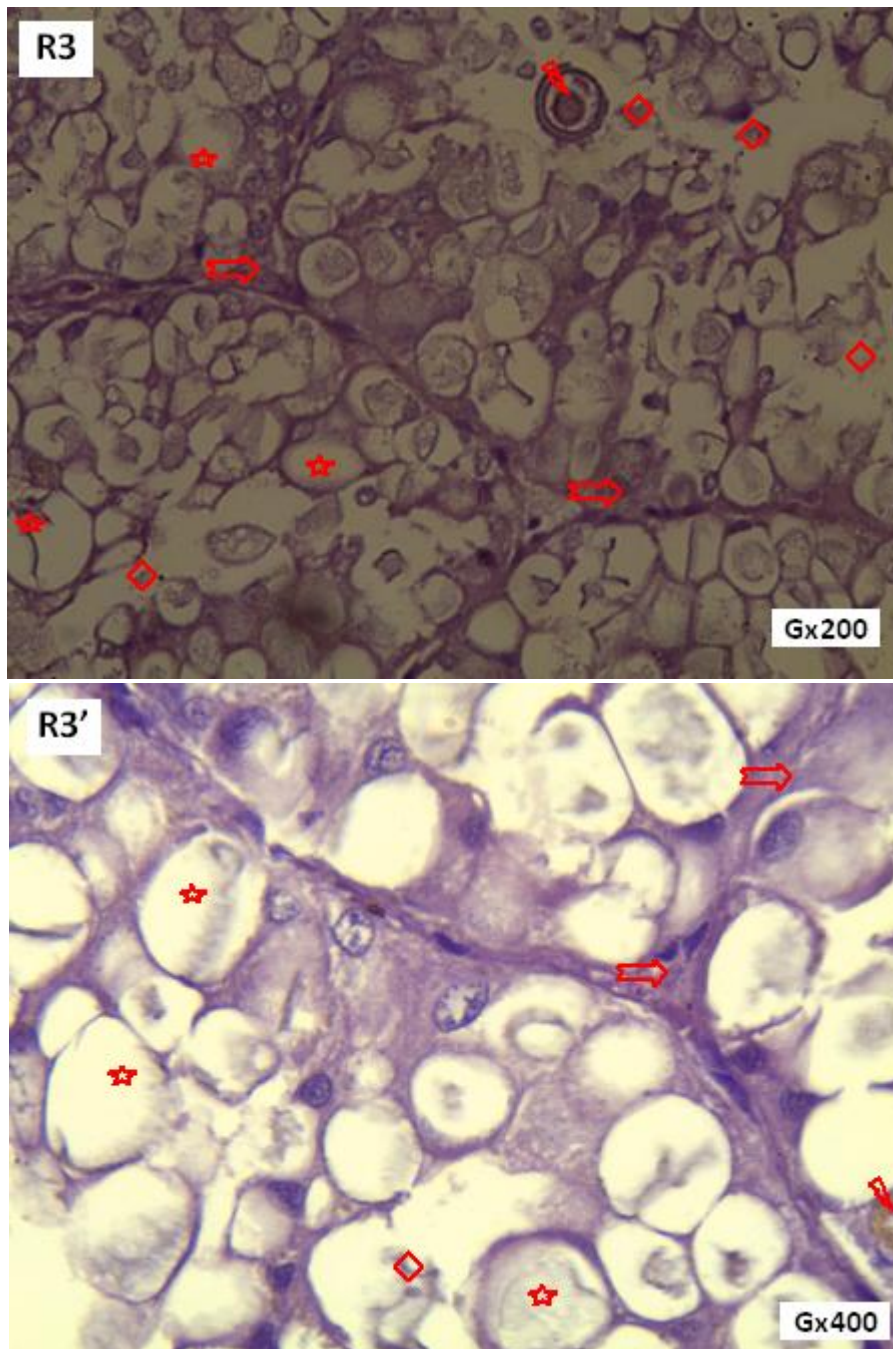







Figure 60. Coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M3) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini  infiltrat inflammatoire,  hypertrophies cellulaires,  nécrose,  Débris cellulaires. (R3) mixture 03 (grossissement $\times 200$), (R3') mixture 03 (grossissement $\times 400$).

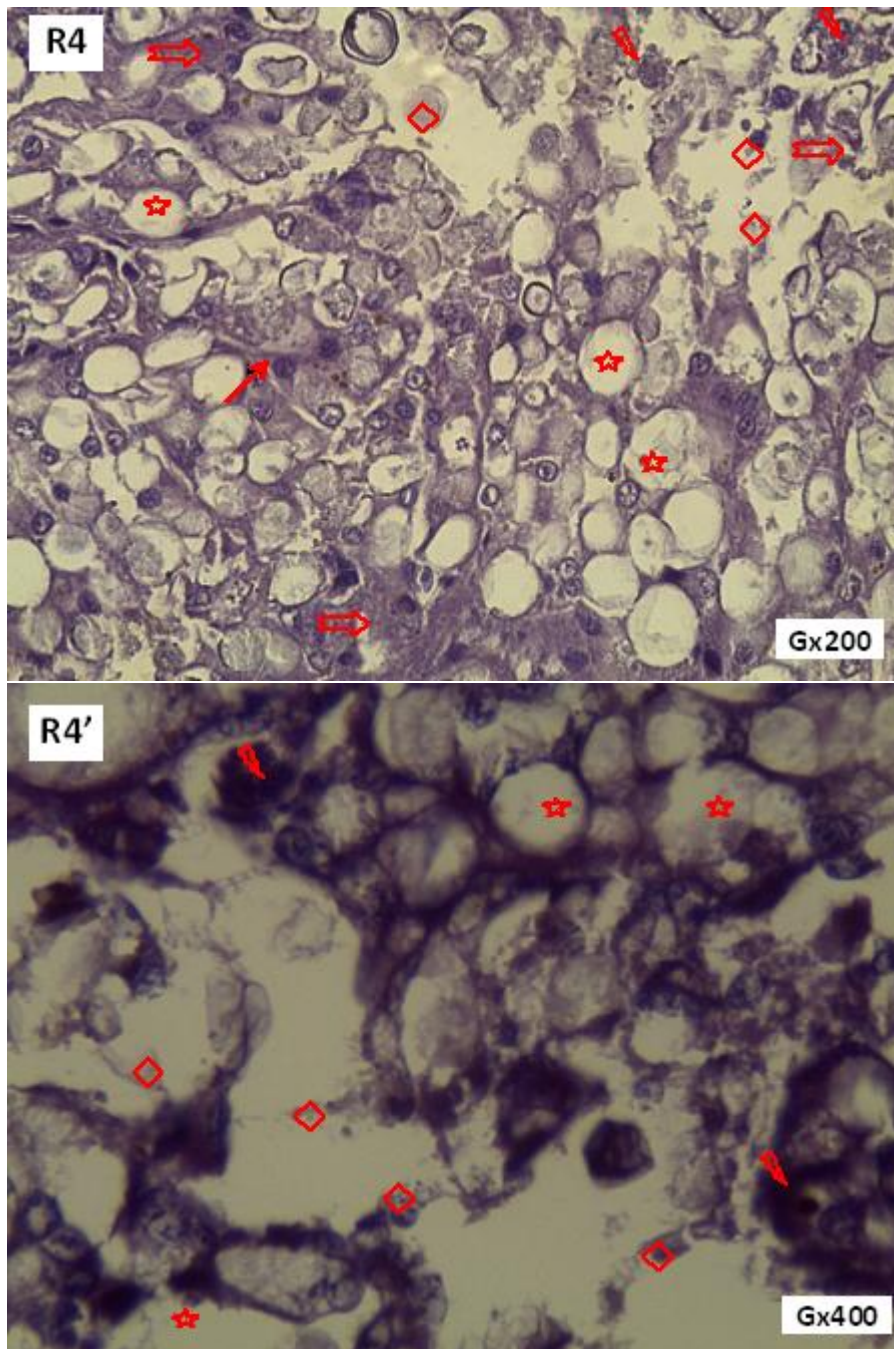







Figure 61. Coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M4) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini  infiltrat inflammatoire,  hypertrophies cellulaires,  nécrose,  Débris cellulaires. (R4) mixture 04 (grossissement $\times 200$), (R4') mixture 04 (grossissement $\times 400$).

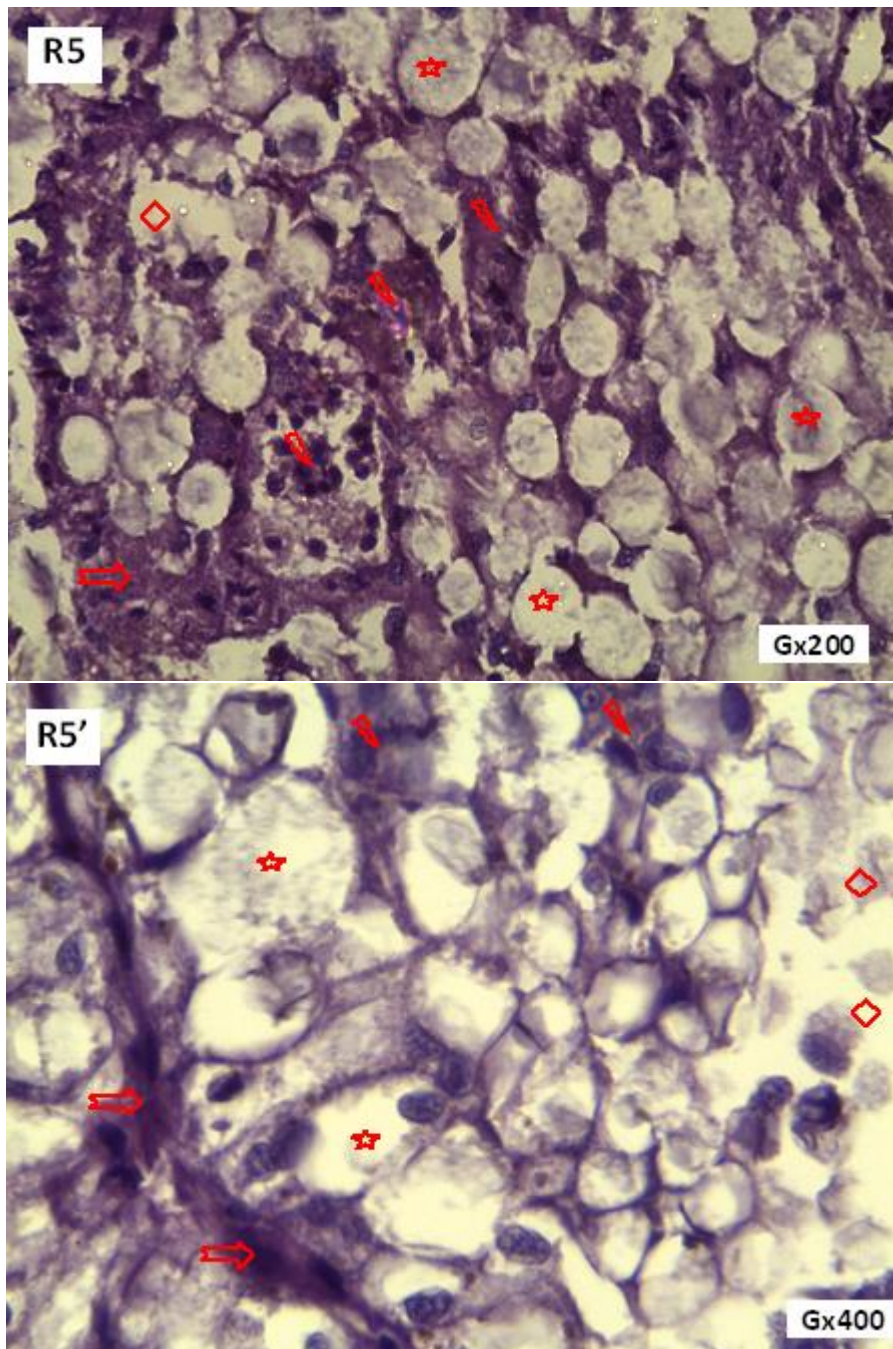







Figure 62. Coupes histologiques du rein d'*Helix aspersa* exposés à la mixture ZnO NPs/Cd (M5) après 28 jours.

*** Rétrécissement de la lumière,  Contour irrégulier de l'acini  infiltrat inflammatoire,  hypertrophies cellulaires,  nécrose,  Débris cellulaires. (R5) mixture 05 (grossissement $\times 200$), (R5') mixture 05 (grossissement $\times 400$).

3.3. Discussion :

L'exposition des escargots *Helix aspersa* aux mixtures de nanoparticules d'oxyde de zinc et de cadmium (ZnO NPs/Cd) a entraîné des altérations histopathologiques notables, principalement au niveau de l'hépatopancréas et des reins. Ces résultats confirment les conclusions de **Wang et al. (2024)**, qui ont observé que l'exposition aux nanoparticules de ZnO induit des modifications pathologiques dans les tissus hépatiques, notamment l'apoptose et des dommages mitochondriaux. De plus, les examens histologiques ont révélé des altérations caractéristiques telles que l'enflure et la nécrose des hépatocytes, des processus essentiels à la détoxification (**Jarrar et al., 2024**). En parallèle, les reins semblent particulièrement vulnérables aux nanoparticules, avec des signes évidents de gonflement glomérulaire et de dégénérescence des cellules tubulaires rénales, soutenus par des recherches antérieures (**Zhao et al., 2019**). Ce constat met en lumière l'impact des nanoparticules, qui provoquent un stress oxydatif et une inflammation, contribuant à la néphrotoxicité significative (**Zhang et al., 2014**).

Les observations histopathologiques dans l'hépatopancréas et les reins des escargots exposés aux mixtures ZnO NPs/Cd révèlent des altérations tissulaires importantes, avec une dépendance à la concentration des nanoparticules. Ces changements soulignent le potentiel toxique des nanoparticules sur des organes vitaux impliqués dans la détoxification et l'excrétion. L'hépatopancréas, organe clé pour la digestion et la détoxification chez les gastéropodes, a montré des perturbations dès les faibles concentrations. Nos résultats corroborent les observations de **Frias-Espericueta et al. (2008)**, qui ont observé des altérations cytologiques significatives suite à l'exposition aux nanoparticules. Des ruptures de la membrane basale des tubules digestifs et une dégénérescence des cellules digestives ont été identifiées, en accord avec **Dumee et al. (2012)**, qui ont étudié l'impact des métaux lourds chez *Pomacea canaliculata*. Ces dommages entraînent une altération sévère des fonctions digestives de l'hépatopancréas.

Les cellules digestives, les plus nombreuses dans l'épithélium tubulaire, sont particulièrement vulnérables aux effets toxiques des nanoparticules, comme le montre **Zaldibar et al. (2008)**. Leur dégénérescence, observée dans cette étude, confirme les travaux de **Boucenna et al. (2015)** et **Chabicosky et al. (2004)**, qui ont suggéré que la perte de ces cellules est une réponse adaptative face aux métaux lourds. De plus, des recherches antérieures (**Zhu et al., 2008**) ont montré que les nanoparticules peuvent générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS), causant des lésions cellulaires et une augmentation de la perméabilité membranaire, observées sous forme de nécroses cellulaires dans notre étude.

Les altérations au niveau des reins révèlent également une réponse dose-dépendante, marquée par une hypertrophie des cellules excrétrices, des nécroses et une prolifération du tissu conjonctif. Ces observations confirment les études de **Triebkorn et Köhler (1996, 1998)** et **Manzl et al. (2004)**, qui ont rapporté des effets similaires chez d'autres gastéropodes exposés aux métaux lourds. Les fortes concentrations ont provoqué des modifications structurelles graves, probablement en raison d'une période prolongée de jeûne causée par une répulsion des aliments contaminés.

Les cellules rénales, impliquées dans l'ultrafiltration et l'excrétion des métabolites toxiques, semblent incapables de gérer la charge oxydative induite par les nanoparticules. Les signes d'apoptose et de perturbations mitochondriales observés dans les cellules excrétrices, liés à la peroxydation lipidique et aux dommages oxydatifs (**Ramirez-Prieto et al., 2006 ; Gutteridge, 1995**), soulignent l'intensité des effets toxiques des nanoparticules.

Les résultats de cette étude rejoignent les conclusions de **Yager et Harry (1963)** sur la diffusion rapide des nanoparticules dans les cellules, ce qui favorise l'apparition de nécroses tissulaires. De plus, ces résultats renforcent les données de Sousa **Dahm et al. (2006)** concernant l'inhibition des enzymes digestives par les nanoparticules métalliques.

Les dommages tissulaires dans l'hépatopancréas et les reins révèlent la capacité des nanoparticules à pénétrer dans les tissus et à perturber des fonctions cellulaires essentielles.

Les altérations observées dans l'hépatopancréas et les reins sont comparables à celles observées pour d'autres nanoparticules, telles que l'oxyde de cuivre, où des ruptures et vacuolisation des cellules digestives ont été rapportées (**Fol et al., 2024**). En outre, la dégénérescence des cellules digestives est une réponse courante chez les gastéropodes exposés aux nanoparticules et aux métaux lourds (**Sharma et al., 2023 ; Fol et al., 2024**). Ces altérations sont liées à l'induction de ROS, entraînant une perte de l'intégrité cellulaire et des dommages tissulaires.

Concernant les reins, les effets dose-dépendants sont bien documentés, avec des signes d'hypertrophie, de nécrose, et de prolifération du tissu conjonctif chez des gastéropodes exposés aux nanoparticules (**Singh et al., 2024 ; Said et al., 2022**). Ces altérations sont aggravées par un stress oxydatif élevé et une apoptose cellulaire. Les recherches ont également montré des augmentations des marqueurs du stress oxydatif, comme le malondialdéhyde (MDA), et une réduction des enzymes antioxydantes (SOD, GPx), corrélées à un dysfonctionnement rénal (**Said et al., 2022 ; Yadav et al., 2024**).

En résumé, cette étude met en évidence l'impact toxique des nanoparticules ZnO et Cd sur les tissus essentiels de *Helix aspersa*, soulignant la nécessité de recherches supplémentaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et évaluer les risques pour la santé environnementale (Parashar et al., 2024).

3.4. Conclusion

En résumé, l'exposition des escargots *Helix aspersa* aux mixtures de nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et de cadmium (Cd) à causé des altérations histopathologiques importantes, principalement au niveau de l'hépatopancréas et des reins. Ces dommages, notamment la dégénérescence cellulaire, la nécrose et l'altération de la structure tissulaire, varient en fonction de la concentration des nanoparticules. L'hépatopancréas, impliqué dans la digestion et la détoxification, est particulièrement vulnérable, tandis que les reins montrent des signes de stress oxydatif et de lésions. Ces effets soulignent le potentiel toxique des nanoparticules et la nécessité d'évaluations approfondies des risques environnementaux pour protéger les écosystèmes et la santé animale.

Conclusion

générale

Conclusion générale

Cette étude met en évidence l'importance des escargots, en particulier *Helix aspersa*, comme bioindicateurs pour évaluer l'impact des contaminations environnementales, en l'occurrence celles liées aux nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO NPs) et au cadmium (Cd). À travers une série de tests comportementaux, physiologiques et biochimiques, il a été possible de démontrer que, bien que les escargots ne montrent pas de modifications comportementales immédiates significatives, ces substances toxiques ont provoqué des effets sous-jacents, notamment une mortalité accrue, une perte de poids progressive, et des altérations métaboliques. Ces résultats montrent clairement que l'exposition à ces contaminants entraîne une dégradation de la santé des escargots, avec des conséquences potentiellement graves pour la survie de l'espèce à long terme.

Les effets observés sur *Helix aspersa* ne se limitent pas à des changements comportementaux immédiats, mais se manifestent également par des perturbations physiologiques profondes, qui incluent des altérations du gain de poids, de la masse molle, du diamètre de la coquille, et de la fonction des organes vitaux comme l'hépatopancréas et les reins. Les escargots, bien qu'adaptables et dotés d'une certaine plasticité comportementale, apparaissent particulièrement vulnérables face aux mélanges de ZnO NPs et de Cd. Cette sensibilité met en lumière la pertinence de cette espèce comme modèle de bioindication pour la surveillance écologique des écosystèmes affectés par des contaminants environnementaux. Les mécanismes de détoxification, bien qu'activés pour limiter les effets des nanoparticules et du cadmium, ne parviennent pas toujours à compenser les effets sublétaux à long terme de ces toxines. Par conséquent, bien que les escargots puissent surmonter certaines expositions aiguës, leurs populations risquent de souffrir d'une dégradation progressive de leur santé, remettant en question leur viabilité dans des environnements contaminés.

Sur le plan biochimique, l'étude révèle que l'exposition des escargots à ces contaminants induit un stress oxydatif important, détectable par l'augmentation des biomarqueurs de dommages cellulaires, tels que le malondialdéhyde (MDA) et la réduction du glutathion (GSH). Ces marqueurs traduisent une réponse de défense insuffisante face à l'agression des radicaux libres, notamment au niveau des tissus sensibles comme l'hépatopancréas et les reins. L'activation des systèmes antioxydants, bien que mobilisée pour contrer le stress oxydatif, ne s'avère pas suffisante pour protéger les escargots contre les effets toxiques cumulés. En parallèle, les altérations des systèmes enzymatiques, tels que la Glutathion S-Transférase

(GST), la catalase (CAT) et l'acétylcholinestérase (AChE), témoignent d'une perturbation significative des processus de détoxification et d'une altération de l'homéostasie neurochimique. Ces résultats confirment la capacité des escargots à répondre aux contaminations environnementales, tout en soulignant la nécessité de disposer de biomarqueurs fiables pour l'évaluation de la toxicité des nanoparticules, qui devraient être intégrés dans les protocoles de surveillance écologique.

Enfin, l'examen histopathologique des organes des escargots a révélé des lésions cellulaires notables, en particulier au niveau de l'hépatopancréas et des reins, deux organes essentiels pour la digestion, la détoxification et l'élimination des toxines. Ces lésions incluent la dégénérescence cellulaire, la nécrose, et des altérations de la structure tissulaire, révélant des effets toxiques directs dus à l'exposition aux nanoparticules et aux métaux lourds. Ces observations renforcent la nécessité d'une évaluation approfondie des risques environnementaux liés à l'utilisation de ces contaminants, notamment les nanoparticules, qui représentent un danger potentiel pour la faune terrestre, les écosystèmes et la santé animale. L'impact observé sur les escargots appelle à une vigilance accrue et à des réglementations plus strictes concernant l'utilisation de nanoparticules dans l'environnement, afin de protéger la biodiversité et assurer la durabilité des écosystèmes.

Dans l'ensemble, cette étude confirme non seulement la sensibilité des escargots *Helix aspersa* aux nanoparticules d'oxyde de zinc et au cadmium, mais elle met également en lumière le potentiel de cette espèce en tant que bioindicateur efficace pour surveiller l'impact des contaminants environnementaux. En apportant de nouvelles connaissances sur les effets toxiques de ces substances, cette recherche ouvre la voie à des stratégies de gestion environnementale visant à limiter les risques liés à l'utilisation de nanoparticules et de métaux lourds dans les écosystèmes terrestres.

Perspective

Les résultats de cette étude ouvrent des perspectives prometteuses pour approfondir la compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents à la toxicité des nanoparticules et des métaux lourds. Il devient essentiel de cibler non seulement les réponses physiologiques immédiates, mais aussi d'explorer les altérations sur le long terme, notamment celles affectant le matériel génétique des organismes exposés. À cet égard, il serait pertinent de concentrer les recherches futures sur les œufs et les juvéniles de troisième génération d'*Helix aspersa*, élevés dans notre centre de recherche en biotechnologie. L'analyse transgénérationnelle permettrait de mieux cerner les effets cumulatifs et héréditaires de ces contaminants environnementaux.

Grâce à la plateforme de protéomique et de génétique disponible dans notre laboratoire, nous pourrions étudier de manière approfondie les modifications au niveau du génome et du protéome, afin d'identifier d'éventuels biomarqueurs précoces de stress ou de dommages cellulaires. Ces investigations permettraient non seulement de mieux comprendre les processus de détoxification et de réparation de l'ADN, mais aussi de proposer des stratégies innovantes pour atténuer les impacts délétères des nanoparticules sur les espèces terrestres.

De plus, ces travaux s'inscrivent dans une approche de gestion durable des risques environnementaux. L'intégration systématique de biomarqueurs dans les protocoles de surveillance écologique pourrait devenir un outil clé pour évaluer la santé des écosystèmes, notamment en ce qui concerne les espèces sensibles telles que *Helix aspersa*. En parallèle, ces recherches justifient la nécessité de renforcer les réglementations encadrant l'utilisation des nanoparticules et des métaux lourds, afin de limiter leur dissémination dans les sols et d'assurer la préservation de la biodiversité.

Enfin, un suivi à long terme de cette espèce sentinelle offrirait des données précieuses pour anticiper les conséquences écotoxicologiques sur les cycles de vie, les capacités reproductives et la résilience des populations exposées. Cette approche intégrée, combinant élevage expérimental, analyses génétiques et protéomiques, ainsi que suivi écologique, constituerait une avancée majeure pour la recherche appliquée à la gestion des contaminants émergents.

Références bibliographiques

Références bibliographique

Abdallah, A. T. (2017). Efficiency of invertebrate animals for risk assessment and biomonitoring of hazardous contaminants in aquatic ecosystem: A review and status report. *Environmental Risk Assessment and Remediation*, 1(1), 13–18.

Abdel-Halim, K. Y., Abo El-Saad, A. M., Talha, M. M., Hussein, A. A., & Bakry, N. M. (2013). Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*, 93(6), 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.042>

Abdel-Shafy, H. I., & Mansour, M. S. M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), 107–123. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>

Abdul, Wahab., Muhammad, Waqas., Sidra, Urooj., Hasnat, Tariq., Zeeshan, Younas, Abbasi., Mohammad, Ali., Christophe, Hano., Bilal, Haider, Abbasi. (2023). Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) from Leaf Extract of *Carthamus oxycantha* and its In Vitro Biological Applications. *Austin Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry*, doi: 10.26420/austinjanalpharmchem.2023.1159

Abdullahi Ibrahim, A., Yusuf, A. G., Ismail, G., Ibrahim, M. A., Musa, A. R., & Sulaiman, M. S. (2021). Conceptual Background of Bioaccumulation in Environmental Science. <https://doi.org/10.53346/WJAPLS.2021.1.1.0015>

Abedin, F., Asmatulu, E., & Andalib, M. N.. (2021). Nanomaterials and Human Health: An Overview. https://doi.org/10.1007/978-3-030-69492-0_7

Aboubakre, Seddik, Sahraoui., Rudo, A., Verweij., Hadjer, Belhiouani., Oumnya, Cheriti., Cornelis, A.M., van, Gestel., Leila, Sahli. (2021). Dose-dependent effects of lead and cadmium and the influence of soil properties on their uptake by *Helix aspersa* : an ecotoxicity test approach. *Ecotoxicology*, doi: 10.1007/S10646-020-02331-Z

Abreu, M. M., Bech, J., Carvalho, L. C., & Santos, E. S.. (2014). Potential Hazardous Elements Fluxes from Soil to Plants and the Food Chain. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8965-3_8

Adamowicz, A., & Bolaczek, M. (2003). Blood cells morphology of the snail *Helix aspersa maxima* (Helicidae). *Zoological Poloniae*, 48, 93–101.

Adedapo, A., & Adeoye, B. (2014). Cadmium, an Environmental Pollutant: A Review. <https://doi.org/10.4314/WAJPDR.V29I0>

Adil, M. F., Sehar, S., Ma, Z. X., Tahira, K., Askri, S. M. H., El-Sheikh, M. A., Aqeel, A., Zhou, F. R., Zhao, P., & Shamsi, I. H. (2024). Insights into the alleviation of cadmium toxicity in rice by nano-zinc and *Serendipita indica*: Modulation of stress-responsive gene expression and antioxidant defense system activation. *Environmental Pollution*, 350, 123952. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123952>

Adriano, D. C. (2001). Ecological and Health Risks of Metals. https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5_5

AFNOR. (1995). NF-ISO 10693: Qualité du sol - Détermination du calcaire total - Méthode au gaz volumétrique. Association Française de Normalisation (AFNOR).

AFNOR. (1999). NF X31-130: Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC) et des cations extractibles. Association Française de Normalisation (AFNOR).

AFNOR. (2003). Qualité de l'eau - Guide pour la sélection des méthodes d'essai pour les matériaux solides. Association Française de Normalisation (AFNOR).

Ahmad, H., Venugopal, K., Rajagopal, K., De Britto, S., Nandini, B., Pushpalatha, HG, Konappa, N., Udayashankar, AC, Geetha, N., & Jogaiah, S. (2020). Synthèse verte et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de zinc à l'aide de globules d'eucalyptus et de leur capacité fongicide contre les champignons pathogènes des vergers de pommiers. *Biomolécules*, 10 (3), 425.

Ahmed, El, Olemy, Ragab, A, Said., Soheir, K., Mohamed., Hend, G., Aref., Eman, S., Ahmed., Marwa, Hasb, Elnabi. (2022). Renal Toxicity of Oral Subacute Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles in Adult Male Albino Rats. *The Egyptian Journal of Forensic Sciences and Applied Toxicology*, doi: 10.21608/ejfsat.2022.118609.1242

Aït Hamlet S., Bensoltane S., Djekoun M., Berrebbah H., Djebar M.R. (2013). Effets de deux insecticides sur la croissance pondérale de l'escargot terrestre *Helix aspersa*. *Bulletin de la Société Zoologique de France*.

Aït Hamlet Smina. (2012). *Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols, Helix aspersa*. Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 177p

Ait, Hamlet, Smina., Bensoltane, Samira., Djekoun, Mohamed., Berrebbah, Houria. (2014). Evaluation of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase activities in the land snail *Helix aspersa* exposed to thiamethoxam. World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Bioengineering and Life Sciences,

Aït-Hamlet S., Djekoun M., Bensoltane S., Berrebbah H. (2019). effets du thiamethoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques. de l'escargot terrestre *helix aspersa*. Revue Agrobiologia (2019) 9(2): 1491-1498. p 1492.

Ajmal, M, Sajeev. (2023). Assessment of Severity of Water Pollution Near Kureepuzha Dump Yard. Indian Scientific Journal Of Research In Engineering And Management, doi: 10.55041/ijsrem25622

Akiladevi, D., & Basak, S.. (2010). Carbon Nanotubes (CNTs) Production, Characterisation and Its Applications.

Al-Amri, N., Tombuloglu, H., Slimani, Y., Akhtar, S., Barghouthi, M., Almessiere, M., Alshammari, T., Baykal, A., Sabit, H., Ercan, I., Ozcelik, S. (2020). Size effect of iron (III) oxide nanomaterials on the growth, and their uptake and translocation in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Ecotoxicol. Environ. Saf. 194, 110377 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110377>.

Alan, Beeby., Larry, Richmond., Florian, Herpé. (2002). Lead reduces shell mass in juvenile garden snails (*Helix aspersa*).. Environmental Pollution, doi: 10.1016/S0269-7491(02)00151-3

Alhaithloul, H.A.A., Ali, B., Alghanem, S.M.S., Zulfiqar, F., Al-Robai, S.A., Ercisli, S., Yong, J.W.H., Moosa, A., Irfan, E., Ali, Q., Irshad, M.A., Abeer, A.H.A. (2023). Effect of green-synthesized copper oxide nanoparticles on growth, physiology, nutrient uptake, and cadmium accumulation in *Triticum aestivum* (L.). Ecotoxicology and Environmental Safety 268, 115701. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115701>.

Ali, M. Q., Deb, A. K., Hasan, M. S., Rahman, M., Rahman, H., Afrin, S., Bhuiyan, M. K. R., Roy, U., Uddin, M. B., Mudhafar, M., Syrmos, N., & Mahedi, M. R. A. (2022). Cadmium toxicity in nature generates the cancerous problems. <https://doi.org/10.53550/pr.2022.v4i04.002>

Alloway, B. J. (2013). Sources of heavy metals and metalloids in soils. In *Heavy metals in soils* (pp. 11–50). Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7_2

Al-Mutairi, D. A., Craik, J.D., Batinic-Haberle, I., Benov, L T. (2007). Induction of oxidative cell damage by photo - treatment with zinc meta N-methylpyridylporphyrin. *Free radical research*. 41, 89-96.

Al-Taai, S. H. H., & Al-Dulaimi, W. A. M. (2022). Air pollution: A study of its concept, causes, sources and effects. *Asian Journal of Water, Environment and Pollution*. <https://doi.org/10.3233/ajw220003>

Álvaro, Alonso. (2023). Post-exposure Period as a key Factor to Assess Cadmium Toxicity: Lethal vs. Behavioral Responses. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, doi: 10.1007/s00128-022-03651-y

Amadi, C. N., Frazzoli, C., & Orisakwe, O. E. (2020). Sentinel species for biomonitoring and biosurveillance of environmental heavy metals in Nigeria. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 38(1), 21-60. <https://doi.org/10.1080/26896583.2020.1735962>

Amalina, Brahim., David, J., Marshall. (2020). Differences in heat tolerance plasticity between supratidal and intertidal snails indicate complex responses to microhabitat temperature variation.. *Journal of Thermal Biology*, doi: 10.1016/J.JTHERBIO.2020.102620

Amer, S., El-Kalliny., Mahmoud, S., Abdel-Wahed., Adel, A., El-Zahhar., Ibrahim, Ahmed, Hamza., Tarek, A., Gad-Allah. (2023). Nanomaterials: a review of emerging contaminants with potential health or environmental impact. doi: 10.1186/s11671-023-03787-8

Amiard-Triquet C., Cossu-Leguille C., Mouneyrac C. (2008). Les biomarqueurs de défense, la tolérance et ses conséquences écologiques. *Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques*. 55-94.

Amira, Atailia, Nedjoud, Grara., Mounir, Boucenna., Houria, Berrebbah, Fadila, Khaldi., Mohamed, Reda, Djebbar. (2012). Effects of Heavy Metals on the Snails *Helix Aspersa* Bioindicators of the Environment Pollution for Human Health. doi: 10.5772/INTECHOPEN.84085

Amita, D., Masud, R., Pankaj, K., Nikesh, T., Sunil, K., Kuldeep, K., & Naveen, T. (2024). Investigation of photocatalytic degradation of pollutants. *Journal of Environmental Management*, 234, 13-14. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61340-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61340-1)

Ana, L., Manzano-Covarrubias., Hong, Yan., Minh, D.A., Luu., Phoeja, S., Gadjdjoe., Amalia, M., Dolga., Martina, Schmidt. (2023). Unravelling the signaling power of pollutants.. Trends in Pharmacological Sciences, doi: 10.1016/j.tips.2023.09.002

Ana, Silvia, Gonzalez, Garcia., Luis, Tomas, Silva, Klein., Victor, Vega, Martinez., Mar, Alonso, Martinez., Juan, J., del, Coz-Díaz. (2024). Assessment of Lightweight Concrete Properties with Zinc Oxide Nanoparticles: Structural and Morphological Analyses. Applied Sciences, doi: 10.3390/app14114413

Anand, Shankar., Satish, Chandra, Garkoti. (2024). Trace metals interaction to soil properties, and their ecological risk assessment in different disturbance regimes of sal forests of the western Himalaya, India. doi: 10.5194/egusphere-egu24-826

Andresen, E., Kappel, S., Stärk, H.-J., Riegger, U., Borovec, J., Mattusch, J., Heinz, A., Schmelzer, C. E. H., Matoušková, Š., Dickinson, B. C., Küpper, H., & Küpper, H. (2016). *Cadmium toxicity investigated at the physiological and biophysical levels under environmentally relevant conditions using the aquatic model plant Ceratophyllum demersum..* <https://doi.org/10.1111/NPH.13840>

Anna, Rygało-Galewska., Klara, Zglińska., Mateusz, Roguski., Kamil, Roman., Wiktor, Bendowski., Damian, Bień., Tomasz, Niemiec. (2023). Effect of Different Levels of Calcium and Addition of Magnesium in the Diet on Garden Snails' (Cornu aspersum) Condition, Production, and Nutritional Parameters. Agriculture, doi: 10.3390/agriculture13112055

Anna, Rygało-Galewska., Klara, Zglińska., Mateusz, Roguski., Kamil, Roman., Wiktor, Bendowski., Damian, Bień., Tomasz, Niemiec. (2023). Effect of Different Levels of Calcium and Addition of Magnesium in the Diet on Garden Snails' (Cornu aspersum) Condition, Production, and Nutritional Parameters. Agriculture, doi: 10.3390/agriculture13112055

Anna, Sergeewna, Olkova. (2021). Intraspecific Sensitivity to Toxicants – a Methodological Problem of Bioassay: Review. Journal of Ecological Engineering, doi: 10.12911/22998993/139066.

Anna, Sulikowska-Drozd., Tomasz, K., Maltz., Heike, Kappes. (2013). Brooding in a temperate zone land snail: seasonal and regional patterns. Contributions to Zoology, doi: 10.1163/18759866-08202002

Annika, Mangold-Döring., Annika, Mangold-Döring., Annika, Mangold-Döring., Chelsea, Grimard., Derek, Green., Stephanie, Petersen., John, W., Nichols., Natacha, S.,

Hogan., Lynn, P., Weber., Lynn, P., Weber., Henner, Hollert., Henner, Hollert., Markus, Hecker., Markus, Brinkmann. (2021). A Novel Multispecies Toxicokinetic Modeling Approach in Support of Chemical Risk Assessment.. *Environmental Science & Technology*, doi: 10.1021/ACS.EST.1C02055.

Ann-Kathrin, Loerracher., Jürgen, Schmidt., Peter, Ebke., Amelie, Schmolke., Farah, Abi-Akar., Nika, Galic., Roman, Ashauer. (2023). Characterization of patterns and variability in the dynamics of outdoor aquatic mesocosms: exploring the capabilities and challenges in data supporting aquatic system models. *Ecotoxicology*, 32:782-801. doi: 10.1007/s10646-023-02685-0.

Anoop, Kumar, Patel., Alla, Singh., Neha, Minocha. (2024). Exploring the Potential Characteristics of Zinc Oxide Nanoparticles: A Review. *Current materials science*, doi: 10.2174/0126661454277886231222043713

Ansart, A., Madec, L. & Guiller, A. (2009) Cornu aspersum. *CABI Invasive Species Compendium*. URL : <http://www.cabi.org/isc/datasheet/26821>

Antonin, Soulié., C., Granier., S., Darras., Nicolas, Zilbermann., Thierno, Dombia., Marc, Guevara., Jukka-Pekka, Jalkanen., Sékou, Moussa, Kéita., Cathy, Liousse., Monica, Crippa., Diego, Guizzard., Rachel, Hoesly., Steven, J., Smith. (2024). Global anthropogenic emissions (CAM5-GLOB-ANT) for the Copernicus Atmosphere Monitoring Service simulations of air quality forecasts and reanalyses. *Earth System Science Data*, doi: 10.5194/essd-16-2261-2024

Aparna, Roy., Kumaresh, Mandal., Shishir, Tamang., Soni, Subba., Saptaparni, De., Divya, Rai., Biswajit, Roy., Rakesh, Tamang. (2024). Nanoparticles and Environmental Health. doi: 10.2174/9789815223101124030011

Arora, V. D., Bithel, N., & Singh, R.. (2023). A Study on Heavy Metal Sources and Pollution: Challenge to Biological and Ecosystem. <https://doi.org/10.48165/bpas.2023.42b.1.7>

Arrigo A.P. 1999. Gene expression and the thiol redox state. *Free Radical Biology & Medicine*. 27: 936-944.

Ashraf, M. A., & Faheem, M.. (2020). *Environmental toxicology and biogeochemistry of ecosystems*. <https://doi.org/10.1007/S11356-020-08699-Z>

Atailia A., Berrebbah H., Boucenna M., Alayat A., Amamra R., Grara N., and Djebbar M.R., (2016). Biomarkers Responses of Land Snails *Helix aspersa* Exposed to Chronic Metal

Pollution under Field and Laboratory Conditions. *Nature Environment and Pollution Technology*. 15, 1209-1215.

Atailia, A. (2009). Effet des poussières métalliques d'origine industrielles sur un organisme animal bio indicateur / bioaccumulateur de pollution : *Helix aspersa*. Thèse Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba. 45 p.

Authman, M. M. N., Zaki, M. S., Khallaf, E. A., & Abbas, H. H. (2015). Use of fish as bio-indicator of the effects of heavy metals pollution. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 6(4).

Awasthi, K. (2021). General introduction of zinc oxide nanomaterials. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818900-9.00025-5>

Aya, Salmi., Rachid, Rouabhi., Nadjiba, Toualbia., Chahinez, Taib., Hadjer, Chenikher., Salim, Gasmi., Samira, Boussekine. (2017). Subcellular study of the cadmium selenide nanoparticles (CdSe-NPs) toxicity on a terrestrial bioindicator model *Helix aspersa*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, doi: 10.1007/S13530-017-0314-4

Azad, Yadav., Shivani, Narwal., Tamanna, Deswal., Ankit, Sindhu., Rahul, Langyan., Narender, Kumar., Sashi, Yadav., Renu, Bala., Rajesh, Dhankhar. (2024). Synthesis and Nanotechnological Applications of Multi-Efficient Zinc Oxide Nanoparticles-A Review. *Asian Journal of Chemistry*, doi: 10.14233/ajchem.2024.28417

Badaka, Amruth., C, Kushala., J, G, Vaibhavi., V, Rashmi., Konasur, Rajesh, Sanjay. (2024). A Mini-review on Properties and Applications of Zinc Oxide Nanoparticles. *Current nanomaterials*, doi: 10.2174/0124054615292106240213064923

Bakand, S., Hayes, A., & Dechsakulthorn, F.. (2012). Nanoparticles: a review of particle toxicology following inhalation exposure. <https://doi.org/10.3109/08958378.2010.642021>

Bakkouche, Z., & Said, A. (2021). Aspects biochimique et histologique de la toxicité des pyréthroides de type 2. Université Larbi Tebessi Tebessa. p. 44.

Bakri, R. (2012). Etude du système ZnO-AIN-ZrN. *Mémoire de Magister*, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p. 7.

Barata, C., Varo, I., Navarro, J. C., Arun, S., & Porte, C. (2005). Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 140, 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.02.003>

- Barbosa, V. D. O.. (2023).** Adsorption. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101097-6.00008-0>
- Barca, D., Comite, V., Belfiore, C., Bonazza, A., La Russa, M., Ruffolo, S., Crisci, G., Pezzino, A., & Sabbioni, C. (2014).** Impact of air pollution in deterioration of carbonate building materials in Italian urban environments. *Applied Geochemistry*, 48, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.07.002>
- Bargagli, R. (2016).** Moss and lichen biomonitoring of atmospheric mercury: A review. *Science of the Total Environment*, 572, 216–231. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.202>
- Barhoum, A., Rastogi, V. K., Mahur, B. K., Rastogi, A., Abdel-Haleem, F. M., & Samyn, P. (2022).** Nanocelluloses as new generation materials: Natural resources, structure-related properties, engineering nanostructures, and technical challenges. *Materials Today Chemistry*, 26, 101247. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2022.101247>
- Bari, A., Akhtar, T., Naseem, S., Yasar, A., & Naseem, Z.. (2021).** Persistent Organic Pollutants (POPs): Sources, Types, Impacts, and Their Remediation. https://doi.org/10.1007/978-981-15-5499-5_8
- Barillet S. (2007).** Toxicocinetique, toxicité chimique et radiologique de l'uranium chez le poisson zebre (Danio rerio). Thèse de doctorat de l'université Paul Verlaine de Metz, France. 476p.
- Barker, G.M. (2002)** Molluscs as crop pests. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Barker, G.M. (2001).** The Biology Of Terrestrial Mollusks. Wallingford U.K, C.A.B International.
- Baroudi, F. (2020).** Étude comparative de trois biomoniteurs (conifère, escargot et miel) pour évaluer la variabilité spatio-temporelle de polluants organiques dans l'atmosphère au Liban (Mémoire de Master, Université de Strasbourg). Chimie analytique.
- Baroudi, F., Al Alam, J., Fajloun, Z., & Millet, M. (2020).** Snail as sentinel organism for monitoring the environmental pollution: A review. *Ecological Indicators*, 115, 106240. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106240>
- Bashar Hussein Qasim (2015).** Détermination, spéciation et biodisponibilité des éléments traces métalliques dans les sols contaminés et technosols. Sciences de la Terre. Université d'Orléans, Français.

- Bashir, Jarrar., Mansour, Almansour., Amin, A, Al-Doaiss., Shiou, Yih, Lee., Walid, Melhem., Qais, Jarrar., Amal, Sewelam. (2024).** Metallic and metallic oxide nanoparticles toxicity primarily targets the mitochondria of hepatocytes and renal cells.. *Toxicology and Industrial Health*, doi: 10.1177/07482337241282860
- Bathla, S., & Jain, T. (2016).** Heavy metals toxicity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 46, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.04.002>
- Beaumont A., Cassier P. (1998).** Travaux pratiques de biologie animale. Zoologie Embryologie Histologie. Dunod. Paris. 502p.
- Bebianno M.J., Company R., Serafim A., Cosson R.P., Fiala-Medoni A. (2005).** Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathy-modiolus azoricus* from Mid- Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat. Toxicol*, 75, p.354–373.
- Beeby A. et Richmond L. (1989).** The shell as a site of lead deposition in *Helix aspersa*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 623–628. <https://doi.org/10.1007/BF01055031>
- Beeby, A., Richmond, L. (2002).** Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecol. Ind.* 1, 261–270. [https://doi.org/10.1016/S1470-160X\(02\)00022-5](https://doi.org/10.1016/S1470-160X(02)00022-5).
- Beeby, A., Richmond, L. (2011).** Sources of variation in the assimilation of lead by a common gastropod sentinel *Cantareus aspersus*. *Sci. Total Environ.* 409, 5499-5504. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.09.015>
- Belhaouchet N., Djebar M.R, Meksem L., Grara N., Zeriri I., Berrebbah H. (2012).** Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide: The Spinosad on an alternate model: *Helix aspersa*. *Journal of Applied Sciences Research*. 8(8):4199-4206.
- Benbouch F et Bendiaf N. (2022).** Evaluation de la toxicité d'une mixture de pesticide a l'égard d'un espèce non visé *helix asperca*.pp :54.
- Bernard, A. (2008).** Cadmium & its adverse effects on human health. *The Lancet*, 372(9632), 13-14. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61340-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61340-1)
- BESNACI, S. (2016).** Évaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe₂O₃) sur un bioindicateur de pollution terrestre : *Helix aspersa*. Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 191p.
- Bibic A., Drobne D., Strus J., Byrne A.R. (1997).** Assimilation of zinc by *Porcellio scaber* (Isopoda, Crustacea) exposed ton zinc. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 58:814-821.

- Bienert, G. P., Schüssler, M. D., & Jahn, T. P. (2008).** Metalloids: essential, beneficial or toxic? Major intrinsic proteins sort it out. <https://doi.org/10.1016/J.TIBS.2007.10.004>
- Bighiu, M.A., Watermann, B., Guo, X., Almroth, B.C., Eriksson-Wiklund, A.-K. (2017).** Mortality and histopathological effects in harbour-transplanted snails with different exposure histories. *Aquat. Toxicol.* 190, 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.06.018>.
- Bintoro, Siswo, Nugroho., Dwiria, Wahyuni., Asifa, Asri., Usliana, Mustafa. (2023).** Effect of Calcination Temperature on the Powder of Freshwater Snail Shells (*Sulcospira testudinaria*) Properties. *Positron: Berkala Ilmiah Fisika*, doi: 10.26418/positron.v13i2.70055
- Biola-Clier M. (2016).** Génotoxicité et impact de nanoparticules de dioxyde de titane sur la réparation de l'ADN dans des cellules alvéolaires pulmonaires. Thèse de Doctorat en Toxicologie. Université Grenoble Alpes. France. 249p.
- Biswal, T., & Malik, J. A.. (2021).** Effect of Pollution on Physical and Chemical Properties of Soil. <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-7062-3.CH001>
- Bjorn, Kirchhoff., Christoph, Jung., Daniel, Gaissmaier., Laura, Braunwarth., Donato, Fantauzzi., Timo, Jacob. (2023).** In silico characterization of nanoparticles.. *Physical Chemistry Chemical Physics*, doi: 10.1039/D3CP01073B
- Bock von Wülfingen, B.. (2019).** The periodic tableau: Form and colours in the first 100 years. <https://doi.org/10.1111/1600-0498.12248>
- Bocquené, G. (1996).** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. *Thèse de Doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes*. 250 p.
- Bonnet J.G., Aupinel P., Vrillon J. L. (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie-élevage ; Institut National de l'Agronomi, paris.20. pp:102-124.
- Bonnet, J.-C., Aupinel, P., Vrillon, J.-L., (2019).** L'escargot *Helix aspersa*: biologie, élevage, Collection Savoir-faire. Éditions Quae, Versailles.
- Borkovic Mitic ,S., Pavlovic, S.Z., Perendija, B., Despotovic ,S., Gavric ,J., Gacic´, Z., Saicic ,Z. (2013).** Influence of some metal concentrations on the activity of antioxidantenzymes and concentrations of vitamin E and SH-groups in the digestive gland and gills of the freshwater bivalve *Unio tumidus* from the Serbian part of Sava River. *Ecological Indicators* 32, 212– 221.

Boshoff, M., Jordaens, K., Backeljau, T., Lettens, S., Tack, F., Vandecasteele, B., De Jonge, M., Bervoets, L. (2013). Organ- and species-specific accumulation of metals in two land snail species (Gastropoda, Pulmonata). *Sci. Total Environ.* 449, 470–481. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.003>

Bouaricha H. (2013). Evaluation du stress oxydatif induit par le Proclaim : Essai comparatif sur deux modèles biologiques (*Helix aspersa* et *Paramecium sp.*). Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, 55p.

Bouaricha, Houda., B., Laid., I., Ghozlène., Berrebbah, Houria., Djebbar, Mohammed, Reda. (2022). Oxidative stress and histological changes caused by lambda-cyhalothrin on the snail *Helix aspersa*. *Journal of biological studies*, doi: 10.62400/jbs.v5i4.7109

Bouarroudj, T., 2017. Contribution a la connaissance de l'effet bactericide et la cytotoxicite des oxydes nanocristallins. These de Doctorat. Universite d'Annaba, Algerie. p 177.

Boucenna M., Berrebbah H., Atailia A., Grara N., Djebbar M.R. (2015). Effects of Metal Dust on Functional Markers and Histology of Gland Digestive and Kidney of the Land Snails (*Helix aspersa*) in the North East of Algeria. *Global Veterinaria.* 14 (2):189-198.

Boucenna Mounir (2016). Étude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Évaluation nanotoxicologique du Fe_2O_3 et Al_2O_3 . Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 184p

Boucenna, M. (2010). Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1et 2 du complexe sidérurgique d'EL-Hadjar sur un modèle bioaccumulateur *Helix aspersa*. Mémoire de magister, Université Badji Mokhtar, Annaba. 74 p.

Boxall, A., Chaudhry, Q., Cinclair, C., Jones, A., Aitken, R., Jefferson, B., Watts, C. (2007). Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticles. central science laboratory, York. *Saf. Nanomater. Interdiscip. Res. Cent. Rep.* 1–13

Brien, H., Roberts., John, R., Morrongiello., David, L., Morgan., Alison, J., King., Alison, J., King., Thor, Saunders., David, A., Crook., David, A., Crook. (2021). Faster juvenile growth promotes earlier sex change in a protandrous hermaphrodite (barramundi *Lates calcarifer*). *Scientific Reports*, doi: 10.1038/S41598-021-81727-1

Brigitte, R., Luc, M., & Charles-Anica, E. (2009). Nanotechnologies: maîtrise des risques pour la santé et la sécurité (24 p.). *Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS).*

Brooks A.W., White K.N., Bailey S.E.R. (1992). Accumulation and excretion of aluminium and iron by the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 103 C:577-583.

Cadart J. (1955). Les escargots (*Helix pomatia* L. et *Helix aspersa* M.) biologie, élevage, parcage, histoire, gastronomie, commerce. Paul Lechevalier, Paris. France

Cadmium. (2022). Cadmium. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822946-0.00006-4>

Cai, L.-M., Wang, Q.-S., Wen, H.-H., Luo, J., & Wang, S. (2019). Heavy metals in agricultural soils from a typical township in Guangdong Province, China: Occurrences and spatial distribution. *Ecotoxicology and environmental safety*, 168, 184–191.

Calow P., et Forbes V.E. (2003). Peer reviewed : Does ecotoxicology inform ecological risk assessment? ACS Publications.

Calvet, R., 2013. Le sol, Paris, 678.

Campbell, P. G. C.. (2006). *Cadmium—A Priority Pollutant*. <https://doi.org/10.1071/EN06075>

Canesi, L., Viarengo, A., Leonzio, C., Filippelli, M., Gallo, G., (1999). Heavy metals and glutathione metabolism in mussel tissues. *Aquatic Toxicology*, 46, 67-76.

Caporale, A. G., & Violante, A.. (2016). Chemical Processes Affecting the Mobility of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments. <https://doi.org/10.1007/S40726-015-0024-Y>

Caquet T., Lagadic L., Jonot O., Baturu W., Kilanda M., Simon P., et Ramade F. (1996). Outdoor Experimental Ponds (Mesocosms) Designed For Long-Term Ecotoxicological Studies in Aquatic Environment. *Ecotoxicology and environmental safety*, 34(2), 125–133

Carbone, D., & Faggio, C. (2019). *Helix aspersa* as sentinel of development damage for biomonitoring purpose: A validation study. *Molecular Reproduction and Development*. doi: 10.1002/MRD.23117

Carl, S., Cloyed., Anthony, I., Dell. (2019). Snail Foraging Data.xlsx from Resource distribution and internal factors interact to govern movement of a freshwater snail. doi: 10.6084/m9.figshare.9805052

Caziot E. (1911). Étude révisionnelle des Mollusques quaternaires des brèches de Toga à Bastia (Corse). *Bull. Soc. géol. Fr.* 4e sér. 11 : 239-248.

- Chabicoovsky M., Klepal W. et Dallinger R. (2004).** Mechanisms of cadmium toxicity in terrestrial pulmonates: programmed cell death and metallothionein overload. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 23: 648–655.
- Chabicoovsky M., Niederstatter H., Thaler R., Hodle E., Rossmannith W et Dallinger R. (2003).** Localization and quantification of Cd- and Cu-specific metallothionein isoform mRNA in cells and organs of the terrestrial gastropod *Helix pomatia*. *Toxicology and applied pharmacology* 190: 25–36.
- Chabicoovsky, M., Klepal, W., Dallinger, R. (2003).** Mechanisms of cadmium Toxicity in terrestrial pulmonates programmed cell death and metallothioneins overload. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23,648- 655.
- Chang J., Wang Y., Wang H et al. (2016).** Bioaccumulation and enantioselectivity of type I and type II pyrethroid pesticides in earthworm. *Chemosphere* 144:1351–1357.
- Chang, L. W., & Cockerham, L. (2019).** *Toxic Metals in the Environment*. <https://doi.org/10.1201/9781315138091-4>
- Charrier, M. (1981).** Contribution à l'étude des effets du groupement sur la croissance de l'escargot "Petit-Gris" *Helix aspersa* Müller (Gastéropode Pulmoné Stylommatophore). *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 122(1), 29-38.
- Chauhan, J., Shrivastav, N., Dugaya, A., & Pandey, D. (2017).** Synthèse et caractérisation de ZnO dopé Ni et Cu. *Nanomed. Nanotechnol*, 1, 26-34.
- Chaukura, N. (2022).** Environmental Pollutants: Organic and Emerging Contaminants. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4937-1_2
- Cheng, K., Cheng, K., Tian, H., Zhao, D., Lu, L., Wang, Y., Wang, Y., Chen, J., Liu, X., Jia, W., & Huang, Z. (2014).** *Atmospheric emission inventory of cadmium from anthropogenic sources*. <https://doi.org/10.1007/S13762-013-0206-3>
- Cheng, T. C., Sullivan, J. T. (1984).** Effets of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. *Marine Environmental Research*, 14: 305-315.
- Chevalier H. (1992).** L'élevage des escargots. 2ème édition. Editions du point vétérinaire. Maison-Alfort
- Chevallier H. (1982).** Facteurs de croissance chez des gastéropodes pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Haliotis*. 12:29-46.

Chevallier H. (1992). L'élevage des Escargots. Production et Préparation du Petit-Gris. 2ème édition. Edition du point vétérinaire, Maison-Alfort. Paris. 144p

Chlumsky, O., Purkrtova, S., Michova, H., Sykorova, H., Slepicka, P., Fajstavr, D., Ulbrich, P., Viktorova, J., & Demnerova, K. (2021). Antimicrobial Properties of Palladium and Platinum Nanoparticles: A New Tool for Combating Food-Borne Pathogens. <https://doi.org/10.3390/IJMS22157892>

Choi, C.Y., An, K.W., Nelson, E.R., Habibi, H.R. (2007). Cadmium affects the expression of metallothionein (MT) and glutathione peroxidase (GPX) mRNA in goldfish, *Carassius auratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 145, 595-600.

Christopher, A., Mebane., Christopher, D., Ivey., Ning, Wang., Jeffery, A., Steevens., Danielle, Cleveland., Michael, C., Elias., James, R., Justice., Kathryn, Gallagher., Robert, N., Brent. (2021). Mortalité directe et différée de *Ceriodaphnia dubia* et de la truite arc-en-ciel suite à des expositions aiguës variables dans le temps au zinc. *Toxicologie et chimie environnementales*, doi : 10.1002/ETC.5131

Christova, T.Y., Gorneva, G.A., Taxirov, S.L, Duridanova, D.B., Setchenska, M.S. (2003). Effect of cisplatin and cobalt chloride on antioxidant enzymes in the livers of Lewis lung carcinoma-bearing mice: protective rôle of heme oxygenase. *Toxicol Lett*, **138(3)**, 235-42.

Coeurdassier M., De Vaufleury, A. et Badot P.M. (2003). Bioconcentration of cadmium and toxic effects on life-history traits of pond snails (*Lymnaea palustris* and *Lymnaea stagnalis*) in laboratory bioassays. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 45(1), 0102–0109.

Coeurdassier M., Gomot de Vaufleury A., Saint-Denis M., Ribera D., Narbonne J.F., Badot P.M. (2002). Effects of dimethoate on snail B-esterase and growth as a function of dose, time and exposure route in a laboratory bioassay. *Biomarkers*. 7(2): 138-150.

Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot de Vaufleury A., Ribera D., Badot P.M. (2001). The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20 (9): 1951-1957.

Coeurdassier, M., De Vaufleury, A., Lovy, C., Badot, P.-M., 2002. Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 53, 425–431. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00004-0](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00004-0).

Cohen, Atika. *Morphologie et anatomie de l'escargot*. Université Libre de Bruxelles. Accessed August 13, 2024.

https://atika.cohen.web.ulb.be/cours/res/ESCARGOT.eWeb/co/sequence_escargot.html#segment_sd7VroVnLdjENTFPP8nyVc1

Coughtrey P.J. et Martin M.H. (1977). The uptake of lead, zinc, cadmium, and copper by the pulmonate mollusc, *Helix aspersa* (muller), and its relevance to the monitoring of heavy metal contamination of the environment. *Oecologia* 27, 65–74. <https://doi.org/10.1007/BF00345685>

Coughtrey P.J., Martin M.H. (1976). The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* müller. *Oecologia*. 23, 315-322.

Cowie, R.H. (2011b) Snails and slugs. *Encyclopedia of biological invasions* (eds D. Simberloff & M. Rejmanek), pp. 634–643. University of California Press, Berkeley, CA, USA.

Crombez, V., Rohais, S., Euzen, T., Riquier, L., Baudin, F., & Hernandez-Bilbao, E. (2020). Trace metal elements as paleoenvironmental proxies: Why should we account for sedimentation rate variations?. <https://doi.org/10.1130/G47150.1>

Croteau M.N., Dybowska A.D., Luoma S.N., Valsami-Jones E. (2011). A novel approach reveals that zinc oxide nanoparticles are bioavailable and toxic after dietary exposures. *Nanotoxicology*. 5(1):79-90.

Daguzan J. (1983). Principales caractéristiques biologiques et écophysiologiques de l'escargot. In: Daguzan J. (Ed). *L'escargot et l'Héliciculture*. Informations techniques des services vétérinaires. Paris. p : 207.

Daley, J. M., Paterson, G., & Drouillard, K. G.. (2014). Bioamplification as a Bioaccumulation Mechanism for Persistent Organic Pollutants (POPs) in Wildlife. https://doi.org/10.1007/978-3-319-01327-5_4

Dallinger R. (1993). Strategies of Metal Detoxification in Terrestrial. *Ecotoxicology of metals in invertebrates*. 245p.

Dallinger R. et Wieser W. (1984). Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. *Comparative Biochemistry and Physiology part C: Comparative Pharmacology*, 79(1), 117–124.

Dallinger R. (1993)a. Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. *Ecotoxicology of metals in invertebrates* 245.

Dallinger R. (1994). "Invertebrate organisms as biological indicators of heavy metals pollution". *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 14, no. 2, p. 27-31.

Dallinger R., Berger B., Triebkorn R., Kohler H. (2001). Soil biology and ecotoxicology. In: Barker, G.M. (Ed.). *The biology of terrestrial molluscs*. CAB International, Oxon, Wallingford, UK. 489-525

Dallinger R., Lagg B., Egg M., Schipflinger R. et Chabicovsky M. (2004). Cd accumulation and Cd–metallothionein as a biomarker in *Cepaea hortensis* (Helicidae, Pulmonata) from laboratory exposure and metal-polluted habitats. *Ecotoxicology* 13: 757–772.

Dallinger R., Rainbow P.S., 1993b. *Ecotoxicology of metals in invertebrates*. CRC Press.

Dallinger R., Wang Y., Berger B., Mackay E.A. et Kägi J.H., (2001)b. Spectroscopic characterization of metallothionein from the terrestrial snail, *Helix pomatia*. *European journal of biochemistry* 268: 4126–4133.

Dallinger, R., Chabicovsky, M., Lagg, B., Schipflinger, R., Weirich, H.G., Berger, B. (2004). Isoform-specific quantification of metallothionein in the terrestrial gastropod *Helix pomatia*. II. A differential biomarker approach under laboratory and field conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 902-910.

Damini, Singh., Priyanka, Bist., Sangeeta, Choudhary. (2024). Co-exposure to multiple heavy metals and metalloid induces dose dependent modulation in antioxidative, inflammatory, DNA damage and apoptic pathways progressing to renal dysfunction in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, doi: 10.1016/j.etap.2024.104537

Damir, Suljević., Erna, Islamagic., Alen, Hamzic., Nadja, Zubcevic., Andi, Alijagic. (2019). Hibernation perturbs the number of hemocytes and causes hematological turnover: basal traits to understand season-dependent physiological variations in *Helix pomatia* (Gastropoda: Helicidae).. *Turkish Journal of Zoology*, doi: 10.3906/ZOO-1801-30

Dar, M.I., Green, I.D., Khan, F.A. (2019). Trace metal contamination: Transfer and fate in food chains of terrestrial invertebrates. *Food Webs* 20, e00116. <https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2019.e00116>.

Dave, P. N., Chaturvedi, S., & Sahu, L. K.. (2021). Impact of polychlorinated biphenyls on environment and public health. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822121-1.00013-8>

David, A., Cleveland, D., Soleri, D., Smith, S. E., Smith, S. E., Cleveland, D. A., & Soleri, D. (2019). *Food gardens for a changing world*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781316824294>

David, J., Spurgeon., Elma, Lahive., Alex, Robinson., Stephen, Short., Peter, Kille. (2020). Species Sensitivity to Toxic Substances: Evolution, Ecology and Applications. *Frontiers in Environmental Science*, doi: 10.3389/FENVS.2020.588380.

De Vaufleury A., Gimbert F., Pauget B., Fritsch C., Scheifler R. et Coeurdassier M. (2012). Les escargots bio-indicateurs de la qualité des sols : Snail watch : analyse en laboratoire ou in situ de la biodisponibilité des contaminants.

De-Carvalho, R. R., Gomes-Carneiro, M. R., Geraldino, B. R., da Silveira Lopes, G., & Paumgarten, F. J. R. (2022). Evaluation of the developmental toxicity of solvents, metals, drugs, and industrial chemicals using a freshwater snail (*Biomphalaria glabrata*) assay. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 85(13), 543–555. <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2089413>

Desmaris, V., Saleem, M. A., & Shafiee, S.. (2015). Examining Carbon Nanofibers: Properties, growth, and applications.. <https://doi.org/10.1109/MNANO.2015.2409394>

Devin, Edmonds., Michael, J., Dreslik., Jeffrey, E., Lovich., Thomas, P., Wilson., Carl, H., Ernst. (2021). Growing as slow as a turtle: Unexpected maturational differences in a small, long-lived species.. *PLOS ONE*, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0259978

Deylam, M., Alizadeh, E., Sarikhani, M., Hejazy, M., & Firouzamandi, M. (2021). Zinc oxide nanoparticles promote the aging process in a size-dependent manner. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 32(10), 128. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06602-x>

Diana, Villa., Néstor, García. (2017). Food plants in home gardens of the Middle Magdalena basin of Colombia. *Caldasias*, doi: 10.15446/CALDASIA.V39N2.63661

Digiulio R.T., Habig C., Gallagher E.P. (1993). Effects of Black Rock Harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquatic Toxicology*. 26(1):1-22.

Douafer, L., Zaidi, N., & Soltani, N. (2020). Seasonal variation of biomarker responses in *Cantareus aspersus* and physicochemical properties of soils from Northeast Algeria. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(24), 29816-29826. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08694-4>

- Draper, H.H., & Hadley, M. (1990).** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 186, 421–431 FL, USA, Lewis Publishers, p. 261-285.
- Droge W., 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*. 82: 47-95.
- Druart, C., Scheifler, R., Millet, M., De Vaufleury, A. (2012).** Landsnail eggs bioassays: a new tool to assess embryotoxicity of contaminants in the solid, liquid or gaseous phase of soil. *Appl. Soil Ecol.* 53, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.006>.
- Dumee V., Kruatrachue M., Trinachartvanit W., Tanhan P., Pokethitiyook P., Damrongphol P. (2012).** Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, aquatic plant and histopathological effects on the golden napple snail in Beung Boraphet reservoir, Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 86:204-212.
- Durga, Mohan., R., Deepika., M., Vaishnavi., Bawankar, Raksha. (2024).** Study on Phytochemical Composition, Biosynthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticle Using *Sargassum ilicifolium*. *Saudi journal of medical and pharmaceutical sciences*, doi: 10.36348/sjmps.2024.v10i07.010
- Dutta S., Ganguly B. N. (2012).** Characterization of ZnO nanoparticles grown in presence of Folic acid template. *Journal of nanobiotechnology*. 10(1). 1-10.
- Edward L., Shaughnessy. (2022).** Pollution and risks of trace elements in the soil environment. doi: 10.1016/b978-0-12-822974-3.00153-1
- Eeva, T., Rainio, K., Suominen, O., 2010.** Effects of pollution on land snail abundance, size and diversity as resources for pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*. *Sci. Total Environ.* 408, 4165-4169. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.028>.
- Efremova, S., Parfenova, E., & Bodrov, A.. (2020).** Environmental hazard of soil contamination by heavy metals. <https://doi.org/10.1051/E3SCONF/202020801021>
- Elder, J. F., & Collins, J. J. (1991).** Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 122, 37–79.
- El-Gendy, K. S., Radwan, M. A., & Gad, A. F. (2011).** Feeding and growth responses of the snail *Theba pisana* to dietary metal exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 60(3), 583–591. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9542-1>

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Feather-Stone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)

Elmer, W., White, J.C. (2018). The future of nanotechnology in plant pathology. *Annual Review of Phytopathology* 58, 111–133. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-050108>.

Emma, J., Bloomfield, Matthew, M., Guzzo, Trevor, Middel, Mark, S., Ridgway, Bailey, C., McMeans. (2022). Seasonality can affect ecological interactions between fishes of different thermal guilds. *Frontiers in Ecology and Evolution*, doi: 10.3389/fevo.2022.986459

Essam, Kotb., Nadiyah, M., Alabdallah. (2024). Function of nanoparticles as nanozymes in biochemical reactions and their environmental and biomedical applications. doi: 10.1016/b978-0-323-95721-2.00014-2

EVANS J. G. (1972). Land Snails in Archaeology with special reference of the British Isles. Seminar Press. London & New York. 436 p.

Fahmy S.R., Abdel-Ghaffar F., Bakry F.A., Sayed D.A. (2014). Ecotoxicological effect of sublethal exposure to zinc oxide nanoparticles on freshwater snail *Biomphalaria alexandrina*. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 67(2):192-202.

Fan, Wu., Zhengtao, Liu., Jiaqi, Wang., Xusheng, Wang., Cong, Zhang., Shunhao, Ai., Jie, Li., Xiao-Nan, Wang. (2024). Research on aquatic microcosm: Bibliometric analysis, toxicity comparison and model prediction.. *Journal of Hazardous Materials*, doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.134078.

Feidantsis, K., Kalogiannis, S., Marinoni, A., Vasilogianni, A.-M., Gkanatsiou, C., Kastrinaki, G., Dendrinou-Samara, C., & Kaloyianni, M. (2020). Toxicity assessment and comparison of the land snail's *Cornu aspersum* responses against CuO nanoparticles and ZnO nanoparticles. *Comparative Biochemistry and Physiology C-toxicology & Pharmacology*. doi: 10.1016/J.CBPC.2020.108817

Festa, R. A., & Thiele, D. J.. (2011). Copper: an essential metal in biology. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2011.09.040>

Filip, Pawlak., Krystyna, Koziol., Wanda, Wilczyńska-Michalik., Mikołaj, Worosz., Marek, Michalik., Sara, Lehmann-Konera., Żaneta, Polkowska. (2024). Characteristics of

Anthropogenic Pollution in the Atmospheric Air of South-Western Svalbard (Hornsund, Spring 2019). Water, doi: 10.3390/w16111486

Fincheira, P., Tortella, G., Seabra, A.B., Quiroz, A., Diez, M.C., Rubilar, O. (2021). Nanotechnology advances for sustainable agriculture: current knowledge and prospects in plant growth modulation and nutrition. *Planta* 254, 1–25. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03714-0>

Fitzgerald, L., & Wikoff, D.. (2014). Persistent Organic Pollutants. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00211-6>

Fojt, P., Zlámálová-Gargošová, H., & Ježek, S. (2022). Possible use of terrestrial gastropod (*Helix aspersa aspersa*) and its life stages as a tool for environmental risk assessment. *Chemistry and Ecology*. doi: 10.1080/02757540.2022.2048824

Forbes V.A., Forbes T.L., Rivière J.-L. (1997). *Écotoxicologie: théorie et applications*. Editions Quae, Paris. 424 p.

Fraga, C. G.. (2005). Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2005.07.013>

Francisco, Bozinovic., Pablo, Sabat., Pablo, Sabat., Enrico, L., Rezende., Mauricio, Canals. (2016). Temperature variability and thermal performance in ectotherms: acclimation, behaviour, and experimental considerations. *Evolutionary Ecology Research*,

Franzellitti , S., Fabbri, E. (2005). Differential HSP70 gene expression in the Mediterranean mussel exposed to various stressors. *Biochem Biophys Res Commun*, 336(4):1157-1163.

Franziska, Exeler. (2022). Monitoring annual snail activity cycles: field-testing paleoenvironmental assumptions. doi: 10.5194/egusphere-egu22-5061

Fränzle, S. (2006). "Processes of Metal Transfer and Bioaccumulation in Terrestrial Gastropods." *Environmental Science and Pollution Research*.

Freckman, D. W., & Ettema, C. H. (1993). Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 45(3–4), 239–261.

Frey, C.. (2022). Industrial Manufacturing Applications of Zinc Oxide Nanomaterials: A Comprehensive Study. <https://doi.org/10.3390/nanomanufacturing2040016>

Frias-Espericueta M.G., Abad-Rosales S., Aidée C.N.V., Isidro-Osuna L., Pàez-Osuna F., Olvera R.L., Voltolina D. (2008). Histological effects of a combination of heavy metals on pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquatic Toxicology*.89:152-157

Fritsch C. (2010). Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres (PhD Thesis). Université de Franche-Comté, France.

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 *Cepaeanemoralis*) From A Smelter-Impacted Area. *Ecotoxicol. Lond. Engl.* 20, 739–759.

Gabriel, Souza-Silva. (2023). Using freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) as a biological model for ecotoxicology studies: a systematic review. *Environmental Science and Pollution Research*, doi: 10.1007/s11356-023-25455-1

Gagné F., Blaise C., Pellerin J., Pelletier E., Strand J. (2006). Health status of *Mya arenaria* bivalves collected from contaminated sites in Canada (Saguenay Fjord) and Denmark (Odense Fjord) during their reproductive period. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 64(3), 348-361.

Galan, J.. (2023). Introductory Chapter: Management of Noise Pollution. <https://doi.org/10.5772/intechopen.110833>

Galaris, D., Evangelou, A. (2002). The rôle of oxidative stress in mechanisms of metal-induced carcinogenesis, *Critical Reviews in Oncology/Hematology* ,42 (1),93-103.

Gao, W., & Li, Z.. (2009). Nanostructures of zinc oxide. <https://doi.org/10.1504/IJNT.2009.022917>

Garai, P., Banerjee, P., Mondal, P., Ch, N., & Saha, R. A. (2021). Effect of heavy metals on fishes: Toxicity and bioaccumulation. *Journal of Clinical Toxicology*, 11(S18), Article 001. <https://doi.org/10.35248/2161-0495.21.S18.001>

Gargi, Nandy., Soujita, Pramanik., Suranjana, Banerjee., Himangshu, Barman., Gautam, Aditya. (2023). Size-dependent growth and fecundity variations of three land snails: implications for population management. *Invertebrate Reproduction & Development*, doi: 10.1080/07924259.2023.2241848

Garrido, F., Serrano, S., Campbell, C. G., Barrios, L., & García-González, M. T.. (2008). *Evidence of Physical and Chemical Nonequilibrium in Lead and Cadmium Transport and Sorption in Acid Soils.* <https://doi.org/10.2136/SSSAJ2007.0411>

Gasparatos, D. (2023). Soil Contamination by Heavy Metals and Metalloids. MDPI. <https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-3546-3>

George, J. C., Thewissen, J. G. M., Von Duyke, A. L., Breed, G. A., Suydam, R., Sformo, T., Person, B. T., & Brower, H. (2021). Life history, growth, and form. In J. G. M. Thewissen (Ed.), *Encyclopedia of Marine Mammals* (3rd ed., pp. 507–515). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818969-6.00007-8>

Gholamalizadeh, A., & Ahangar. (2010). Sorption of PAHs in the Soil Environment with Emphasis on the Role of Soil Organic Matter: A Review.

Gimbert F., Mench M., Coeurdassier M., Badot P.M., Gomot-De Vaufleury A. (2008). Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. *Environmental Pollution*. 152, 736-745.

Gimbert, F., De Vaufleury, A., Douay, F., Coeurdassier, M., Scheifler, R., Badot, P.-M. (2008). Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 138-146. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.05.014>.

Gimbert, F., De Vaufleury, A., Douay, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., Badot, P.-M., (2006). Modelling chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866-875. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.006>.

Gnatyshyna, L., Khoma, V., Martinyuk, V., Matskiv, T., Pedrini-Martha, V.,Niederwanger, M., ... Dallinger, R. (2023). Sublethal cadmium exposure in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* meets a deficient, poorly responsive metallothionein system while evoking oxidative and cellular stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 263, 109490.

Gökçe, D.. (2021). Influences of nanoparticles on aquatic organisms: Current situation of nanoparticles effects in aquatic ecosystems. <https://doi.org/10.37868/SEI.V3I1.ID136>

Gomes, T., J.P.Pinheiro, I.Cancio, C.G.Pereira, C.Cardoso and M.J.Bebianno. (2011). Effects of copper nanoparticles exposure in the Mussel *MytilusGalloprovincialis*. *Environmental science and technology*. 45(1): 9356-9362.

Gomot- De Vaufleury A. (1997). Dose-Dependent Effects of Cadmium on the Growth of Snails in Toxicity Bioassays. *Archchives of Environmental Contaminationand Toxicology*. 33, 209-216.

Gomot- De Vaufleury A. (2015). Landsnail for Ecotoxicological Assessment of Chemicals and Soil Contamination - Ecotoxicological Assessment of Chemicals and Contaminated Soils Using the Terrestrial Snail, *Helix aspersa*, at Various Stage of Its Life Cycle: A Review, in: Armon, R.H., Hänninen, O. (Eds.), *Environmental Indicators*. Springer Netherlands, Dordrecht. 365-391.

Gomot- De Vaufleury A., Gomot L., Boukraa S., Bruckert S. 1989. Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the absorption route for the stimulating factors. *Journal of molluscan studies*. 55, 1-7.

Gomot, A. (1997). [Effects of heavy metals on snail development. Use of snails as bio-indicators of heavy metal pollution for the preservation of human health].. *Bulletin De L Academie Nationale De Medecine*,

Gomot-De Vaufleury A. (2000). Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, and Pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 46, 41- 50.

Gomot-De Vaufleury A.G., Pihan F. (2002). Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails: metal bioavailability and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 21, 820-827.

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

González-Alcaraz M. N., Malheiro C., Cardoso D.N., Prodana M., Morgado R. G., van.G., Cornelis A.M., Loureiro.S. (2020). Bioaccumulation and Toxicity of Organic Chemicals in Terrestrial Invertebrates. In J. J. Ortega-Calvo, & J. R. Parsons (Eds.), *Bioavailability of Organic Chemicals in Soil and Sediment*. pp149-189. p 150.

Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B., (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environ. Sci. Technol*. 43, 9216–9222. <https://doi.org/10.1021/es9015553>.

Grara N. (2011). Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux .Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 280p.

Grara N., Bouloudenine M., Khaldi F., Zenir Z., Abdemadjid S. (2015). Caractérisation Morphophysologique de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot *Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement. *J. Mater. Environ. Sci.* 6(9):2596-2603.

Grara, N., Berrebbah, H., Rouabhi, R., Atailia, A., & Djebbar, M.R. (2009). Impact of Pollution by Industrial Metallic Dust on Bio-Accumulator Organism *Helix aspersa*. *Global Veterinaria*, 3(4): 276-280.

Gray, C. W., McLaren, R. G., Roberts, A. H. C., & Condron, L. M. (1999). *Solubility, sorption and desorption of native and added cadmium in relation to properties of soils in New Zealand.* <https://doi.org/10.1046/J.1365-2389.1999.00221.X>

Great, Iruoghene, Edo., Lilian, Oghenenyoreme, Itoje-akpokiniovo., Promise, Obasohan., Victor, Ovie, Ikpegoro., Princess, Oghenekenno, Samuel., Agatha, Ngukuran, Jikah., Laurine, Chikodiri, Nosu., Helen, Avuokerie, Ekokotu., Ufuoma, Ugbune., Ephraim, Evi, Alex, Oghroro., Oghenerume, Lucky, Emakpor., Irene, Ebosereme, Ainyanbhor., Wisam, Mohammed., Patrick, Othuke, Akpogheli., Joseph, Oghenewogaga, Owheruo., Joy, Johnson, Agbo. (2024). Impact of environmental pollution from human activities on water, air quality and climate change. Deleted Journal, doi: 10.1016/j.ecofro.2024.02.014

Grimm FW, Forsyth RG, Schueler FW, Karstad A. (2009). Identification des escargots et des limaces terrestres au Canada. Identification des escargots et des limaces terrestres au Canada. Ottawa, iv:168 pp.

Guérin, V., Bataillard, P., Michel, J., & Beaucaire, C. (2012). Guide « Caractérisation de la mobilité des éléments traces minéraux dans la zone non saturée du sol : diagnostic du site ». Projet CaPhéInE financé par l'Ademe, réalisé en partenariat par le BRGM, l'INERIS, EDF et le CEA.

Guiller, A. & Madec, L. (2010) Historical biogeography of the land snail *Cornu aspersum*: a new scenario inferred from haplotype distribution in the Western Mediterranean basin. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 18.

Guiller, A., Martin, M.-C., Hiraux, C. & Madec, L. (2012) Tracing the invasion of the mediterranean land snail *Cornu aspersum aspersum* becoming an agricultural and garden pest in areas recently introduced. PLoS ONE, 7, e49674.

Gutteridge JM. (1995). Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. Clinical Chemistry. 41:1819-1828.

Habba, Y.G., (2017). Etude des nanostructures de ZnO pour leur application dans l'environnement : detection de gaz et depollution de l'eau. These de doctorat. Universite Paris-Est, France. p 167.

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. 249:7130-7139.

Hafid, Brahmia., Ali, Elafri., Ismahen, Halassi., Mohamed, Dhaya, El-Hak, Khemis. (2021). Local climate conditions impact on breeding performance of house martin (*Delichon urbica*) populations in Algeria. Biologia, doi: 10.2478/S11756-020-00666-W

Haider, F.U., Zulfiqar, U., ul Ain, N., Hussain, S., Maqsood, M.S., Ejaz, M., Yong, J.W.H., Li, Y. (2024). Harnessing plant extracts for eco-friendly synthesis of iron nanoparticle (Fe-NPs): Characterization and their potential applications for ameliorating environmental pollutants. Ecotoxicology and Environmental Safety 281, 116620. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116620>.

Haiyang, Zhao., Haiyang, Zhao., Luxin, Li., Huilu, Zhan., Huilu, Zhan., Yanhui, Chu., Bingbing, Sun. (2019). Mechanistic Understanding of the Engineered Nanomaterial-Induced Toxicity on Kidney. Journal of Nanomaterials, doi: 10.1155/2019/2954853

Hamed, Ghafarifarsani., Seyed, Ali, Akbar, Hedayati., Morteza, Yousefzadi., Seyed, Hossein, Hoseinifar., Peyman, Yarahmadi., Seyedeh, Soraya, Mahmoudi., Hien, Van, Doan. (2022). Toxic and bioaccumulative effects of zinc nanoparticle exposure to goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758).. Drug and Chemical Toxicology, doi: 10.1080/01480545.2022.2115509

Hanif, M., Munir, N., Abideen, Z., Yong, J.W.H., El-Keblawy, A., El-Sheikh, M.A. (2024). Synthesis and optimization of nanoparticles from *Phragmites karka* for improves tomato growth and salinity resilience. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 55, 102972. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102972>.

- Hannula, J.. (2022).** Mobility of Trace Elements in Agricultural Soils. https://doi.org/10.1007/978-981-16-9310-6_12
- Haque, F., Faridullah, F., Irshad, M., Bacha, A.-U.-R., Ullah, Z., Fawad, M., Hafeez, F., Iqbal, A., Nazir, R., Abdulwahed, F., Alrefaei, M., & Almutairi, M. (2023).** Distribution and speciation of trace elements in soils of four land-use systems. *Land*, 12(10), Article 1894. <https://doi.org/10.3390/land12101894>
- Hartwig, A.. (2013).** *Cadmium and cancer*. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5179-8_15
- Harvey, A. W.. (2022).** Adsorption. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7488-3_12
- Hayat, M. T., Nauman, M., Nazir, N., Ali, S., & Bangash, N.. (2019).** Environmental Hazards of Cadmium: Past, Present, and Future. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814864-8.00007-3>
- Hayes J.D., Pulford D.J. (1995).** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Biochemistry and Molecular Biology*. 30:445-600.
- He, S., & Feng, Y.. (2017).** The Impact of Engineered Nanomaterials on Crops and Soil Microorganisms. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4678-0_11
- He, Z., Yang, X., & Stoffella, P. J.. (2005).** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2005.02.010>
- Heba, A., El-Refai., Alaa, M, Saleh., Shima, I, A, Mohamed., Asmaa, F., Aboul, Naser., Rania, Anwar, Zaki., Sanaa, K, Gomaa., Manal, A, Hamed. (2024).** Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Bacillus paramycoides* for In Vitro Biological Activities and In Vivo Assessment Against Hepatorenal Injury Induced by CCl₄ in Rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, doi: 10.1007/s12010-023-04817-y
- Helio, H., Checon., Helio, H., Checon., Mariana, Silva., Mariana, Silva., Guilherme, Nascimento, Corte., Guilherme, Nascimento, Corte., Leonardo, Q., Yokoyama., M., Alexandra, Teodósio., Alexander, Turra. (2021).** Night underwater rides: the activity of a sandy beach gastropod is affected by interactive effects of light availability and water level. *Marine Biology Research*, doi: 10.1080/17451000.2021.1974044
- Heng, B.C., Zhao, X., Xiong, S., Ng, K.W., Boey, F.Y., Loo, J.S., (2011).** Cytotoxicity of zinc oxide (ZnO) nanoparticles is influenced by cell density and culture format. *Arch Toxicol* 85(6): 695-704.

Henry CH. (1977). La variabilité de l'Escargot Petit-Gris Hélix aspersa Miiller. BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIBE NATURELLE. 3e série. n 448. mars-avril 1977. Zoologie 311

Hernandezbattez, A. (2008). CuO,ZrO₂ et de nanoparticules de ZnO Comme additif anti-usure dans les lubrifiant de petrol ,wear 265 :422.doi :10,1016

Herrera-Rivera, R., Maldonado, A., & Olvera, M. de . la L.. (2013, December 2). Morphological and structural properties of ZnO powders. <https://doi.org/10.1109/ICEEE.2013.6676021>

Hoda, H., Abdel-Azeem., Gamalat, Y., Osman. (2021). Oxidative stress and histopathological effect of zinc oxide nanoparticles on the garden snail Helix aspersa.. Environmental Science and Pollution Research, doi: 10.1007/S11356-020-11438-Z

Holder, A. L., Vejerano, E. P., Zhou, X., & Marr, L. C.. (2013). Nanomaterial disposal by incineration. <https://doi.org/10.1039/C3EM00224A>

Holm, P. E., Andersen, B. B. H., & Christensen, T. H.. (1993). *Solubility of Cadmium in Polluted Soil.* https://doi.org/10.1007/978-94-011-2018-0_80

Hopkin S.P. (1995). Deficiency and excess of essential and non-essential metals in terrestrial insects, In: Harrington, R., Stork,N.E., (Eds.), *Insects in a Changing Environment*, AcademicPress, London 251-270

Hopkin, S. P. (1989). *Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates.* Elsevier Applied Science, NY, USA, 366 p.

Horikoshi, S., & Serpone, N.. (2013). *Introduction to Nanoparticles.* <https://doi.org/10.1002/9783527648122.CH1>

Howard, J. T.. (2017). *Anthropogenic Soils in Agricultural Settings.* https://doi.org/10.1007/978-3-319-54331-4_7

Huang, Y., Mubeen, S., Yang, Z., Wang, J. (2022). *Cadmium Contamination in Agricultural Soils and Crops.* https://doi.org/10.1007/978-981-16-7751-9_1

Hugh, Lefcort., David, A., Cleary., Aaron, M, Marble., Morgan, V, Phillips., Timothy, J, Stoddard., Lara, M, Tuthill., James, R., Winslow. (2015). *Snails from heavy-metal polluted environments have reduced sensitivity to carbon dioxide-induced acidity..* SpringerPlus, doi: 10.1186/S40064-015-1073-9

Huihang, Sun., Yu, Tian., Hao, Zhang., Yiming, Meng., Shupeng, Wang., Lipin, Li., Wei, Zhan., Xue, Zhou., Wei-Qi, Zuo. (2023). Decoding China's anthropogenic typical pollutant discharge patterns: long-term dynamics and hotspot transitions driven by population, diet, and sanitation. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2023.121049

Hutzinger, O., & Roof, A. A. M. (1980). Polychlorinated Biphenyls and Related Halogenated Compounds. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-023809-8.50021-7>

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer, & World Health Organization. 1993. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. World Health Organization, 56p.

Idrees, Khan., Eman, A., Alabbad., Khalid, Saeed., Shujaat, Ahmad., Nisar, Ali. (2024). Nanomaterials: fundamentals and applications. doi: 10.1016/b978-0-323-95517-1.00016-0

Ikonet. *Anatomie de l'escargot.* Le Dictionnaire Visuel. Accessed August 13, 2024. <https://www.ikonet.com/fr/ledictionnairevisuel/regneanimal/mollusques/escargot/anatomie-de-escargot.php>

İlknur, ÜLKER, MERMER. (2023). Ecotoxicology, Terrestrial. doi: 10.1016/b978-0-12-824315-2.00259-1

International Organization for Standardization (ISO). (1994). ISO 11265: Soil quality - Determination of the specific electrical conductivity. ISO.

International Organization for Standardization (ISO). (1995). ISO 11261: Soil quality - Determination of total nitrogen - Modified Kjeldahl method. ISO.

International Organization for Standardization. (2018). ISO 15952:2018 Soil quality - Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae) - Determination of the effects on growth by soil contamination. <https://www.iso.org/standard/73635.html>

Ismert M., Oster T., Bagrel D. (2002). Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic metabolizing enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*. 46(2):273280.

ISO 80004-1:2023 Nanotechnologies — Vocabulaire — Partie 1: Vocabulaire "cœur" .

Izaki, M., Shinagawa, T., Mizuno, K.T., Ida, Y., Inaba, M., Tasaka, A. (2007). Electrochemically constructed p-Cu₂O/n-ZnO heterojunction diode for photovoltaic device. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 40: 3326–3329.

- Jacob, F., & Monod, J. (1961).** Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *Journal of Molecular Biology*, 3(3), 318–356. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(61\)80072-7](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(61)80072-7)
- Jae, Hyeong, Yang., Sung, Il, Lee., Sang, Chul, Yoon., Jong, Bin, Kim., Young, Yull, Chun. (2010).** Maturity and Spawning of Snailfish, *Liparis ochotensis* (Schmidt), in the East Sea. *Fisheries and Aquatic Sciences*, doi: 10.5657/FAS.2010.13.4.332
- Jaenicke, U.. (2023).** Nano ZnO: Structure, Synthesis Routes, and Properties. <https://doi.org/10.21741/9781644902394-1>
- Jalil, S., Nazir, M. M., Al-Huqail, A. A. Ali, B., Al-Qthanin, R. N., Asad, M.A.U., Eweda, M. A., Zulfiqar, F., Onursal, N., Masood, H. A., Yong, J. W. H., Jin, X., 2023b.** Silicon nanoparticles alleviate cadmium toxicity in rice by modulating the nutritional profile and triggering stress-responsive genetic mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 268, 115699. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115699>.
- Jalil, S., Nazir, M.M., Ali, Q., Zulfiqar, F., Moosa, A., Altaf, M.A., Zaid, A., Nafees, M.A., Yong, J.W.H., Jin, X. (2023) a.** Zinc and nano zinc mediated alleviation of heavy metals and metalloids in plants: an overview. *Funct. Plant Biol.* 50, 23021. <https://doi.org/10.1071/FP23021>.
- Jan, N., Majeed, N., Ahmad, M., Ahmad Lone, W., & John, R. (2022).** Nano-pollution: Why it should worry us. *Chemosphere*, 302, 134746. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134746>
- Jan, N., Majeed, N., Ahmad, M., Lone, W. A., & John, R. (2022).** Nano-pollution: Why it should worry us. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134746>
- Jaruwat, Nabhitabhata., Jiraporn, Suriyawarakul., Anyanee, Yamrungrueng., Kittichai, Tongtherm., Surangkana, Tuanapaya. (2022).** Relationships of growth increments of internal shells and age through entire life cycles in three cultured neritic cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) with re-evaluation as application for age determination. *Swiss Journal of Palaeontology*, doi: 10.1186/s13358-022-00249-z
- Jean-Claude B., Pierrick A et Jean-Louis V (2019).** L'escargot *Hélix aspersa* biologie – élevage. INRA. Domaine pluridisciplinaire du Magneraud 17700 Surgères. Paris. pp : 119. p11-12.

- Jelena, Vrankovic., Svetlana, Labus-Blagojevic., Béla, Csányi., Jarmila, Makovinska. (2012).** Antioxidant enzymes and GST activity in natural populations of *Holandriana holandrii* from the Bosna River. *Turkish Journal of Biology*,
- Jeng, H.A., & Swanson, J., (2006).** Toxicity of metal oxide nanoparticles in mammalian cells. *J Environ Sci Health*. 41(12): 2699-2711.
- Jiao, W., Dou, X., Hu, J., Wang, S., Ji, L., Han, Z., Fang, Y., & Qin, Z.. (2020).** Emerging Contaminants in Soil and Groundwater. <https://doi.org/10.1201/9780429322563-5>
- Jin, S.. (2008).** The review of heavy metals biotoxicity in soil.
- Jordaens K., Wolf H., Vandecasteele B., Blust R., Backeljau T., (2006).** Associations between shell strength, shell morphology and heavy metals in the land snail *Cepaea nemoralis* (Gastropoda, Helicidae). *Science of the Total Environmental*. 363: 285-293.
- Jørgensen, P.S. & Sørensen, N. (2008)** the invasive potential of the brown garden snail (*Cantareus aspersus*): a future invasive species in Denmark? BSc, University of Copenhagen, Copenhagen.
- Jovita, Byzitter., Ken, Lukowiak., Vikram, Karnik., Sarah, Dalesman. (2012).** Acute combined exposure to heavy metals (Zn, Cd) blocks memory formation in a freshwater snail. *Ecotoxicology*, doi: 10.1007/S10646-011-0847-2
- Juan, Wu., Jian, Q., Sun., Thijs, Bosker., Martina, G., Vijver., Willie, J.G.M., Peijnenburg. (2023).** Toxicokinetics and Particle Number-Based Trophic Transfer of a Metallic Nanoparticle Mixture in a Terrestrial Food Chain.. *Environmental Science & Technology*, doi: 10.1021/acs.est.2c07660
- Julián, Blasco., Cristiano, V.M., Araújo., Rui, Ribeiro., Matilde, Moreira-Santos. (2020).** Do Contaminants Influence the Spatial Distribution of Aquatic Species? How New Perspectives on Ecotoxicological Assays Might Answer This Question.. *Environmental Toxicology and Chemistry*, doi: 10.1002/ETC.4594.
- Junguo, Ma., Xiang-Yi, Dong., Qian, Fang., Xiaoyu, Li., Jian-Ji, Wang. (2014).** Toxicity of imidazolium-based ionic liquids on *Physa acuta* and the snail antioxidant stress response.. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, doi: 10.1002/JBT.21537
- Kabata-Pendias, A. (1993).** Behavioural properties of trace metals in soils. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(09\)80002-4](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(09)80002-4)

Kabata-Pendias, A., & Szteke, B.. (2015). Trace Elements in Abiotic and Biotic Environments.

Kang, K. W., Kang, K. W., Song, M. G., Song, M. G., & Song, M. G.. (2018). Organic Nanomaterials: Liposomes, Albumin, Dendrimer, Polymeric Nanoparticles. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67720-0_5.

Karen, J., C., Rickards., Elizabeth, G., Boulding. (2015). Effects of temperature and humidity on activity and microhabitat selection by *Littorina subrotundata*. Marine Ecology Progress Series, doi: 10.3354/MEPS11427

Karthik, K., Dhanuskodi, S., Gobinath, C., Prabukumar, S., & Sivaramakrishnan, S. (2018). Propriétés multifonctionnelles du nanocomposite mixte d'oxydes métalliques CdO–NiO–ZnO assisté par micro-ondes : activités photocatalytiques et antibactériennes améliorées. Journal of Materials Science : Matériaux en électronique, 29 , 5459-5471.

Kaur, R., Sharma, S., & Kaur, N.. (2019). Heavy metals toxicity and the environment.

Kazantzis, G.. (1994). *Cadmium in the Human Environment: Toxicity and Carcinogenicity*. <https://doi.org/10.1136/OEM.51.10.720>

Khalid, U. A., Tariq, R., Zahra, S. tu ., & Khalid, T. A.. (2020). Nanomaterials: An overview with respect to biological applications. <https://doi.org/10.36785/JAES.102401>

Khan, S., Mansoor, S., Rafi, Z., Kumari, B., Shoaib, A., Saeed, M., et al., (2022). A review on nanotechnology: properties, applications, and mechanistic insights of cellular uptake mechanisms. J. Mol. Liq. 348, 118008. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118008>.

Khandbahale, S. V., & Saudagar, R. B.. (2017). Nanoparticle- A Review. <https://doi.org/10.5958/2231-5659.2017.00026.1>

Khelfi, A.. (2018). Sources of Air Pollution. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-3540-9.CH011>

Kindermann, B., Döring, F., Budczies, J., Daniel, H., (2005). Zinc-sensitive genes as potential new target genes of the metal transcription factor-1 (MTF-1). Biochemistry and cell biology. 83: 221-229.

Kodavanti, P. R. S.. (2014). Polychlorinated Biphenyls (PCBs). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385157-4.00271-2>

Köhler, H. R., Lazzara, R., Dittbrenner, N., Capowiez, Y., Mazzia, C., Triebkorn, R., 2009. Snail phenotypic variation and stress proteins: do different heat response strategies contribute to Waddington's widget in field populations? *Journal of Experimental Zoology B Molecular and Developmental Evolution*, **312**, 136-147

Kokilavani, S., Janani, B., Balasurya, S., Khan, S.S. (2023). *Accumulation of Engineered Nanomaterials in Soil, Water, and Air.* https://doi.org/10.1007/978-981-19-5454-2_21

Kourtidis A, Drosopoulou E, Nikolaidis N, Hatzi VI, Chintiroglou CC, Scouras ZG. (2006). Identification of several cytoplasmic HSP70 genes from the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and their long-term evolution in Mollusca and Metazoa. *J Mol Evol*, **62**: 446-459.

Kramarz, P., De Vauflery, A., Gimbert, F., Cortet, J., Tabone, E., Andersen, M.N., Krogh, P.H., (2009). Effects of Bt-maize material on the life cycle of the land snail *Cantareus aspersus*. *Appl. Soil Ecol.* **42**, 236–242. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2009.04.007>.

Krishnamurti, G. S. R., & Naidu, R.. (2003). *Solid-solution equilibria of cadmium in soils.* [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(02\)00313-0](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(02)00313-0)

Kubier, A., Wilkin, R. T., & Pichler, T.. (2019). *Cadmium in soils and groundwater: A review..* <https://doi.org/10.1016/J.APGEOCHEM.2019.104388>

Kumar, D., Anand, S., P., Tiwari, J., Kisku, G. C., & Kumar, N.. (2019). *Removal of Inorganic and Organic Contaminants from Terrestrial and Aquatic Ecosystems Through Phytoremediation and Biosorption.* https://doi.org/10.1007/978-981-10-7284-0_3

Kumar, D., Malik, S., Rani, R., Kumar, R., & Duhan, J. S.. (2023). Behavior, risk, and bioremediation potential of heavy metals/metalloids in the soil system. <https://doi.org/10.1007/s12210-023-01166-0>

Kumar, R., Dossary, O.A., Kumar, G., Umar, A., (2015). Zinc Oxide Nanostructures for NO₂ Gas Sensor Applications: A Review. *Nano-Micro Lett.* **7**: 97-120.

Kumari, K., Singh, P., Baudh, K., S., Mallick, S., & Chandra, R.. (2018). Implications of Metal Nanoparticles on Aquatic Fauna: A Review. <https://doi.org/10.2174/2210681208666171205101112>

Labrot F., Ribera D., Saint-Denis M., Narbonne J.F., (1996). In vitro and in vivo studies of potential biomarkers of lead and uranium contamination: lipid peroxidation,

acetylcholinesterase, catalase and glutathione peroxydase activities in three non- mammalian species. *Biomarkers*. 1: 21-28.

Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., (1997). *Biomarqueurs en écotoxicologie*. Collection Écologie, Masson, Paris, 419 p.

Lala, Grace, Calle., Patrick, C., Cabaitan., Sherry, Lyn, G., Sayco., Shau, Hwai, Tan., Cecilia, Conaco. (2024). Ontogenetic variability in the diel activity pattern of the marine gastropod *Cassis cornuta* (Mollusca: Cassidae). *Journal of Molluscan Studies*, doi: 10.1093/mollus/eyad024

Lala, Rukh., Saif, Ullah., Muhammad, Ameer, Qarib, Naqvi., Imtiaz, Ahmad., Muhammad, Yasir, Nawaz., Azhar, Shabir., Muhammad, Shahzad, Shafiq., Faisal, Hafeez., Ehsan, Elahi., Arslan, Muhammad, Ali, Khan. (2024). Cytotoxicity and genotoxicity induced by metal-based nanoparticles in humans and animals. doi: 10.62310/liab.v4i2.143

Lam P.K.S. (1996) a. Effects of cadmium on the consumption and absorption rates of a tropical freshwater snail *Radix plicatulus*. *Chemosphere*. 32:2127-2132.

Lam, R. W., & Chen, W.. (2019). Metals and Alloys. https://doi.org/10.1007/978-3-030-24237-4_3

Larba R. (2014). *Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez Hélix aspersa et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba

Laskowski R., Hopkin S.P. (1996) b. Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): implications for predators. *Environmental Pollution*. 91, 289-297.

Laura, Ferreira., Patrícia, C., Pires., Mariana, Fonseca., Gustavo, Costa., Prabhanjan, S., Giram., Priscila, Gava, Mazzola., Victoria, Bell., Filipa, Mascarenhas-Melo., Francisco, Veiga., Ana, Cláudia, Paiva-Santos. (2023). Nanomaterials in Cosmetics: An Outlook for European Regulatory Requirements and a Step Forward in Sustainability. *Cosmetics*, doi: 10.3390/cosmetics10020053

Laxmi, Kant, Bhardwaj., Vijay, Pratap, Singh. (2024). Air pollution and its effect on human health. doi: 10.58532/v3bcag4p1ch1

Lead and Zinc Study Group (ILZSG). Available online: <https://www.ilzsg.org/static/statistics.aspx> (accessed on 20 Aout 2024)

- Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F., & Lionetto, M. G. (2015).** Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail *Cantareus apertus* exposed to the carbamate pesticide Carbaryl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 176–177, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.11.003>
- Leonenko, N. S., & Leonenko, O. B.. (2017).** Toxic effects of nanoparticles. <https://doi.org/10.15407/BIOTECH10.03.007>
- Lewis, A.. (2017).** Precipitation of Heavy Metals. https://doi.org/10.1007/978-3-319-58622-9_4
- Linden, D. R., van Veen, J. A., Kuikman, P. J., & Brussaard, L. (1994).** A simple dynamic model to estimate the effect of earthworms on nitrogen cycling in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils*, 18(2), 87–95.
- Linhares, D., Garcia, P., & Rodrigues, A.. (2020).** *Trace Elements in Volcanic Environments and Human Health Effects*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.90786>
- Liu, S., Che, H., Smith, K., & Chang, T.. (2015).** Contaminant classification using cosine distances based on multiple conventional sensors. <https://doi.org/10.1039/C4EM00580E>
- Livingstone, D.R., (2001).** Contaminant -stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut Bull* ,42,656-666.
- Loganathan, P., Vigneswaran, S., Kandasamy, J., & Naidu, R.. (2012).** Cadmium Sorption and Desorption in Soils: A Review. <https://doi.org/10.1080/10643389.2010.520234>
- Lombi, E., Holm, P., & Holm, P.. (2010).** Metalloids, soil chemistry and the environment. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6315-4_3
- Louie, S. M., Ma, R., & Lowry, G. V.. (2014).** Chapter 2 – Transformations of Nanomaterials in the Environment. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-099408-6.00002-5>
- Louzon M., Pauget B., Gimbert F., Morin-Crini N., Gomot-De Vaufleury A. (2020).** Ex situ environmental risk assessment of polluted soils using threshold guide values for the land snail *Cantareus aspersus*. *Science of The Total Environment*. 721, 137789.
- Louzon M., Pelfrène A., Pauget B., Gimbert F., Morin-Crini N., Douay F., Gomot-De Vaufleury A. (2020).** Bioaccessibility of metal(loid)s in soils to humans and their

bioavailability to snails: A way to associate human health and ecotoxicological risk assessment? Journal of Hazardous Materials. 384, 121432.

Luo, R., & Wu, C.. (2019). Pesticides: Environmental Exposure, Toxicity, and Mechanism. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9535-3_7

Luo, Y., Zang, Y., Zhong, Y., Kong, Z.M., (1999). Toxicological study of two novel pesticides on earthworm *Eiseniafetida*. *Chemosphere*, **39**, 2347–2356.

M., Louzon., Annette, de, Vaufleury., Nicolas, Capelli. (2023). assessment with land snails: a mini-review.. Mutation Research-reviews in Mutation Research, doi: 10.1016/j.mrrev.2023.108472

M., Louzon., Annette, de, Vaufleury., Nicolas, Capelli. (2023). Ecogenotoxicity assessment with land snails: a mini-review.. Mutation Research-reviews in Mutation Research, doi: 10.1016/j.mrrev.2023.10847

Madec, L. (1989) Etude de la différenciation de quelques populations géographiquement séparées de l'espèce *Helix aspersa* Müller (Mollusque Gastéropode Pulmoné): aspects morphologiques, écophysiologicals et biochimiques. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, Rennes, France.

Madoz-Escande C., Simon O. (2006). Contamination of terrestrial gastropods, *Helix aspersa maxima*, with Cs, Sr, Ba and Te by direct, trophic and combined pathways, France. 35-36p.

Maffini, A., Pazzaglia, A., Dellasega, D., Russo, V., & Passoni, M.. (2022). Production of Carbon Nanofoam by Pulsed Laser Deposition on Flexible Substrates. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81827-2_7

Mahmoud M.A. D. (2006). Tissue distribution and subcellular localization of trace metals in the pond snail *Lymnaea stagnalis* with special reference to the role of lysosomal granules in metal sequestration. *Aquatic Toxicology* 77 (143–152).

Majewska, M., Kurek, E., & Rogalski, J.. (2007). *Microbially mediated cadmium sorption/desorption processes in soil amended with sewage sludge.* <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2006.10.051>

Majida, Jumahh, Al-Ragi., Sahar, S, Karieb., Neila, Fathallah., Amira, Zairi. (2024). Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Liver Functions in Albino Mice. *Cureus*, doi: 10.7759/cureus.54822

- Makarov, A.. (2022).** *Anthropogenic deposits and their impact on the natural environment.* <https://doi.org/10.21440/0536-1028-2022-3-120-129>
- Manar, A., Kandeil., Hoda, K., Salem., Samia, Hanim, Eissa., Sama, S, Hassan., Abdelhamid, M., El-Sawy. (2024).** Reproductive performance of freshwater snail, *Helisoma duryi* under the effect of bulk and nano zinc oxide.. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, doi: 10.1002/jez.2816
- Mane, M.. (2019).** A Brief Review on Soil Pollution.
- Manzl C., Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Dallinger R. (2004).** Acute toxicity of cadmium and copper in hepatopancreas cells from the Roman snail (*Helix pomatia*). *Comp. Biochem. Physiol.* 138C:45-52.
- Marat, I., Petrov., Zdravka, Nikolaeva., Aleksandar, Dimitrov., Velichka, Traneva. (2024).** Thermodynamic empirism for describing atmospheric pollutants. *Vide. Tehnologija. Resursi*, doi: 10.17770/etr2024vol1.7980
- Marcovecchio, J. E., Botté, S. E., Domini, C. E., & Freije, R. H.. (2013).** Heavy Metals, Major Metals, Trace Elements. <https://doi.org/10.1201/B15314-22>
- Marie-Noële, Croteau., Agnieszka, Dybowska., Samuel, N., Luoma., Samuel, N., Luoma., Samuel, N., Luoma., Eugenia, Valsami-Jones. (2011).** A novel approach reveals that zinc oxide nanoparticles are bioavailable and toxic after dietary exposures. *Nanotoxicology*, doi: 10.3109/17435390.2010.501914
- Marigomez, I., Kortabitarte, M., Dussart, G.B.J. (1998).** Tissue-level biomarkers in sentinel slugs as cost-effective tools to assess metal pollution in soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34. 167–176.
- Markl H. (2013).** Evolution of molluscan hemocyanin structures. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics.* 1834(9). 1840-1852.
- Martoja R., Martoja P.M. (1967).** *Initiation aux techniques de l’histologie animale.* Masson et Cie, Paris VI. 345p.
- Masaya M., Yoshinobu H., Ai Y., Maki K., Yasuo O. (2002).** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlations with susceptibility to mercury. *Journal of Phycology.* 38(5):983.

- Mathew, B. B., Singh, H., Biju, V. G., & Krishnamurthy, N. B.. (2017).** Classification, Source, and Effect of Environmental Pollutants and Their Biodegradation. <https://doi.org/10.1615/JENVIRONPATHOLTOXICOLONCOL.2017015804>
- McCarthy J.F., Shugart L.R., (1990).** Biological markers of environmental contamination, *in* Journal of McCarthy F., and Shugart L.R., eds., Biomarkers of environmental contamination: Boca Raton, FL, USA, Lewis Publishers. 3-16.
- McCawley, M.. (2015).** *Air contaminants associated with potential respiratory effects from unconventional resource development activities..* <https://doi.org/10.1055/S-0035-1549453>
- McClary, M.. (2022).** Biodegradation of Hazardous Contaminants and Pesticides. <https://doi.org/10.1201/9781003186304-20>
- Mebirouk R., (2017).** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-angiogénique. Thèse Doctorat. universite des freres mentouri constantine.pp :172.p5
- Melamed, R.. (1998).** Speciation, reactivity and mobility of toxic elements in soil systems. <https://doi.org/10.1007/BFB0010904>
- Michael, Aschner., Anatoly, V., Skalny., Rongzhu, Lu., Airton, C., Martins., Aristidis, Tsatsakis., Sergey, Miroshnikov., Abel, Santamaría., Alexey, A., Tinkov. (2024).** Molecular mechanisms of zinc oxide nanoparticles neurotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*, doi: 10.1016/j.cbi.2024.111245
- Michael, V., Plummer. (2004).** Seasonal Inactivity of the Desert Box Turtle, *Terrapene ornata luteola*, at the Species' Southwestern Range Limit in Arizona. *Journal of Herpetology*, doi: 10.1670/59-04N
- Milan, Hait., Pradeep, Sahu. (2024).** Natural Hazards as a Source of Environmental Pollution in the Global South. doi: 10.1007/978-981-97-1658-6_5
- Mingming, Han., Tiejun, Zhu., Zihan, Zhou., Yiming, Li., Cigang, Yu., Liang, Ji., Wei, Hong., Si, Qin., Qianfeng, Jiang. (2024).** Multi-omics reveals the particle size effect of nanoplastics on the hepatopancreas and intestinal toxicity of crustacean model *Neospora palmata*. *Science of The Total Environment*, doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.174267
- Mitra, G. N.. (2015).** Definitions of Heavy Metals, Essential and Beneficial Plant Nutrients. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2334-4_8

- Mitra, S., Chakraborty, A. J., Tareq, A. M., Emran, T. B., Nainu, F., Khusro, A., Idris, A. M., Khandaker, M. U., Osman, H., Alhumaydhi, F. A., & Simal-Gandara, J. (2022).** Impact of heavy metals on the environment and human health: Novel therapeutic insights to counter the toxicity. *Journal of King Saud University - Science*, 34(7), Article 101865. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101865>
- Mittal, S. K., Goyal, D., Chauhan, A., & Dang, R. K.. (2020).** Graphene nanoparticles: The super material of future. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.04.260>
- Moezzi, A.. (2012).** Zinc oxide : new insights into a material for all ages.
- Mohamed, Radwan., Amira, F., Gad., Asmaa, M., Abd, El-Aziz., Kawther, S., El-Gendy. (2024).** Unveiling the ecotoxicological effects of azoxystrobin-based fungicides at realistic concentrations on the land snail, *Theba pisana*. *Scientific Reports*, doi: 10.1038/s41598-024-66416-z
- Mohammad, Ruhul, Amin, Bhuiyan., Hayati, Mamur., Ömer, Faruk, Dilmaç. (2023).** Zinc Oxide Nanomaterials for Biomedical Applications. *Advances in organic synthesis*, doi: 10.2174/9789815040791123180007
- Mohammadpour, R., Dobrovolskaia, M. A., Cheney, D. L., Greish, K., & Ghandehari, H.. (2019).** Subchronic and chronic toxicity evaluation of inorganic nanoparticles for delivery applications. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2019.07.006>
- Mona, Fol., Fathi, A., Abdel-Ghaffar., Hassan, Abdel-Malek, Hassan., Amina, M., Ibrahim. (2024).** Oxidative stress, histopathological and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in *Biomphalaria alexandrina* snail. *Dental science reports*, doi: 10.1038/s41598-024-74439-9
- Monica, Green. (2007).** Food gardens: Cultivating a pedagogy of place.
- Morel J. (1974).** Sur la malacofaune des formations continentales des quartiers ouest de Nice (A. M.). *Bull. Mus. Anthropol. préhist. Monaco*. 19 (1973-74) : 21-36.
- Moumeni O., Berrebbah H., Azzouz Z., Amamra R., Otmani H., Alayat A., Benosmane S., Djebar M.R., (2016).** Effects of Cycloxydim on Population Growth, Phagocytosis, Contractile Vacuole Activity and Antioxidant Responses in the Freshwater Ciliate (*Paramecium tetraurelia*). *Res. J. Environ. Toxicol.*, vol 10 (2): 115-125.
- Mouneyrac C., Buffet P.E., Poirier L., Zalouk-Vergnoux A., Guibolini M., Risso-de Faverney C., Perrein-Ettajni H. (2011).** Fate and effects of metal-based nanoparticles in two

marine invertebrates, the bivalve mollusc *Scrobicularia plana* and the annelid polychaete *Hediste diversicolor*. *Environmental Science and Pollution Research*. 21(13):7899-7912.

Ms., Mehreen, Mustufa, Dawre., Sachin, Bangale. (2024). Metal nanoparticles as emerging catalyst. doi: 10.58532/v3becs25p2ch2

Muller O.F., (1774). Vermium terrestrium et fluviatilium seu animalium infusorium, helminthicorum et testaceorum, non marinorum, succinda historia, vol. II.

Müller, L., Riediker, M., Wick, P., Mohr, M., Gehr, P. & Rothen-Rutishauser, B. (2010). Oxidative stress and inflammation response after nanoparticle exposure: differences between human lung cell monocultures and an advanced three dimensional model of the human epithelial airways. *J R Soc Interface*. 7(1): 27-40.

Muniv, Y. S.. (2022). Toxicological Classification of Agricultural Pesticides - An Overview. <https://doi.org/10.33745/ijzi.2022.v08i02.096>

Munsif, R., Zubair, M., Aziz, A., & Zafar, M. N.. (2021). *Industrial Air Emission Pollution: Potential Sources and Sustainable Mitigation*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.93104>

Murtaza, G., Murtaza, B., Niazi, N. K., & Sabir, M.. (2014). Soil Contaminants: Sources, Effects, and Approaches for Remediation. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8824-8_7

Murthy, S., Effiong, P., & Fei, C. C.. (2020). Metal oxide nanoparticles in biomedical applications. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817505-7.00011-7>

Musy, A., & Soutter, M. (1991). Physique du sol. Presses polytechniques et universitaires romandes.

Nader, Butto. (2023). The Gastropod Shell Structure as a Blueprint for a Periodic System: A New Theory for Element Configurations. *Journal of Biophysical Chemistry*, doi: 10.4236/jbpc.2023.142002

Nadji, S., Boulkenafet, F., Benzazia, S., Mellah, L., Bououza, F., Al-Mekhlafi, F. A., Al-Khalifa, M. S., & Lambiase, S. (2024). Comprehensive assessment of lead bioaccumulation in *Helix aspersa* (Müller, 1774) snails: A study of histopathological and biochemical impacts. *Indian Journal of Animal Research*, 58(2), 173–180. <https://doi.org/10.18805/ijar.bf-1740>

Nair, R.. (2016). Effects of Nanoparticles on Plant Growth and Development. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42154-4_5

- Nam, N.H. , Luong, N.H. (2019).** Nanoparticles: synthesis and applications. *Materials for Biomedical Engineering*, 211–240. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102814-8.00008-1>, 2019.
- Naveed Ul Haq, A., Nadhman, A., Ullah, I., Mustafa, G., Yasinzai, M., & Khan, I. (2017).** Approches de synthèse des nanoparticules d'oxyde de zinc : le dilemme de l'écotoxicité. *Journal of Nanomaterials* .
- Nedjoud, G., Houria, B., Rachid, R., Amira, A., & Reda, M. (2009).** Impact of pollution by industrial metallic dust on bio-accumulator organism *Helix aspersa*.
- Negrete-Bolagay, D., Zamora-Ledezma, C., Chuya-Sumba, C., De Sousa, F. B., Whitehead, D. C., Alexis, F., & Guerrero, V. H.. (2021).** Persistent organic pollutants: The trade-off between potential risks and sustainable remediation methods.. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2021.113737>.
- Neoh, K. G., Li, M., & Kang, E.-T.. (2015).** Characterization of Nanomaterials/Nanoparticles. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13575-5_3
- Newman M.C., Mulvey M., Beeby A., Hurst R.W. et Richmond L., (1994).** Snail (*Helix aspersa*) exposure history and possible adaptation to lead as reflected in shell composition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 27(3), 346– 351.
- Newman, M. C. (1994).** *Toxicological effects and bioaccumulation of metals in aquatic organisms: From ecological relevance to regulatory criteria*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(10), 1811-1817
- Ngô, C., & Van de Voorde, M. H.. (2014).** *Nanotechnology Applications for Air and Soil*. https://doi.org/10.2991/978-94-6239-012-6_15
- Nica, D., Bordean, D.-M., Borozan, A., Gergen, I., Bura, M., Banatean-Dunea, I., (2013).** Use of Land Snails (*Pulmonata*) for Monitoring Copper Pollution in Terrestrial Ecosystems.
- Nidhi, Gaur., Shagun, Sharma., Nitin, Yadav. (2024).** Environmental pollution. doi: 10.1016/b978-0-443-18959-3.00010-0
- Ning, Zhang., Lin-Xuan, Ma., Yun-Wei, Dong. (2024).** Flight or fight: different strategies of intertidal periwinkle *Littoraria sinensis* coping with high temperature across populations. *Integrative Zoology*, doi: 10.1111/1749-4877.12857

Nordberg, G. F., Nogawa, K., & Nordberg, M.. (2015). *Chapter 32 – Cadmium*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00032-9>

Nordberg, G.F., Jin, T., Hong, F., Zhang, A., Buchet, J.P., Bernard, A., (2005). Biomarkers of cadmium and arsenic interactions. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.11.028>.

Notten M. J. M., Oosthoek A. J. P., Rozema J., Aerts R. (2006). Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the landsnail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology*, 15, 295-3

Notten M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J. et Aerts R., (2006). Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the landsnail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology*, 15(3), 295–304.

Nriagu, J. O.. (1989). *Natural Versus Anthropogenic Emissions of Trace Metals to the Atmosphere*. https://doi.org/10.1007/978-94-009-2315-7_1

Null. (2022). *Overview of metal pollution*. <https://doi.org/10.1201/9781003337386-1>

Null, Author_ID. (2024). *Fundamentals of nanotechnology*. <https://doi.org/10.2174/9789815238815124010002>

Ogawa, K.. (2001). Chemical adsorption solution and method of producing chemically adsorbed film using the chemical adsorption solution (Patent).

Olusegun, Micheal, Oshiyemi. (2011). Effect of level of humidity on productive and reproductive parameters of giant african land snail.

Onwaeze, Oritseweyinmi, Ogochukwu., Micheal, Bolarinwa, Fabiyi., Oluwadurotimi, S., Aworunse., Oluwafemi, Adebayo, Oyewole., Patrick, Omoregie, Isibor. (2024). Nanoparticle Properties and Characterization. doi: 10.1007/978-3-031-54154-4_2

Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE). (2006). OECD guideline for the testing of chemicals: Soil microcosms (n° 243). https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guideline-for-the-testing-of-chemicals-soil-microcosms_9789264062094-en

Osman, I.F., Baumgartner, A., Cemeli, E., Fletcher, J.N., Anderson, D., (2010). Genotoxicity and cytotoxicity of zinc oxide and titanium dioxide in HEP-2 cells. *Nanomedicine (Lond)*. 5(8): 1193-1203.

Otmani, H. (2018). *Évaluation de la toxicité de quelques métaux lourds sur le comportement d'un modèle animal du groupe des Coelomates.* Thèse de doctorat en biologie, option toxicologie, Université Badji Mokhtar - Annaba.p159.

Ouvaroff, A. A., Butko, I. A., & Litova, N.. (2022, January 1). *Physico-chemical properties and ecological aspect of crystalline iron (III) orthovanadate, iron (III), copper (II) and lead (II) metavanadate.* <https://doi.org/10.47813/nto.3.2022.6.125-136>

Pabian SE, Brittingham MC., (2007). Terrestrial liming benefits birds in an acidified forest in the northeast. *Ecological Applications.* 17(8):2184-2194.

Pallary P. (1901). Mémoire sur les Mollusques fossiles terrestres, fluviátiles et saumâtres de l'Algérie. *Mém. Soc. géol. Paléont.* 22 (reprint 1970 : Swets & Zeitlinger, Amsterdam, 213 p., 4 pl.).

Pampanin D.M., Camus L., Gomiero A., Marangon I., Volpato E., Nasci C. (2005). Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venic Lagoon (Italy). *Mar. Pollut. Bull,* 50, 1548-1557.

Panayiota, Kotsakiozi., Panayiotis, Pafilis., Sinos, Giokas., Efstratios, D., Valakos. (2012). A comparison of the physiological responses of two land snail species with different distributional ranges. *Journal of Molluscan Studies,* doi: 10.1093/MOLLUS/EYS003

Pang, S., Zhao, L., An, Y., (2024). Advanced developments in nanotechnology and nanomaterials for the oil and gas industry: A review. *Geoenergy Science and Engineering* 238, 212872. <https://doi.org/10.1016/j.geoen.2024.212872>. Pardos, J.A., 2004. Respuestas de las plantas al anegamiento del suelo. *For. Syst.* 13 (4), 101–107.

Panget C., Selck H., Misra S-K., Berhanu D., Dybowska A., Valsami-Jones E., Valery E., Forbes V-E. (2012). Effects of sediment-associated copper to the deposit-feeding snail. *Potamopyrgus antipodarum*: A comparison of Cu added in aqueous form or as nano and micro-CuO particles. *Aquatic Toxicology* 106– 107 (2012) 114– 122.

Parat, M.O., Richard, M.J., Béani, J.C., Favier, A., (1997). Involvement of zinc in intracellular oxidant/antioxidant balance. *Biological Trace Element Research.* 60: 187-204.

Parker LM, Ross PM, Connor WAO, Pörtner HO, Scanes E, Wright JM., (2015). Predicting the response of molluscs to the impact of ocean acidification. *Biology (Basel).*2(2):651–692.

Parmelee, R. W., Wentzel, R., & Checkai, R., (1993). Earthworms and the vertical distribution of organic matter in a sugar maple forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(5), 689–692.

Pastrana, H. F., Avila, A., & Tsai, C. S.-J.. (2018). Nanomaterials in Cosmetic Products: the Challenges with regard to Current Legal Frameworks and Consumer Exposure. <https://doi.org/10.1007/S11569-018-0317-X>

Patinha, C., Armienta, A., Argyraki, A., & Durães, N.. (2018). Inorganic Pollutants in Soils. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-849873-6.00006-6>

Pauget B., Gimbert F., Coeurdassier M., Crini N., Pérès G., Faure O., Douay F., Richard A., Grand C. et De Vaufleury A., 2013. Assessing the in situ bioavailability of trace elements to snails using accumulation kinetics. *Ecological Indicators* 34: 126– 135. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.04.018>

Paul, Thompson. (2023). Pollution as a Moral Problem. doi: 10.1093/oso/9780197744727.003.0007

Pavel, Fojt., Helena, Zlámalová-Gargošová., Stanislav, Ježek. (2022). (5) Possible use of terrestrial gastropod (*Helix aspersa aspersa*) and its life stages as a tool for environmental risk assessment. *Chemistry and Ecology*, doi: 10.1080/02757540.2022.2048824

Pavel, V. L., Bulgariu, D., Bulgariu, D., Bulgariu, L., Hlihor, R. M., & Gavrilescu, M.. (2009). *Studies on sorption and transport processes of cadmium in soils.* <https://doi.org/10.30638/EEMJ.2009.192>

Peccinni, E., Staudenmann, W., Albergoni, V., Gabrieli, R.D. and James, P. 1994: Purification and primary structure of metallothionins induced by cadmium in the protists *Tetrahymena pigmentosa* and *Tetrahymena pyriformis*. *European Journal of Biochemistry*.226.p.853-859.

Peijnenburg, W.J.G.M., Posthuma, L., Eijsackers, H.J.P., Allen, H.E., 1997. A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* **37**, 163–172.

Pejović, T., Kovacevic, S., & Nesovic-Ostojic, J.. (2022). *The effects of cadmium on the transport processes in proximal tubular cells of kidneys.* <https://doi.org/10.5937/zdravzast51-38136>

Pellerin -Massicotte J., (1997). Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Journal de Recherche Océanographique*. 22: 91-98.

Pellerin-Massicotte J., (1994). Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Journal of Aquatic Ecosystems Health*. 3: 101-111.

Perrono, G. (1999). Guide pratique des sols et des formations superficielles. Institut National de Recherche Agronomique (INRA).

Piccinno, F., Gottschalk, F., Seeger, S., Nowack, B., (2012). Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world. *J. Nanopart. Res* 14, 1109. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1109-9>.

Pihan F., (2001). Caractérisation de mollusques gastéropodes terrestres en tant que bioindicateurs de la contamination polymétallique (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Cu, Cd et Pb) (PhD Thesis). Metz. France

Pirame S.S.L. (2003). Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit gris (*Helix aspersa*) : Reproduction expérimentale. Thèse pour l'obtention de grade de Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. P : 99.

Polychlorinated Biphenyl (PCB) in Environment: Contamination, Toxicity, and Carcinogenicity. (2023). Polychlorinated Biphenyl (PCB) in Environment: Contamination, Toxicity, and Carcinogenicity. <https://doi.org/10.52403/ijshr.20230226>

Popple I., Tribune M.G. (2002). Are snails 'Love Darts' Source of Cupid Lore. *National Geographic News*. 63: 211-243 Powerhouse. *Curr. Biol.*16(14), R551-R560

Pourhakkak, P., Taghizadeh, A., Taghizadeh, M., Ghaedi, M., & Haghdoost, S.. (2021). Fundamentals of adsorption technology. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818805-7.00001-1>

Prajapati, A., & Kumar, M. (2024). A comprehensive review of the use of nanoparticles in cosmeceutical science. <https://doi.org/10.69613/rckvna64>

Premanathan, M., Karthikeyan, K., Jeyasubramanian, K., Manivannan, G. (2011).Selective toxicity of ZnO nanoparticles toward Gram-positive bacteria and cancer cells by apoptosis through lipid peroxidation. *Press Nanomedicine*. 7(2): 184-192.

- Pujalte, I. (2011).** Etude in vitro de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO₂, ZnO, CdS) sur la cible rénale. Thèse de doctorat, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux. 219 p.
- Qian, Li., Juan, Yin., Lingling, Wu., Rongbing, Fu., Ling, Chen. (2023).** Ecotoxicity Assessment of the Water Extracts from Metal-Contaminated and Hydrocarbon-Contaminated Soils. *Water*, doi: 10.3390/w15234061
- Quazi, S., Rodrigo, S., Fatima, Z., & Prakash, A. (2023).** Nanoparticles: Types, Applications, and Commercial Products. In R. Lone & J. Malik (Eds.), *Implications of Nanoecotoxicology on Environmental Sustainability* (pp. 15-41). IGI Global. <https://doi.org/10.4018/978-1-6684-5533-3.ch0023>.
- Qumber, Abbas., Guijian, Liu., Muhammad, Ubaid, Ali., Jie, Han., Ali, El-Naggar., Balal, Yousaf. (2024).** Nanomaterials in environment: release, compartmental transformation, and nanotoxicity. doi: 10.1016/b978-0-323-95513-3.00010-1
- Rachna, Yadav., Dinesh, Kumar., Jiten, Singh., Ashok, Jangra. (2024).** Environmental Toxicants and Nephrotoxicity: Implications on Mechanisms and Therapeutic Strategies.. *Toxicology*, doi: 10.1016/j.tox.2024.153784
- Radwan M.A., Essawy A.E., Abdelmeguid N.E., Hamed S.S., Ahmed, A.E., (2008).** Biochemical and histochemical on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 90 : 154-167.
- Radwan, M.A., El-Gendy, K.S., Gad, A.F., (2010).** Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere* 79, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.056>.
- Rafeeq, H., Qamar, S. A., Nguyen, T. A., Bilal, M., & Iqbal, H. M. N. (2022).** Microbial degradation of environmental pollutants. Dans Éditeur(s) du livre (Éd.), Titre du livre (pp. pages du chapitre). Éditeur. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-823970-4.00019-1>
- Rajmohan, K. S., Chandrasekaran, R., & Varjani, S.. (2020).** A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. <https://doi.org/10.1007/S12088-019-00841-X>
- Rajni, Mohil., N., K., Kaushik. (2024).** Overview on Nanoparticle Classes, Design and Perspectives. doi: 10.9734/bpi/mono/978-81-973809-6-9/ch5
- Ramirez-Prieto M.T., Garcia-Rio F., Villamor J., (2006).** Role of oxidative stress in respiratory diseases and its monitoring. *Medicina Clinica*. 127:386-396.

Rani, N., Duhan, A., Kumar, P., & Beniwal, R. K.. (2022). Persistent Organic Pollutants- A Silent Threat to the Agro-ecosystem and Surrounding Environment. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2022/v34i242695>

Ray, A.. (2012). Fullerenes (C60) Molecule – A Review.

Reddy, Dr.H.R., Khan, M., Pasarkar, A., (2023)b. Soil Invertebrates As Sentinels Of Soil Health: A Zoological Approach To Soil Quality Assessment. J. Adv. Zool. 45. <https://doi.org/10.17762/jaz.v45i1.2959>

Redouane-Salah S., (2004). Effets des rejets métalliques des aciéries du complexe sidérurgique d'El hadjar de Annaba sur un modèle cellulaire marin :*Tetraselmis suecica*. Sciences et Technologies C-N°22, pp :121-124.

Règlement (CE) n o 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques (refonte) (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) ; <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>

Regoli F., Gorbi S., Fattorini D., Tedesco S., Notti A., Machella NR., Benedetti.M et Piva F., (2006). "Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicological effects of urban pollution: an integrated approach." Environmental Health Perspectives 114(1): 63-69.

Regoli F., Principato G. (1995). Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. Aquatic Toxicology. 31: 143-164

Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., & Piva, F. (2006). Use of the Land Snail *Helix aspersa* as Sentinel Organism for Monitoring Ecotoxicologic Effects of Urban Pollution: An Integrated Approach. Environmental Health Perspectives. doi: 10.1289/EHP.8397

Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., Piva, F., (2006). Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. Environ. Health Perspect. 114, 63–69. <https://doi.org/10.1289/ehp.8397>.

Rehkämper, M., Wombacher, F., Horner, T. J., & Xue, Z.. (2012). *Natural and Anthropogenic Cd Isotope Variations.* https://doi.org/10.1007/978-3-642-10637-8_8

- Ritika, Sharma., Nindhia, Sharma., Abhinav, Prashar., Abish, Hansa., Behnam, Asgari, Lajayer., G., W., Price. (2023).** Unraveling the plethora of toxicological implications of nanoparticles on living organisms and recent insights into different remediation strategies: A comprehensive review.. *Science of The Total Environment*, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.167697
- Roberto, Romero, Silva., Claudia, Chao, Reyes., Silvia, Lilibet, Acosta, Díaz., Yuletsis, Díaz, Rodríguez., Yamila, Navarro, Sosa. (2020).** Evaluación eco-toxicológica del manejo de residuos contaminados con diésel.
- Roling, J.A., Baldwin, W.S., (2006).** Alterations in hepatic gene expression by trivalent chromium in *Fundulus heteroclitus*. *Mar. Environ. Res.* 62, 122–127.
- Romić, M.. (2012).** Trace metals bioavailability in terrestrial environment: methodological issues. <https://doi.org/10.17628/ECB.2012.1.489-493>
- Ruchira, Srivastava., Ayushi, Thakur., Ajay, Rana. (2024).** The Basic Understanding of Nano Materials. *Advances in chemical and materials engineering book series*, doi: 10.4018/979-8-3693-3088-3.ch001
- Rule, J. H.. (1999).** Trace metal cation adsorption in soils: selective chemical extractions and biological availability. [https://doi.org/10.1016/S0167-2991\(99\)80364-4](https://doi.org/10.1016/S0167-2991(99)80364-4)
- Russell L.K., DeHaven J.I., Botts R.P. (1981).** Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Helix aspersa*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* 26, 634-640.
- Saha, J. K., Selladurai, R., Coumar, M. V., Dotaniya, M. L., Kundu, S., & Patra, A. K.. (2017).** Major Inorganic Pollutants Affecting Soil and Crop Quality. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4274-4_4
- Sahu, C., & Basti, S.. (2021).** Trace metal pollution in the environment: a review. <https://doi.org/10.1007/S13762-020-02779-W>
- Sakovitch, N.J. (2002)** Integrated management of *Cantareus aspersus* (Muller) (Helicidae) as a pest of citrus orchards in California. *Molluscs as crop pests* (ed G.M. Barker), pp. 353-360. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Salama A.K., Osman K.A., Saber N.A., Soliman S.A., (2005).** Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 8: 92-96.

Salinas, A.E., & Wong, M.G. (1999). Glutathione S-transferases a review. *Curr. Med.Chem.*,4, 279–309.

Salmi Aya (2018). Étude de la toxicité d'une pollution mixte de séléniure de Cadmium et de Novaluron sur *Helix aspersa*. Thèse de Doctorat Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa. 138p.

Samah, Abdel-Kader., M., H., E., Lokma. (2018). Some Ecological Factors Influencing Egg Hatching, Incubation Period, Food Consumption and Aestivation of *Monacha cartusiana* Snails Under Laboratory Conditions. doi: 10.21608/JPPP.2018.35836

Sana, Besnaci., Mabrouka, Bouacha., Y., Babouri., Labiba, Zerari., Samira, Bensoltane. (2022). Toxicity assessment of a binary nanometric mixture (ZnO/Fe₂O₃) in *Cornu aspersum* (Müller, 1774) (Gastropoda Helicidae). *Biodiversity journal*, doi: 10.31396/biodiv.jour.2022.13.2.329.338

Sana, Besnaci., Samira, Bensoltane., Fatma, Moulka, Hadjira, Braia., Labiba, Zerari., Sihem, Khadri., Hawa, Loucif. (2016). Embryotoxicity evaluation of iron oxide Fe₂O₃ on land snails: *Helix aspersa*. *Journal of entomology and zoology studies*,

Sanchez D., Ganfomina M.D., Gutierrez G., Bastani M.J. (1998). Molecular characterization and phylogenetic relationship of a protein with potential oxygen-binding capabilities in the grasshopper embryo. A hemocyanin in insects. *Mol Biol Evol* 15. 415-426.

Sandip, V., Rathod., Piyushkumar, Saras., Shradhdha, M., Gondaliya. (2024). Environmental Pollution. doi: 10.1201/9781003423393-1

Sandrine H., Henri-Gabriel D., (2011). Synthèse de la structure tissulaire à la réalisation des fonction chez les gastropods pulmonés. École normale supérieure de Lyon. *Folia conchyliologica*, n°10, Avril 2011.pp : 23.p13 ,14

Sangita D. B.S., Khangarot. (2010). Bioaccumulation and toxic effects of cadmium on feeding and growth of an Indian pond snail *Lymnaea luteola* L. under laboratory conditions. *Journal of Hazardous Materials*. 182 (2010)763–770.

Sani, M.N.H., Amin, M., Siddique, A.B., Nasif, S.O., Ghaley, B.B., Ge, L., Wang, F., Yong, J.W.H., (2023). Waste-derived nanobiochar: a new avenue towards sustainable agriculture, environment, and circular bioeconomy. *Sci. Total Environ.* 905, 166881. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166881>.

Sara, Remelli., Fulvio, Celico., Cristina, Menta. (2022). The Ecotoxicity Approach as a Tool for Assessing Vermiremediation Effectiveness in Polychlorobiphenyls, Polychlorodibenzo-p-Dioxins and Furans Contaminated Soils. *Frontiers in Environmental Science*, doi: 10.3389/fenvs.2022.907260

Saxena, P., & Sonwani, S.. (2019). Primary Criteria Air Pollutants: Environmental Health Effects. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9992-3_3

Scheifler R., (2002). Evaluation de la biodisponibilité et des transferts de polluants métalliques et organiques des réseaux trophiques “sols-plantes-invertébrés”. Université de Franche-Comté. France. 167p.

Scheifler R., Gomot-De Vaufleury A., Coeurdassier M., Crini N., Badot P.M. , (2006). Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in a soil-plant-invertebrate food chain: A microcosm study. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*. 25, 815-822.

Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint M.-L., Badot P.-M., (2002). Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*. 48, 571-579.

Scheifler, R., Brahim, M.B., 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. *Environ. Pollut.* 122, 343-350. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(02\)00333-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00333-0).

Schmidt, G. H. & Ibrahim, N. M. M., (1994). Heavy metals content (Hg²⁺, Cd²⁺, Pb²⁺) in various body parts: impact on cholinesterase activity and binding glycoproteins in the grasshopper *Aiolopus thalassinus* adultes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29: 149-164.

Schuytema G.S., Nebeker A.V., Griffis W.L., (1994). Effects of dietary exposure to forest pesticides on the brown garden snail *Helix aspersa* Muller. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 26 (1): 23-28.

Schweitzer, L., & Noblet, J. A.. (2018). Water Contamination and Pollution. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809270-5.00011-X>

Sedrati, Fateh., Hana, Bouzahouane., Khaldi, Fadila., Mohcen, Mena., Tayeb, Bouarroudj., Lassâad, Gzara., Zaidi, Hadjer., Mounira, Bensalem., Omar, Laouar., Noomène, Sleimi., Hichèm, Nasri., Kheireddine, Ouali., (2024). In vivo assessment of

oxidative stress, neurotoxicity and histological alterations induction in the marine gastropod *Stramonita haemastoma* exposed to Cr₂O₃ and Al₂O₃ nanoparticles. *Chemosphere*, doi: 10.1016/j.chemosphere.2024.143434

Senesi, G. S., Baldassarre, G., Senesi, N., & Radina, B.. (1999). *Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health.* [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00115-0)

Shabnam, Shabir., A., Sehgal., Joydeep, Dutta., Inderpal, Devgon., Sandeep, K., Singh., Walaa, F., Alsanie., Abdulhakeem, S, Alamri., Majid, Alhomrani., Abdulaziz, F, Alsharif., Mohammed, Abubaker, Mohammed, Basalamah., Hani, S., Faidah., Farkad, Bantun., Abdullah, A., Saati., Emanuel, Vamanu., Mahendra, Pratap, Singh. (2023). Therapeutic Potential of Green-Engineered ZnO Nanoparticles on Rotenone-Exposed *D. melanogaster* (Oregon R+): Unveiling Ameliorated Biochemical, Cellular, and Behavioral Parameters. *Antioxidants*, doi: 10.3390/antiox12091679

Sharma, D., Sharma, S., Kaith, B.S., Rajput, J., Kaur, M., (2011). Synthesis of ZnO nanoparticles using surfactant free in-air and microwave method. *Applied Surface Science*. 257: 9661–9672.

Shaughnessy, E. L.. (2022). *Pollution and risks of trace elements in the soil environment.* <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822974-3.00153-1>

Shen, He-ding. (2006). Experimental study on the reproductive biology of *Onchidium* sp.. *Journal of Fisheries of China*,

Shengkai, Tang., Jun, Wang., Xuexia, Zhu., Dongdong, Shen. (2024). Ecological Risks of Zinc Oxide Nanoparticles for Early Life Stages of Obscure Puffer (*Takifugu obscurus*).. *Toxics*, doi: 10.3390/toxics12010048

Sheren, Al-Ahmady, Al-Zahaby., Mayada, R., Farag., Mahmoud, Alagawany., Heba, S., A., Taha., Maria, Vittoria, Varoni., Giuseppe, Crescenzo., Suzan, Attia, Mawed. (2023). Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO-NPs) Induce Cytotoxicity in the Zebrafish Olfactory Organs via Activating Oxidative Stress and Apoptosis at the Ultrastructure and Genetic Levels. *Animals*, doi: 10.3390/ani13182867

Shibani, Basu., Bimal, K., Banik. (2024). Nanoparticles as Catalysts: Exploring Potential Applications. *Current organocatalysis*, doi: 10.2174/0122133372285610231227094959

- Shrivastava, A. K. (2024).** *Nanocatalysis: New dimensions in catalytic industry.* <https://doi.org/10.58532/v3becs14p4ch1>
- Shuo, Wang., Tianzhuo, Zhang., Ziheng, Li., Jinglan, Hong. (2024).** Exploring pollutant joint effects in disease through interpretable machine learning.. *Journal of Hazardous Materials*, doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.133707
- Siegel, F. R.. (2002).** *Sources and Origins of the Metals.* https://doi.org/10.1007/978-3-662-04739-2_2
- Simándi, L. I., & Sóvágó, I. (2003).** *Heavy Metals in the Environment.* <https://doi.org/10.1023/A:1022594706929>
- Simkiss K., Watkins B. (1991).** Differences in zinc uptake between snails (*Helix aspersa* Müller) from metal- and bacteria-polluted sites. *Functional Ecology*. 5: 787-794.
- Simon, A., Morley., Lloyd, S., Peck., Andrew, J., Miller., Hans, O., Pörtner. (2007).** Hypoxia tolerance associated with activity reduction is a key adaptation for *Laternula elliptica* seasonal energetics. *Oecologia*, doi: 10.1007/S00442-007-0720-4
- Simonin, M., Richaume, A., & Richaume, A.. (2015).** Impact of engineered nanoparticles on the activity, abundance, and diversity of soil microbial communities: a review. <https://doi.org/10.1007/S11356-015-4171-X>
- Singh, A. A., Eram, R., Agrawal, M., & Agrawal, S. B.. (2022).** Air Pollution: Sources and its Effects on Humans and Plants. <https://doi.org/10.18811/ijpen.v8i01.02>
- Singh, S. P., & Singh, M. K.. (2020).** Soil Pollution and Human Health. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4964-9_13
- Singh, S., Jain, P., & Kumar, A.. (2009).** Impact of Industrialisation on Environmental Pollution.
- Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P., Morgenstern, R. ,2007.** Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 355, 592–596.
- Snyman R.G.,Reinecke A.J., Reinecke S.A. (2003).** Quantitative changes in the digestive gland cells of the snail *Helix aspersa* after exposure to the fungicide copper oxychloride. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 (2005). 47–52.

- Soares, A.. (2010).** Geostatistical Methods for Polluted Sites Characterization. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2322-3_17
- Solé, M., Potrykus, J., Fernandez-Dias, C., & Blasco, J.,(2004).** Variations on stress defences and metallothionien levels in the Senegal sole, *Solea senegalensis*, during early larval stage. *Fish Physiol. Biochem.*, 30, 57-66.
- Song, W., Zhang, Jinyang, Guo, J., Zhang, Jinhua, Ding, F., Li, L., Sun, Z., (2010).** Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 199, 389–397. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.10.003>.
- Sonwani, S., Madaan, S., Arora, J., Suryanarayan, S., Rangra, D., Mongia, N., Vats, T., & Saxena, P.. (2021).** Inhalation Exposure to Atmospheric Nanoparticles and Its Associated Impacts on Human Health: A Review. <https://doi.org/10.3389/FRSC.2021.690444>
- Souza Dahm K.C., Ruckert C., Tonial E.M., Bonan C.D. (2006).** In vitro exposure of heavy metals on nucleotidase and cholinesterase activities from the digestive gland of *Helix aspersa*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 143:316320.
- Spahr, M. E., & Rathon, R.. (2016).** Carbon Black as a Polymer Filler. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37179-0_36-2
- Srishti, Parashar., Sheetal, Raj., Priyanka, Shrivastava., Abhishek, Singh. (2024).** Comparative toxicity assessment of selected nanoparticles using different experimental model organisms. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, doi: 10.1016/j.vascn.2024.107563
- Staikou, A., Lazaridou, M., (2013).** Effect of crowding on growth and mortality in the edible snail *Helix lucorum* (Gastropoda: Pulmonata) in Greece. *Israel J. Zool.* 36, 1–9. <https://doi.org/10.1080/00212210.1989.10688620>.
- Stankovic S, Kalaba P, Stankovic AR., (2014)** Biota as toxic metal indicators. *Environ Chem Lett.* 12:63–84.
- Stiévenart C., Hardouin J., (1991).** centre technique de Coopération Agricole et Rurale ACP/CEE, pp :34
- Stohs, S. J.. (2014).** Polychlorinated Biphenyls (PCBs). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00347-X>

- Stork, N. E., & Eggleton, P. (1992).** The significance of microarthropods in terrestrial ecosystems. In N. E. Stork (Ed.), *The role of ground beetles in ecological and environmental studies* (pp. 74–83). Intercept.
- Strambeanu, N., Demetrovici, L., & Dragos, D.. (2015).** Anthropogenic Sources of Nanoparticles. https://doi.org/10.1007/978-3-319-11728-7_3
- Strong EE, Gargominy O, Ponder WF, Bouchet P., (2008).** Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia*. 2008;595:149–166.
- Sturikova, H., Olga, K., Dalibor, H., Vojtech, A. (2018).** Zinc, zinc nanoparticles and plants. *Journal of Hazardous Materials*. 349: 101-110.
- Sturm, A., Wogram, J., Segner, H., Liess, M. (2000).** Different sensitivity to organophosphates of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): application in biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**, 1607-1615.
- Stürzenbaum S.R., Georgiev O., Morgan A.J., Kille P. (2004).** Cadmium detoxification in earthworms: from genes to cells. *Environmental science & technology*. 38, 6283-6289.
- Sultan, Ayoub, Meo. (2024).** Environmental pollution. doi: 10.1016/b978-0-443-21646-6.00003-4
- Swaileh K.M., Ezzughayyar A. (2000).** Effects of dietary Cd and Cu on feeding and growth rates of the landsnail *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and environmental safety*. 47, 253-260.
- Swaileh K.M., Ezzughayyar A., (2001).** Dose-dependent effects of dietary Pb and Zn on feeding and growth rates of the landsnail *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 50: 9-14.
- Szatyłowicz, E., & Hawrylik, E.. (2022).** Assessment of Migration of PAHs Contained in Soot of Solid Fuel Combustion into the Aquatic Environment. <https://doi.org/10.3390/w14193079>
- T., R., Kukreja., Sanjana, Yadav., Arushi, Saloki., Swarnlata, Saraf. (2023).** Chemical Pollutants: A Concern to The Environment. *Journal of Ravishankar University*, doi: 10.52228/jrub.2023-36-1-8
- T.V., Bardina., A., G., Podboronova., Lyudmila, V., Sklyarova. (2022).** Ecotoxicological assessment of waste and soil cover of anthropogenic polluted territories using biotest systems. *Формулы фармации*, doi: 10.17816/phf106205

- Tadjine, A. (2007).** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique. Thèse de doctorat Université de Annaba. 104 p.
- Tammie, Bishop, Martin, D., Brand. (2000).** Processes contributing to metabolic depression in hepatopancreas cells from the snail *Helix aspersa*. The Journal of Experimental Biology, doi: 10.1242/JEB.203.23.3603
- Tarik, Attar. (2020).** A mini-review on importance and role of trace elements in the human organism. College & Research Libraries, doi: 10.22034/CRL.2020.229025.105
- Taylor J. W. (1910).** Life histories of British Helices *Helix (Pomatia) aspersa* Müll. J. Condi. London, 4 : 89-105.
- Taylor JW, (1914).** Monographie des mollusques terrestres et d'eau douce des îles britanniques, Zonitidae, Endodontidae, Helicidae. Leeds, Royaume-Uni : Taylor Brothers.
- Terfaya M., Djebbar M.R., Rouabhi R., Berrebbeh H. (2009).** Relationship between air pollution generated by traffic emission and cardiopulmonary disease in Annaba (Algeria). American Eurasian journal of Toxicological Sciences. 1(1):01-06.
- Thakur, S., Shandilya, M., et Guleria, G. (2021).** Évaluation des nanoparticules d'oxyde de zinc antimicrobiennes à travers les feuilles de Cannabis *Jatropha curcusa* *Alovera* et *Tinosporacordifolia* par un procédé de synthèse verte. Journal of Environmental Chemical Engineering, 9 (1), 104882.
- Thanh-Nho, N., Marchand, C., Strady, E., Huu-Phat, N., & Nhu-Trang, T.-T. (2019).** Bioaccumulation of some trace elements in tropical mangrove plants and snails (Can Gio, Vietnam). Environmental Pollution, 248, 635–645.
- Thien-Khanh, Tran., Minh-Ky, Nguyen., Chitsan, Lin., Tuan-Dung, Hoang., Thanh-Cong, Nguyen., Aasif, Mohmad, Lone., Akhil, Pradiprao, Khedulkar., Mohamed, S., Gaballah., Jagpreet, Singh., W., Chung., D., D., Nguyen. (2023).** Review on fate, transport, toxicity and health risk of nanoparticles in natural ecosystems: Emerging challenges in the modern age and solutions toward a sustainable environment.. Science of The Total Environment, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169331
- Thompson D'Arcy. W. (2005).** Forme et croissance, Seuil et Meinhardt H. The Algorithmic Beauty of Sea Shells, Springer, in Roux, J.B. La coquille des mollusques. 87: 234-239

- Thompson, L. A., Darwish, W. S., & Darwish, W. S.. (2019).** Environmental Chemical Contaminants in Food: Review of a Global Problem. <https://doi.org/10.1155/2019/2345283>
- Thybaud E. (1998).** Les tests d'écotoxicité terrestre. In Séminaire National sur l'Écotoxicologie des sols et des déchets, 46–56.
- Ting, Wang., Wei, Liu. (2023).** Metabolic equilibrium and reproductive resilience: Freshwater gastropods under nanoplastics exposure.. *Chemosphere*, doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.141017
- Tomasini, J. A., Collart, D., & Quignard, J.-P. (1996).** Female reproductive biology of the sand smelt in brackish lagoons of southern France. *Journal of Fish Biology*, 49(5), 937–960. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1996.tb00057.x>
- Tombuloglu, H., Slimani, Y., Tombuloglu, G., Almessiere, M., Sozeri, H., Demir-Korkmaz, A., AlShammari, T.M., Baykal, A., Ercan, I., Hakeem, K.R., (2019)a.** Impact of calcium and magnesium substituted strontium nano-hexaferrite on mineral uptake, magnetic character, and physiology of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 186, 109751 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109751>
- Torres, M.A., Testa,C.P., Gaspari,C., Masutti, M.B., Panitz, C.M.N., Curi-Pedrosa, R.,Almeida,E.A., Mascio, P.D. Filho, D.W., (2002) .** Oxidative stress in the mussel *Mytella gityanensis* from polluted mangroves on Santa Catarina Island, Brazil. *Mar.Poikul.Bull.* **44**, 923-932.
- Triebkorn R., Köhler H.R. (1996).** The impact of heavy metals on the grey garden slug, *Derocerasreticulum* (Müller): metal storage, cellular effects and semi quantitative evaluation of metal toxicity. *Environ Pollut.* 93:317-343.
- Triebkorn R., Köhler H.R. (1998).** Assessment of the cytotoxic impact of heavy metals on soil Invertebrates using a protocol integrating qualitative and quantitative components. *Biomarkers.* 3:109-127.
- Trielli, F., Chessa, M. G., Amaroli, A., Ognibene, M., & Delmonte Corrado, M. U. (2006).** Effects of organophosphate compounds on a soil protist, *Colpoda inflata* (Ciliophora, Colpodidae). *Chemosphere*, 64(1), 107–113. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.081>
- Tsuzuki, T. (2009).** Commercial scale production of inorganic nanoparticles. *International Journal of Nanotechnology*, 6, 567-578.

- Tsvetelina, Foteva. (2023).** Nanotechnology in the cosmetic industry (review). *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, doi: 10.59957/jctm.v59.i1.2024.1
- Uddin, M. J., Sagar, G. A., & Jagdeeshwar, J.. (2017).** Soil Pollution and Soil Remediation Techniques.
- Ugokwe, C. U., Okafor, F. C., Okeke, P. C., Ezewudo, B. I., & Olagunju, T. E. (2020).** Induction of genetic alterations and oxidative stress in giant African land snail (*Limicolaria aurora*) exposed to municipal waste leachate.
- Ungureanu, E. L., & Mustățea, G.. (2022).** Toxicity of Heavy Metals. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102441>
- Upadhyay, P., Vaishampayan, A., & Jaiswal, S. K.. (2020).** Soil Pollution Caused by Agricultural Practices and Strategies to Manage It. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4964-9_7
- Us Saher, N., & Kanwal, N.. (2019).** *Assessment of some heavy metal accumulation and nutritional quality of shellfish with reference to human health and cancer risk assessment: a seafood safety approach.* <https://doi.org/10.1007/S11356-018-3764-6>
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M., (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Van der Oost R., Beyer J. et Vermeulen N.P.E., (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2): 57-149.
- Van Straalen N.M., Donker M.H., Vijver M.G., Van Gestel C.A.M. (2005).** Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environmental Pollution*. 136, 409-417.
- Vanessa, Valdiglesias., A., Alba-González., Natalia, Fernández-Bertólez., Assia, Touzani., Lucía, Ramos-Pan., Ana, Teresa, Reis., Jorge, Moreda-Piñeiro., Julián, Yáñez., Blanca, Laffon., Mónica, Folgueira. (2023).** Effects of Zinc Oxide Nanoparticle Exposure on Human Glial Cells and Zebrafish Embryos. *International Journal of Molecular Sciences*, doi: 10.3390/ijms241512297

- Vannini, C., Domingo, G., Onelli, E., Prinsi, B., Marsoni, M., Espen, L., Bracale, M., (2013).** Morphological and proteomic responses of *Eruca sativa* exposed to silver nanoparticles or silver nitrate. *PLoS ONE*. 8(7): 868-752
- Vatsala, S.. (1998).** There is much more to Mendeleev's periodic table than meets the eye. <https://doi.org/10.1007/BF02838711>
- Vaufleury, A., Pihan, F. (2002).** "Metals in Terrestrial Snails: Accumulation and Effects." *Environmental Pollution*.
- Vázquez Núñez, E., de la Rosa-Álvarez, G., & de la Rosa-Álvarez, G.. (2018).** Environmental behavior of engineered nanomaterials in terrestrial ecosystems: Uptake, transformation and trophic transfer. <https://doi.org/10.1016/J.COESH.2018.07.011>
- Viard B., Maul A., Pihan J-C. (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. 6:103-107.
- Viard La Rocca. (2004).** Mise au point et validation sur sites contaminés (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme: croissance et bioaccumulation par gastéropode terrestre *Helix Aspersa Aspersa* (PhD Thesis). Université de Metz, 205p
- Viard, B., Pihan, F., Promeyrat, S., Pihan, J.-C., (2004).** Integrated assessment of heavy metal (Pb, Zn, Cd) highway pollution: bioaccumulation in soil, Graminaceae and land snails. *Chemosphere* 55, 1349–1359. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.01.003>.
- Viard-La Rocca, B. (2004).** Mise au point et validation, sur sites contaminés (ETM-HAP), d'un test de biosurveillance en microcosme : Croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa aspersa* (Thèse de doctorat). Université de Metz.
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Poli, M., Moore, M.N., Orunesu, M., (1990).** Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis*. *Am. Comparative Biochemistry and Physiology*, **79**, 37- 42.
- Vidal M.L. (2001).** Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez le mollusque bivalves d'eau douce *Corbicula fluminea* (Muller)- Purification et caractérisation des Glutathion S Transférases .Thèse de Doctorat de l'université de Bordeaux. 285p
- Viguiet, F.. (2023).** Pollution, water. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824315-2.00188-3>

- Vinarski MV, Bolotov IN, Aksenova OV, Babushkin ES, Bepalaya YV Makhrov AA, Nekhaev IO, Vikhrev IO., (2020).** Freshwater Mollusca of the Circumpolar Arctic: a review on their taxonomy, diversity and biogeography. *Hydrobiologia* 27 April, 2020.
- Wafae, Squalli., Michael, Wink., Ismail, Mansouri., Fatima, Abou, El, Fadil., Mohamed, Dakki. (2022).** High density and successful breeding of Turtle doves *Streptopelia turtur* in Moroccan olive groves. *PeerJ*, doi: 10.7717/peerj.14375
- Wagner, A. M., Knipe, J. M., Orive, G., & Peppas, N. A.. (2019).** Quantum Dots in Biomedical Applications. <https://doi.org/10.2139/SSRN.3321961>
- Waldo, Quiroz. (2021).** Speciation analysis in chemistry. doi: 10.1007/S40828-020-00125-8.
- Walker C.H., Sibly R.M., Hopkin S.P. et Peakall D.B., (2005).** Principles of Ecotoxicology. CRC press.
- Walker, L. et al. (2001).** Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Particle and Fibre Toxicology*, 18(1), 1-12.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934).** An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1), 29-38.
- Walter, H., Adey. (2024).** Research systems in microcosm and mesocosms. doi: 10.1016/b978-0-443-15418-8.00026-4.
- Walters, E. T. (2018).** Nociceptive biology of molluscs and arthropods: Evolutionary clues about functions and mechanisms potentially related to pain. *Frontiers in Physiology*, 9, 1049.
- Wan, J., Wang, R., Ruting, Wang, Ruling, R., Ju, Q., Wang, Y., Xu, J., (2019).** Comparative physiological and transcriptomic analyses reveal the toxic effects of ZnO nanoparticles on plant growth. *Environ. Sci. Technol.* 53, 4235–4244 <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06641>
- Wang C., Chen F., Zhang Q., Fang Z. (2009).** Chronic toxicity and cytotoxicity of synthetic pyrethroid insecticide cis-bifenthrin. *Journal of Environmental Sciences* 21 ;1710–1715.
- Wang, G., Fowler, B.A., (2008).** Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 233, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.01.017>.

- Wang, L., Yan, B., Liu, N., Li, Y., Wang, Q. (2008).** Effects of cadmium on glutathione synthesis in hepatopancreas of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*. *Chemosphere* (in press).
- Wang, S., Liu, H., Zhang, Y., & Xin, H. (2015).** The effect of CuO NPs on reactive oxygen species and cell cycle gene expression in roots of rice. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(3), 554–561.
- Wang, W.-X.. (2016).** Bioaccumulation and Biomonitoring. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803371-5.00004-7>
- Wang, X., Teng, Y., Wang, X., Xu, Y., Li, R., Sun, Y., Hu, W., Zhao, L., Ren, W., & Luo, Y.. (2022).** *Effects of combined pollution of organic pollutants and heavy metals on biodiversity and soil multifunctionality in e-waste contaminated soil.* <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129727>
- Weckbecker G., Cory J.G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. 40:257-264.
- Weiss K.R., Brezina V., Cropper E.C., Heierhorst J., Hooper S.L., Probst W.C., Rosen S.C., Vilim F.S., Kupfermann I. (1993).** Physiology and biochemistry of peptidergic cotransmission in: *Aplysia*. *Journal of Physiology*. 87: 141-151.
- Worms, I. A. M., Simon, D. F., Simon, D. F., Hassler, C. S., & Wilkinson, K. J.. (2006).** *Bioavailability of trace metals to aquatic microorganisms: importance of chemical, biological and physical processes on biouptake..* <https://doi.org/10.1016/J.BIOCHI.2006.09.008>
- Xingyao, Pei., Hai-Lan, Jiang., Wenjuan, Zhang., Gang, Xu., Zonghui, Zuo., Zhenhui, Ren., Chun, Chen., Yao, Shen., Cun, Li., Daowen, Li. (2023).** Paeoniflorin recued hepatotoxicity under zinc oxide nanoparticles exposure via regulation on gut-liver axis and reversal of pyroptosis.. *Science of The Total Environment*, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.166885
- Xu, Y., Wu, Y., Han, J., & Li, P. (2017).** The current status of heavy metal in lake sediments from China: Pollution and ecological risk assessment. *Ecology and evolution*, 7(14), 5454–5466.
- Y., Zang., P.M., Bolger. (2014).** Toxic Metals: Cadmium. 346-348. doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00202-X3.

Yadav, A., Chowdhary, P., Kaithwas, G., & Bharagava, R. N. (2017). Toxic Metals in the Environment : Threats on Ecosystem and Bioremediation Approaches. <https://doi.org/10.1201/9781315153353-11>

Yadav, D., Kumar, A. R., Jayaraman, S., Lenka, S., Gurjar, S., Sarkar, A., Saha, J. K., & Patra, A. K. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbons in diverse agricultural soils of central India: occurrence, sources, and potential risks. <https://doi.org/10.1080/03067319.2022.2125307>

Yager C.M., Harry H.W. (1963). The uptake of radioactive zinc, cadmium and copper by the freshwater snail *Taphius glabratus*. *Malacologia*. 1:339-53.

Yan, Bo., Wang, Lan., Li, Yongquan., Liu, Na., Wang, Qian. (2007). Effects of cadmium on hepatopancreatic antioxidant enzyme activity in a freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense*.

Yang, Hui-zhe. (2015). Effects of Cadmium on Glutathione Contents and Activities of Glutathione Related Enzymes in Gill and Hepatopancreas of *Anodonta woodiana woodiana*. *Journal of Agro-Environment Science*,

Yang, X.. (2022). Geochemical Characteristics of Mineral Elements: Arsenic, Fluorine, Lead, Nitrogen, and Carbon. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8770-9_10

Yang, Z. (2023). Environmental Pollution And Effect on Human Health And The Living of Creatures. *Highlights in Science, Engineering and Technology*, 59, 123-128. <https://doi.org/10.54097/hset.v59i.10070>

Yann, Guéguen. (2022). Considering ecosystem modeling by examining the creation of microcosms for *Daphnia* coexistence using an inorganic medium. doi: 10.21203/rs.3.rs-2175374/v1.

Yashuai, Wang., Xuehan, Niu., Hong, Tao, Ren., Jiayong, Chen., Xiao, Chan, Gao. (2024). Toxic effects of multi-walled carbon nanotubes and ZnO nanoparticle exposure on pathology and apoptosis on the liver of *Cyprinus carpio*. *Israeli Journal of Aquaculture-bamidgeh*, doi: 10.46989/001c.122393

Yi, Zhang., Yuhong, Bai., Jianbo, Jia., Ningning, Gao., Yang, Li., Ruinan, Zhang., Guibin, Jiang., Bing, Yan. (2014). Perturbation of physiological systems by nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, doi: 10.1039/C3CS60338E

YOUSFI Amani. (2024). Étude des effets toxiques de la Bifenthrine et de l'Hymexazol sur *Helix aspersa* et évaluation de l'effet protecteur des huiles essentielles de l'orange. Thèse de Doctorat Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa. 230p.

Yuan, Z., Tao, L., Liu, X., Hua, H., Zhuang, Y., Zhang, X., Zhang, L., Zhang, Y., Xu, W., & Ren, J.. (2019). *Tracing anthropogenic cadmium emissions: From sources to pollution..* <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.250>

Yuliya, V., Ryabova., Ilzira, A., Minigalieva., Marina, P., Sutunkova., Svetlana, V., Klinova., Alexandra, K., Tsaplina., Irene, E., Valamina., Ekaterina, M., Petrunina., Aristidis, Tsatsakis., Charalampos, Mamoulakis., Kostas, Stylianou., Sergey, V., Kuzmin., Larisa, I., Privalova., Boris, A., Katsnelson. (2023). Toxic Kidney Damage in Rats Following Subchronic Intraperitoneal Exposure to Element Oxide Nanoparticles. *Toxics*, doi: 10.3390/toxics11090791

Yunusa, M. A., Igwe, E. C., & Mofoluke, A. O.. (2023). Heavy metals contamination of water and fish- a review. <https://doi.org/10.33003/fjs-2023-0701-1255>

Yu-Shu, G., Wu., W., F., Tian., C., X., Cheng., L., Y., Yang., Quanzhi, Ye., W., H., Li., J., Y., Jiang. (2023). Effects of cadmium exposure on metabolism, antioxidant defense, immune function, and the hepatopancreas transcriptome of *Cipangopaludina cathayensis*.. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115416

Zahra, Z., Habib, Z., Chung, S., & Badshah, M. A. (2020). Exposure route of TiO₂ NPs from industrial applications to wastewater treatment and their impacts on the agro-environment. *Nanomaterials*, 10(8), 1469.

Zaldibar B., Cancio I., Soto M., Marigomez I. (2008). Changes in cell-type composition in digestive gland of slugs and its influence in biomarkers following transplantation between a relatively unpolluted and chronically metal-polluted site. *Environmental Pollution*. 156:367-379.

Zang, Y., & Bolger, P. M.. (2014). *Toxic Metals: Cadmium.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00202-X>

Zeliger, H. I.. (2008). 9 – Soil Pollution. <https://doi.org/10.1016/B978-081551589-0.50010-6>

Zeriri, I., Tadjine, A., Belhaouchet, N., Berrebbah, H., Djebbar, M.R., Baha, M., (2013). Contribution to the identification of Oligochaeta: Lumbricidae in the region of Annaba in eastern Algeria. *European Journal of Experimental Biology*, 3(6), 229-232

Zeriri, I., Tadjine, A., Belhaouchet, N., Grara, N., Djebar, M. R., Brebbah, H. ., (2012). Potential toxicity of an insecticide of the family of carbamate on a bioindicator model of the pollution the earthworm *Octadrilus complanatus* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Annals of biological research*, **3(11):5367-5373**.

Zhang, F., Wang, T., Xu, Y., Chen, S., Liao, Y., Xiao, W., Zeng, X., & Lu, W.. (2021). Pollution classification method, apparatus and device, medium, and data obtaining system (Patent).

Zhang, H., & Reynolds, M.. (2019). *Cadmium exposure in living organisms: A short review*. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.04.395>

Zhao, Chen., Yuxi, Feng., Zhixin, Guo., Mengli, Han., Xuebing, Yan. (2024). Zinc oxide nanoparticles alleviate cadmium toxicity and promote tolerance by modulating programmed cell death in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Hazardous Materials*, doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.133917

Zhao, J., Wang, Z., Liu, X., Xie, X., Zhang, K and Xing, B. (2011). Distribution of CuO nanoparticles in juvenile carp (*Cyprinus Carpio*) and their potential toxicity. *Journal of hazaradousmaterials*. 197(0): 304-310.

Zhi, Y., Li, P., Shi, J., Shi, J., Zeng, L., Wu, L., & Wu, L.. (2016). *Source identification and apportionment of soil cadmium in cropland of Eastern China: a combined approach of models and geographic information system*. <https://doi.org/10.1007/S11368-015-1263-7>

Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Guc Y.Q., Wang M., Wang Y., Ouyang H., Zhao Y.L., Chai Z.F. (2008). Comparative study of pulmonary responses to nano- and submicron-sized ferric oxide in rats. *Toxicology*. 247:102-111

Zierold, T., Hänfling, B., & Gómez, A. (2007). Recent evolution of alternative reproductive modes in the 'living fossil' *Triops cancriformis*. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 161..

Zouaghi M F., berrebbah H., boudoucha I., rekaik I. (2020). Evaluation of the toxicity of a mixture insecticides used on a biological model: the snail *helix aspersa*. *Vasile Goldis. University Press*. Vol 30. issue 2. 2020. Pp: 69 – 75.