

ÉFFETS DU THIAMETHOXAME ET DE LA TEFLUTHRINE SUR LES BIOMARQUEURS PHYSIOLOGIQUES DE L'ESCARGOT TERRESTRE *HELIX ASPERSA*

AIT HAMLET Smina^{1*}, DJEKOUN Mohamed^{1,2}, BENSOLTANE Samira^{1,3} et BERREBBAH Houria¹

1. Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des Sciences, Département de Biochimie, B.P.12, 23000, Annaba, Algérie

2. Université du 08 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences et de l'Univers, Département de Biologie, Guelma, Algérie

3. Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté de Médecine, 23000, Annaba, Algérie

Reçu le 06/10/2019, Révisé le 25/12/2019, Accepté le 29/12/2019

Résumé

Description du sujet : Cette étude montre une inhibition de la croissance pondérale chez les juvéniles de l'escargot terrestre *Helix aspersa* exposés à la laitue contaminée par deux insecticides, le thiaméthoxame et la téfluthrine, appartenant à deux classes chimiques différentes. Cette approche est susceptible d'être utilisée dans la bio-indication, et notamment celle de la pollution des sols pour une éventuelle évaluation des risques qu'ils pourraient engendrer aux écosystèmes terrestres.

Objectifs : Evaluation par une approche expérimentale de l'effet de deux insecticides, un néonicotinoïde et un pyréthrianoïde utilisés à large spectre dans la région Nord-Est algérienne sur la croissance pondérale des juvéniles.

Méthodes : Des escargots juvéniles ont été exposés par voie orale à des feuilles de laitue fraîche imbibées d'insecticides pendant 8 semaines. Les effets des deux molécules, ayant des modes d'action différents ont été comparés. La viabilité, la mortalité et la croissance sont notées d'une façon hebdomadaire.

Résultats : La progression avec le temps de la toxicité des deux insecticides sur les paramètres cinétiques n'est pas similaire.

Conclusion : Les résultats de cet essai suggèrent que les juvéniles de *Helix aspersa* peuvent être utilisés comme bio-indicateurs pour tester et comparer l'effet des insecticides appartenant aux familles chimiques des néonicotinoïdes et des pyréthrianoïdes.

Mots clés : *Helix aspersa*; escargots juvéniles; insecticides; thiaméthoxame; téfluthrine; croissance.

EFFECTS OF THE THIAMETHOXAME AND THE TEFLUTHRINE ON THE PHYSIOLOGICAL BIOMARKERS OF THE LAND SNAIL *HELIX ASPERSA*

Abstract

Description of the subject: This study shows an inhibition of the ponderal growth in juveniles of the land snail *Helix aspersa* exposed to lettuce contaminated by two insecticides the thiamethoxame and the tefluthrin, belonging to two different chemical classes. This approach is likely to be used in the bio-indication, and in particular that of the soil pollution for a possible evaluation of the risks which they could generate to terrestrial ecosystems.

Objective : Evaluation by an experimental approach of the effect of two insecticides, widely used in the north-eastern region of Algeria, the first one is a neonicotinoid and the second is a pyrethroid on the ponderal growth of juveniles.

Methods : The juvenile snails were exposed orally to fresh lettuce leaves soaked in insecticides for 8 weeks. The effects of the two molecules with different modes of action were compared. Viability, mortality and growth are noted weekly.

Results : The progression of the toxicity of the insecticides on the kinetic parameters is not similar.

Conclusion : The results of this test suggest that the juveniles of the land snail *Helix aspersa* can be used as bioindicators to test and compare the effects of insecticides belonging to the chemical families of neonicotinoids and pyrethroids.

Key words: *Helix aspersa*; juvenile snails; insecticides; thiamethoxame; tefluthrin; growth.

* Auteur correspondant: AIT HAMLET Smina, E-mail: smina1981@hotmail.fr

INTRODUCTION

Les insecticides constituent un moyen de lutte, le plus efficace contre les parasites majeurs des plantes cultivées et leur utilisation dans l'agriculture est incontournable. Cependant, la majorité de ces produits sont toxiques et difficilement biodégradables. Leur utilisation excessive peut entraîner des risques et quelques fois des conséquences néfastes pour toutes les composantes de l'environnement.

Après le traitement de la partie aérienne des plantes, une part des produits atteint le sol, où vivent des microorganismes, des champignons, des insectes et des invertébrés terrestres. Parmi ces invertébrés, l'escargot *Helix aspersa*, herbivore et détritivore, joue un rôle majeur dans de nombreux écosystèmes [1]. Il est la proie de nombreux prédateurs, tels que les oiseaux, les mammifères ou les invertébrés et peut donc être à l'origine de transferts de contaminants dans la chaîne trophique [2]. C'est pourquoi ce gastéropode terrestre est de plus en plus utilisé pour évaluer l'impact de contaminations sur diverses fonctions physiologiques et comportementales [3,12].

En Algérie, l'usage des pesticides, des engrais, des fertilisants et autres produits phytosanitaires est excessif, avec souvent le non-respect des doses recommandées et les durées d'utilisation par ignorance de l'agriculteur. Cependant, ces substances chimiques ne sont pas anodines. Elles ont des conséquences environnementales directes et un impact sanitaire sur le long terme lié aux infiltrations de ces molécules non dégradables dans les sols, dans les nappes, puis vers les écosystèmes: les végétaux, les animaux et nécessairement l'homme [13].

Dans ce contexte, nous avons estimé par une étude expérimentale l'effet de deux insecticides utilisés à large spectre dans la région Nord-Est algérienne sur la croissance pondérale, la viabilité et la mortalité des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* potentiellement exposé à ces deux produits.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Animaux

Les escargots utilisés sont les juvéniles de *Helix aspersa aspersa* (syn. *Cantareus aspersus* ou *Cornu aspersum* O.F. Müller, 1774), dont les individus sont âgés de 4 semaines, d'une masse fraîche moyenne de $0,511 \pm 0,1$ g et un diamètre de coquille moyen de $10,69 \pm 1$ mm.

Les juvéniles utilisés proviennent d'une même ponte réalisée dans notre laboratoire. Les escargots reproducteurs ayant produit la ponte utilisée pour cette étude, proviennent d'une collecte réalisée dans la forêt de Lefjoudj (Wilaya de Guelma) non contaminée par les pesticides. Ensuite, ils sont maintenus en élevage aux conditions de laboratoire pendant une année. Les juvéniles sont élevés sous des conditions décrites par Gomot [14], température $20 \pm 2^\circ\text{C}$, photopériode 18hL/6hO, hygrométrie 80 à 90%. Cependant, ils sont nourris exclusivement de feuilles de laitue fraîche.

2. Insecticides

Le premier insecticide utilisé est un néonicotinoïde, le thiaméthoxame utilisé sous forme de préparation commerciale (25 g de thiaméthoxame dans 100 g d'insecticide). Il est utilisé dans la région Nord-Est algérienne contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, des arbres fruitiers et des cultures maraîchères. Il est utilisé en culture à des doses allant de 800 à 4000 mg/L d'insecticide (formulation commerciale), correspondant à 200 à 1000 mg/L de thiaméthoxame (matière active).

Le deuxième insecticide testé est un pyréthrianoïde, la téfluthrine utilisée également sous forme de préparation commerciale (1,5 g de téfluthrine dans 100 g d'insecticide). Il est couramment utilisé contre les insectes du sol qui s'attaquent aux cultures maraîchères, à la pomme de terre, aux arbres fruitiers, à la vigne et aux céréales. Il est utilisé en cultures à des doses allant de 12 à 50 kg/ha d'insecticide (formulation commerciale), correspondant à 18 à 75 mg/m² de téfluthrine (matière active). Toutes les solutions d'insecticides sont préparées avec l'eau distillée, et sont renouvelées chaque semaine.

3. Schéma expérimental

75 escargots juvéniles sont répartis en 5 groupes de 15 animaux chacun (3 réplicats par groupe). Chaque réplicat est constitué de 5 escargots maintenus dans une boîte de polystyrène perforée de dimensions 25 × 13,5 × 16,5 cm. Une éponge imbibée d'eau assure l'humidité élevée. Les 5 groupes de juvéniles sont nourris de laitue fraîche (escargots témoins), ou de laitue imbibée (durant 30 s) de solutions d'insecticides inférieures à celles utilisées en agriculture et n'induisant pas l'estivation chez les escargots (Tableau 1).

La nourriture est fournie trois à quatre fois par semaine, de même que le nettoyage des boîtes. Pour déterminer l'effet des deux insecticides,

l'expérience est menée durant 8 semaines sous les conditions de laboratoire citées auparavant.

Tableau 1. Dilutions utilisées pour chaque insecticide et pH correspondant.

Groupe		pH
Groupe T	Escargots témoins non traités	5,80
Groupe Th1	Escargots traités avec 25 mg/L de thiaméthoxame	6,52
Groupe Th2	Escargots traités avec 50 mg/L de thiaméthoxam	6,12
Groupe Te1	Escargots traités avec 5 mg/L de tefluthrine	6,61
Groupe Te2	Escargots traités avec 10 mg/L de tefluthrine	6,69

4. Estimation de la croissance et de la mortalité

La croissance pondérale est évaluée chaque semaine en pesant les escargots à presque $\pm 0,1$ g avec une balance modèle OHAUS® ANALYTICAL Plus, et en mesurant

le diamètre coquillière à presque ± 1 mm avec un pied à coulisse précision 0,02 cm. Le pourcentage d'inhibition du poids moyen (P_{pi}) [10] est calculé pour comparer le poids moyen des groupes traités avec celui du groupe témoin,

$$P_{pi} \text{ du groupe } G_X = \frac{(m_{Tn} - m_{T0}) - (m_{Gn} - m_{G0})}{(m_{Tn} - m_{T0})} \times 100$$

Où le groupe G_X représente les groupes d'escargots G_{Th1} , G_{Th2} , G_{Te1} et G_{Te2} ; m_{Tn} est la masse des escargots du groupe témoin à l'instant $t = n$ semaines; m_{T0} est la masse des escargots du groupe témoin au début de l'expérience; m_{Gn} est la masse des escargots du

groupe G_X à l'instant $t = n$ semaines; m_{G0} est la masse des escargots du groupe G_X au début de l'expérience. Le pourcentage d'inhibition du diamètre moyen (P_{di}) [10] est calculé pour comparer le diamètre des groupes traités avec celui du groupe témoin,

$$P_{di} \text{ du groupe } G_X = \frac{(d_{Tn} - d_{T0}) - (d_{Gn} - d_{G0})}{(d_{Tn} - d_{T0})} \times 100$$

Où d_{Tn} est le diamètre coquillière des escargots du groupe témoin à l'instant $t = n$ semaines; d_{T0} est le diamètre des escargots du groupe témoin au début de l'expérience; d_{Gn} est le diamètre des escargots du groupe G_X à l'instant $t = n$ semaines; d_{G0} est le diamètre des escargots du groupe G_X au début de l'expérience.

Le nombre de juvéniles dans chaque groupe est compté chaque semaine pour estimer le pourcentage de mortalité après 8 semaines de traitement. La quantité de laitue consommée par les escargots n'a pas été mesurée parce que la laitue imbibée d'insecticides perdait rapidement de sa fraîcheur par rapport à celle des escargots témoins, et donc, il était pratiquement impossible de la quantifier avec précision.

5. Analyses statistiques

Pour chaque concentration d'insecticide, le poids moyen et le diamètre coquillière moyen sont exprimés en moyennes \pm déviation standard (SD) chaque semaine. A la fin de l'expérience, les résultats obtenus des

traitements sont comparés avec ceux du témoin en utilisant le test 't' de Student suivi par l'analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification. Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement des données version 13.31.

RÉSULTATS

Durant l'expérience, la mortalité était faible, avec seulement 8 individus sur 75 escargots juvéniles, ce qui représente 10,66%. La mortalité est survenue comme suit : 1 individu durant la cinquième semaine dans le groupe G_T , 1 individu durant la sixième semaine dans le groupe G_{Te2} , 4 individus durant la septième semaine : 2 individus dans le groupe G_{Th2} et 2 autres dans le groupe G_{Te1} , et enfin 2 individus durant la huitième semaine dans le groupe G_{Te2} .

Les juvéniles témoins ont multiplié leur masse moyenne par un facteur de 2,04. Les escargots des groupes G_{Th1} , G_{Th2} , G_{Te1} et G_{Te2} ont

multiplié leur masse moyenne par un facteur 1,59, 1,32, 1,36 et 1,55 respectivement.

Les escargots des groupes G_T , G_{Th1} , G_{Th2} , G_{Te1} et G_{Te2} ont multiplié leur diamètre coquillère moyen par un facteur 1,25, 1,14, 1,08, 1,08 et 1,10 respectivement.

A la fin de l'expérience, la masse moyenne des escargots traités diminue avec l'augmentation de la concentration de chacun des deux insecticides (Fig. 1). Cependant, cette diminution est très hautement significative ($p < 0,001$) par rapport à la masse des témoins dans les groupes d'escargots G_{Th2} , G_{Te1} et G_{Te2} . La concentration 25 mg/L de thiaméthoxame entraîne une diminution de la masse moyenne des juvéniles d'une façon hautement significative ($p < 0,001$) comparée aux escargots témoins (Fig.1) à partir de la troisième semaine de traitement. Quant à la concentration 50 mg/L, la diminution de la masse moyenne est survenue dès la première semaine de traitement d'une façon hautement significative ($p < 0,001$). A la fin de l'essai, la masse moyenne des escargots traités par le thiaméthoxame diminue avec l'augmentation de la concentration de l'insecticide comparée à celle des escargots du groupe témoin. Cette diminution est hautement significative ($p < 0,001$) comparée à la masse moyenne des juvéniles du groupe témoin dès la première semaine de traitement.

La concentration 5 mg/L de téfluthrine entraîne une diminution de la masse moyenne d'une façon hautement significative ($p < 0,001$) comparée aux escargots témoins (Fig. 1) à partir du début du traitement. Cependant, une augmentation de la masse moyenne des juvéniles après exposition à la concentration 10 mg/L de l'insecticide a été observée durant la troisième, la quatrième et la cinquième semaine de traitement. Ensuite, une diminution hautement significative ($p < 0,001$) de la masse moyenne des escargots est observée à partir de la sixième semaine de traitement.

L'analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA), révèle un effet du traitement, de la durée de traitement et de l'interaction traitement-durée de traitement hautement significatif ($p < 0,001$) pour les deux insecticides.

A la fin de l'expérience, le diamètre coquillère moyen des escargots traités diminue d'une façon hautement significative ($p < 0,001$) par rapport aux escargots témoins (Fig. 2). Cette diminution était significative ($p < 0,05$) dans les groupes G_{Th2} et G_{Te1} à partir de la sixième semaine de traitement. Cette diminution devient significative ($p < 0,05$) pour le groupe G_{Th1} et très significative ($p < 0,01$) pour le groupe G_{Te2} à partir de la septième semaine de traitement.

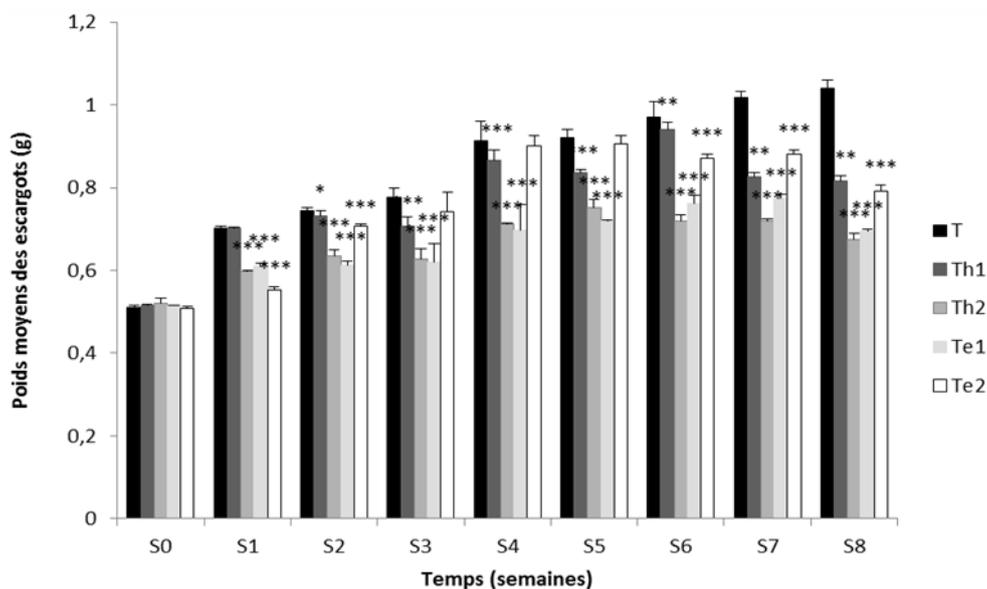


Figure 1 : Effets du thiaméthoxame et de la téfluthrine sur le poids moyen des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* (nourris de laitue imbibées de solution d'insecticide) pendant une période de huit semaines.

Moyennes \pm SD ; n = 8-15. Les astérisques symbolisent une différence significative dans les masses moyennes des escargots soumis aux différents traitements par rapport à celles des escargots témoins. Test 't' de Student : * pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$.

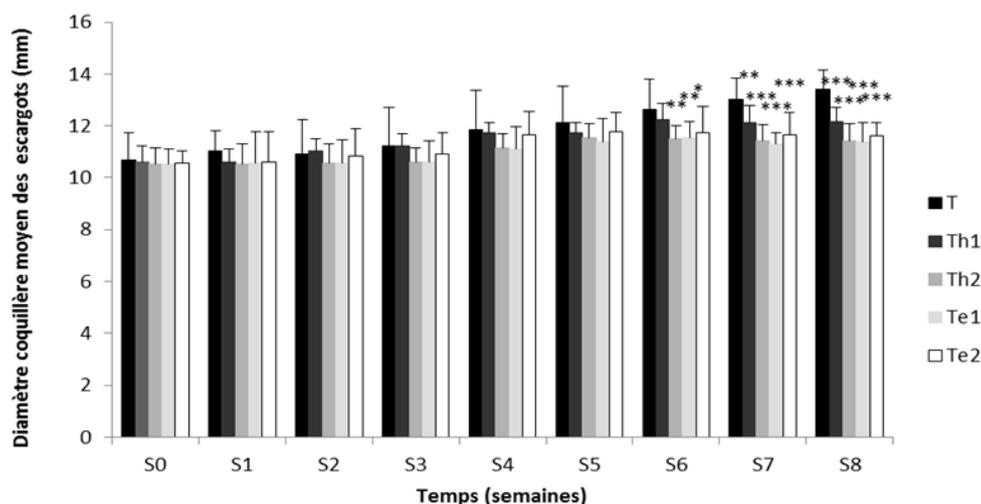


Figure 2 : Effets du thiaméthoxame et de la téfluthrine sur le diamètre moyen des coquilles des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* (nourris de laitue imbibées de solution d'insecticide) pendant une période de huit semaines.

Moyennes \pm SD ; n = 8-15. Les astérisques symbolisent une différence significative dans les masses moyennes des escargots soumis aux différents traitements par rapport à celles des escargots témoins. Test 't' de Student : * pour $p < 0,05$, ** pour $p < 0,01$, *** pour $p < 0,001$.

Au bout de 4 semaines de traitement, le pourcentage d'inhibition de la masse moyenne des groupes G_{Th1} , G_{Th2} , G_{Te1} et G_{Te2} calculé (Tableau 2) est de 11,57, 50,06, 53,70 et 2,82 respectivement. Le pourcentage d'inhibition du diamètre coquillière moyen est de 1,30, 47,82, 50,00 et 2,17 respectivement. Après 8

semaines de traitement, le pourcentage d'inhibition de la masse moyenne des mêmes groupes est de 42,50, 69, 65,36 et 45,89 respectivement. Le pourcentage d'inhibition du diamètre coquillière moyen était de 42,61, 67,71, 68,26 et 60,88 respectivement

Tableau 2 : Effets des insecticides sur le poids et le diamètre coquillière moyens des juvéniles de *Helix aspersa*.

Concentration (mg/L)	Début de l'expérience		2 ^{ème} semaine		4 ^{ème} semaine		6 ^{ème} semaine		8 ^{ème} semaine	
	P _m (mg) SD	D _m (mm) SD	% I P _m	% I D _m	% I P _m	% I D _m	% I P _m	% I D _m	% I P _m	% I D _m
Témoins non traités	510,06 \pm 100	10,69 \pm 1	0	0	0	0	0	0	0	0
25 mg/L de Th	509,15 \pm 100	10,75 \pm 1	5,55	- 89,13	11,57	1,30	6,69	15,20	42,50	42,61
50 mg/L de Th	512,38 \pm 100	10,84 \pm 1	47,02	84,78	50,06	47,82	54,46	49,22	69,00	67,71
5 mg/L de Te	508,80 \pm 100	10,76 \pm 1	55,99	86,95	53,70	50,00	45,14	48,19	65,36	68,26
10 mg/L de Te	512,51 \pm 100	10,80 \pm 1	16,24	- 17,39	2,82	2,17	21,68	39,17	45,89	60,88

P_m : poids moyen (mg) \pm SD, D_m : diamètre moyen (mm) \pm SD, % I P_m : pourcentage d'inhibition du P_m, % I D_m : pourcentage d'inhibition du D_m, Th : thiaméthoxame, Te : téfluthrine

DISCUSSION

La mortalité des escargots observée dans cette étude (10,66%) est supérieure à celle remarquée dans l'expérience de plusieurs auteurs (5%) [15], (4,3 %) [16] et (3 à 7 %) [17].

Durant cette étude, l'humidité relative et la température n'étaient pas des facteurs limitant vis-à-vis de la croissance des escargots juvéniles. Cependant, plusieurs auteurs [14, 18] ont montré que les températures supérieures à 15°C stimulent la croissance avec

un optimum de croissance à 23°C. Cependant, la qualité de la nourriture joue un rôle crucial [16, 17] dans la croissance des escargots.

Ainsi, dans cette expérience, les escargots témoins nourris avec les feuilles de laitue ont montré un facteur de croissance (2,04) supérieur à celui des escargots des travaux antérieurs [17], nourris également de laitue fraîche (1,26), et inférieur à celui des escargots nourris de farine (5,25), ou encore avec la combinaison farine et laitue (6,92), ou la combinaison farine et feuilles de trèfle (6,41), ou enfin, la combinaison farine plus laitue et feuilles de trèfle (6,91).

Les effets induits sur la croissance (poids et diamètre coquillère moyens) par les deux concentrations de thiaméthoxame augmentent d'une manière dose-dépendante en fonction du temps.

Cette progression de la toxicité de chacun des deux insecticides n'est cependant pas semblable. Une rapide récupération de la croissance (poids moyen) des juvéniles après la troisième semaine de traitement à la concentration 10 mg/L de téfluthrine est observée jusqu'à la cinquième semaine, et un freinage dès la sixième semaine jusqu'à la fin du traitement. Ceci suggère un effet réversible possible de la téfluthrine vis-à-vis de la croissance par rapport à celui du thiaméthoxame qui est irréversible. Ainsi, Bluzat et Seuge [19] ont fait les mêmes constatations avec le lindane. Ils ont rapporté que cet insecticide avait un caractère réversible vis-à-vis de la croissance et de la minéralisation coquillère.

Ces données reflètent le déclin de la croissance des escargots (masse et diamètre coquillère) sous l'effet de tous les traitements. La réduction significative de la croissance des juvéniles exposés au thiaméthoxame et à la téfluthrine peut s'expliquer par une réduction des réserves énergétiques, allouées à la croissance (contenus en lipide et en glucides) dans les cellules de stockage des tissus des escargots, cette réduction est probablement provoquée par la mobilisation de ces ressources pour l'initiation des processus de détoxification.

La réduction de la croissance pondérale notée dans les groupes d'escargots traités par le thiaméthoxame et la téfluthrine comparés aux escargots témoins est en parfait accord avec les résultats de certains auteurs [6, 20, 21]. En effet, ils ont rapporté que la réduction significative ($p < 0,05$) du poids et du diamètre coquillère des escargots traités avec l'aminocarbe, le méthyl parathion et le paraquat est liée à la nature et à la concentration du pesticide administré. De plus, l'ensemble des résultats semble indiquer que la réduction de la croissance est liée au mode [8, 22] et à la durée d'exposition [6, 20, 23] à un pesticide testé. D'autre part, Bluzat et Seuge [19] ont montré chez le mollusque *Lymnea stagnalis* que le carbaryl et le lindane provoquent dans le cas d'une intoxication chronique, une diminution de la croissance des coquilles.

Aussi, les effets des pesticides diffèrent selon les espèces de gastéropodes traités. Ainsi, Genena et Mostafa [24] ont constaté une large différence de sensibilité aux pesticides entre deux genres d'escargots *Monacha cantiana* et *Eobania vermiculata*.

Judge [25] avait fait les mêmes constatations entre deux espèces de limaces du genre *Deroceras* traitées par les mêmes molluscicides.

D'un autre côté, la différence de croissance observée entre les deux insecticides pourrait être attribuée à la structure chimique de la matière active des insecticides [26, 27] et (ou) notamment de leurs adjuvants consécutifs. Cependant, les données toxicologiques sur les adjuvants sont rares, pour argumenter les effets possibles d'un pesticide (matière active et adjuvant) donné.

Cette différence de croissance peut être attribuée également à la différence de solubilité des molécules testées et des mixtures, leurs affinités vis-à-vis des différentes cibles biologiques ou à d'autres facteurs ignorés jusqu'à présent chez les gastéropodes.

En se basant sur le pourcentage d'inhibition du poids moyen (Tableau. 2) et au bout de 8 semaines de traitement, la toxicité des insecticides décroît dans l'ordre suivant : Th2 (69%) > Te1 (65,36%) > Te2 (45,89%) > Th1 (42,50%). D'autre part, en se basant sur le pourcentage d'inhibition du diamètre coquillère moyen, le classement était comme suit : Te1 (68,26%) > Th2 (67,71%) > Te2 (60,88%) > Th1 (42,61%).

CONCLUSION

Les interrogations sur l'impact des pesticides sur l'environnement nécessitent le développement de méthodes adaptées pour l'analyse de leurs effets sur les invertébrés terrestres, notamment sur l'escargot *Helix aspersa aspersa*. La sensibilité du modèle au thiaméthoxame et à la téfluthrine montre bien leur effet, plus ou moins important sur les paramètres cinétiques étudiés : le poids et le diamètre coquillère. Il serait intéressant de détecter la présence des deux produits dans les tissus des escargots exposés en continu aux plus fortes concentrations dans la nourriture. Les résultats peuvent indiquer, par la suite, les effets des insecticides à des concentrations représentatives de l'environnement, cependant, la détection de résidus dans les tissus peut présenter un danger potentiel de transfert dans la chaîne alimentaire. Cette approche toxicodynamique globale, a montré une inhibition de croissance chez les juvéniles exposés à la laitue contaminée par deux insecticides, appartenant à deux classes de composés sur une espèce d'invertébré du sol,

Helix aspersa aspersa, susceptible d'être utilisée comme bioindicateur de pollution des sols, d'abord à d'autres insecticides actuellement utilisés et présents dans l'environnement, ensuite et par référence à ces résultats, à d'autres produits phytosanitaires plus récemment utilisés, pour une éventuelle évaluation des risques qu'ils pourraient engendrer aux écosystèmes terrestres.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Russell-Hunter W.D. (1983).** Overview: Planetary distribution and ecological constraints upon the Mollusca. In: *The Mollusca*. ed. WD Russell-Hunter. London, Academic Press, Vol. 6: Ecology, 1-27.
- [2]. **Laskowski R., Hopkin S.P. (1996b).** Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*) : implications for predators. *Environ. Pollut.*, 91(3), 289-297.
- [3]. **Beeby A., (1998).** Richmond L. Variation in the mineral composition of eggs of snail, *Helix aspersa* between populations exposed to different levels of metal contamination. *Environ. Pollut.*, 101(1), 25-31.
- [4]. **Radwan M.A., Salama A.K. (1999).** Thiodicarb biotransformation to methyl, toxicities and acetylcholinesterase inhibition in the land snail, *Helix aspersa* (Muller). *J. Pest. Cont. Environ. Sci.*, 7 : 59-70.
- [5]. **Coeurdassier M., Gomot-De Vaufleury A., Badot, P.M. (2000).** Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in land snail *Helix aspersa aspersa*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 2571-2578.
- [6]. **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. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20 (9), 1951-1957.
- [7]. **Snyman R.G., Reinecke A.J., Reinecke, S.A. (2002).** Field application of a lysosomal assay as biomarker of copper oxychloride exposure, in the snail *Helix aspersa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 69, 117-122.
- [8]. **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*. *Pak. J. Biol. Sci.*, 8 : 92-96.
- [9]. **Snyman R.G., Reinecke A.J., Reinecke, S.A. (2005).** Quantitative changes in the digestive gland cells of the snail *Helix aspersa* after exposure to the fungicide copper oxychloride. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 60, 47-52.
- [10]. **ISO 15952 (2006).** Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae), Determination of the effects on growth by soil contamination, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- [11]. **Regoli F., Gorbi S., Fattorini D. (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.
- [12]. **Ait Hamlet S., Djekoun M., Smati M., Semassel A., Djekoun Bensoltane S., Berrebbah H. (2014).** Histopathological effects of neonicotinoid insecticide in the hepatopancreas of terrestrial gastropod *Helix aspersa*. *Fresenius Environ. Bul.*, 23 (11) : 3041-3047.
- [13]. **Bouziari M. (2007).** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de médecine et de la santé. Santémaghreb. www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm, 26/06/2007.
- [14]. **Gomot A. (1994).** Contribution à l'étude de la croissance d'escargots du genre *Helix* : influence de facteurs de l'environnement. Nutrition et composition biochimique. Contrôle neuroendocrine. Doctorat Sciences de la Vie, n°398, Université de Besançon, France.
- [15]. **Gomot A. (1997).** Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33 : 209-216.
- [16]. **Scheifler R., Gomot-De Vaufleury A., Badot P.M. (2002).** Transfert of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa* : Bioaccumulation and Effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2002, 53 : 148-153.
- [17]. **Viard B., Maul A., Pihan J.C. (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *J. Environ. Monit.*, 6 : 103-107.
- [18]. **Jess S., Marks R.J. (1998).** Effect of temperature and photoperiod on growth and reproduction of *Helix aspersa* var. *maxima*. *J. Agricult. Sc.*, 130 : 367-372.

- [19]. **Bluzat R., Seuge J. (1979).** Etude de la toxicité chronique de deux insecticides (Carbaryl et Lindane) à la génération F1 de *Lymnea stagnalis* L. (Mollusque Gastéropode pulmoné). 1. Croissance des coquilles. Hydrobiol., 65 (3) : 245-255.
- [20]. **Seuge J., Buzat R. (1980).** Toxicité à long terme d'un insecticide organophosphoré (Fenthion) chez le mollusque *Lymnea stagnalis* L. Hydrobiol., 26 : 241-248.
- [21]. **Schuytema G.S., Nebeker A.V., Griffis W.L. (1994).** Effects of Dietary to Forest Pesticides on the Brown Garden Snail *Helix aspersa* Müller. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 26 : 23-28.
- [22]. **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.
- [23]. **Rorke M.A., Gardner D.R., Greenhalgh, R. (1974).** Lethality and behavioral symptoms produced by some organophosphorus compounds in the snail (*Helix aspersa*). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 11 : 417-424.
- [24]. **Genena M.A.M., Mostafa F.A.M. (2008).** Molluscicidal activity of six pesticides against the two land snails, *Monacha cantiana* and *Eobania vermiculata* (Gastropoda : Helicidae) under laboratory conditions. J. Agric. Sci. Mansoura Univ. 33 (7) : 5307-5315.
- [25]. **Judge F.D. (1969).** Preliminary screening of candidate molluscicides. J. Econ. Entomol., 62 : 1393-1397.
- [26]. **Oliveira-Filho E.C., Geraldino C.K., Paumgarten F.J. (2005).** Acute toxicity of endosulfan, nonylphenol ethoxylate, and ethanol to different life stages of the freshwater snail *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 52 : 104-112.
- [27]. **Druart C., Scheifler R., De Vaufleury A. (2010).** Towards the development of an embryotoxicity bioassay with terrestrial snails : Screening approach for cadmium and pesticides. J. Haz. Mat., 184 : 26-33.