1. Pendant la phase embryonnaire

1.1. Suivi des œufs des témoins et des traités par les NPs d'oxyde de silice et d'oxyde de fer:

1.2. Effet des NPs de SiO_2 sur l'évolution du diamètre des œufs des escargots *Helix aspersa* :

La figure (27) met en évidence les variations du diamètre des œufs en fonction du temps en présence des concentrations croissantes des NPs d'oxyde de silice. Nous constatons que le diamètre des œufs varie d'une manière non significative durant les 14jours de traitement chez les traités par les différentes concentrations par rapport aux témoins (P>0,05).

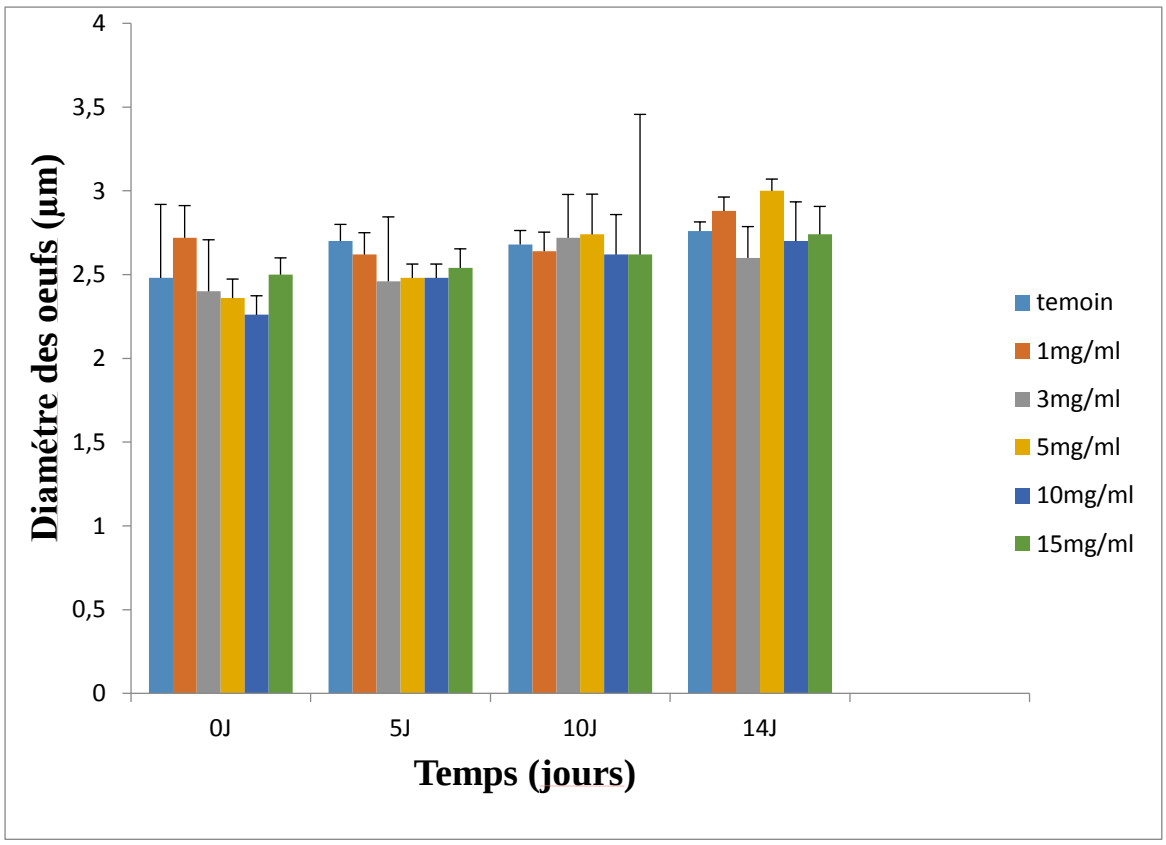

Figure 27 : Effet des NPs de SiO_2 sur l'évolution du diamètre des œufs des escargots *H aspersa* en fonction du temps (m±s, n=5).

1.3. Effet des NPs de Fe_2O_3 sur l'évolution du diamètre des œufs des escargots *Helix aspersa* :

La figure 28 relative à l'évolution du diamètre des œufs en présence de concentrations croissantes des NPs de Fe_2O_3, montre que le diamètre des œufs des témoins et des traités augmente de manière non significative durant toute la durée de traitement (P>0,05).

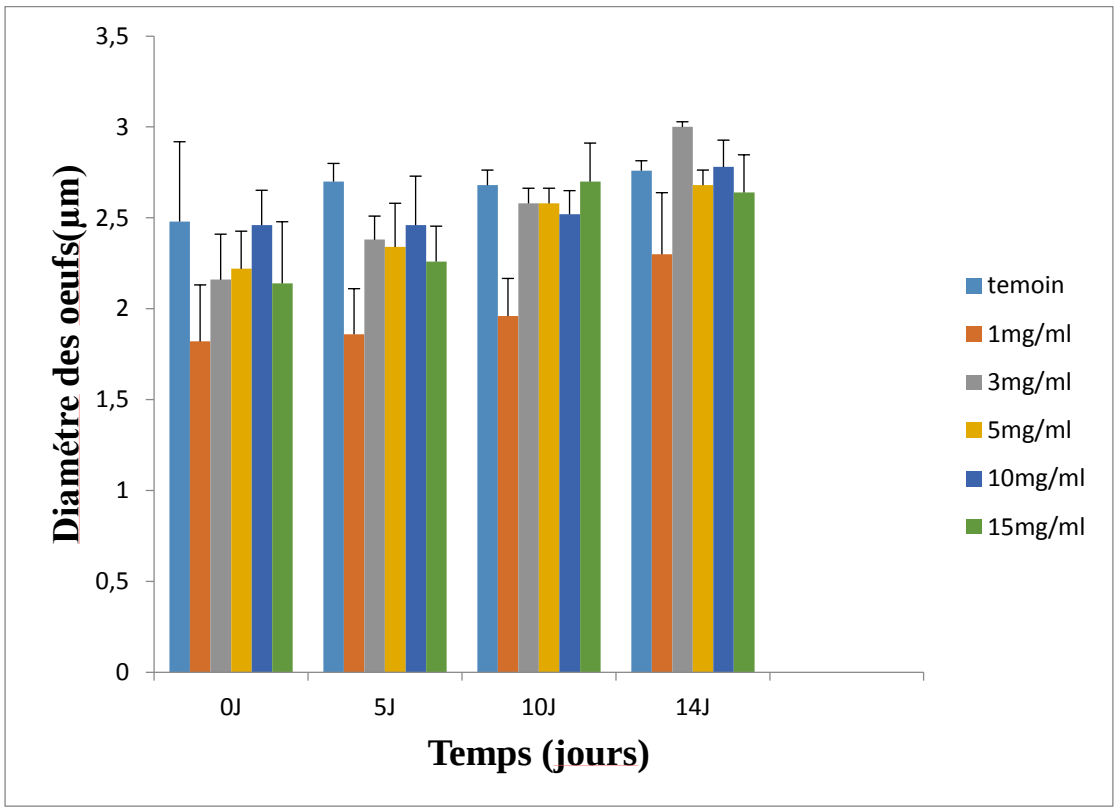

Figure 28 : Effet des NPs de Fe_2O_3 sur l'évolution du diamètre des œufs des escargots *H aspersa* en fonction du temps (m±s, n=5).

1.4. Effets des nanoparticules de SiO_2 et de Fe_2O_3 sur la forme générale des œufs :

Les œufs ont été choisis aléatoirement à partir de chaque groupe par des prises de photographies en même temps à l'aide d'un appareil photo de téléphone de la marque (Samsung J 3.6)

Nous avons observé quelques modifications à partir du 5éme jour, et à cet effet, nous avons pris des photos le $5^{éme}$, le $10^{éme}$, $14^{éme}$ jour ainsi qu'au $15^{éme}$ et au $20^{éme}$ jour.

1.4.1. Effet des nanoparticules de SiO_2

- **Au 5ème jour d'incubation :** on observe des œufs blancs et brillants avec une forme régulière chez les témoins et les traites par les différentes concentrations des NPs d'oxyde de silice (1mg/ml, 3mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, et 15mg/ml) **(Figure 29, 30, 31, 32, 33 et 34).**



Figure 29 : Œuf témoin observé au 5 ème jour.



Figure 30:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 5 ème jour.



Figure 31:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 5 ème jour.



Figure 32:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 5 ème jour.

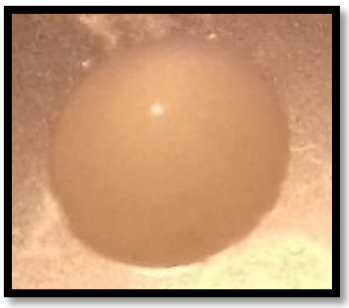

Figure 33:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 5 ème jour.



Figure 34:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 5ème jour.

➢ **Au 10ème jour d'incubation :**

- Nous n'avons rien remarqué pour le témoin **(Figure 35).**

- Des traces de la molécule ont été observées sur une partie de la surface des œufs traités par 1mg/ml et 3mg/ml **(Figure 36 et 37).**

- Des déformations de la membrane et des traces de la molécule ont été observés chez les lots traités par les concentrations les plus élevés 5mg/ml, 10mg/ml et 15mg/ml **(Figure 38, 39 et 40).**



Figure 35: Œuf témoin observé au 10ème jour.



Figure 36:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 10ème jour.



Figure 37:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 10ème jour.



Figure 38:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 10ème jour.



Figure 39:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 10ème jour.

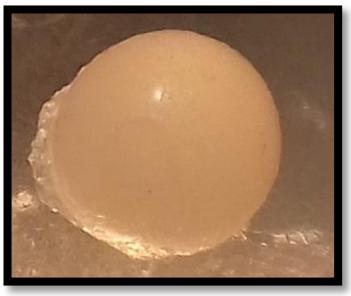

Figure 40:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 10ème jour.

➢ **Au 14ème jour d'incubation**

- Chez le témoin on observe la formation de l'embryon **(Figure 41).**

-Des gonflements au niveau de la membrane des œufs chez les lots traités par 1mg/ml et 3mg/ml et 5mg/ml **(Figure 42,43 et 44).**

- Les déformations de la coque sont plus marquées chez les lots traités par les concentrations 10mg/ml et 15mg/ml à cause de l'augmentation de la quantité des NPs accumulé **(Figure 45 et 46).**

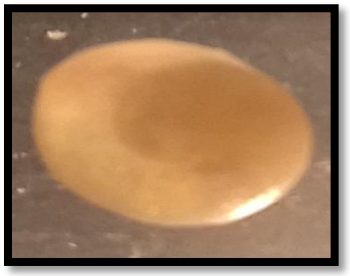

Figure 41: Œuf témoin observé au 14ème jour.



Figure 42:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de SiO_2 observé au14ème jour.

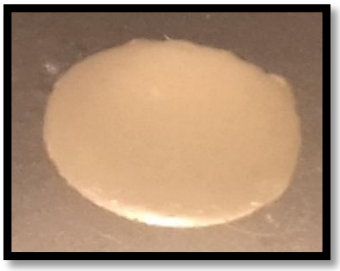

Figure 43:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 14ème jour.



Figure 44:Œuf du lot traité par 5 mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 14ème jour.

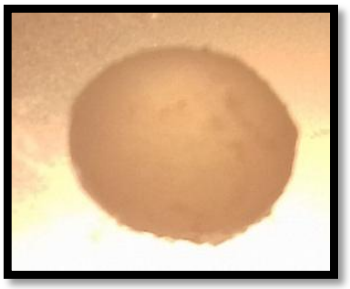

Figure 45:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 14ème jour.



Figure 46:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 14ème jour.

- **Au 15ème jour d'incubation :**

-Une coquille transparente pour l'escargot jeune éclos du lot témoin **(Figure 47).**

-Aux concentrations 1mg/ml l'augmentation de l'accumulent in-situ des nanoparticules SiO_2 est plus marquée **(Figure 48).**

-les œufs des lots traités par les concentrations 3mg/ml et 5mg/ml sont sur le point d'éclore. **(Figure 49 et 50).**

- Mais chez les lots traité par les concentrations 10mg/ml et 15mg/ml les même observations de 14ème jour **(Figure 51 et 52).**

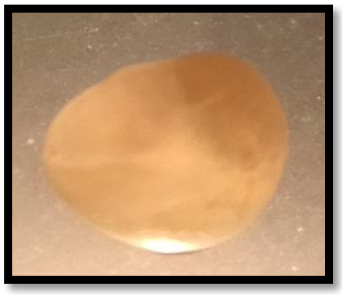

Figure 47: Œuf témoin observé au 15ème jour.



Figure 48:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 15 ème jour.



Figure 49:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 15ème jour.



Figure 50:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 15 ème jour.



Figure 51:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 15 ème jour.

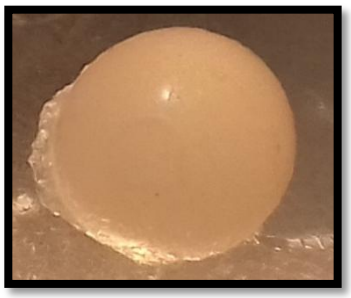

Figure 52:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 15ème jour.

- **Au 20ème jour d'incubation**

-L'apparition des yeux avec une coquille transparente chez le témoin **(Figure 53)**.

-L'apparition des coquilles transparentes pour les escargots jeunes éclos dans les lots traités par les concentrations 1mg/ml, 3mg/ml et, 5mg/ml **(Figure 54, 55 et 56).**

-Chez les lots traités par 10mg/ml et 15mg/ml les œufs non éclos **(Figure 57 et 58).**



Figure 53: Œuf témoin observé au 20 ème jour.



Figure 54:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 20ème jour.



Figure 55:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 20ème jour.



Figure 56:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 20 ème jour.



Figure 57:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 20 ème jour.

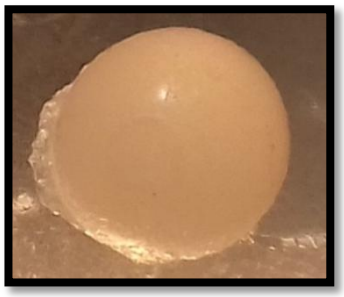

Figure 58:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de SiO_2 observé au 20ème jour.

1.4.2. Effet des nanoparticules de Fe_2O_3

- **Au 5ème jour d'incubation**

- On observe pour le témoin un œuf blanc et brillant avec une forme régulière **(Figure 59).**

- On observe des traces des NPs d'oxyde de fer sur toute la surface des œufs traités par les concentrations 1mg/ml ,3mg/ml et 5mg/ml **(Figure 60, 61 et 62)** qui devient plus remarquable chez les traités par les concentrations les plus élevées (10 mg/ml et15mg/ml) **(Figure 63 et 64).**

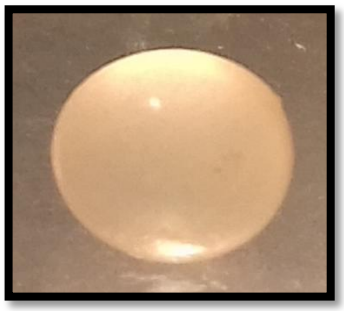

Figure 59: Œuf témoin observé au 5 ème jour.



Figure 60:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 5 ème jour.



Figure 61:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 5 ème jour.



Figure 62:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 5 ème jour.

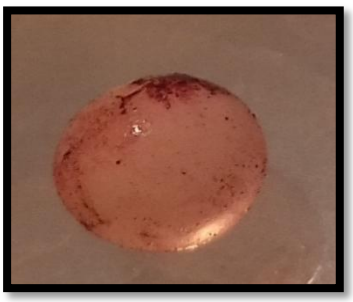

Figure 63:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 5 ème jour.



Figure 64:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 5 ème jour.

- **Au 10 ème jour d'incubation**

-Gonflement de la membrane chez le témoin et les traités par la concentration 1mg/ml **(Figure 65, 66).**

- Des déformations de la membrane chez le lot traité par 3mg/ml **(Figure 67).**

- L'accumulation du NPs de Fe_2O_3 sous une couleur rouille a été observé chez les lots traités par 5mg/ml ,10mg/ml **(Figure 68, et 69)** et plus remarquable chez le lot traité par 15mg/ml **(Figure 70).**



Figure 65: Œuf témoin observé au 10ème jour.



Figure 66:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 10 ème jour.



Figure 67:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 10 ème jour.

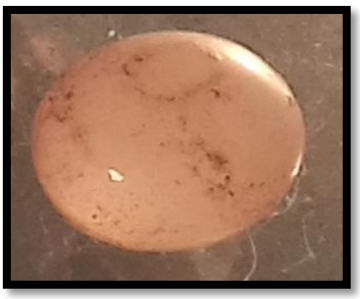

Figure 68:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 10ème jour.



Figure 69:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 10ème jour.



Figure 70:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 10ème jour.

- **Au 14 ème jour d'incubation**

- Chez le témoin on observe la formation de l'embryon **(Figure 71).**

- Les lots traités par les concentrations 1mg/ml, 3mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml sont sur le point d'éclore **(Figure 72, 73,74 et 75).**

-Les œufs non éclos chez le lot traité par 15mg/ml **(Figure 76).**



Figure 71: Œuf témoin observé au 14ème jour.



Figure 72:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 14ème jour.



Figure 73:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 14ème jour.



Figure 74:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 14ème jour.



Figure 75:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 14ème jour.



Figure 76:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 14ème jour.

- **Au 15ème jour d'incubation**

-Une coquille transparente chez le témoin a été observée **(Figure 77).**

-L'apparition d'une coquille avec une accumulation en arrière chez le lot traité par 1mg/ml. (**Figure 78).**

- les lots traités par les concentrations 3mg/ml, 5mg/ml et 10mg/ml sont sur le point d'éclore **(Figure 79, 80 et 81).**

- Les œufs de lot traité par 15mg/ml restent non éclos **(Figure 82).**



Figure 77: Œuf témoin observé au 15ème jour.



Figure 78:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 15ème jour.



Figure 79:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 15ème jour.

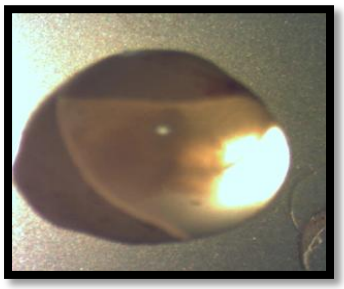

Figure 80:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 15ème jour.



Figure 81:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 15ème jour.

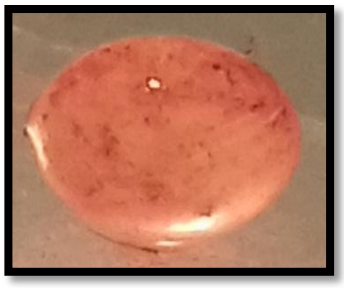

Figure 82:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 15ème jour.

- **Au 20ème jour d'incubation**

-L'apparition des yeux avec une coquille transparente plus remarquable chez le témoin **(Figure 83).**

-Accumulation plus remarquable chez le lot traité par 1mg/ml **(Figure 84).**

- Accumulation en arrière de la coquille chez les jeunes éclos des lots traites par, 3mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml et plus apparent dans les concentrations élevées **(Figure 85, 86 et 87).**

- Les œufs non éclos de lot traité par 15mg/ml avec une membrane déformée **(Figure 88).**



Figure 83: Œuf témoin observé au 20ème jour.



Figure 84:Œuf du lot traité par 1mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 20ème jour.



Figure 85:Œuf du lot traité par 3mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 20ème jour.

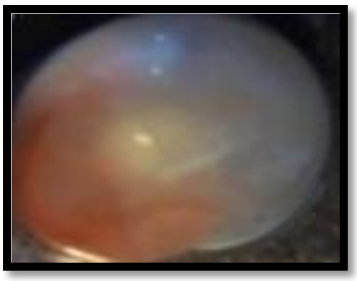

Figure 86:Œuf du lot traité par 5mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 20ème jour.



Figure 87:Œuf du lot traité par 10mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 20ème jour.



Figure 88:Œuf du lot traité par 15mg/ml des NPs de Fe_2O_3 observé au 20ème jour.

1.2. Comptage d'éclosion :

Nos résultats montrent que chez le lot témoin et le lot traité par (1mg /ml) l'éclosion est effectuée au $15^{éme}$ jour d'incubation, par contre chez les autres lots traités par (3,5 ,10 et 15mg /ml) est effectué au $20^{éme}$ jour.

Aussi le comptage du nombre d'éclosion montre un effet dose-dépendent, nous constatons que le plus faible nombre d'éclosion est observé à la concentration la plus élevée **(15mg/ml) (Tableau 03).**

Tableau 03: Nombres d'éclosion des œufs témoins et exposés aux différentes concentrations des NPs (SiO_2 et Fe_2O_3).

Type de traitement	Les lots Traitées	Nombre d'éclosion	
		15ème jour	20ème jour
SiO_2	Témoin	**21**	**00**
	1mg/ml	**03**	**14**
	3mg/ml	**00**	**15**
	5 mg/ml	**00**	**05**
	10 mg/ml	**00**	**00**
	15mg/ml	**00**	**00**
Fe_2O_3	Témoin	**21**	**00**
	1mg/ml	**03**	**15**
	3mg/ml	**00**	**14**
	5 mg/ml	**00**	**12**
	10 mg/ml	**00**	**01**
	15mg/ml	**00**	**00**

Les tableaux 04 et 05 représentent les nombres des œufs décomposés(27) et non éclos(41) dans les lots traités par les NPs de SiO_2 sont plus élevés que dans les lots traités par les NPs de Fe_2O_3 (décomposés =21 œuf, les non éclos =39 œuf).

Aussi le comptage du nombre d'éclosion montre un effet dose-dépendent, nous constatons que le plus faible nombre d'éclosion est toujours noté chez les traités par la concentration la plus élevée **(15mg/ml).**

Tableau 04: Nombre des œufs éclos, non éclos et décomposés après 28 Jours de l'exposition aux différentes concentrations des NPs de SiO_2 (n=21).

Type de traitement	Nbr des œufs	Témoin	1 mg/ml	3 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	15 mg/ml
SiO_2	**Eclos**	21	17	15	05	00	00
	Non éclos	00	01	01	06	12	21
	Décomposés	00	03	05	10	09	00

Tableau 05: Nombre des œufs éclos, non éclos et décomposés après 28 Jours de l'exposition aux différentes concentrations des NPs de Fe_2O_3 (n=21).

Type de traitement	Nbr des œufs	Témoin	1 mg/ml	3 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	15 mg/ml
Fe_2O_3	**Eclos**	21	18	14	12	01	00
	Non éclos	00	00	03	05	10	21
	Décomposés	00	03	04	04	10	00

2. Mortalités

Les résultats obtenus lors du comptage de mortalité sont résumés dans le tableau 06 ci-dessous.

Tableau 06 : Nombre et taux de mortalité pendant les 28 jours qui suivent l'éclosion après exposition aux différentes concentrations des NPs de SiO_2 et Fe_2O_3.

Les types de traitement	Les lots traités	Nbr de mortalité après 28 j	Taux de mortalité
SiO_2	Témoin	**00**	**00%**
	1mg/ml	**00**	**00%**
	3mg/ml	**01**	**4,76%**
	5 mg/ml	**04**	**19,04%**
	10 mg/ml		
	15mg/ml		
Fe_2O_3	1 mg/ml	**02**	**2,38%**
	3 mg/ ml	**02**	**2,38%**
	5 mg/ml	**04**	**19,04%**
	10 mg/ml		
	15 mg/ml		

Durant le bioessai, la mortalité dans les lots traités par les concentrations de SiO_2 est faible, avec 05 individus sur 84 escargots, ce qui représente presque **6%** de totalité de la population.

Et aussi la mortalité dans les lots traités par les concentrations de Fe_2O_3 est faible, avec 8 individus sur 84 escargots, ce qui représente **9,5%** de totalité de la population. Les pourcentages cumulatifs de mortalités des escargots traités ont révélé que le pourcentage de mortalités augmente avec l'augmentation de la concentration de SiO_2 et Fe_2O_3 avec 19,04%, pour la concentration 5mg/ml.

En effet, nous remarquons qu'il est dose-dépendant, aucun embryon n'est perdu chez les témoins, tandis que le taux le plus élevé est observé chez les traités par la plus forte concentration au bout de 28 jours.

3. Pendant la phase juvénile

3.1. Effets des NPs du SiO_2 sur l'évolution du poids moyen des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* en fonction du temps

La figure 89 met en évidence l'évolution du poids moyen des juvéniles en fonction du temps. Nous constatons une diminution non significative du poids moyen des escargots témoins et traités par les concentrations (1mg /ml, 3mg /ml,) durant la 2ème et la 3ème semaine de traitement par les NPs d'oxyde de silice par rapport aux témoins. Mais cette différence devient significative chez les traitées par la concentration (5mg /ml) par rapport aux témoins à la 4ème semaine.

Par contre les traitées par les concentrations (10mg /ml et 15mg /ml) sont hautement significative par rapport aux témoins durant le 2ème, 3ème et 4ème semaine.

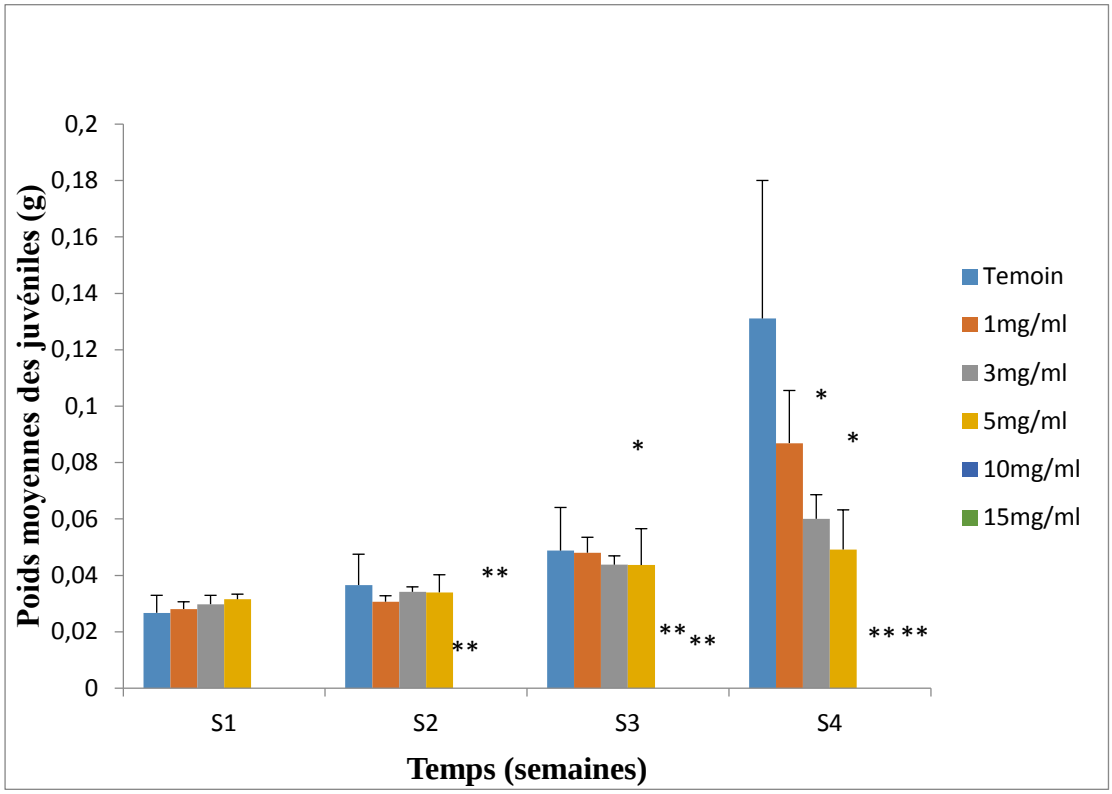

Figure 89: Effets des NPs du SiO_2 sur l'évolution du poids moyen des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* en fonction du temps (m±s, n=5).

*significative, ** hautement significative, *** très hautement significative, P = 0.000

3.2. Effets des NPs du Fe_2O_3 sur l'évolution du poids moyen des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* en fonction du temps :

La figure 90 illustre les moyennes du poids frais des juvéniles pendant 04 semaines. On observe une diminution non significatives du poids des escargots traités par les concentrations (1mg /ml, 3mg /ml,) pendant la 2ème et la 3ème semaine de traitements, qui devient significative par rapport au témoin dans la quatrième semaine.

Pour les traités par la concentration (5mg /ml), on remarque une diminution significative pendant la troisième semaine et non significative pendant la deuxième et la quatrième semaine. Mais chez les traités par les concentrations (10mg /ml et 15mg /ml), on observe une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$).

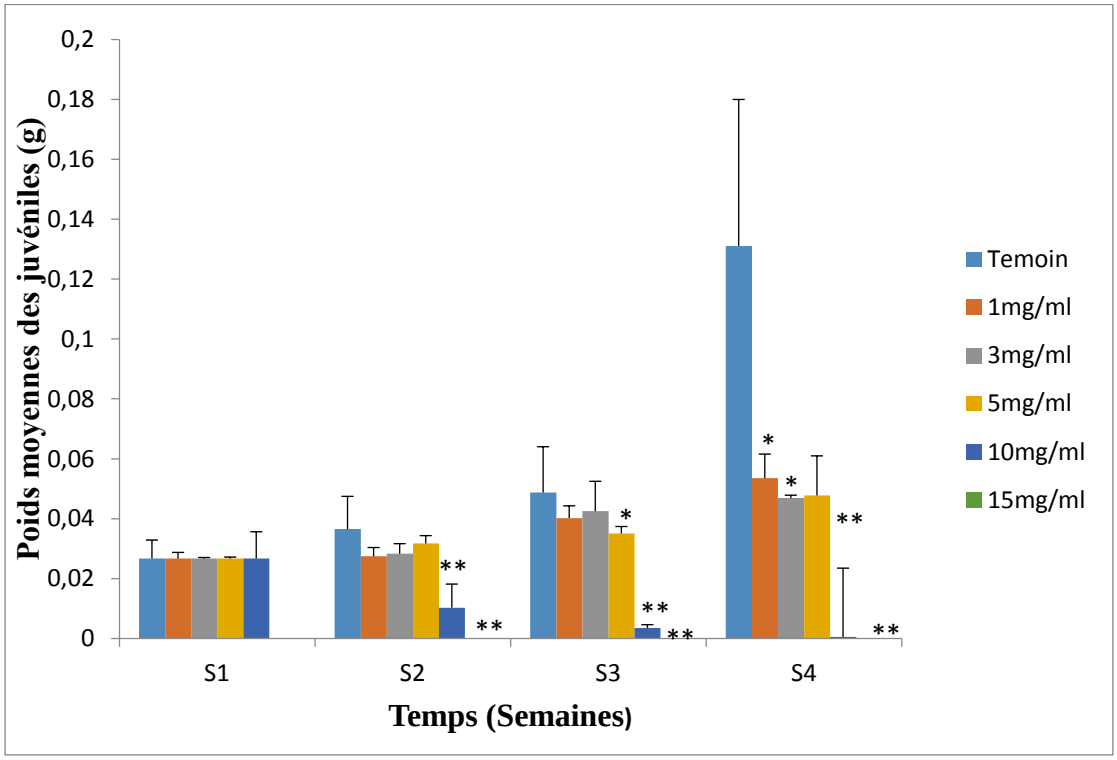

Figure 90: Effets des NPs du Fe_2O_3 sur l'évolution du poids moyen des juvéniles de l'escargot *Helix aspersa* en fonction du temps (04s).(m±s, n=5).

* significative, ** hautement significative, *** très hautement significative, P = 0.000