

الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –

ANNABA

جامعة باجي مختار -
عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE D'EXCELLENCE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUÉE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

Évaluation des risques écotoxicologiques du glyphosate à l'égard de
Palaemon adspersus: aspects toxicologique, histologique et
nutritionnel.

Presentée par : M^{me} HAMOUDI Faten Selma

Directrice de thèse :

M^{me} BERGHICHE Hinda (Pr, Université Badji Mokhtar - Annaba)

Devant un jury composé de :

Pr. YEZLI-TOUIKER Samira	Présidente	UBMA (Annaba)
Pr. DAAS Tarek	Examineur	UBMA (Annaba)
Pr. MEZEDJRI Lyamine	Examineur	U. de Skikda (Skikda)
Dr. TOUMI-MERZOUG Sameha	Examinatrice	UCBD (El - Taref)

Année universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS



Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude avant tout à **Allah** le clément, le miséricordieux qui m'a donné la force, le courage et la volonté d'élaborer ce travail scientifique.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Madame **YEZLI-TOUIKER Samira**, Professeure au Département de Biologie de l'Université Badji Mokhtar - Annaba, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider ce jury. Sa présence en tant que présidente a été un grand privilège pour moi. Je souhaite également lui témoigner ma reconnaissance pour son engagement dans le domaine académique, ainsi que pour le partage de son expertise tout au long de mon parcours en Licence et en Master. Son dévouement à l'enseignement et ses précieux conseils ont grandement contribué à mon développement académique.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse, Madame **BERGHICHE Hinda**, Professeur au Département de Biologie de l'Université Badji Mokhtar - Annaba, pour son encadrement exceptionnel tout au long de mes études de licence et de master, ainsi que pour son soutien inestimable pendant la réalisation de cette recherche. Sa guidance éclairée, sa patience infinie et ses conseils avisés ont été des atouts précieux dans la réussite de ce travail. Son engagement sans faille envers mon projet académique a été une source constante d'inspiration, et ses encouragements m'ont permis de dépasser les obstacles avec confiance. C'est un honneur d'avoir eu l'opportunité de bénéficier de ses enseignements et de travailler sous sa direction. Je lui suis profondément reconnaissante pour son impact positif sur mon parcours académique.

J'exprime ma sincère gratitude envers Monsieur **DAAS Tarek**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar - Annaba, pour sa participation précieuse en tant que membre du jury. Depuis ma licence jusqu'à la thèse, il m'a enseigné avec inspiration et a toujours été présente pour moi. Sa présence et ses enseignements ont été une source constante d'inspiration tout au long de mon parcours académique. Je lui adresse mes remerciements les plus respectueux pour sa contribution significative à ma formation.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Madame **TOUMI-MERZOUG Sameha**, Docteur à l'Université Chadli Bendjedid - El-Taref, pour sa participation précieuse en tant que membre du jury et son examen attentif de ce travail. Je suis honorée d'avoir bénéficié de ses conseils éclairés et de son engagement envers l'excellence académique.

Mes remerciements vont également à Monsieur **MEZEDJRI Lyamine**, Professeur à l'Université 20 Août 1955 - Skikda, pour sa participation précieuse en tant que membre du jury et son examen attentif de ce travail. Je suis honorée d'avoir bénéficié de ses conseils éclairés et de son engagement envers l'excellence académique.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Monsieur le Professeur **SOLTANI Noureddine**, ancien enseignant à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba. Ses précieux enseignements ont été la clé de voûte de mes travaux de recherche, me fournissant les outils essentiels pour avancer. Son accompagnement bienveillant et ses conseils éclairés ont illuminé mon parcours universitaire, de la licence jusqu'à la thèse. Son soutien indéfectible tout au long de ma recherche a été d'une importance capitale. Je suis sincèrement reconnaissante pour sa générosité intellectuelle et sa disponibilité constante. Sa précieuse expertise et sa bienveillance ont été des atouts majeurs dans la réussite de mon travail de thèse, et je suis honorée d'avoir pu bénéficier de son mentorat.

Je souhaite également exprimer ma sincère gratitude au directeur du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée (LBAA), Monsieur le Professeur **BOUDJLIDA Hamid** pour son soutien inestimable tout au long de mes études, de la licence jusqu'à la thèse. Sa guidance éclairée, son expertise et sa disponibilité ont été des éléments essentiels dans mon parcours académique. Je tiens à le remercier pour son dévouement à l'enseignement, ses précieux conseils et son inspiration constante. Ses enseignements en licence et en master ont été une source d'enrichissement et ont grandement contribué à ma formation.

J'aimerais exprimer ma gratitude à toute l'équipe pédagogique, à tous les intervenants professionnels responsables de ma formation, à tous les chercheurs et spécialistes, aux ingénieurs de notre laboratoire, à l'ensemble de mes enseignants de la Licence « *Biologie Animale* » et du Master « *Ecotoxicologie Animale* », en particulier aux Professeurs : Madame **YEZLI-TOUIKER Samira**, Madame **CHOUAHDA Salima**, Madame **KILANI Samira**, Madame **SIFI Karima**, Madame **BENDALI Fatiha**, Madame **MAAMCHA Ouided**, Madame **KIRANE Leila**, Monsieur **DAAS Tarek**, Monsieur **TAHAR Ali** et Monsieur **OUALI Kheireddine** ainsi qu'aux Docteurs : Madame **MESKACHE**, Madame **ABDERAHIM Djaouida** et Monsieur **SLIMANI Rachid** qui m'ont accordé leur patience et leur soutien durant mon parcours universitaire. Votre expertise, votre disponibilité et votre engagement envers l'éducation ont grandement contribué à mon développement académique.

J'exprime mes remerciements aux membres de mon équipe du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée sur lesquels je pourrai toujours compter : En particulier **Dr. SEBBIH Abdelhak** et **Dr. BOUALI Aouatef** (que je remercie pour m'avoir assisté et porté main forte par leur disponibilité et leur précieux conseils), **Dr. BENDJIDID Hadjira**, **Dr. BOUKARI Asma**, **Dr. CHEGHIB Yasmine**, **Dr. BENRADIA Hamida**, **Dr. AMEUR Asma**, **Dr. DENNA Abir**, **YEZLI Amina**, **BALI Imene** et **FERTAS Adila**. Votre collaboration, votre soutien et votre esprit d'équipe ont été essentiels dans la réalisation de mon travail de recherche.

Enfin, je souhaite adresser mes remerciements à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à ma réussite académique et à la réalisation de cette thèse. Votre soutien, vos encouragements et votre confiance ont été d'une valeur inestimable. Je vous suis profondément reconnaissant.

DÉDICACES

الصلوة والسلام عليك يا رسول الله

À ma chère **mère**, symbole de tendresse et d'espoir, tu es la source inépuisable d'un amour infini. Femme d'une force indomptable, tu as surmonté des épreuves sans jamais laisser transparaître ma propre souffrance. Ta prière incessante pour mon bien-être et ton dévouement sans faille ont été mes piliers durant ce parcours académique.

À mon cher **père**, je te suis profondément reconnaissante pour m'avoir enseigné les valeurs du travail et de la responsabilité. Ton amour inconditionnel, ta générosité sans limite et ta compréhension infinie ont éclairé chacune de mes étapes. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.

À mon cher **époux**, compagnon constant et bienveillant, merci pour ta présence, ton soutien indéfectible, ta compréhension et ton amour sans mesure.

À ma **filie** chérie, tu illumines ma vie. Merci d'être la prunelle de mes yeux et mon étoile étincelante.

À mes chers **frères**, Leur amour fraternel m'a donné la force nécessaire pour atteindre cet objectif académique. Je leur suis infiniment reconnaissante pour leur bienveillance, leur encouragement et leur soutien sans faille.

À mes chers **grands-parents, cousines**, et à toute ma **famille**, je dédie ce travail, fruit de patience et de persévérance.



"In science, there are no shortcuts to truth."

Carl Sagan

SOMMAIRE

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	1
2	MATÉRIEL ET MÉTHODES	8
2.1	PRESENTATION DE L'ESPECE : <i>PALAEMON ADSPERSUS</i>	8
2.1.1	<i>Morphologie et anatomie d'une crevette.....</i>	10
2.1.2	<i>Cycle de vie.....</i>	12
2.1.3	<i>La mue.....</i>	12
2.2	PRESENTATION DU SITE D'ECHANTILLONNAGE	15
2.3	METHODOLOGIE DE PRELEVEMENT ET ELEVAGE.....	16
2.4	PRESENTATION ET APPLICATION DE L'HERBICIDE	18
2.5	TEST DE TOXICITE AIGUË.....	19
2.6	TRAITEMENT ET COLLECTE DES TISSUS POUR L'ANALYSE DES BIOMARQUEURS	20
2.6.1	<i>Analyse de la glutathion S-transférase.....</i>	20
2.6.2	<i>Activité de l'acétylcholinestérase.....</i>	21
2.6.3	<i>Analyse du malondialdéhyde</i>	22
2.6.4	<i>Analyse sur la teneur en lipides</i>	23
2.6.5	<i>Dosage des protéines</i>	24
2.7	METHODES D'ANALYSE HISTOLOGIQUE ET ETAPES EXPERIMENTALES :.....	25
2.8	ANALYSE DES DONNEES	29
3	RÉSULTATS	31
3.1	TOXICITE AIGUË DU GLYPHOSATE	31
3.2	EFFET DU GLYPHOSATE SUR LES BIOMARQUEURS CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> :.....	35
3.2.1	<i>Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase en phase de traitement.....</i>	35
3.2.2	<i>Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase en phase de récupération.....</i>	37
3.2.3	<i>Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase en phase de traitement</i>	38
3.2.4	<i>Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase en phase de récupération</i>	39
3.2.5	<i>Effet sur le malondialdéhyde en phase de traitement.....</i>	40
3.2.6	<i>Effet sur le malondialdéhyde en phase de récupération.....</i>	41
3.2.7	<i>Effet sur la teneur en lipides en phase de traitement.....</i>	42
3.2.8	<i>Effet sur la teneur en lipides en phase de récupération</i>	43
3.3	TESTS STATISTIQUES DE CORRELATION ENTRE LE MDA ET LA TENEUR EN LIPIDE.....	44
3.4	OBSERVATIONS ET INTERPRETATIONS HISTOPATHOLOGIQUE :.....	45
3.4.1	<i>Effet du glyphosate (CL₅₀^{24,96h}) sur la structure du tissu musculaire de la <i>P. adspersus</i> en phase de traitement et de récupération :.....</i>	46
3.4.2	<i>Effet du glyphosate (CL₅₀^{24,96h}) sur la structure des branchies de la <i>P. adspersus</i> en phase de traitement et de récupération :.....</i>	47
3.4.3	<i>Effet du glyphosate (CL₅₀^{24,96h}) sur la structure de l'hépatopancréas de la <i>P. adspersus</i> en phase de traitement et de récupération :.....</i>	48
4	DISCUSSION.....	50
4.1	EFFET SUR LA TOXICITE AIGUES	53
4.2	EFFET DU GLYPHOSATE SUR LES BIOMARQUEURS	54
4.2.1	<i>Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase</i>	54
4.2.2	<i>Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase.....</i>	56
4.2.3	<i>Effet sur le malondialdhéyde.....</i>	57
4.3	EFFET DU GLYPHOSATE SUR LES ALTERATIONS TISSULAIRES.....	59
4.3.1	<i>Effet du glyphosate sur les tissus musculaires de <i>P. adspersus</i>.....</i>	59
4.3.2	<i>Effet du glyphosate sur les tissus de branchies de <i>P. adspersus</i></i>	60
4.3.3	<i>Effet du glyphosate sur les tissus de l'hépatopancréas de <i>P. adspersus</i></i>	62
5	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	65

6	RÉSUMÉS	68
6.1	RÉSUMÉ	68
6.2	ملخص.....	69
6.3	ABSTRACT.....	70
7	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72
	Annexes	

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. PHOTOGRAPHIE DE LA CREVETTE <i>P. ADSPERSUS</i> (RATHKE, 1837) (PHOTO PERSONNELLE). ..9	9
FIGURE 2. REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE <i>P. ADSPERSUS</i> A TRAVERS LE MONDE BASE SUR L'INVENTAIRE NATIONAL DU PATRIMOINE NATUREL..... 10	10
FIGURE 3. ANATOMIE EXTERNE D'UNE CREVETTE. (HTTPS://WWW.FUTURA-SCIENCES.COM). 11	11
FIGURE 4. ANATOMIE INTERNE D'UNE CREVETTE. (HTTPS://FORUM.MIKROSKOPIA.COM)..... 11	11
FIGURE 5. CYCLE DE VIE DE <i>P. ADSPERSUS</i> (ANGTHONG ET AL., 2020)..... 12	12
FIGURE 6. DISPOSITIF NON INVASIF POUR LA DETERMINATION DES STADES DE MUE CHEZ LA CREVETTE <i>P. ADSPERSUS</i> (A), UTILISANT UN BINOCULAIRE (B) (PHOTO PERSONNELLE)..... 13	13
FIGURE 7. LOCALISATION GEOGRAPHIQUE DE LA ZONE D'ECHANTILLONNAGE : LA LAGUNE EL-MELLAH, EL-KALA (ALGERIE NORD-EST) (ARCGIS), (PHOTO PERSONNELLE)..... 15	15
FIGURE 8. PHOTOGRAPHIE DU SITE D'ECHANTILLONNAGE LA LAGUNE EL-MELLAH (PHOTO PERSONNELLE). 16	16
FIGURE 9. DYNAMIQUE ALIMENTAIRE DANS L'AQUARIUM : OBSERVATION D'UNE CREVETTE SE NOURRISSANT D'UNE MOULE. 17	17
FIGURE 10. LES DIVERSES ETAPES DE LA METHODOLOGIE DE CAPTURE DE <i>P. ADSPERSUS</i> (A) TRAINAGE, (B, B') TRIAGE, (C, C') TRANSPORT DES CREVETTES, ET (D) SYSTEME DE STABULATION ET D'ELEVAGE EN LABORATOIRE (PHOTO PERSONNELLE). 17	17
FIGURE 11. ÉVALUATION DE LA TOXICITE AIGUË DU GLYPHOSATE SUR <i>P. ADSPERSUS</i> A DES CONCENTRATIONS VARIEES (PHOTO PERSONNELLE). 20	20
FIGURE 12. DOSAGE DES PROTEINES : DROITE DE REGRESSION EXPRIMANT L'ABSORBANCE EN FONCTION DE LA QUANTITE D'ALBUMINE (MG) (R^2 : COEFFICIENT DE DETERMINATION). 25	25
Figure 13. COURBE D'ETALONNAGE DES LIPIDES : DROITE DE REGRESSION EXPRIMANT L'ABSORBANCE EN FONCTION DE LA QUANTITE D'ALBUMINE (MG) (R^2 : COEFFICIENT DE DETERMINATION).	
FIGURE 14. DIFFERENTES PARTIES TRAITÉES POUR HISTOLOGIE : HEPATOPANCREAS, BRANCHIES ET TISSU MUSCULAIRE, D'UNE CREVETTE (PHOTO PERSONNELLE). 26	26
FIGURE 15. TOXICITE DU GLYPHOSATE (MG/L), A L'EGARD DE LA CREVETTE <i>P. ADSPERSUS</i> APRES UNE EXPOSITION DE 24H (A), 48H (B), 72H (C), 96H (D): COURBE DOSE-REPONSE EXPRIMANT LE POURCENTAGE DE MORTALITE CORRIGEE (%). 35	35
FIGURE 16. EFFET DU GLYPHOSATE SUR L'ACHE CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASES DE TRAITEMENT ($M \pm SD$; $N=5$; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TRAITEMENTS..... 36	36
FIGURE 17. EFFET DU GLYPHOSATE SUR L'ACHE CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASES DE RECUPERATION ($M \pm SD$; $N=5$; POUR CHAQUE DUREE DE RECUPERATION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TRAITEMENTS..... 37	37
FIGURE 18. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LA GST CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE TRAITEMENT ($M \pm SD$; $N=5$; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TRAITEMENTS..... 38	38
FIGURE 19. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LA GST CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE RECUPERATION ($M \pm SD$; $N=5$; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE LES TRAITEMENTS..... 39	39
FIGURE 20. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LE TAUX DE LA MDA CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE TRAITEMENT ($M \pm SD$; $N=5$; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES ($P > 0,05$) ENTRE	

LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TRAITEMENTS.....	40
FIGURE 21. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LE TAUX DE LA MDA CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE RECUPERATION (M ± SD; N=5; POUR CHAQUE DUREE DE RECUPERATION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TRAITEMENTS.....	41
FIGURE 22. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LA TENEUR EN LIPIDES CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE TRAITEMENT (M ± SD; N=5; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TRAITEMENTS.....	42
FIGURE 23. EFFET DU GLYPHOSATE SUR LA TENEUR EN LIPIDES CHEZ <i>P. ADSPERSUS</i> PENDANT LES PHASE DE RECUPERATION (M ± SD; N=5; POUR CHAQUE DUREE D'EXPOSITION). LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MINUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TEMPS, ET LES MOYENNES SUIVIES PAR LA MEME LETTRE MAJUSCULE NE SONT PAS SIGNIFICATIVEMENT DIFFERENTES (P> 0,05) ENTRE LES TRAITEMENTS.....	43
FIGURE 24. TEST DE CORRELATION DE PEARSON ENTRE LE MALONDIALDEHYDE ET LA TENEUR EN LIPIDES.....	44
FIGURE 25 . SECTION HISTOLOGIQUE DU TISSU MUSCULAIRE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> COLORE AVEC L'HEMATOXYLINE ET L'EOSINE DE MAYER-BENNET. (A) HISTOARCHITECTURE NORMALE DES FIBRES MUSCULAIRES (FM) OBSERVEE DANS DES CONDITIONS NORMALES (24H), GROSSISSEMENT 40X. (B) SECTION D'UN FAISCEAU MUSCULAIRE MONTRANT UNE INFILTRATION HEMOCYTAIRE EXTENSIVE (I) AVEC LEGERE NECROSE MUSCULAIRE (N) DANS LES CONDITIONS DE TRAITEMENT (CL ₅₀ ^{24h}), GROSSISSEMENT 40X. (C) SECTION D'UN FAISCEAU MUSCULAIRE MONTRANT UNE VACUOLISATION (FLECHE NOIRE), (DFM) : DEGENERESCENCE DE LA FIBRE MUSCULAIRE INDUISANT UNE ATROPHIE, (DM) : DIVISION DU MUSCLE DANS LES CONDITIONS DE TRAITEMENT (CL ₅₀ ^{96h}), GROSSISSEMENT 40X. (D) HISTOARCHITECTURE NORMALE DES FIBRES MUSCULAIRES (FM) OBSERVEE DANS LES CONDITIONS NORMALES (96H), GROSSISSEMENT 40X. (E) ET (F) CAPACITE D'AUTOREPARATION : REGENERATION DES FIBRES MUSCULAIRES (FM) OBSERVEE EN PHASE DE RECUPERATION (CL ₅₀ ^{24,96h}).....	46
FIGURE 26. SECTION HISTOLOGIQUE DES TISSUS BRANCHIAUX DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> COLORES A L'HEMATOXYLINE ET A L'EOSINE DE MAYER-BENNET. (A) A : ÉPITHELIUM, B : COUCHE CUTICULAIRE DE L'HEPATOPANCREAS DANS DES CONDITIONS NORMALES (24H), GROSSISSEMENT 10X. (B) ET (C) SECTION HISTOLOGIQUE DES TISSUS BRANCHIAUX DANS LES CONDITIONS DE TRAITEMENT (CL ₅₀ ^{24,96h}), MONTRANT UN SOULEVEMENT EPITHELIAL DES LAMELLES (FLECHE NOIRE) ET UNE FUSION LAMELLAIRE (ETOILE) AVEC UN ŒDEME (ED) ET UNE LEGERE NECROSE (N) RESPECTIVEMENT, GROSSISSEMENT 40X. (D) ET (E) SECTION HISTOLOGIQUE DES TISSUS BRANCHIAUX DANS DES CONDITIONS NORMALES (96H) ET DANS LA PHASE DE RECUPERATION RESPECTIVEMENT, REPRESENTANT UNE AUTOREPARATION PEU REMARQUABLE, GROSSISSEMENT X40. (F) SECTION HISTOLOGIQUE DES TISSUS BRANCHIAUX DANS LA PHASE DE RECUPERATION (CL ₅₀ ^{96h}) MONTRANT UNE AUTOREPARATION PARTIELLE DES BRANCHIES, GROSSISSEMENT X40.	47
FIGURE 27. SECTION HISTOLOGIQUE DE L'HEPATOPANCREAS DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> COLOREES AVEC L'HEMATOXYLINE ET L'EOSINE DE MAYER-BENNET. (A) A : LUMIERE, B : LIMITE DE LA MEMBRANE BASALE DU TUBULE HEPATIQUE, C : CELLULES SECRETOIRES DE L'HEPATOPANCREAS DANS LES CONDITIONS NORMALES (24H), GROSSISSEMENT 10X. (B) SECTION HISTOLOGIQUE DE L'HEPATOPANCREAS DANS LES CONDITIONS DE TRAITEMENT (CL ₅₀ ^{24h}), GROSSISSEMENT 40X, SANS CHANGEMENT OBSERVE. (C) SECTION HISTOLOGIQUE DE L'HEPATOPANCREAS DANS LES CONDITIONS DE TRAITEMENT (CL ₅₀ ^{96h}), MONTRANT DE L'INFLAMMATION AVEC UNE INFILTRATION HEMOCYTAIRE ET UNE LEGERE VASCULARISATION (V), GROSSISSEMENT 40X. (D, E, F) SECTION HISTOLOGIQUE DE L'HEPATOPANCREAS DANS LES CONDITIONS NORMALES ET EN PHASE DE RECUPERATION MONTRANT UNE CAPACITE D'AUTOREPARATION EN PHASE DE RECUPERATION (CL ₅₀ ^{24,96h}), GROSSISSEMENT 40X.	48

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : NOUVELLE CLASSIFICATION TAXONOMIQUE SELON LE REGISTRE MONDIAL DES ESPECES MARINE OU WORLD REGISTER OF MARINE SPECIES (WORMS 2021) MODIFIEE PAR DE GRAVE SAMMY.	8
TABLEAU 2 : CHANGEMENTS MORPHOLOGIQUES DES UROPODES DE CREVETTES AU COURS DES STADES DE MUE SOUS UN MICROSCOPE OPTIQUE (GROSSISSEMENT DE 400X) (GAO ET AL., 2015).	14
TABLEAU 3 : PROPRIETES CHIMIQUES ET PHYSIQUES DU GLYPHOSATE.	19
TABLEAU 4 : ÉVALUATION DE LA CONCENTRATION PROTEIQUE ET ELABORATION DE LA COURBE D'ETALONNAGE.	24
TABLEAUX 5 : TOXICITE DU GLYPHOSATE (MG/L) A L'EGARD DES ADULTES <i>P. ADSPERSUS</i> APRES EXPOSITION: MORTALITE OBSERVEE (%) ($M \pm SD$; $n = 3$ REPETITIONS COMPORTANT CHACUNE 15 INDIVIDUS) (A) (24H), (B) (48H), (C) (72H), D (96H).	31
TABLEAUX 6 : TOXICITE DU GLYPHOSATE (MG/L) A L'EGARD DES ADULTES <i>P. ADSPERSUS</i> : TRANSFORMATION ANGULAIRE ($M \pm SD$; $n = 3$ REPETITIONS COMPORTANT CHACUNE 15 INDIVIDUS) (E) (24H), (F) (48H), (G) (72H), (H) (96H).	32
TABLEAUX 7 : TOXICITE DU GLYPHOSATE (MG/L) A L'EGARD DE <i>P. ADSPERSUS</i> : ANALYSE DE LA VARIANCE A UN CRITERE DE CLASSIFICATION ($M \pm SD$; $n = 3$ REPETITIONS COMPORTANT CHACUNE 15 INDIVIDUS) (I) (24H), (J) (48H), (K) (72H), (L) (96H).	33
TABLEAU 8 : PARAMETRES DE LETALITE DU GLYPHOSATE CHEZ LES CREVETTES ADULTES <i>P. ADSPERSUS</i> APRES 24, 48, 72 ET 96 HEURES. LES DONNEES ONT ETE EXPRIMEES EN TERMES DE CONCENTRATION LETALE (CL %) ACCOMPAGNEES DES LIMITES FIDUCIAIRES CORRESPONDANTES A 95 % (FL [95 %]), DU COEFFICIENT DE DETERMINATION (R^2) ET DE LA PENTE DE HILL ($n = 5$ REPETITIONS, CHACUNE CONTENANT 15 INDIVIDUS).	34
TABLEAU 9 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE L'ACETYLCHOLINESTERASE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE TRAITEMENT.	37
TABLEAU 10 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE L'ACETYLCHOLINESTERASE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE RECUPERATION.	38
TABLEAU 11 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE LA GLUTATHION S TRANSFERASE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE TRAITEMENT.	39
TABLEAU 12 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE LA GLUTATHION S-TRANSFERASE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE RECUPERATION.	40
TABLEAU 13 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE LA MALONLANDIALDHEYDE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE TRAITEMENT.	41
TABLEAU 14 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR L'ACTIVITE DE LA MALONDIALDHEYDE DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE RECUPERATION.	42
TABLEAU 15 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR LA TENEUR EN LIPIDES DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE TRAITEMENT.	43
TABLEAU 16 : ANALYSE DE LA VARIANCE A DEUX CRITERES DE CLASSIFICATION (TEMPS, TRAITEMENT) SUR LA TENEUR EN LIPIDES DES CREVETTES <i>P. ADSPERSUS</i> DURANT LA PHASE DE RECUPERATION.	43
TABLEAU 17 : CLASSIFICATION DES EFFETS DES ANIMAUX EXPOSES AUX PRODUITS CHIMIQUES (SHEFALI ET AL., 2021)	51
TABLEAU 18 : EFFETS DU GLYPHOSATE (EN TANT QU'INGREDIENT ACTIF) ET DE SES FORMULATIONS COMMERCIALES (HBG) SUR D'AUTRES INVERTEBRES MARINS (CRUSTACES)	52

INTRODUCTION



1 INTRODUCTION

Actuellement, la population mondiale excède les 7 milliards d'individus, avec des projections suggérant qu'elle dépassera les 8 milliards dans un avenir proche, suivie d'une croissance annuelle continue (Bongaarts, 2019). Cette expansion démographique effrénée coïncide avec une anticipation d'accroissement des activités anthropogéniques engendrant des résidus indésirables. Ces pratiques humaines peuvent induire une élévation de la pollution et une altération subséquente de la qualité des ressources hydriques, représentant un défi de premier ordre à l'échelle mondiale (Sidabutar et al., 2017).

Étant donné que les écosystèmes aquatiques sont perpétuellement menacés par la pollution (Sumampouw et al., 2014). Ces sources de contamination émanent des activités humaines telles que l'agriculture, l'industrie, l'exploitation minière et les usages domestiques (Freitas et al., 2012 ; Langston et al., 2010), lesquelles persistent souvent même après traitement, dépassant fréquemment les normes de qualité établies (Kadim et al., 2013). La complexité des polluants le long du bassin versant semble transformer les cours d'eau en gigantesques dépotoirs et exerce une influence sur la qualité de l'eau et sur la biodiversité aquatique (Islam et al., 2015 ; Kadim & Risjani, 2022). Ainsi, la pollution des milieux aquatiques résulte principalement des xénobiotiques, tels que les engrais, les pesticides, les plastiques et les métaux lourds (Purba et al., 2019). En conséquence, cela compromet la survie des espèces aquatiques et peut conduire à des déséquilibres écologiques dans les écosystèmes aquatiques (Matozzo et al., 2018).

Les pesticides, spécifiquement, lorsqu'ils sont appliqués au sol, touchent environ 10% des zones non ciblées, en particulier en périphérie des champs (De Souza et al., 2020 ; Schulz, 2004). Leur présence dans les écosystèmes entraîne des effets néfastes variables selon la concentration du produit, de la quantité épandue et la durée d'exposition (Margni et al., 2002 ; Rice et al., 2007). De plus, les pesticides sont considérés comme extrêmement toxiques car ils persistent dans l'environnement et s'accumulent dans les organismes (Araújo et al., 1999 ; Glynn et al., 1995 ; Porter et al., 2018).

Diverses catégories de pesticides sont disponibles, et leur classification dépend de plusieurs facteurs, notamment leur composition chimique (Gevao et al., 2000 ; Rawtani et al., 2018): organiques (tels que les organochlorés et les organophosphorés) et inorganiques (tels que les fongicides). Les pesticides organiques sont principalement composés de carbone, tandis que les pesticides inorganiques sont composés de substances telles que le soufre, le sulfate, le cuivre, etc...



Introduction

Généralement, les pesticides organiques sont plus complexes et moins solubles que les pesticides d'origine inorganique, classés selon leur cible spécifique (telle que les organismes nuisibles ou les maladies ciblées) (Kim et al., 2017). Ils peuvent être catégorisés en tant que: bactéricides, insecticides, fongicides, herbicides, miticides, nématocides, rodenticides, algicides, piscicides, avicides, molluscicides et virucides, utilisés respectivement pour combattre les bactéries, les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, les acariens, les nématodes, les rongeurs, les algues, les poissons, les oiseaux, les escargots et les virus (Rohani, 2023).

En mettant l'accent sur le groupe des herbicides, produits chimiques artificiels utilisés pour contrôler et éliminer les organismes indésirables tels que les mauvaises herbes (De Souza et al., 2020). Ils agissent de diverses manières pour entraver la photosynthèse et la synthèse des pigments chez ces organismes, perturbant ainsi la production d'acides aminés et de lipides, tout en stoppant la division cellulaire et la croissance des plantes (Herrera-Herrera et al., 2016). L'usage intensif et parfois inadéquat des herbicides a engendré une résistance aux produits chimiques, nécessitant ainsi la création constante de nouveaux herbicides, potentiellement plus nocifs (Ghanizadeh & Harrington, 2017 ; Moss et al., 2019).

Le glyphosate, sujet d'étude de cette thématique, est désigné par le nom commun ISO de la N-(phosphonométhyl) glycine. Cet herbicide de type aminophosphonate à large spectre, post-émergence et non sélectif (Karasali et al., 2019), sa première description remonte à 1971 par un scientifique de chez « Monsanto » (Fabrello et al., 2020), puis a été publié sous forme commerciale quatre ans plus tard (Annett et al., 2014 ; Thanomsit et al., 2020). Selon la nomenclature de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UICPA), le glyphosate est enregistré sous le numéro CAS 107-83-6 et sa formule chimique est $C_3H_8NO_5P$. Il contient trois groupes fonctionnels : les acides carboxyliques, les acides phosphoniques et les amines.

Les herbicides à base de glyphosate (HBG) les plus répandues sur le marché sont composées d'un sel d'isopropylamine, d'un tensioactif (généralement de la tallowamine polyéthoxylée) et d'eau (Saunders & Pezeshki, 2015). Il représente l'ingrédient actif de plus de 750 herbicides différents, avec une application annuelle allant de 0,6 million de tonnes à 1,2 million de tonnes dans le monde (Rodriguez-Gil et al., 2017). Ce phytocide, appartenant aux organophosphorés largement utilisés et commercialisés (Song et al., 2020), qui ont causé une pollution significative de l'eau (Wang et al., 2024). Lorsqu'ils sont appliqués sous forme de pulvérisation liquide, seulement environ 20 % des produits chimiques se fixent aux cultures, avec moins de 4 % en contact direct avec les ravageurs visés. Entre 70 % et 80 % de ces substances retombent



Introduction

sur le sol ou demeurent en suspension dans l'air, contaminant les cours d'eau, lacs et océans via les précipitations ou l'irrigation (Nasrabadi et al., 2011).

L'action des herbicides restreint le développement des plantes en entravant l'activité de la 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, une enzyme clé dans la biosynthèse des acides aminés aromatiques, tels que la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane (Piešova, 2005). Cependant, leurs applications à long terme ont des effets drastiques sur les macro-invertébrés et les micro-organismes dans les milieux aquatiques (Gull et al., 2018). Cela est principalement dû au fait que le glyphosate n'est pas métabolisé dans la plante et que les systèmes racinaires distribuent cet herbicide dans les couches profondes du sol où l'activité des micro-organismes est relativement faible (Gill et al., 2017). Par conséquent, sa persistance et son transport dans le sol dépendent de sa composition, des conditions climatiques et de l'activité microbienne (Mirella da Silva, 2018). Ces constatations suscitent des inquiétudes quant à l'utilisation généralisée du glyphosate pour la gestion des mauvaises herbes. Les risques associés aux herbicides comprennent non seulement le glyphosate lui-même, mais aussi son principal métabolite, l'AMPA (acide Aminométhylphosphonique), ainsi que les surfactants, potentiellement plus toxiques.

Bien que la majorité des (HBG) ne soient pas utilisés dans les milieux aquatiques, ils peuvent accéder à ces écosystèmes par de multiples voies telles que le ruissellement, le lessivage et la surpulvérisation directe (Gonçalves et al., 2019 ; Telahigue et al., 2022). Malgré cela, l'évaluation de la qualité de l'eau, des risques environnementaux et l'établissement de normes reposent souvent sur des études portant sur la toxicité de substances isolées, ce qui ne reflète pas pleinement le comportement des polluants dans les écosystèmes en raison des interactions potentielles entre les contaminants eux-mêmes (Celandier, 2011). Ainsi, il existe un nombre considérable de "Cocktails" chimiques potentiels dans l'environnement, mais les données nécessaires pour évaluer leur toxicité sont souvent soit absentes, soit de qualité insuffisante (Teichert et al., 2021).

En Algérie, la régulation du glyphosate relève principalement du ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Les produits phytosanitaires, dont le glyphosate, sont soumis à des règles spécifiques concernant leur importation, leur utilisation et leur supervision. La loi n°87-17 du 1er août 1987 et le décret exécutif n° 95-405 du 2 décembre 1995 détaillent les mesures de contrôle des pesticides utilisés en agriculture (Mebdoua, 2017). L'Algérie, pays producteur et exportateur de fertilisants et de produits phytosanitaires, le glyphosate est vendu sous différentes appellations en Algérie, telles que le «Rondo®», le «Glyfos®», ou encore le



Introduction

«Roundup®». Malheureusement, de nombreux agriculteurs Algériens, faute de sensibilisation adéquate, ne sont pas conscients des dangers liés à une utilisation excessive et non contrôlée des pesticides. Ils pensent souvent que leur usage intensif augmente les rendements et, par conséquent, les bénéfices (Khaled-Khodja et al., 2016). La faiblesse de la réglementation locale et des contrôles des résidus explique qu'à la différence des autres pays développés, il y a moins de restrictions sur l'utilisation des pesticides (Boukhalfa, 2016 ; Nafissa et al., 2020). Des préoccupations sérieuses quant aux risques pour la santé, liés à l'exposition des agriculteurs aux pesticides lors de leur manipulation et de leur application, ainsi qu'à leur présence dans les champs traités, les aliments et l'eau potable, ont été exprimées (Cooper & Dobson, 2007). Ces activités ont été associées à divers cas d'empoisonnement accidentel (Ecobichon, 2001).

Par ailleurs, les crustacés, membres du phylum Arthropoda, jouant un rôle crucial au sein des écosystèmes aquatiques, tant dans les communautés planctoniques que benthiques (Camacho-Jiménez et al., 2023). Ils sont importants sur le plan écologique car ils jouent un rôle considérable dans le processus écologique des écosystèmes aquatiques, agissant à différents niveaux trophiques comme herbivores, détritivores, prédateurs et proies. Ils sont importants sur le plan économique car les crevettes constituent des sources importantes de nourriture pour les poissons carnivores de la région. Les crustacés décapodes constituent un groupe diversifié qui exploite différents types d'habitats (Salas-Moya., et al 2021). Au fil des dernières années, les crevettes Palaemonidae ont émergé en tant qu'espèces sentinelles cruciales pour la biosurveillance des milieux marins (Erraud et al., 2019 ; Key et al., 2006). Leur sélection repose sur des facteurs tels que leur facilité de maintien et d'élevage, ainsi que la profonde compréhension de leurs cycles de vie et de reproduction. Berthet (2015) identifie plusieurs critères déterminants pour considérer une espèce comme sentinelle déployable en conditions naturelles. Cela inclut la sédentarité de l'espèce par rapport au site d'étude, sa facilité d'identification, une taille de population adéquate pour la collecte, une distribution de population étendue pour permettre la comparaison inter-sites, une longévité suffisamment élevée pour le suivi à la fois aiguë et chronique des contaminations, des relations doses-effets établies par des études d'écotoxicité, ainsi que des connaissances approfondies sur la biologie et l'écologie de l'espèce. Des tests d'écotoxicité réglementés, tant en exposition aiguë (ISO 6341, OCDE 202) que chronique (ISO 10706, OCDE 211), ont été spécifiquement développés pour ces espèces. En suivant ces critères, cette recherche doctorale vise à évaluer la pertinence des Palaemonidae en tant qu'espèces sentinelles, en mettant l'accent spécifique sur la crevette bouquet *Palaemon adspersus*.



Introduction

L'utilisation de biomarqueurs biochimiques demeure une méthode précieuse pour évaluer les effets toxiques des xénobiotiques dans des conditions de laboratoire contrôlées, offrant ainsi des indications essentielles sur leur toxicité (Santana et al., 2022). Certains biomarqueurs sont spécifiques des réponses neurotoxiques, tel que l'inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE), établie comme un indicateur fiable de l'exposition aux (OP) et largement utilisée dans la surveillance environnementale depuis plusieurs décennies (Van der Oost et al., 2003). Ces derniers, agissent en tant que neurotoxines en perturbant la signalisation nerveuse par l'inhibition de l'AChE, enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine, un neurotransmetteur clé (Bocquené & Galgani, 1998 ; Sturve et al., 2021). Les glutathion S-transférases (GST), associées au stress oxydatif, font partie d'une famille d'enzymes de détoxification de phase II qui jouent un rôle essentiel dans divers processus de détoxification, notamment la conjugaison et la défense antioxydante (Sturve et al., 2021). Elle se combine avec les contaminants et génère des composés qui sont plus facilement excrétés (Ribeiro et al., 2022) ou le malondialdéhyde (MDA), un produit de la peroxydation des lipides, a été largement utilisé comme biomarqueur des dommages causés par les radicaux libres dans les molécules lipidiques. La peroxydation des lipides est connue pour provoquer des lésions cellulaires par l'inactivation des enzymes et des récepteurs membranaires, la dépolymérisation des polysaccharides, la réticulation et la fragmentation des protéines (Oruç & Usta, 2007). La superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPx), le glutathion (GSH) et la glutathion réductase (GR) sont des biomarqueurs du stress oxydatif (Li et al., 2020), tandis que les métallothionéines (MT) sont largement utilisées comme biomarqueurs de la contamination métallique en liant et en éliminant les métaux toxiques (Llerena et al., 2021).

L'analyse intégrée des biomarqueurs peut aider à surmonter les variations possibles des biomarqueurs et à évaluer les sites pollués (Dos Santos & Martinez, 2014). De nombreuses études scientifiques ont confirmé que les crevettes sont souvent exposées à des xénobiotiques présents dans l'eau et les sédiments, les rendant ainsi plus sensibles à la dégradation de la qualité de l'eau, notamment lorsqu'elles sont directement exposées aux pesticides (Hong et al., 2018). Par conséquent, les crevettes jouent un rôle crucial en tant qu'indicateurs de la santé des estuaires en raison de leur répartition mondiale et de leur réactivité aux contaminants (Ameur et al., 2022). Le genre *Palaemonetes* (Crustacea : Decapoda : Caridea) est un bon modèle pour évaluer les effets de la pollution sur la santé environnementale (Chiodi Boudet et al., 2015 ; Rollin, 2021). Les aspects physiologiques et toxicologiques des espèces aquatiques non ciblées doivent être clarifiés et les effets des xénobiotiques sur ces organismes doivent être déterminés.



Introduction

Les travaux de recherche de cette thèse s'inscrivent dans le cadre du projet de recherche du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée P.R.F.U (2019-2022) (D01N01UN230120190008) « Étude de quelques espèces aquatiques : aspects bioécologique, morphométrique et biochimique en rapport avec les facteurs environnementaux ». En effet, l'étude consiste à évaluer l'impact du glyphosate, un herbicide, intensivement utilisé en Algérie. Ces recherches sont en continuité avec les travaux antérieurs effectués sur la crevette *Palaemon adspersus* (Rathke) 1837 (Decapoda, Palaemonidae) (Berghiche et al., 2018 ; Benradia et al., 2016 ; Ameer et al., 2022). Ainsi, les principaux objectifs de l'étude sont les suivants :

- Estimer les concentrations sublétales (CL_{10} , CL_{25}) et létales (CL_{50} , CL_{90}) du glyphosate, formulation commerciale Rondo[®], contre les crevettes après 24, 48, 72 et 96 heures.
- Analyser les réponses biochimiques de certains biomarqueurs (AChE, GST, MDA et les lipides) liés au stress environnemental sur la toxicité du glyphosate pendant les phases de traitement et de récupération et réaliser le test de corrélation de Pearson pour évaluer la corrélation entre la malondialdéhyde et la teneur en lipide.
- Effectuer une étude histologique portant sur le tissu musculaire, les branchies et l'hépatopancréas afin d'évaluer les effets de l'exposition au glyphosate pendant les phases de traitement et de récupération.

MATÉRIEL ET MÉTHODES



2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Présentation de l'espèce : *Palaemon adpersus*

P. adpersus Rathke (1837) (Figure 1) est une espèce euryhaline à large distribution méditerranéo-boréale. Elle habite et colonise les habitats côtiers et les zones végétalisées, étant une espèce omnivore (Grabowski, 2006). La taille totale de l'organisme atteint environ 80 mm, exhibant une transparence caractéristique et une uniformité marquée, agrémentée de bandes jaunes au niveau des articulations. De plus, des chromatophores sombres sont observés sur la moitié ventrale du rostre. Ces traits distinctifs permettent une identification aisée de cette crevette Palémonidés par rapport aux autres espèces. Sa position systématique est représentée dans le (Tableau 1).

Tableau 1 : Nouvelle Classification Taxonomique selon le Registre Mondial des Espèces Marine ou World Register of Marine Species (WoRMS 2021) modifiée par De Grave Sammy.

	Termes scientifiques	Terme en français	Descriptif
Règne	Animalia	Animal	Un animal est un être vivant organisé, doté de sens et de mouvements, mais dépourvu de parole.
Phylum	Arthropoda	Arthropodes	Animaux Invertébrés au corps segmenté, articulé, pourvu d'appendices articulés, et couvert d'une cuticule rigide constituant leur exosquelette.
Sous-Phylum	Crustacea	Crustacés	Arthropodes à exosquelette chitineux, souvent imprégné de carbonate de calcium, ayant deux paires d'antennes.
Classe	Malacostraca	Malacostracés	Huit segments thoraciques, six segments abdominaux. Appendices présents sur le thorax et l'abdomen.
Sous-Classe	Eumalacostraca	Eumalacostracés	Présence d'une carapace recouvrant la tête et une partie ou la totalité de du thorax
Super-Ordre	Eucarida	Eucarides	Présence d'un rostre.



Matériel & méthodes

Ordre	Decapoda	Décapodes	La plupart marins et benthiques. Yeux composés pédonculés. Les segments thoraciques sont fusionnés avec la tête pour former le céphalothorax. La première paire de péréiopodes est transformée en pinces. Cinq paires d'appendices locomoteurs (pinces comprises).
Sous-Ordre	Caridea	Caridés	Les caridés sont caractérisés par des pléopodes natatoire. C'est à ce groupe qu'appartiennent une grande partie des espèces de crevettes.
Famille	Palaemonoidea	Palémonidés	Pinces de la seconde paire des pattes beaucoup plus fortes que la première ; carpopodite de la seconde paire des pattes non divisé en articles ; rostre généralement moyennement long avec dents sur le bord dorsal et ventral. Espèces marines littorales ou d'eaux saumâtres.
Genre	Palaemon	Palaemon	Espèce omnivore, peut atteindre une grande taille et présente une coloration homogène.
Espèce	<i>Palaemon adspersus</i> (Rathke, 1837)	<i>Palaemon adspersus</i>	Se caractérise par un rostre denticulé, bord dorsal avec cinq à huit dents.

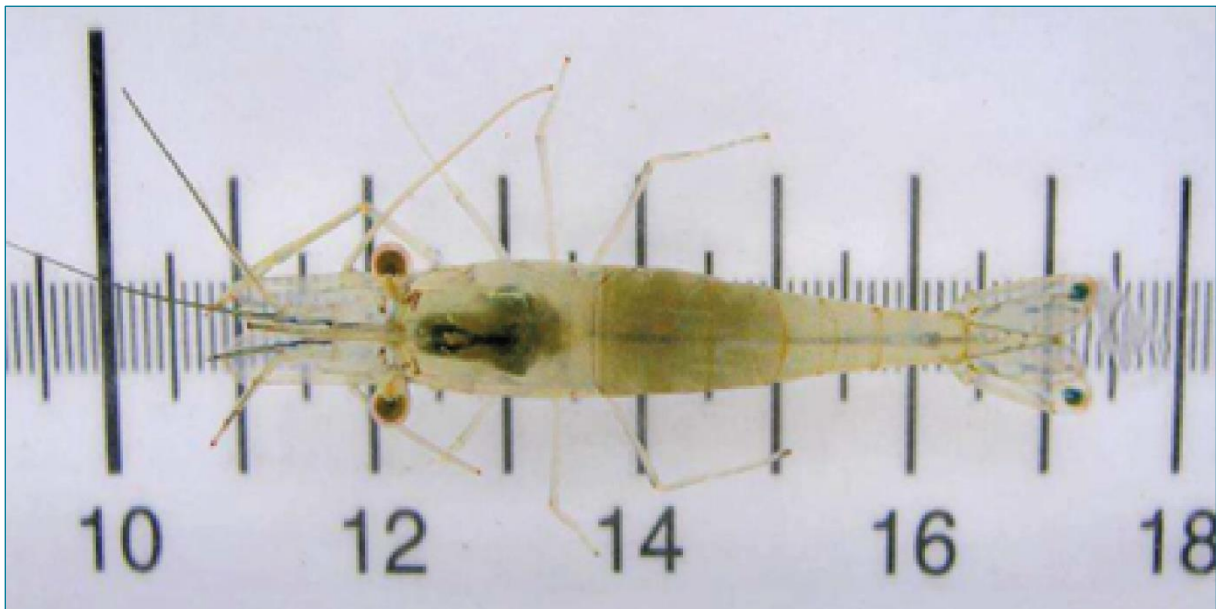


Figure 1. Photographie de la crevette *P. adspersus* (Rathke, 1837) (photo personnelle).

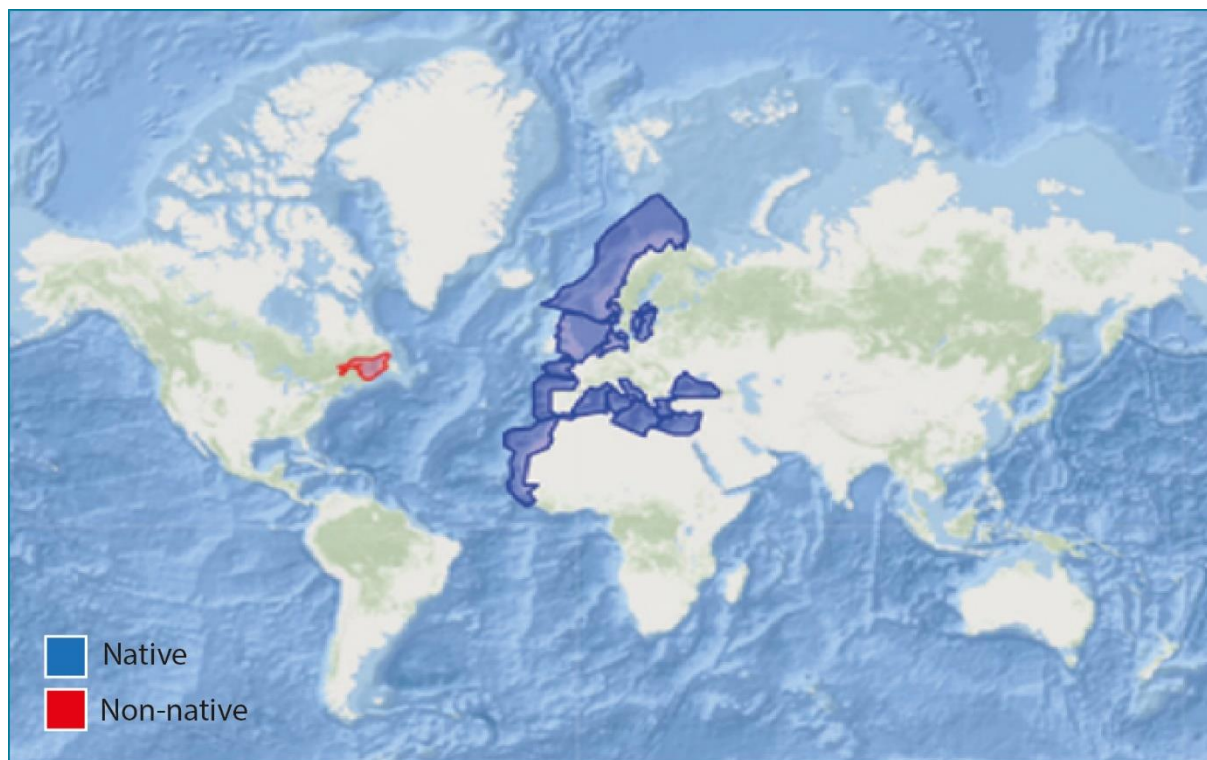


Figure 2. Répartition géographique de *P. adpersus* à travers le monde basé sur l'inventaire national du patrimoine naturel (INPN) (<https://inpn.mnhn.fr/carte>).

2.1.1 Morphologie et anatomie d'une crevette

Les crevettes représentent des Crustacés Décapodes, caractérisés par la présence abondante d'appendices articulés, d'un exosquelette segmenté en chitine, de deux paires d'antennes et d'yeux composés. Leur anatomie comprend un céphalothorax fusionnant la tête et le thorax, tandis que l'abdomen se compose de six segments distincts. Au fil de l'évolution, ces segments et certaines parties corporelles ont subi des adaptations spécialisées. Les appendices, initialement impliqués dans des fonctions telles que la respiration, la nage, la reptation et l'alimentation, ont subi des transformations significatives, évoluant vers des structures telles que des mâchoires, des organes reproducteurs, ou ont même régressé ou disparu, démontrant l'adaptabilité remarquable de ces créatures au cours du temps.

La crevette est revêtue d'une "carapace" ou exosquelette, qui s'étend de la tête à la majeure partie, voire à la totalité, de son corps. La tête présente deux paires d'organes sensoriels, à savoir les antennes et les mandibules, suivies de deux paires de pièces buccales, appelées maxilles. De plus, elle est pourvue d'une paire de yeux composés et d'un céphalothorax portant des appendices dédiés à la locomotion et à la respiration. Ces appendices, désignés sous le terme de branchies, sont soigneusement préservés par la carapace. Des pinces se forment également



à partir d'autres appendices, tandis que ceux situés sur l'abdomen sont généralement de taille réduite, destinés à la locomotion ou à la respiration. La partie caudale, connue sous le nom de telson, peut parfois être utilisée pour la nage (Figure 3).

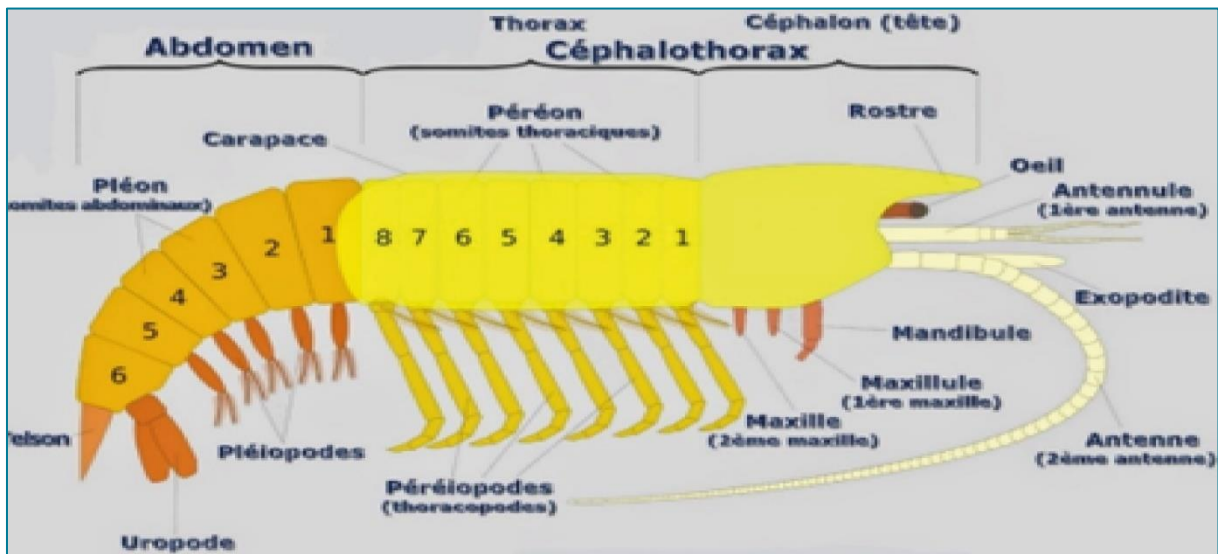


Figure 3. Anatomie externe d'une crevette. (<https://www.futura-sciences.com>).

La cavité principale du corps s'inscrit dans le cadre du système circulatoire, où le sang est propulsé par un cœur dorsal. L'intestin, linéaire dans sa configuration, revêt souvent la structure d'un moulin gastrique, similaire à un gésier dédié à la trituration des aliments. De plus, il est pourvu d'une paire de glandes digestives responsable de la sécrétion de sucs digestifs et de l'absorption des nutriments. Des organes analogues aux reins des Vertébrés sont localisés à proximité des antennes. Le système nerveux se compose de ganglions cérébraux, positionnés à proximité des organes sensoriels, ainsi que d'une chaîne ganglionnaire et de nerfs situés sous l'intestin dans la partie ventrale (Figure 4).

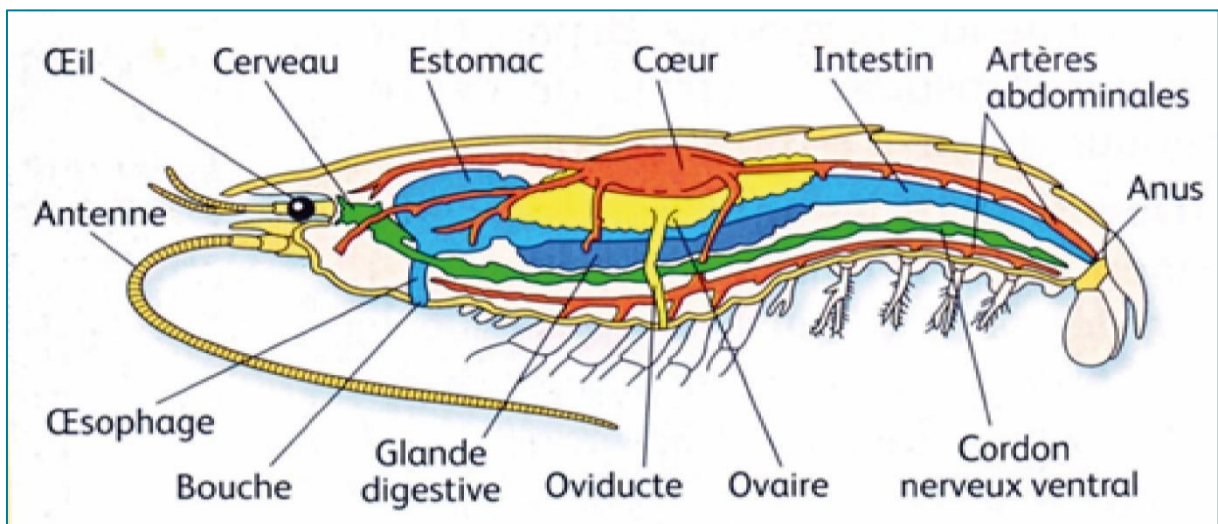


Figure 4. Anatomie interne d'une crevette. (<https://forum.mikroskopia.com>).

2.1.2 Cycle de vie

P. adpersus, soumis aux fluctuations hydrologiques et aux impératifs de reproduction, entreprend des migrations saisonnières. Durant la période de crue, allant de décembre à avril, la population prospère dans le bas estuaire, adaptant son habitat en réponse aux conditions environnementales. À l'amorce de l'étiage, de mai à juin, une transition s'opère vers le haut estuaire, démontrant une capacité d'adaptation face aux variations hydrologiques. Au cours de la période de reproduction, les femelles se dirigent vers l'aval, transportant leurs œufs regroupés entre leurs pléopodes, où ils incubent pendant plusieurs semaines. Les larves émergent directement au stade Zoé1, traversant ensuite cinq à sept stades Zoé, conformément aux travaux de [Fincham & Figueras \(1986\)](#), avant d'atteindre le stade post-larve au vingtième jour, selon les observations de [Fincham & Williamson \(1978\)](#). En été et en automne, les juvéniles issus de ces pontes investissent la zone moyenne de l'estuaire, contribuant ainsi à la dynamique écologique de l'écosystème.

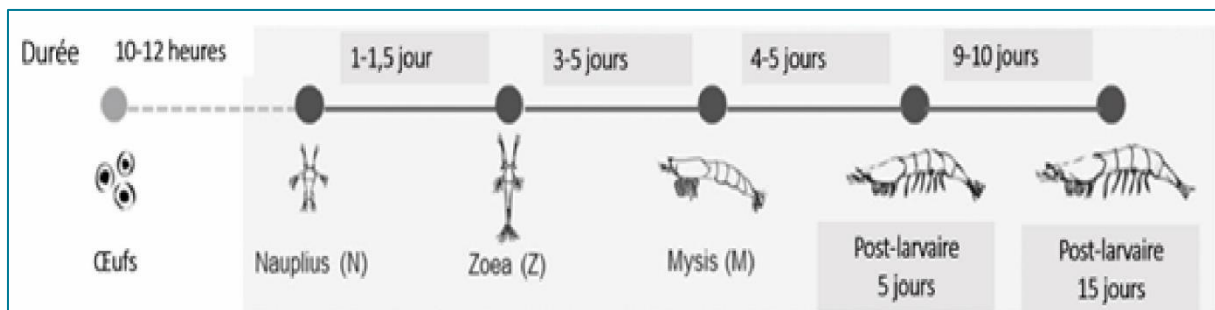


Figure 5. Cycle de vie de *P. adpersus* ([Anghong et al., 2020](#)).

2.1.3 La mue

Les crustacés présentent une caractéristique morphologique importante : la cuticule externe. Cette enveloppe de chitine forme un exosquelette, offrant une protection contre les agressions extérieures. Cependant, la cuticule, bien qu'utile pour la protection, peut entraver le développement de l'organisme, en particulier sa croissance et sa reproduction. Pour surmonter cette contrainte, les individus effectuent régulièrement des mues tout au long de leur vie. Ce processus implique la fragilisation partielle de la cuticule pour permettre à l'organisme de s'extraire et de croître, ainsi que la synthèse d'une nouvelle cuticule adaptée aux nouvelles dimensions. La mue joue un rôle crucial dans la croissance, la métamorphose, la reproduction et le développement des crustacés. Cependant, ce processus complexe est régulé par une multitude de mécanismes biochimiques et moléculaires. Ainsi, la mue chez les crustacés représente un processus vital, nécessitant une quantité importante d'énergie pour être menée à bien ([Rollin, 2021](#)).

Le processus de mue chez les crustacés, détaillé par [Drach \(1939\)](#), comprend trois phases distinctes. Ces phases ont été caractérisées en utilisant les critères établis par [Drach \(1939\)](#) avec des ajustements élaborés par [Erraud et al., \(2018\)](#) :

La postmue, où l'organisme, après avoir abandonné son exosquelette précédent, connaît une phase de croissance, suivie de la synthèse et de la rigidification de sa nouvelle cuticule.

L'intermue, une période caractérisée par une stabilité tégumentaire accrue, où l'organisme consolide sa nouvelle carapace.

La prémue, débutant par l'apolyse, soit le détachement des cellules épidermiques de l'ancienne cuticule, et se caractérisant par la dégradation partielle de cette dernière, conduisant à l'exuvie. Pendant cette phase, l'organisme synthétise également sa nouvelle cuticule.

Cette démarche se concentre sur l'examen microscopique des soies situées aux extrémités des uropodes. La mue se déroule en huit stades distincts, comprenant la postmue (stades A et B), l'intermue (stade C) et la prémue (stades D0 à D4). Chaque stade est caractérisé par des changements spécifiques dans la structure et la maturation des soies, avec des étapes telles que l'invagination de la matrice tégumentaire, le décollement de l'épiderme et la cuticularisation des nouvelles soies. Une méthodologie de surveillance non intrusive a été développée pour évaluer en continu le cycle de mue des crevettes, impliquant leur positionnement sur un support en mousse sous une loupe binoculaire pour observer précisément les uropodes. Chaque détermination, réalisée en quelques secondes, permettait de retourner rapidement les crevettes à leur milieu. Après chaque évaluation, la crevette était immédiatement réintroduite dans son milieu d'exposition ([Tableau 2](#)).

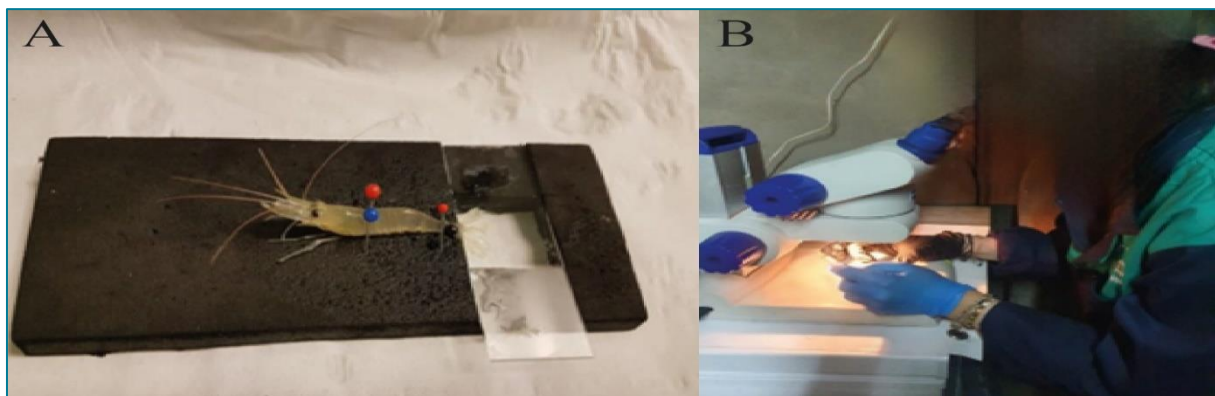
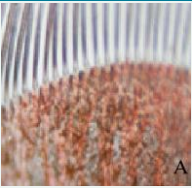
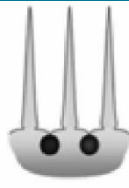
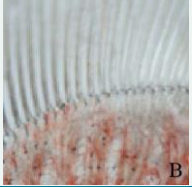





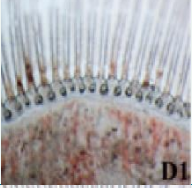

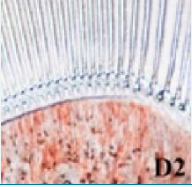







Figure 6. Dispositif non invasif pour la détermination des stades de mue chez la crevette *P. adspersus* (A), utilisant une loupe binoculaire (B) (photo personnelle).

Tableau 2 : Changements morphologiques des uropodes de crevettes au cours des stades de mue sous un microscope optique (grossissement de 400x) (Gao et al., 2015).

	Stade A Post-mue		Les soies sont douces et délicates, absence de cônes setaux.
	Stade B		Présence de jeunes cônes setaux.
	Stade C Intermue		Les cônes setaux matures et épiderme complètement étendu.
	Stade D D0 Pré-mue		Une marge nette de tissu épidermique à la base des cônes setaux.
	D1		Une zone claire et étroite entre les cônes setaux et l'épiderme.
	D2		Une zone claire plus large avec une bordure ondulée de l'épiderme
	D3		Une zone claire plus large, une bordure fortement ondulée de l'épiderme et une fine couche blanche au bord de l'épiderme.
	D4		Une zone claire nettement plus large, des bords dentelés de l'épiderme, une couche blanche réfléchissante au bord de l'épiderme et une bande parallèle à l'épiderme.



2.2 Présentation du site d'échantillonnage

La lagune El-Mallah, située au sein du complexe des zones humides du Parc National d'El-Kala (PNEK) dans le Nord-Est de l'Algérie, partage son statut avec les lacs Oubéïra et Tonga, faisant partie d'un parc institué en 1983, reconnu en tant que réserve de la biosphère depuis 1990, et classé en catégorie II (parc national) selon l'UICN. En tant que seule lagune nationale, elle occupe la 5^{ème} place parmi les 14 lagunes Nord-Africaines. Sise à l'extrême Nord-Est de la côte algérienne, elle borde la mer Méditerranée entre le cap Rosa et le cap Roux, s'étendant sur 4 km du Nord au Sud et sur 2 km d'Est en Ouest, couvrant 865 hectares. Cette lagune communique avec la mer par un chenal de 870 m de longueur et 15 m de largeur, recevant les eaux douces des oueds Mellah, Bouaroug, et R'kibet. Géographiquement, ses coordonnées centrales sont de 36° 53' 565 Nord - 8° 19' 560 Est, avec une profondeur maximale de 6,40 m. Présentant des variations de température de 1,40 à 30,50°C et une salinité de 15,90 à 37,10 psu, cette étendue d'eau saumâtre est documentée par [Draredja et al., \(2012\)](#). Distinguée par son opulence, la lagune de Mellah héberge 199 espèces de phytoplancton et 47 espèces de zooplancton, avec une représentation prééminente des Crustacés Copépodes. La composante macrofaune benthique totalise 44 espèces, tandis que le recensement des Poissons Téléostéens révèle la présence de 38 espèces, dont 71% sont des migrateurs marins. Ces caractéristiques font de la lagune El-Mallah un écosystème d'importance internationale, conforme à la convention de Ramsar et intégrée à la réserve de biosphère de l'UNESCO du Parc National d'El Kala ([Labbaci et al., 2019](#)).

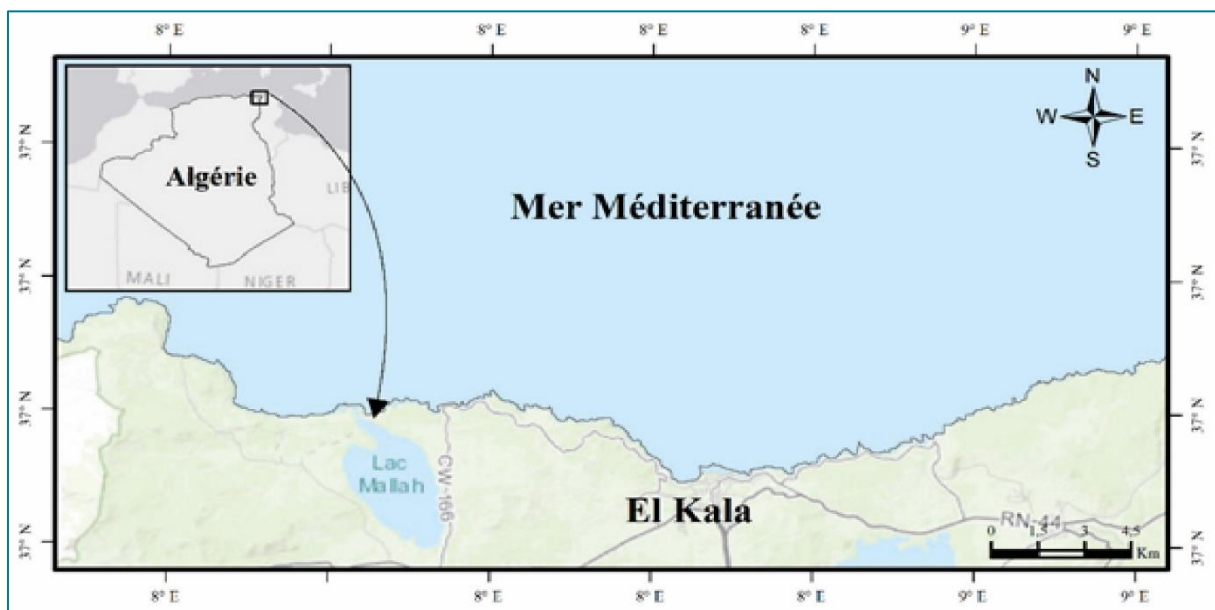


Figure 7. Localisation géographique de la zone d'échantillonnage : la lagune El-Mallah, El-Kala (Algérie Nord-Est) (ArcGIS), (Photo personnelle).



Figure 8. Site d'échantillonnage la lagune El-Mellah (photo personnelle).

2.3 Méthodologie de prélèvement et élevage

Les crevettes sont capturées au moyen d'une technique de dragage utilisant un filet appelé seine. Ce filet présente des mailles régulières de forme rectangulaire, mesurant 4 mm de côté et s'étendant sur une longueur d'environ 8 mètres. La partie supérieure du filet est équipée de flotteurs, assurant sa flottabilité, tandis que la partie inférieure est lestée et plombée pour maintenir une stabilité optimale. Des anneaux sont intégrés au filet, permettant le passage d'un filin de chaque côté, et une poche d'une dimension de 1,60 mètres ajoute à sa structure. L'orientation de la senne est supervisée par deux individus, réglant sa profondeur entre 0,5 et 1 mètre, avant d'être soigneusement traînée pour l'extraction des crevettes. Ces dernières sont déplacées vers un bac en plastique de 25 L contenant de l'eau de mer, avec une aération assurée par une pompe à air (BOYU® D-200) sans fil jusqu'à leur arrivée au laboratoire. Une fois capturées, elles sont transférées dans des aquariums en verre (100×60×80 cm), remplis d'eau de mer avec une salinité de 37 psu, une température maintenue entre 22-25°C, et une photopériode de 12 :12 h lumière/obscurité, pour une durée de 3 à 4 jours. Ces aquariums de 80 litres sont constitués d'une fine couche de sable fin de 4 cm d'épaisseur. L'eau, maintenue propre et continuellement oxygénée, est gérée par des pompes à air (Rena 301 : 2204, 651/mn). La filtration est réalisée à l'aide de filtres à eau ayant un débit de 180 L/h (Rena 225) (Figure 10). Les crevettes, de taille similaire (longueur : 25 mm ; poids : 850 mg), sont nourries quotidiennement avec des moules fraîches dans l'après-midi pendant toute la durée de l'expérience (Figure 9). Un nettoyage quotidien des aquariums est effectué le matin, comprenant l'élimination des excès de nourriture et des coquilles.



Figure 9. Dynamique alimentaire dans l'aquarium : Observation d'une crevette se nourrissant d'une moule (Photo personnelle).



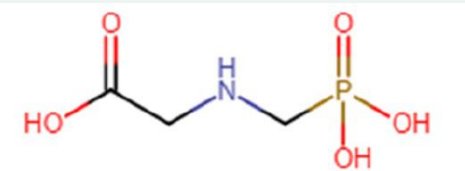


Figure 10. Diverses étapes de la méthodologie de capture de *P. adspersus* (A) Traînage, (B, B') triage, (C, C') transport des crevettes, et (D) système de stabulation et d'élevage en laboratoire (Photo personnelle).



2.4 Présentation et application de l'herbicide

Le glyphosate, aussi connu sous le nom de N-(phosphonométhyl) glycine [CAS 1071-83-6], est un herbicide organophosphoré à large spectre d'action. Après la germination des plantes, il agit de manière non sélective et se répand de manière systématique. Employé dans les secteurs de la sylviculture et de l'horticulture, il vise à éliminer les mauvaises herbes envahissantes. Sa formule moléculaire est (C₃H₈NO₅P) (Matozzo et al, 2020). Il est important de noter que le glyphosate utilisé dans cette recherche a été acheté auprès de fournisseurs spécialisés dans la vente de produits phytosanitaires (Tableau 3). Son mécanisme d'action consiste à inhiber les voies de biosynthèse des acides aminés essentiels, tels que la phénylalanine, le tryptophane et la tyrosine, nécessaires à la croissance des plantes (Masotti et al., 2021 ; Ogunbiyi et al., 2023). Cette inhibition affecte le complexe de l'acide 3-enolpyruvylshikimicvacid-5-phosphate synthase (EPSPS), essentiel à la biosynthèse de ces éléments constitutifs. Les animaux ne sont généralement pas affectés par le glyphosate en raison de différences dans leurs voies métaboliques (Gonçalves et al., 2019). Cependant, les formulations contenant des surfactants, comme le Rondo[®], peuvent être toxiques pour la santé humaine et aquatique, entraînant des préoccupations concernant les dommages à l'ADN, les perturbations hormonales et la cancérogenèse chez diverses espèces. Bien que moins toxique que certains agents tensioactifs commerciaux, les formulations de glyphosate peuvent encore présenter des risques pour l'environnement et la santé humaine (Gonçalves et al., 2019 ; Modesto & Martinez, 2010 ; Zomer et al., 2013).

**Tableau 3** : Propriétés chimiques et physiques du glyphosate.

Caractéristiques	Valeurs	Sources
Nom chimique	N-(phosphonométhyl) glycine	(Naili, 2014)
Formule chimique	C ₃ H ₈ NO ₅ P	(Picqué, 2016)
Structure chimique		
Aspect physique	Cristaux solides blancs et inodores	
Masse molaire	169,1 g/mol	
Densité	1,74 g/ml	
Point de fusion	189,5 °C	(Kennedy, 2017) (Naili, 2014) (Picqué, 2016)
Solubilité dans l'eau à 25 °C	12 g/L	
Solubilité dans les solvants organiques	Insoluble dans la plupart des solvants organiques	
Pression de vapeur (Pa)	1,31. 10 ⁻⁵ à 25 °C	
Stabilité DT ₅₀ eau =	2 à 91 jours	
DT ₅₀ sol =	3 à 174 jours	

2.5 Test de toxicité aiguë

Des tests de toxicité ont été réalisés sur des adultes de *P. adspersus* (15 individus) placés dans des boîtes en plastique contenant un litre d'eau d'élevage avec une formulation commerciale de glyphosate, Rondo® (480 mg/L) (1,75 ; 2 ; 2,25 ; 2,50 ; 2,75 mL), correspondant respectivement à différentes concentrations de glyphosate dans l'eau (0,84 ; 0,96 ; 1,08 ; 1,20 ; 1,32 mg/L) (Figure 11). L'expérience a été réalisée en effectuant cinq répétitions pour chaque concentration, accompagnées d'une série de contrôles simultanés. La mortalité a été surveillée quotidiennement pendant 96 heures, avec des relevés effectués à la même heure tout au long du bioessai (24h), et les individus décédés ont été immédiatement retirés des bacs. L'évaluation a été réalisée en considérant la mortalité cumulée. Le pourcentage de mortalité a été corrigé

(Abbott, 1925) et soumis à une transformation angulaire selon Hendry (1909). Les concentrations sublétales (CL₁₀ et CL₂₅) et létales (CL₅₀ et CL₉₀) ont été déterminées avec leurs limites de confiance à 95 % correspondantes (95 %CL). Les pourcentages sont convertis en leurs probits (Fisher & Yates, 1957). Les calculs sont effectués à l'aide du logiciel GraphPad prism version 8 (GraphPad software, La Jolla California, U.S.A.).

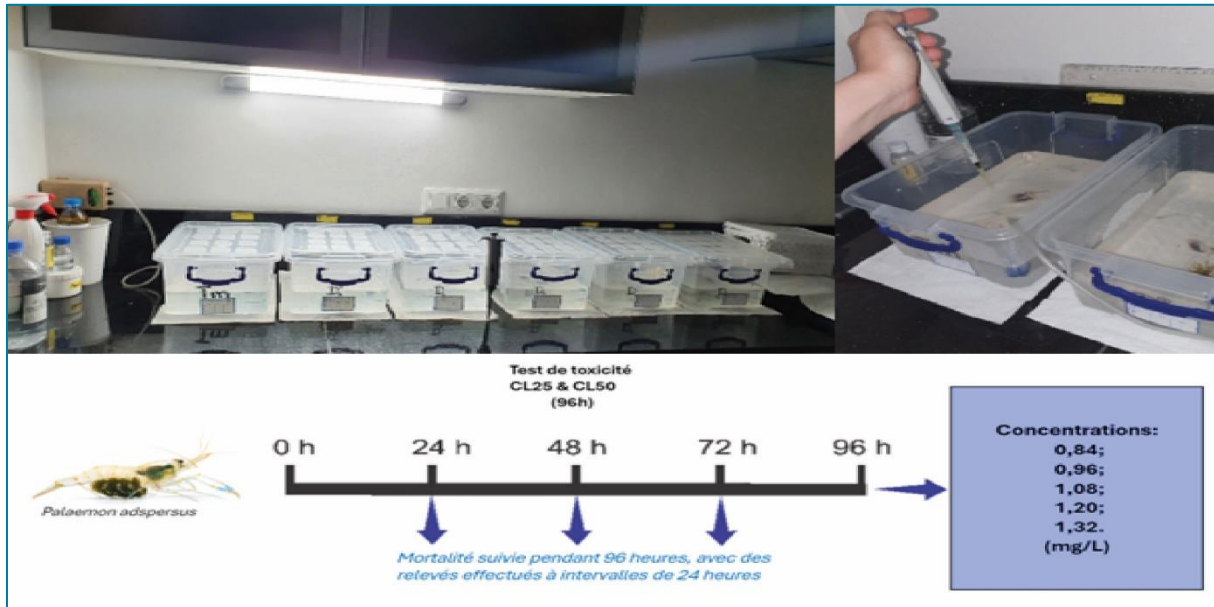


Figure 11. Toxicité aiguë du glyphosate sur *P. adspersus* à des concentrations variées (Photo personnelle).

2.6 Traitement et collecte des tissus pour l'analyse des biomarqueurs

Le glyphosate aux deux concentrations CL₂₅ et CL₅₀ a été additionnée à l'eau d'élevage des spécimens de *P. adspersus* nouvellement exuviées (le début de la postmue). Le dimorphisme sexuel a été ignoré car les contaminants perturbent la mue des crustacés sans distinction de sexe (Meng & Zou, 2009). Les prélèvements des tissus, la tête et la chair ont été effectués après 24, 48, 72 et 96 h d'exposition. Pendant la phase de récupération, les spécimens ont été transférés dans des bacs contenant une eau propre et le prélèvement des échantillons à savoir la tête et la chair ont été réalisé également après 24, 48, 72 et 96h. Les échantillons ont été conservés dans leurs solutions tampon.

2.6.1 Analyse de la glutathion S-transférase

L'analyse de l'activité de la glutathion-S-transférase a été conduite tout au long des phases d'exposition et de récupération, couvrant des intervalles de 0, 24, 48, 72 et 96 heures pendant les deux périodes. Les échantillons, prélevés ont suivi la méthode de Habig et al., (1974). Cette approche implique l'utilisation du 1-chloro-2,4 dinitrobenzène (CDNB) comme substrat



enzymatique, réagissant efficacement avec le glutathion réduit (GSH). La réaction de conjugaison de ces composés génère une nouvelle molécule, absorbant la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. Ces mesures, réalisées de manière rigoureuse, offrent une compréhension approfondie de l'activité de la glutathion-S-transférase dans le contexte des variations temporelles.

Pour le dosage, 200 µl du surnageant sont mis en réaction avec 1,2 ml d'un mélange CDNB (1mM)/GSH (5 mM) contenant 20,26 mg de CDNB, 153,65 mg de GSH, 1 ml d'éthanol, et 100 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). Les absorbances sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre visible/UV (WPA) pendant 5 minutes, toutes les 1 minute, à une longueur d'onde de 340 nm. Le blanc, utilisé comme référence, consiste en 200 µl d'eau distillée remplaçant le surnageant. L'activité spécifique est ensuite déterminée en appliquant la formule définie, qui est la suivante :

$$GST \left(\frac{\mu M}{mg} \text{ de protéines} \right) = \left(\frac{\Delta DO / \text{min}}{e} \times \frac{Vt}{Vs} \right) / \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

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

e: 9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM-1 cm-1).

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

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

mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

2.6.2 Activité de l'acétylcholinestérase

L'étude évalue l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) au céphalothorax de *P. adspersus*, prélevé lors des phases d'exposition et de récupération. Les prélèvements sont effectués à des intervalles de 0, 24, 48, 72, et 96 heures. La méthode d' [Ellman et al., \(1961\)](#) est employée, impliquant l'acétylthiocholine (ASCh) comme substrat. L'hydrolyse de l'ASCh produit de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est directement proportionnelle à l'activité enzymatique de l'AChE. La révélation se fait par une méthode colorimétrique utilisant le dithiobisnitrobenzoate (DTNB), formant un complexe jaune avec la thiocholine, mesuré à 412 nm. Cette approche offre une évaluation précise de l'activité enzymatique tout au long de l'expérience, fournissant des données cruciales pour comprendre les variations temporelles.



Pour la préparation des échantillons, ceux-ci ont été homogénéisés dans 1 ml de solution détergente (solution D), composée de 38,03 mg d'EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1 ml de Triton X 100%, 5,845 g de NaCl (chlorure de sodium), et 80 ml de tampon tris (10 mM, pH 7). Après centrifugation à 5000 trs/mn pendant 5 mn, le surnageant récupéré a été utilisé comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité AChE a été réalisé sur une fraction aliquote de 100 μ l. À cette dernière, 100 μ l de DTNB on été ajouté préparé extemporanément (39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa - bicarbonate de sodium, 10 ml tampon tris 0,1 M, pH 7) et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après l'ajout de 100 μ l de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément (23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée) au mélange, la lecture des absorbances a été effectuée toutes les 4 mn pendant 20 mn à une longueur d'onde de 412 nm. Un blanc a été utilisé où 100 μ l de la solution détergente a remplacé les 100 μ l du surnageant. Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre Agilent Technologies de type CARY 60 UV-Vis.

$$AChE \left(\frac{nM}{mg} \text{ de protéines} \right) = \frac{\Delta Do \times Vt}{1,36 \times Vs} / mg \text{ de protéines}$$

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

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

e: $1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Vt : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine].

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.6.3 Analyse du malondialdéhyde

La quantification du malondialdéhyde (MDA) s'effectue au niveau de la chair prélevé lors des phases d'exposition et de récupération. Les prélèvements sont effectués à des intervalles de 0, 24, 48, 72, et 96 heures. Cette évaluation repose sur la méthode élaborée par [Draper & Hadley \(1990\)](#), basée sur une réaction colorimétrique entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le MDA, produisant un composé d'un brun rougeâtre dont l'intensité est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm. Pour cette analyse, les échantillons ont été traités par broyage aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCL (50 mM, pH 7,5), composé de 1,5137 g de Tris, 0,0730 g d'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g de sucrose, et 250 ml d'eau distillée. Après



homogénéisation, une centrifugation de 10 minutes à 10 000 trs/mn permet de récupérer le surnageant, utilisé ensuite pour le dosage du MDA.

Le protocole de dosage consiste à mélanger 500 µl du surnageant avec 2,5 ml de TCA (100 g TCA, 1000 ml d'eau distillée). Après chauffage à 100 °C pendant 15 minutes et refroidissement, une centrifugation est réalisée à 10 000 trs/mn pendant 10 minutes. Une fraction de 2 ml du surnageant est ensuite prélevée, à laquelle est ajouté 1 ml de TBA (6,7 g TBA, 1000 ml d'eau distillée). Après un second chauffage (100°C, 155 minutes) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Suite à une agitation et une dernière centrifugation (10 000 trs/mn, 10 minutes), le surnageant, composé de 1 ml de butanol contenant les complexes TBA/MDA, est récupéré pour la lecture des absorbances à 532 nm. La détermination du taux de MDA implique également le dosage des protéines et l'établissement d'une gamme d'étalonnage des protéines. Le taux de MDA est calculé selon la formule suivante :

$$MDA \left(\frac{\mu M}{mg} \text{ de protéines} \right) = \frac{\frac{\Delta D_0}{156} \times \frac{V_t}{V_s}}{mg \text{ de protéines}}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM/mg de protéines).

ΔD₀ : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

156 : coefficient d'extinction molaire du TBA.

V_t : volume total dans la cuve : 1 ml [volume total du butanol récupéré renfermant les complexes TBA/MDA].

V_s : volume de surnageant utilisé dans le dosage : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.6.4 Analyse sur la teneur en lipides

L'extraction des lipides a été conduite conformément à la méthode de [Shibko et al., \(1966\)](#), à partir de la chair des crevettes prélevé lors des phases d'exposition et de récupération. Les prélèvements sont effectués à des intervalles de 0, 24, 48, 72, et 96 heures qui sont ensuite préservés dans 1 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 20 %. Cette démarche a impliqué un processus de broyage mécanique suivi d'une homogénéisation aux ultrasons (SONIFER B-30) et d'une première centrifugation (5000 rpm/mn, 10 mn), où le surnageant I a été prélevé et le culot I conservé, recevant ensuite 1 ml du mélange éther/chloroforme (v/v). Une seconde centrifugation (5000 rpm/mn, 10 mn) a permis d'obtenir le surnageant II, destiné au dosage des lipides totaux.



Le taux de lipides a été quantifié selon la méthode colorimétrique décrite par Goldsworthy et al., (1972), basée sur la formation d'un complexe chromogène de couleur rose. Cette approche a utilisé la vanilline [0,38 g vanilline, 55 ml eau distillée, 195 ml acide orthophosphorique 85 %] comme réactif, et une solution mère de lipides à 2,5 mg/ml [2,5 mg d'huile de table, 1 ml éther/chloroforme (v/v)] en tant que standard. Les dosages ont été effectués sur des prises aliquotes de 100 µl d'extraits lipidiques ou de la gamme étalon, auxquelles 1 ml d'acide sulfurique (96 %) a été ajouté. Après agitation et chauffage dans des bains à sec (100 °C pendant 10 mn), suivis d'un refroidissement, 200 µl ont été repris, auxquels 2,5 ml du réactif vanilline ont été ajoutés. Après agitation, mise à l'obscurité pendant 30 mn, une coloration rose s'est développée, dont l'intensité a été mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

2.6.5 Dosage des protéines :

La méthode de Bradford (1976) a été employée pour quantifier les protéines dans un échantillon de 0,1 ml d'homogénat. Le bleu brillant de Coomassie (G 250, Merck) a été utilisé comme réactif, composé de 50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%), complété à 500 ml avec de l'eau distillée. L'albumine de sérum de boeuf (Sigma, France) a servi de standard. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 595 nm, et la calibration a été effectuée à partir d'une solution d'albumine à 1 mg/ml, comme indiqué dans le (Tableau 4 ; Figure 12) ci-dessous.

Tableau 4 : Évaluation de la concentration protéique et élaboration de la courbe d'étalonnage

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

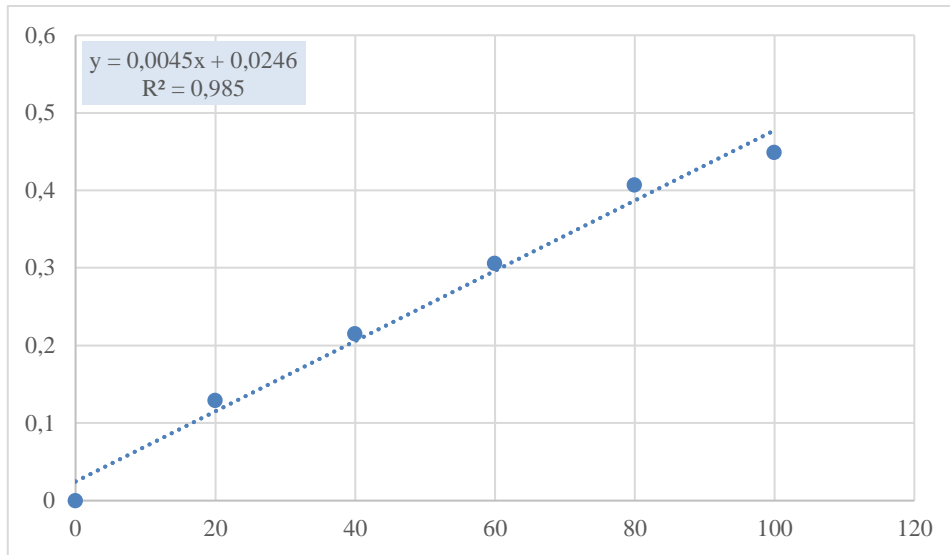


Figure 12. Courbe d'étalonnage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

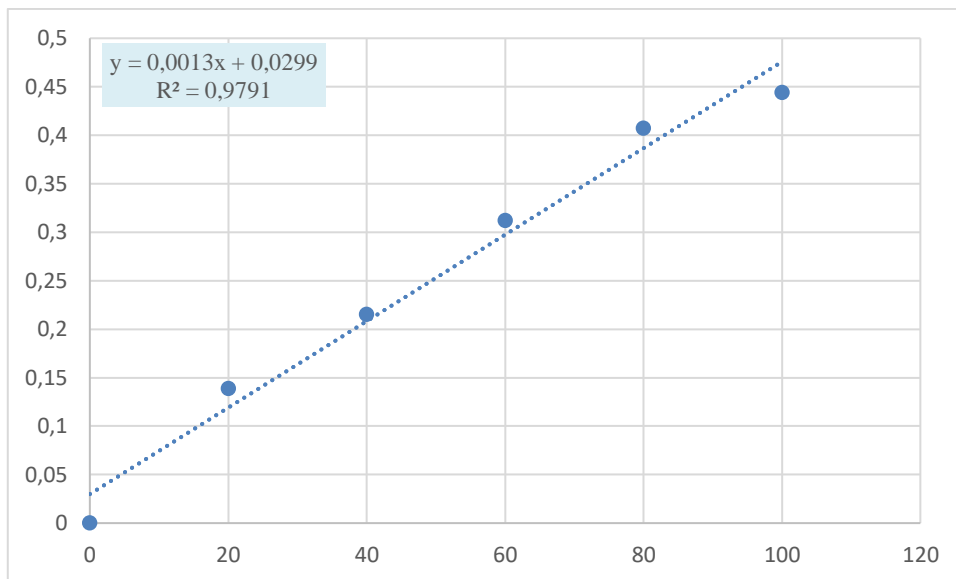


Figure 13. Courbe d'étalonnage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

2.7 Méthodes d'analyse histologique et étapes expérimentales :

Dans le cadre de cette recherche, l'histologie a été utilisée pour évaluer les éventuelles altérations des tissus causées par le glyphosate, notamment au niveau des branchies, du tissu musculaire et de l'hépatopancréas. Pour ce faire, des échantillons de crevettes ont été prélevés et traités selon des protocoles spécifiques. Initialement, le corps entier des crevettes a été soumis à l'histologie afin de réaliser une analyse complète des structures internes. Parallèlement, une approche différente a été adoptée pour les branchies et l'hépatopancréas : l'histologie a été

réalisée au niveau du céphalothorax, où ces structures sont localisées, permettant ainsi une observation précise dans leur contexte anatomique naturel. Quant au tissu musculaire, des sections ont été préparées et examinées au microscope pour identifier les caractéristiques histologiques pertinentes (Figure 13).

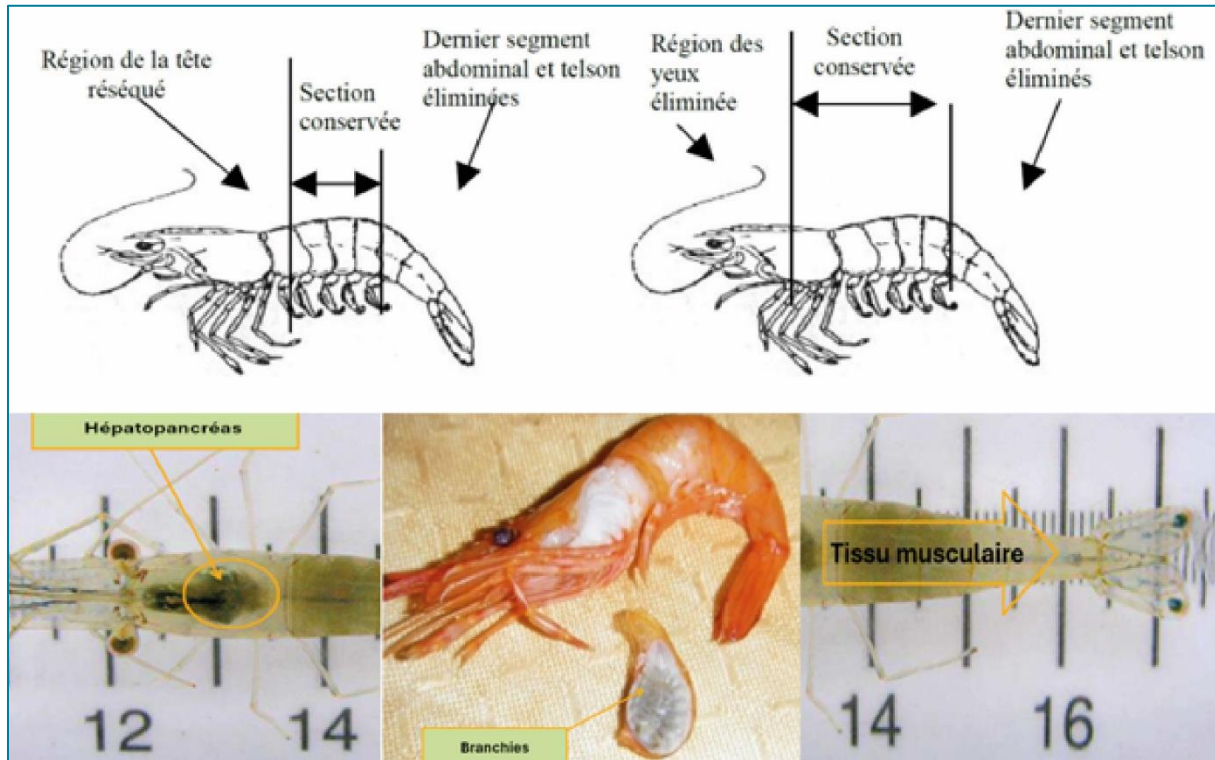


Figure 13. Différentes parties traitées pour histologie : Hépatopancréas, branchies et tissu musculaire, d'une crevette (photo personnelle).

Les étapes expérimentales pour la préparation des échantillons histologiques ont été méticuleusement suivies. Des échantillons de tissus ont été prélevés sur des crevettes vivantes. Les prélèvements du tissu musculaire, les branchies et l'hépatopancréas des crevettes ont été effectués à la fois 24 et 96 heures après les phases de traitement et de récupération avec le phytocide. Ces échantillons ont été fixés dans une solution de formol diluée (formaldéhyde à 10% v/v, Sigma®), pendant 48 heures afin de limiter la dégradation des acides nucléiques et de préserver les structures cellulaires et tissulaires.

Ensuite, le processus d'inclusion a été entrepris, impliquant une série de traitements, chacun préparant le terrain pour le suivant tout en éliminant le précédent. Nos échantillons ont été fixés dans deux bains de formol (10%) pendant une heure, suivis de six bains d'alcool (70%, 80% et 100%) pendant une heure et demie chacun, puis deux bains de xylène pendant une heure et demie avant d'être imprégnés dans deux bains de paraffine pendant deux heures pour imprégner les échantillons de paraffine d'un automate à 12 bains.



Une fois inclus, les échantillons ont été enrobés dans des moules en inox remplis de paraffine liquide et refroidis à (-12°C) pour former des blocs. Les coupes ont été réalisées à l'aide d'un microtome, puis étalées sur des lames porte-objets avec de l'eau gélatinée. Après séchage à (45 C°), déparaffinage (dans trois bains d'xylène, pendant quinze minutes pour les deux premiers bains et cinq minutes pour le troisième. Ensuite, elles ont été placées dans deux bains d'alcool à 100%, pendant huit minutes pour le premier bain et sept minutes pour le deuxième, avant d'être rincées à l'eau courante pendant quatre minutes et coloration avec une solution d'hématoxyline de Meyer pendant trois minutes, suivie d'un rinçage à l'eau pendant huit minutes. Ensuite, recolorées avec de l'éosine à 2%, dont la concentration était de 10g/L d'eau, pendant trois minutes et rincées à nouveau pendant huit minutes. Et enfin, plongées dans un bain d'alcool à 100% pendant une minute.

Les lames ont été montées avec des lamelles à l'aide d'une goutte d'E-KIT pour assurer leur protection et leur conservation optimale. Enfin, les échantillons ont été observés au microscope optique pour une analyse détaillée des structures tissulaires.

Cette méthodologie rigoureuse garantit la qualité et l'intégrité des échantillons tout au long du processus histologique, permettant une observation précise et fiable des caractéristiques cellulaires et tissulaires.

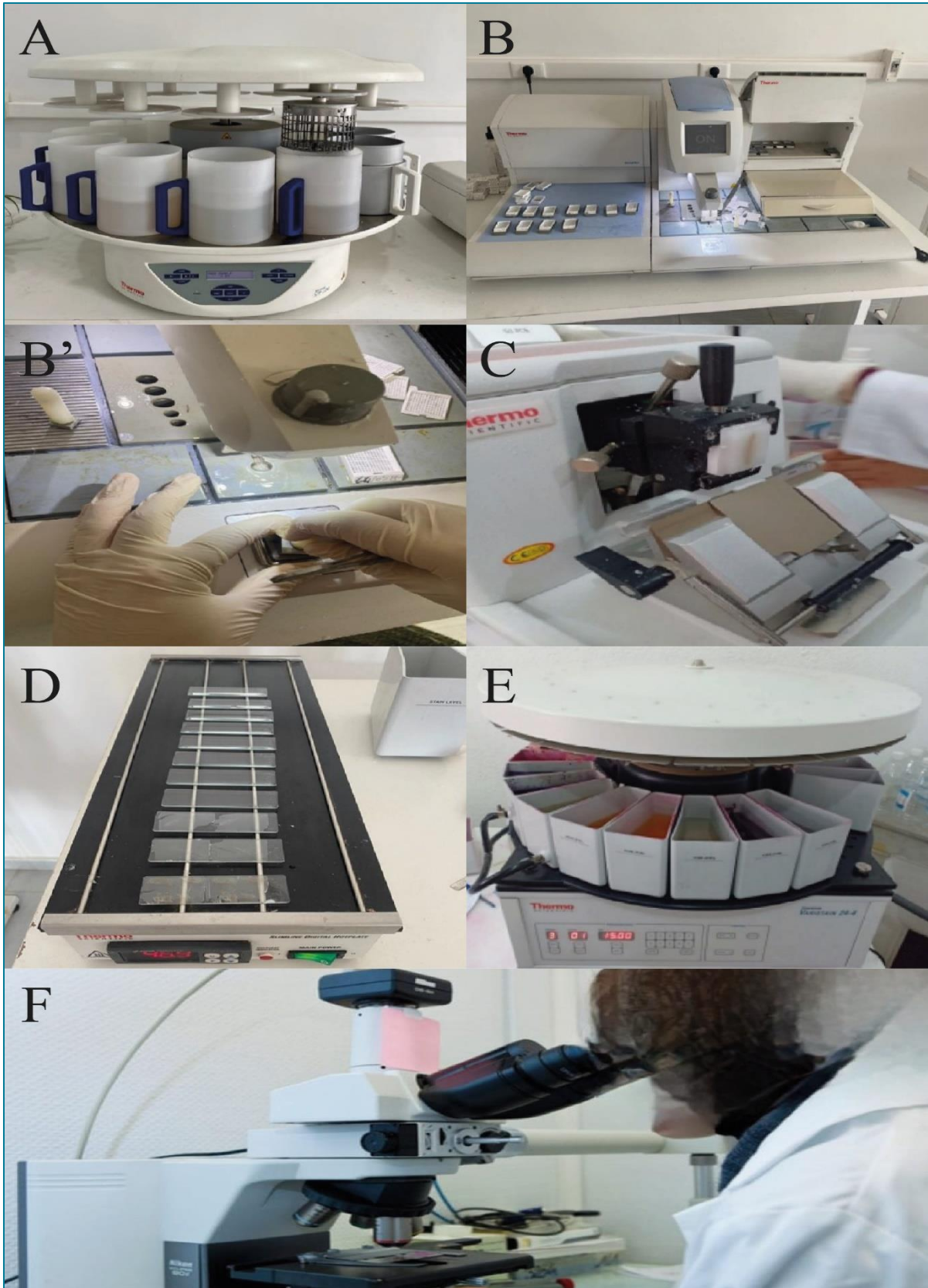


Figure 14. Différentes étapes de la technique histologique (A) Automate thermo à 12 bains, (B, B') Mise en bloc des coupes, (C) Réalisation des coupes au microtome, (D) Étalement des coupes et séchage, (E) Coloration aux bains d'hématoxyline de Meyer et de l'éosine, (F) Observation sous microscope optique (photo personnelle).



2.8 Analyse des données

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne arithmétique \pm écart-type (moyenne \pm écart-type). La distribution normale des données (test de Shapiro-Wilk) et l'homogénéité des variances (test de Bartlett) ont été évaluées. Les données de l'essai biologique ont été analysées à l'aide d'un ajustement de courbe sigmoïde non linéaire, et l'activité du traitement a été évaluée en termes de réponse dépendante de la concentration. La qualité de l'ajustement du modèle de courbe a été évaluée sur la base des valeurs R^2 . Les analyses statistiques de toxicité ont été réalisées à l'aide de Prism version 8 pour Windows (GraphPad Software, La Jolla California, USA ; www.Graphpad.com).

Pour tous les biomarqueurs, l'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS (V22.0, IBM Corporation, NY, USA). L'analyse de variance à deux critères (ANOVA) suivie du test de comparaison de Tukey avec analyse post-hoc HSD a été utilisée pour évaluer les différences entre les séries de contrôle, traitées et récupérées, avec $p < 0,05$ indiquant une différence statistiquement significative. Le test de corrélation de Pearson a été utilisé pour établir une corrélation entre le MDA et la teneur en lipides.

RÉSULTATS



3 RÉSULTATS

Avant de présenter les résultats de l'impact du glyphosate sur les aspects toxicologique, biochimique et histologique, il est important de préciser certaines observations faites durant l'expérimentation. En effet, sur le plan toxicologique, les doses sublétales et létales ont été déterminées, fournissant une base pour évaluer les effets nocifs du glyphosate. Des observations préliminaires montrent que les crevettes présentent des comportements erratiques, des modèles de mue perturbés, une activité alimentaire réduite, ainsi que des anomalies dans leur locomotion et leur nage. Ces crevettes ont aussi tendance à se regrouper dans des zones spécifiques de l'aquarium. Ces observations comportementales soulignent les effets potentiellement néfastes du glyphosate sur les fonctions locomotrices, alimentaires et générales de cette espèce.

3.1 Toxicité aiguë du glyphosate

Le glyphosate à différentes concentrations (0,84 ; 0,96 ; 1,08 ; 1,20 ; 1,32 mg/L) a été ajouté au milieu d'élevage de *P. adspersus* et la mortalité a été observée à 24, 48, 72 et 96 heures. La mortalité cumulative corrigée variait de $8,88 \pm 2,22$ % pour la concentration la plus faible (0,84 mg/L) et à $97,78 \pm 2,22$ % pour la concentration la plus élevée (1,32 mg/L), avec une relation dose-réponse. Aucune mortalité n'a été observée dans le groupe contrôle. L'analyse statistique a révélé un effet significatif de la concentration.

La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité observée (%) (Tableaux 5. A-B-C-D). Après une transformation angulaire de mortalités (Tableaux 6. E-F-G-H). Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableaux 7. I-J-K-L) qui révèle un effet dose significatif ($p < 0,0001$).

Tableaux 5 : Toxicité du glyphosate (mg/L) à l'égard des adultes *P. adspersus* : Mortalité observée (%) ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 15 individus) (A) (24h), (B) (48h), (C) (72h), D (96h).

		(A)				
	Témoin	0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1	0	13,33	13,33	26,66	26,66	63,43
R2	0	6,66	20,00	26,66	26,66	58,89
R3	0	6,66	13,33	20,00	20,00	63,43
m ± SD	0±0	8,88±2,22	15,55±2,22	24,44±2,22	24,44±2,22	61,92±1,51



Résultats

		(B)				
	Témoin	0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1	0	13,33	13,33	26,66	26,66	80,00
R2	0	0,00	6,66	26,66	26,66	73,33
R3	0	6,66	6,66	20,00	20,00	80,00
m ± SD	0±0	6,66±4,33	8,88±2,22	24,44±2,22	24,44±2,22	77,78±2,22

		(C)				
	Témoin	0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1	0	13,33	20,00	53,33	73,33	86,66
R2	0	6,66	33,33	40,00	86,66	93,33
R3	0	6,66	20,00	40,00	66,66	89,00
m ± SD	0±0	8,88±2,22	24,44±4,44	44,44±4,44	75,55±5,87	86,66±3,84

		(D)				
	Témoin	0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1	0	13,33	20,00	60,00	73,33	93,33
R2	0	6,66	33,33	53,33	86,66	100
R3	0	6,66	20,00	66,66	66,66	86,66
m ± SD	0±0	8,88±2,22	24,44±4,44	60±3,84	75,55±5,87	93,33±3,85

Tableaux 6 : Toxicité du glyphosate (mg/L) à l'égard des adultes *P. adspersus* : transformation angulaire (m ± SD ; n = 3 répétitions comportant chacune 15 individus) (E) (24h), (F) (48h), (G) (72h), (H) (96h).

		(E)				
		0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1		21,39	21,39	31,11	31,11	52,77
R2		15,00	26,57	31,11	31,11	50,13
R3		15,00	21,39	26,57	26,57	52,77
m ± SD		17,13±2,13	23,12±1,72	29,60±1,51	29,60±1,51	51,89±4,39

		(F)				
		0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1		21,39	21,39	31,11	31,11	63,43
R2		0,00	15,00	31,11	31,11	58,89
R3		15,00	15,00	26,57	26,57	63,43
m ± SD		12,13±2,13	17,13±2,13	29,60±1,51	29,60±1,51	61,91±2,19

		(G)				
		0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1		21,39	26,57	46,89	58,89	68,53
R2		15,00	35,24	39,23	68,53	75,00
R3		15,00	26,57	39,23	54,70	63,43
m ± SD		17,13±2,13	29,46±2,89	41,78±2,27	60,70±1,12	68,98±2,11



	(H)				
	0,84	0,96	1,08	1,20	1,32
R1	21,39	26,57	50,77	58,89	75,00
R2	15,00	35,24	46,89	68,53	88,19
R3	15,00	26,57	54,70	54,70	68,53
m ± SD	17,13±2,13	29,46±2,89	50,78±1,37	60,70±1,12	77,24±2,43

Tableaux 7 : Toxicité du glyphosate (mg/L) à l'égard de *P. adspersus*: Analyse de la variance à un critère de classification (m ± SD; n = 3 répétitions comportant chacune 15 individus) (I) (24h), (J) (48h), (K) (72h), (L) (96h).

(I)					
Sources de variation	DDL	SCE	CM	F (DFn, DFd)	P
Traitement	10195	3619	904,7	F (4, 10) = 63,07	0,001***
Erreur résiduelle	404,1	86,33	8,633		
Totale	10599	3705	913		

(J)					
Sources de variation	DDL	SCE	CM	F (DFn, DFd)	P
Traitement	14678	2777	504,7	F (6, 14) = 44,20	0,001***
Erreur résiduelle	774,9	86,02	6,313		
Totale	15453	3860	510		

(K)					
Sources de variation	DDL	SCE	CM	F (DFn, DFd)	P
Traitement	15501	6	2584	F (6, 14) = 49,32	0,001***
Erreur résiduelle	733,4	14	52,38		
Totale	16235	20	263		

(L)					
Sources de variation	DDL	SCE	CM	F (DFn, DFd)	P
Traitement	10255	4	2549	F (5, 12) = 121,7	0,001***
Erreur résiduelle	202,33	10	40,10		
Totale	10457	14	5589		

*** : hautement significatif (p< 0,001). DDL: degré de liberté ; SCE: somme des carrés des écarts; CM : carré moyen ; F_{obs} : F observé ; P: niveau de signification. Non significatif (p>0,05) ; * significatif (p<0,05) ; ** très significatif (p<0,01) ; *** hautement significatif (p<0,001).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme de la dose appliquée (Figure 14) a permis l'estimation de la valeur des concentrations sublétales et létales (CL₂₅ CL₅₀) ainsi que son intervalle de confiance et le Hill Slope. Correspondantes (95% FL) sont énumérées dans le (Tableau 8).



Résultats

Tableau 8 : Paramètres de létalité du glyphosate (mg/L) chez les crevettes adultes *P. adspersus* après 24, 48, 72 et 96 heures. Les données ont été exprimées en termes de concentration létale (CL %) accompagnées des limites fiduciaires correspondantes à 95 % (FL [95 %]), du coefficient de détermination (R^2) et de la pente de Hill ($n = 5$ répétitions, chacune contenant 15 individus).

	Concentrations	Valeurs (mg/L)	Limites de confiance (95%)	R^2	Hill slope
24h	CL ₁₀	1,15	(0,82 – 1,18)	0,9999	13,63
	CL ₂₅	1,25	(1,03 – 1,29)		
	CL ₅₀	1,35	(1,24 – 1,47)		
	CL ₉₀	1,59	(1,03 – 1,61)		
48h	CL ₁₀	0,99	(0,91 – 1,05)	0,9998	11,39
	CL ₂₅	1,09	(1,03 – 1,39)		
	CL ₅₀	1,20	(1,16 – 1,23)		
	CL ₉₀	1,45	(1,37 – 1,56)		
72h	CL ₁₀	0,98	(0,91 – 1,04)	0,9994	12,91
	CL ₂₅	1,06	(1,02 – 1,10)		
	CL ₅₀	1,16	(1,13 – 1,19)		
	CL ₉₀	1,37	(1,03 – 1,46)		
96h	CL ₁₀	0,99	(0,88 – 1,07)	0,9995	15,61
	CL ₂₅	1,06	(0,99 – 1,11)		
	CL ₅₀	1,14	(1,09 – 1,18)		
	CL ₉₀	1,31	(1,22 – 1,44)		

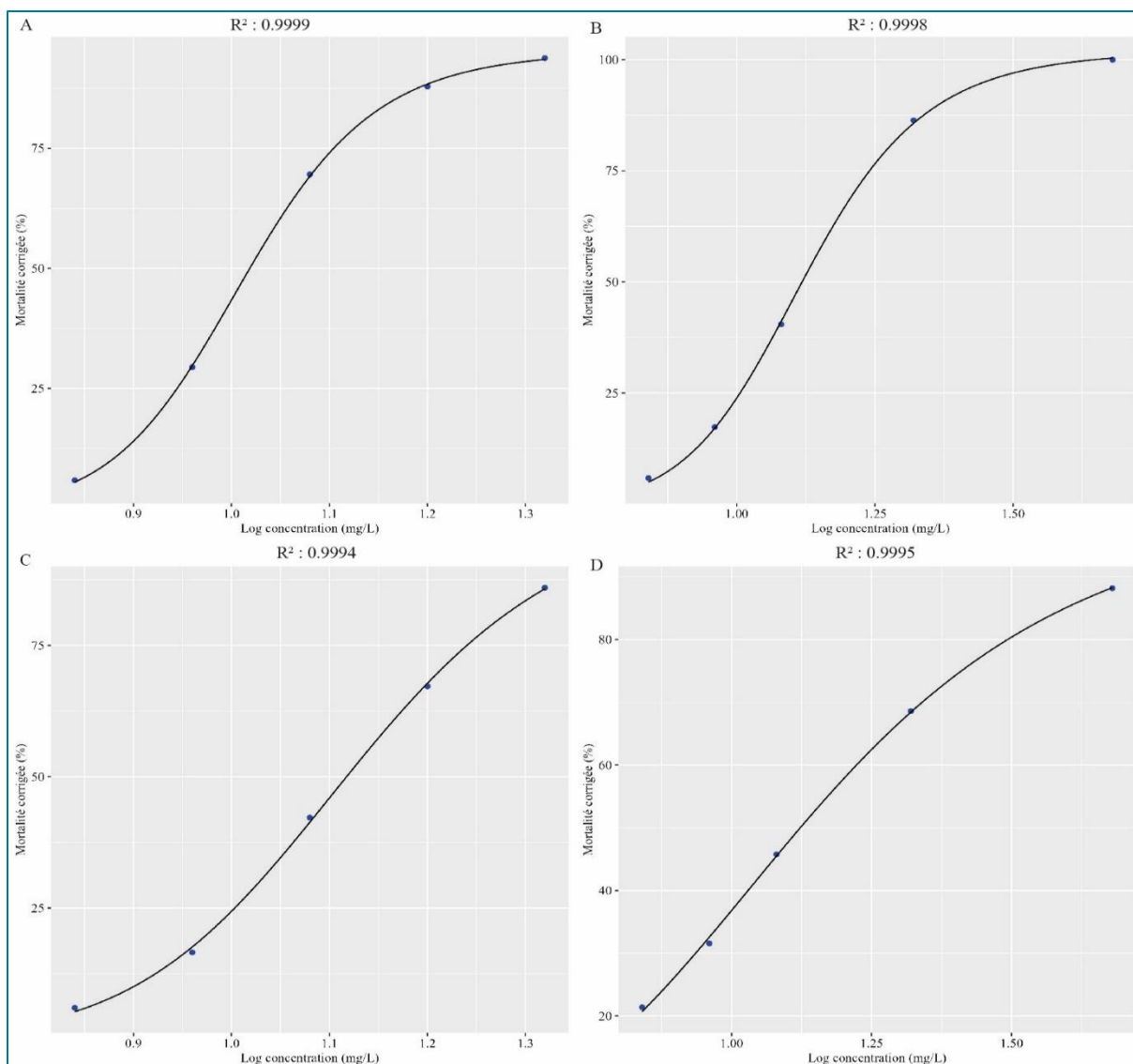


Figure 14. Toxicité du glyphosate (mg /L), à l’égard de la crevette *P. adspersus* après une exposition de 24h (A), 48h (B), 72h (C), 96h (D): courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée (%).

3.2 Effet du glyphosate sur les biomarqueurs chez *P. adspersus* :

L’effet du glyphosate sur les différents biomarqueurs AChE, GST, MDA et taux des lipides ont été déterminés chez les crevettes *P. adspersus* pendant les deux phases (traitement et récupération) à 0 ; 24 ; 48 ; 72 et 96 heures d’exposition. Deux concentrations ont été utilisées, la concentration sublétales CL₂₅ (1,06) et la concentration létale CL₅₀ (1,14).

3.2.1 Effet sur l’activité spécifique de l’acétylcholinestérase en phase de traitement

L’activité spécifique de l’acétylcholinestérase est déterminée selon la méthode d’Ellman et al. (1961) au niveau du cerveau des crevettes de *P. adspersus* en phase de traitement et en phase

de récupération. L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase a été calculée par les pentes des équations de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

L'activité enzymatique de l'AChE dans les fragments de tête de la série de témoin a diminué avec le temps, jusqu'à 96 h. Le traitement au glyphosate à la fois à la CL₂₅ et à la CL₅₀ a révélé une diminution dose-dépendante significative ($p < 0,0001$) de l'activité de l'AChE après 24 à 96 h (Figure 15). L'action inhibitrice la plus significative a été enregistrée à 48 h avec la CL₅₀ (1,14 mg/L), où l'activité de l'AChE était la plus faible par rapport à la série traitée. Cette activité a augmenté de manière significative ($p < 0,0001$) après 96 h, par rapport à 48 et 72 h. Une ANOVA à deux critères de la variance a révélée un effet temps ($F_{3,48} = 11,964$; $p < 0,0001$), un effet traitement ($F_{2,48} = 1428,893$; $p < 0,0001$) et des interactions temps/traitement ($F_{6,48} = 35,160$; $p < 0,0001$) très significatifs.

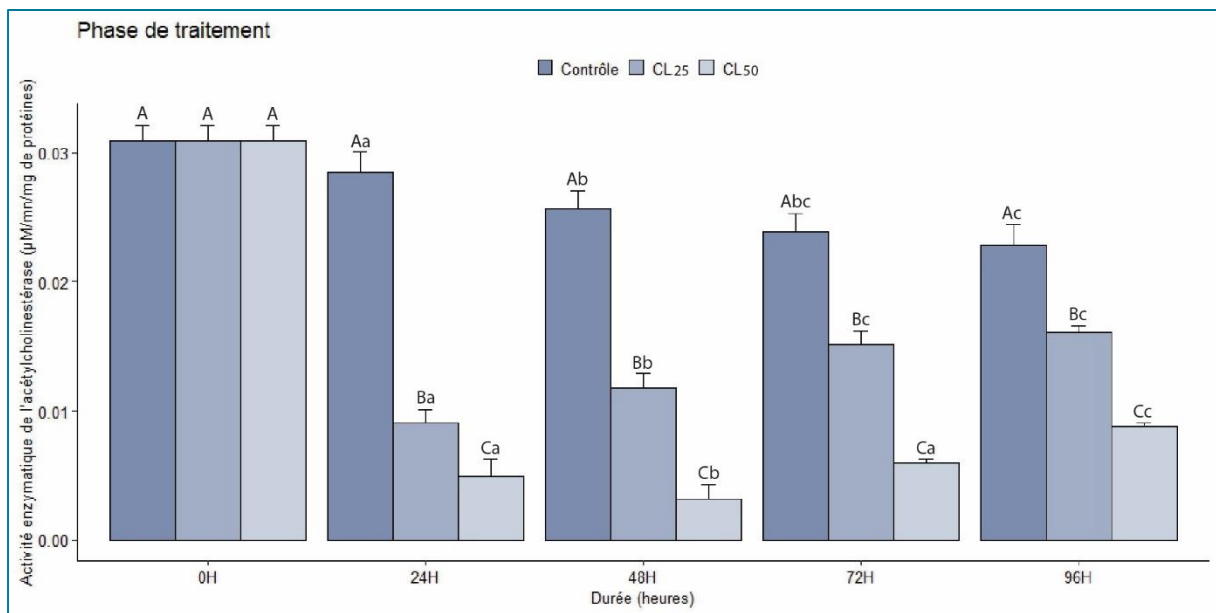


Figure 15. Effet du glyphosate (CL_{25,50-96h}) sur l'AChE chez *P. adspersus* pendant les phases de traitement ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 9 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des crevettes *P. adspersus* durant la phase de traitement.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	4,862 ^{E-5}	1,621 ^{E-5}	11,964	0,000***
Traitement	2	0,004	0,002	1428,893	0,000***
Temps * Traitement	6	0,0001	4,763 ^{E-5}	35,160	0,000***
Erreur résiduelle	48	6,502 ^{E-5}	1,355 ^{E-6}		
Totale	59	0,004			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification.

3.2.2 Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase en phase de récupération

Pendant la phase de récupération, l'activité de l'AChE est restée inhibée après 24 et 48 heures, avec une différence significative entre la série traitée et la série contrôle. Cependant, l'activité de l'AChE est revenue à des niveaux normaux après 72 et 96 heures, sans différence significative entre les séries traitées (CL₂₅ et CL₅₀) et les séries contrôles (Figure 16). Une ANOVA à deux critères de la variance a révélée un effet hautement significatif du temps ($F_{3,48} = 16,797$; $p < 0,0001$), de l'effet du traitement ($F_{2,48} = 27,461$; $p < 0,0001$) et de l'interaction temps/traitement ($F_{6,48} = 7,337$; $p < 0,0001$).

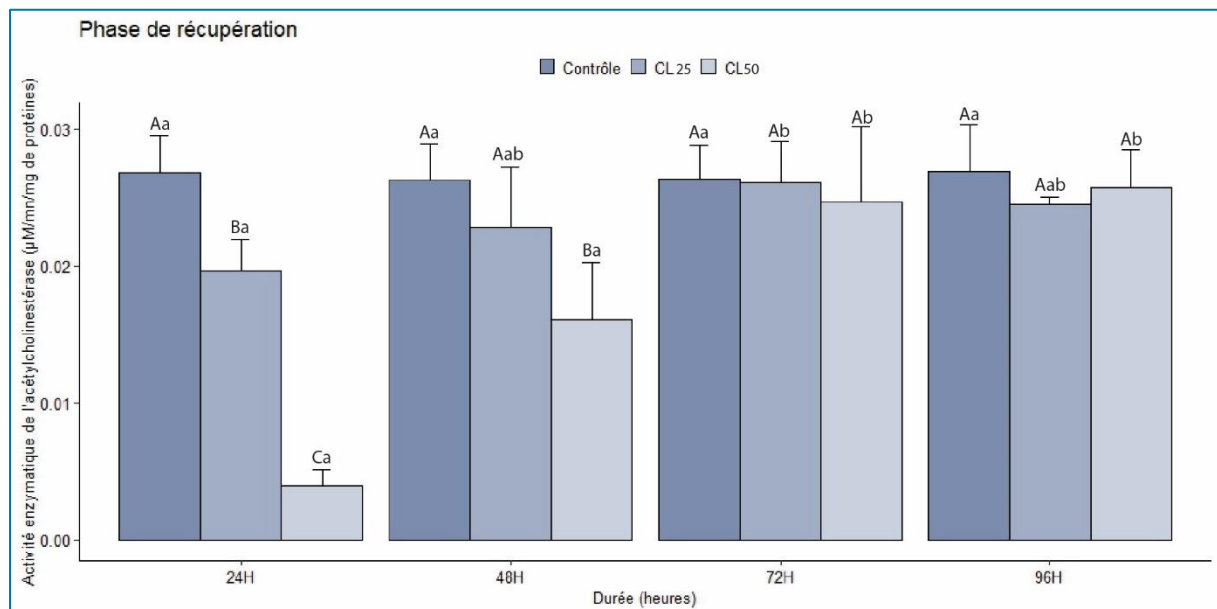


Figure 16. Effet du glyphosate sur l'AChE chez *P. adspersus* pendant les phases de récupération ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée de récupération). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 10 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des crevettes *P. adspersus* durant la phase de récupération.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	0,001	0,0001	16,797	0,000***
Traitement	2	0,001	0,0001	27,461	0,000***
Temps * Traitement	6	0,0001	7,432 ^{E-5}	7,337	0,000***
Erreur résiduelle	48	0,0001	1,013 ^{E-5}		
Totale	59	0,002			

DDI : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.3 Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase en phase de traitement

L'activité enzymatique de la glutathion S-transférase est déterminée selon la méthode de [Habig et al., \(1974\)](#) au niveau de la chair des crevettes *P. adspersus* en phase de traitement et en phase de récupération. L'activité spécifique de la glutathion s-transférase a été calculée par les pentes des équations de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Dans des conditions normales, l'activité enzymatique de la GST dans les fragments de chair a augmenté avec le temps, jusqu'à 96 heures. Le traitement au glyphosate à la fois à la CL₂₅ et à la CL₅₀ a révélé une induction dose-dépendante significative ($p < 0,0001$) de la GST après 48 à 96 heures ([Figure 17](#)). L'activité la plus élevée a été observée à la CL₅₀ (1,14 mg/L). Une ANOVA à deux critères de la variance a révélé un effet temps très significatif ($F_{3,48} = 602,007$; $p < 0,0001$), un effet traitement ($F_{2,48} = 1411,895$; $p < 0,0001$), et un effet interactions temps/traitement ($F_{6,48} = 152,013$; $p < 0,0001$).

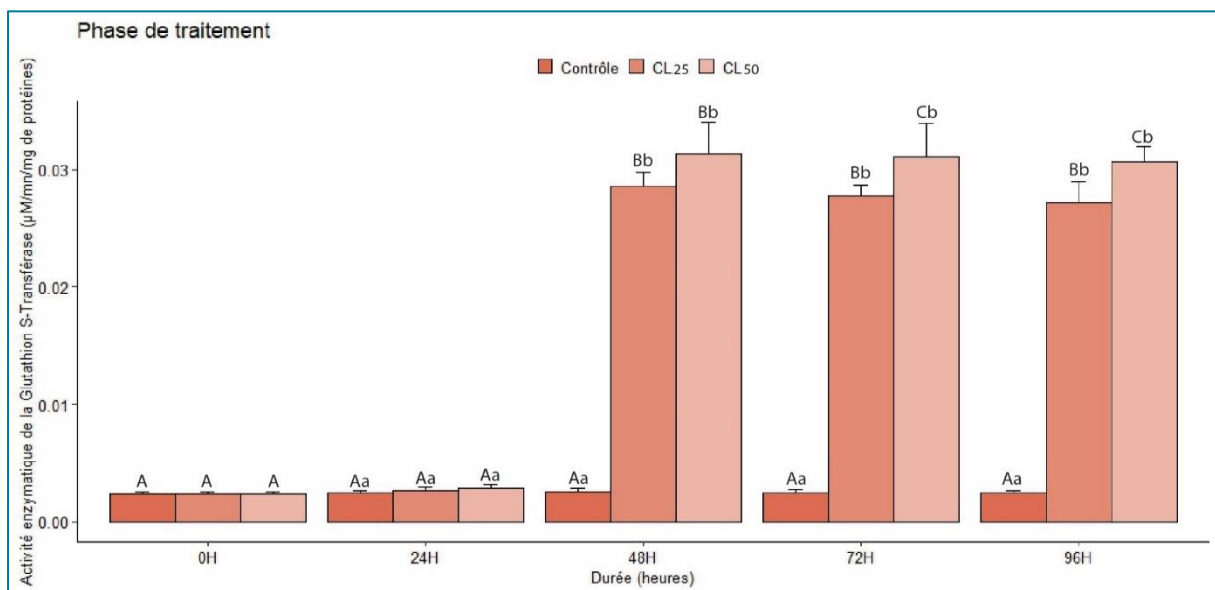


Figure 17. Effet du glyphosate (CL_{25,50}-96h) sur la GST chez *P. adspersus* pendant les phase de traitement (m ± SD; n=5; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 11 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion s transférase des crevettes *P. adspersus* durant la phase de traitement.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	0,004	0,001	602,007	0,000***
Traitement	2	0,006	0,003	1411,895	0,000***
Temps * Traitement	6	0,002	0,0001	152,013	0,000***
Erreur résiduelle	48	9,429 ^{E-5}	1,964 ^{E-6}		
Totale	59	0,011			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.4 Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase en phase de récupération

Pendant la phase de récupération, l'activité de la GST a été induite à 24 et 48 heures, avec une différence significative entre la série traitée et la série contrôle. Cependant, l'activité de la GST est revenue à des niveaux normaux à 72 et 96 heures, sans différence significative entre la série traitée et la série témoin (Figure 18). Une ANOVA à deux critères de la variance a révélé un effet temps ($F_{3,48} = 1508,926$; $p < 0,0001$), un effet traitement ($F_{2,48} = 1304,721$; $p < 0,0001$) et une interaction temps/traitement ($F_{6,48} = 378,949$; $p < 0,0001$) hautement significatifs.

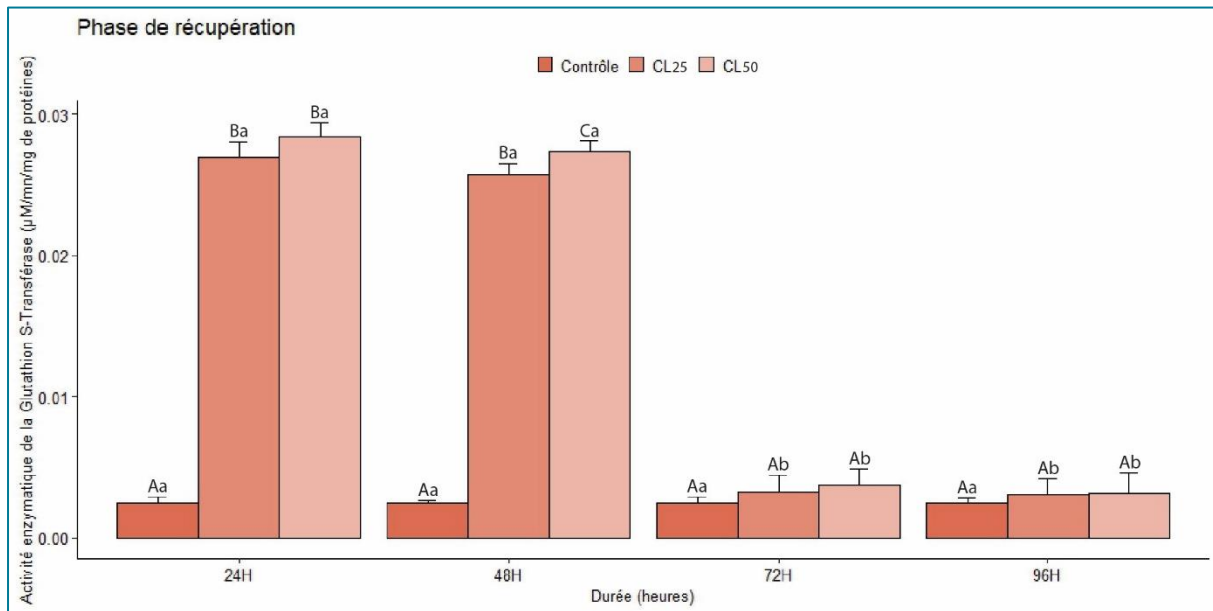


Figure 18. Effet du glyphosate sur la GST chez *P. adspersus* pendant les phase de récupération ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 12 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion s-transférase des crevettes *P. adspersus* durant la phase de récupération.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	0,004	0,001	1508,926	0,000***
Traitement	2	0,002	0,003	1304,721	0,000***
Temps * Traitement	6	0,002	0,0001	378,949	0,000***
Erreur résiduelle	48	3,993 ^{E-5}	8,318 ^{E-7}		
Totale	59	0,008			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.5 Effet sur le malondialdéhyde en phase de traitement

Dans la série de contrôle, l'activité MDA dans les fragments de chair a augmenté avec le temps jusqu'à 96 h. Le traitement au glyphosate à la fois à la CL₂₅ et à la CL₅₀ a révélé une induction dose-dépendante significative ($p < 0,0001$) de MDA après 24 à 96 h (Figure 19). L'activité la plus puissante a été observée à 48 h, comme mesuré avec CL₅₀. Une ANOVA à deux critères de la variance a révélé un effet temps très significatif ($F_{3,48} = 90,835$; $p < 0,0001$), un effet traitement ($F_{2,48} = 655,325$; $p < 0,0001$), et un effet temps/traitement ($F_{6,48} = 27,135$; $p < 0,0001$).

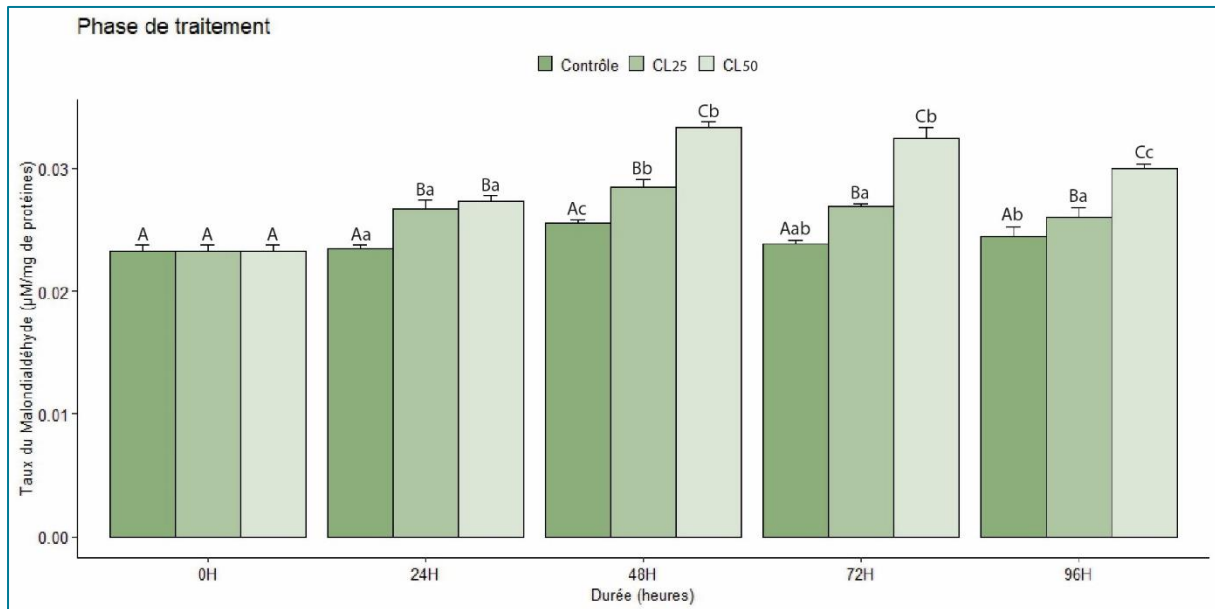


Figure 19. Effet du glyphosate (CL_{25,50}-96h) sur le taux de la MDA chez *P. adspersus* pendant les phase de traitement ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 13 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la malondialdéhyde des crevettes *P. adspersus* durant la phase de traitement.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	8,587 ^{E-5}	94917,822	90,835	0,000***
Traitement	2	0,001	2,862 ^{E-5}	655,325	0,000***
Temps * Traitement	6	5,131 ^{E-5}	8,551 ^{E-6}	27,135	0,000***
Erreur résiduelle	48	1,513 ^{E-5}	3,151 ^{E-7}		
Totale	59	0,001			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.6 Effet sur le malondialdéhyde en phase de récupération

Pendant la phase de récupération, l'activité MDA est revenue à des niveaux normaux de manière significative entre 24 et 96 heures (Figure 20). Une ANOVA à deux critères de la variance n'a révélé aucun effet significatif du temps ($F_{3,48} = 1,764$; $p = 0,167$), un effet significatif du traitement ($F_{2,48} = 8,008$; $p < 0,001$) et aucune interaction significative entre le temps et le traitement ($F_{6,48} = 0,039$; $p = 1$).

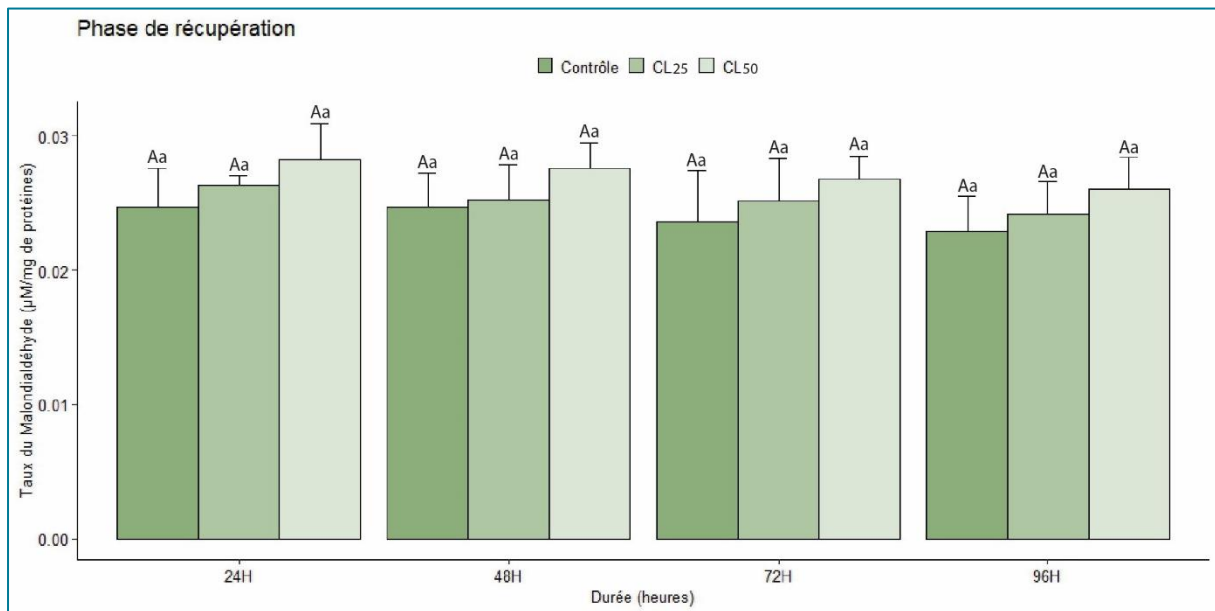


Figure 20. Effet du glyphosate sur le taux de la MDA chez *P. adspersus* pendant les phase de récupération ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée de récupération). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 14 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la malondialdéhyde des crevettes *P. adspersus* durant la phase de récupération.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	3,411 ^{E-5}	1,137 ^{E-5}	1,764	0,167 ^{NS}
Traitement	2	0,0001	5,163 ^{E-5}	8,008	0,001 ^{**}
Temps * Traitement	6	1,499 ^{E-5}	2,499 ^{E-7}	0,039	1,000 ^{NS}
Erreur résiduelle	48	0,0001	6,447 ^{E-6}		
Totale	59	0,0001			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.7 Effet sur la teneur en lipides en phase de traitement

Comme le montre la Figure 21, dans des conditions normales, la teneur en lipides dans les fragments de chair a diminué avec le temps, jusqu'à 96 h. Le traitement au glyphosate à la fois à CL₂₅ et CL₅₀ a révélé une diminution dose-dépendante significative ($p < 0,0001$) des niveaux de lipides après 24 à 96 h. La réduction la plus significative a été obtenue avec la CL₅₀ à la fin du traitement. Une ANOVA à deux critères de la variance a révélé un effet temps très significatif ($F_{3,48} = 12,763$; $p < 0,0001$), un effet traitement ($F_{2,48} = 379,597$; $p < 0,0001$) et une interaction temps/traitement significative ($F_{6,48} = 3,814$; $p = 0,003$).

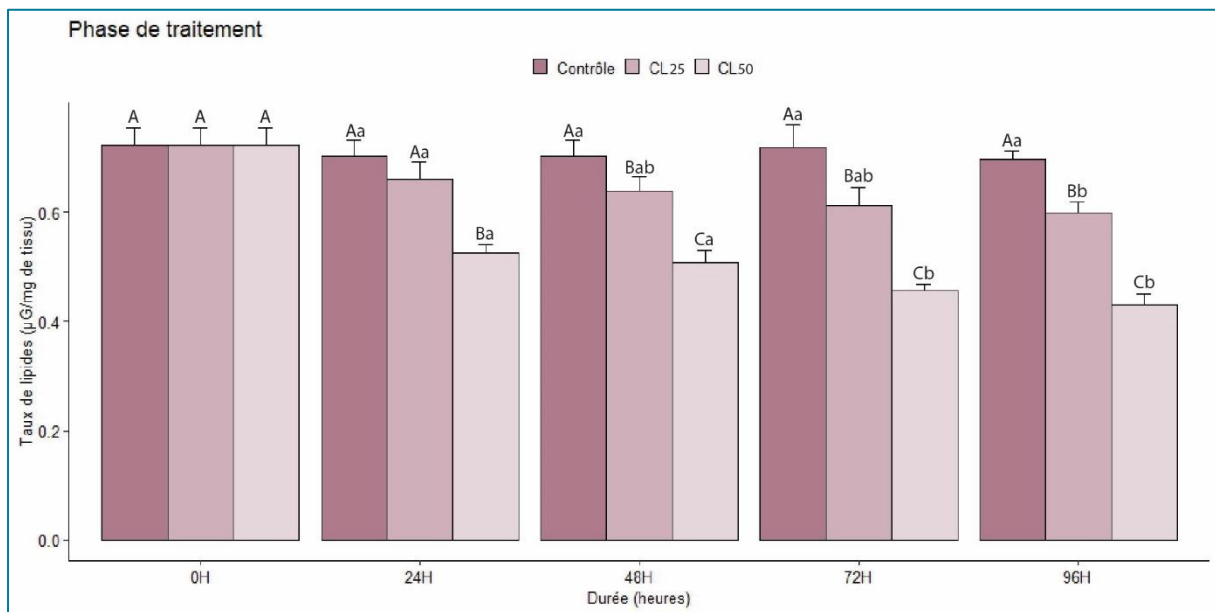


Figure 21. Effet du glyphosate (CL_{25,50-96h}) sur la teneur en lipides chez *P. adspersus* pendant les phase de traitement ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 15 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur la teneur en lipides des crevettes *P. adspersus* durant la phase de traitement.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	0,026	0,009	12,763	0,000***
Traitement	2	0,532	0,262	379,597	0,000***
Temps * Traitement	6	0,016	0,003	3,814	0,000***
Erreur résiduelle	48	0,001	0,001		
Totale	59	0,598			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.2.8 Effet sur la teneur en lipides en phase de récupération

Pendant la phase de récupération, les lipides ont été maintenus à de faibles niveaux (Figure 22). L'ANOVA à deux critères de la variance a révélé un effet significatif du temps ($F_{3,48} = 17,237$; $p < 0,0001$), un effet du traitement ($F_{2,48} = 412,549$; $p < 0,0001$) et une interaction significative entre le traitement et le temps ($F_{6,48} = 3,207$; $p < 0,01$).

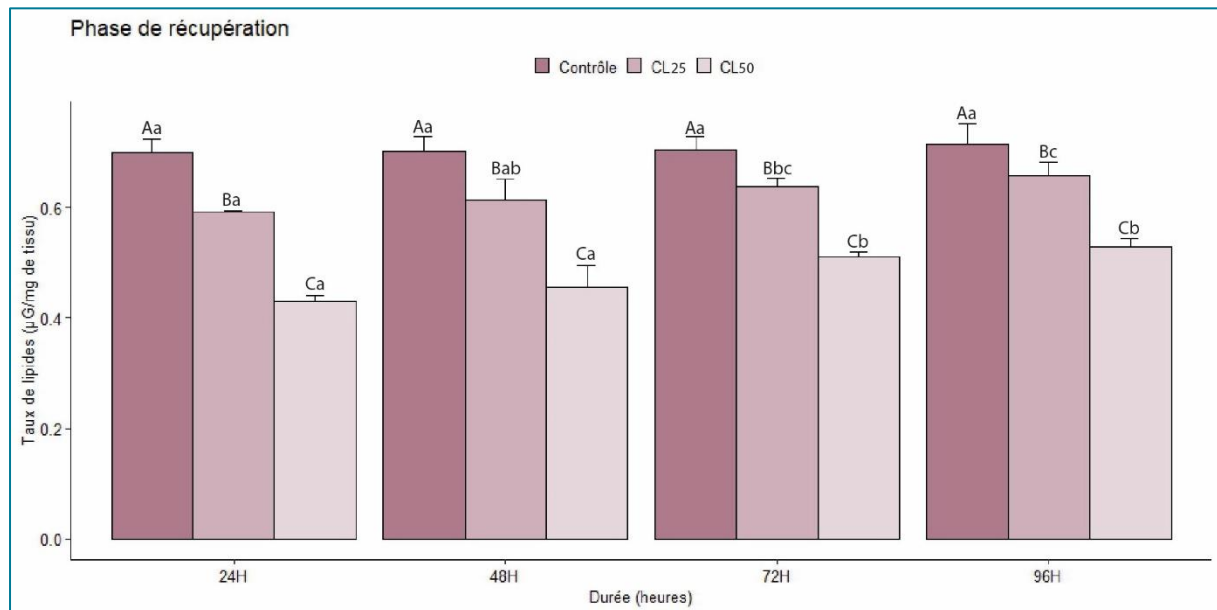


Figure 22. Effet du glyphosate sur la teneur en lipides chez *P. adspersus* pendant les phase de récupération ($m \pm SD$; $n=5$; pour chaque durée d'exposition). Les moyennes suivies par la même lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les temps, et les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

Tableau 16 : Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) sur la teneur en lipides des crevettes *P. adspersus* durant la phase de récupération.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Temps	3	0,032	0,011	17,237	0,000***
Traitement	2	0,518	0,259	412,549	0,000***
Temps * Traitement	6	0,012	0,002	3,207	0,010***
Erreur résiduelle	48	0,030	0,001		
Totale	59	0,592			

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification

3.3 Tests statistiques de corrélation entre le MDA et la teneur en lipide

L'analyse de corrélation de Bravais-Pearson (ou Pearson), utilisé pour analyser les données entre les niveaux de MDA et de lipides après les phases de traitement et de récupération, du glyphosate, est représenté à la Figure 23. Les résultats ont montré une corrélation négative hautement significative ($p= 0,001$) entre les deux variables pendant les phases de traitement et de récupération ($R=$ coefficient de corrélation, valeur $P =$ signification à $P < 0,05$). En effet, il existe une corrélation négativement forte entre le MDA et la teneur en lipides. Cela suggère que l'exposition au glyphosate est associée à une dégradation lipidique accrue due au stress oxydatif.

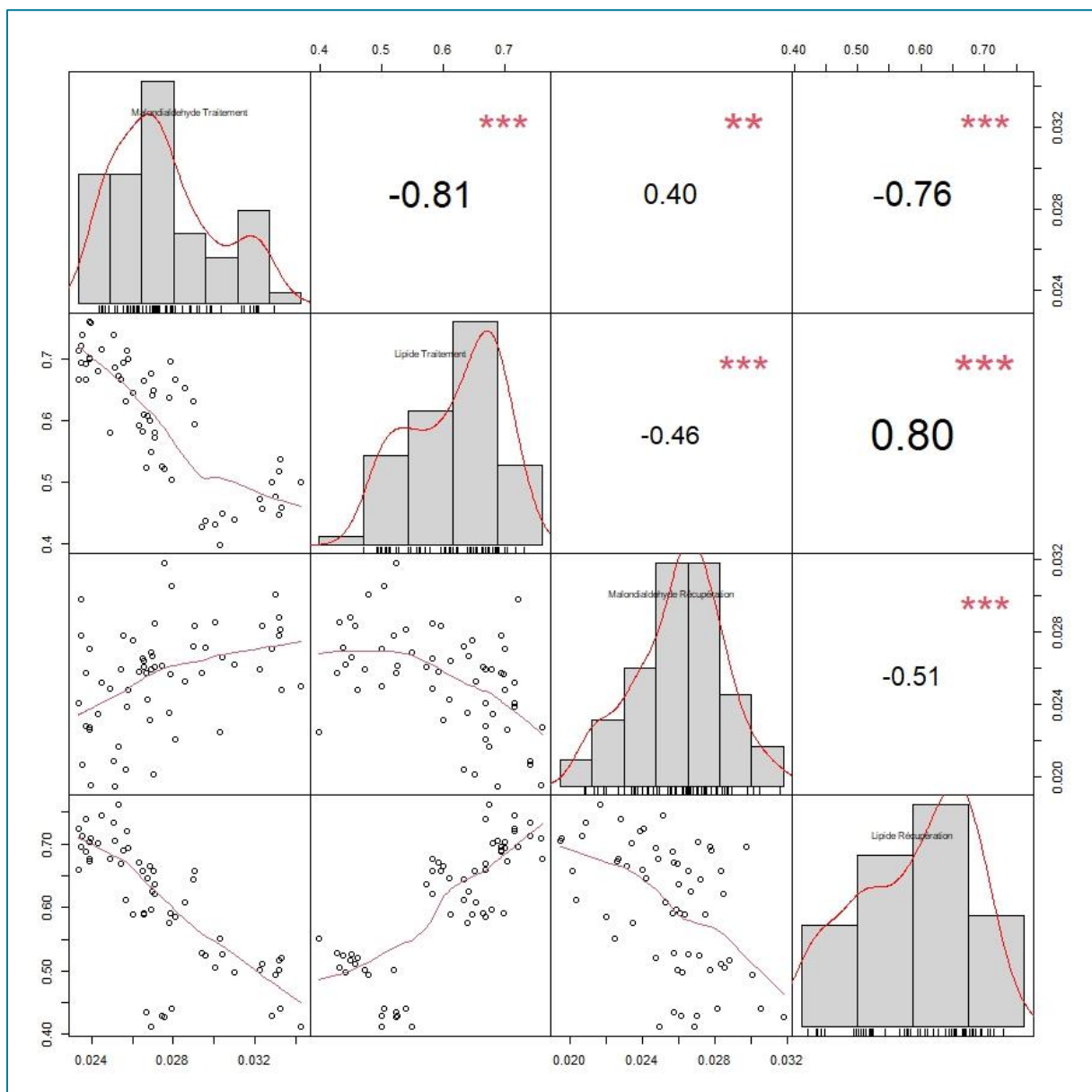


Figure 23. Test de corrélation de Pearson entre le Malondialdéhyde et la teneur en lipides.



3.4 Observations et interprétations histopathologique :

Des coupes histologiques, ont été effectuées sur les tissus musculaires, les branchies et l'hépatopancréas des crevettes *P. adspersus* pendant les phases d'exposition et de récupération. Les principaux aspects histologiques montrent les caractéristiques normales des tissus ainsi que les altérations histopathologiques dues au glyphosate. Les observations révèlent des lésions, des inflammations, de la nécrose cellulaire et d'autres changements pathologiques. Ces altérations peuvent servir de biomarqueurs pour évaluer l'exposition au glyphosate chez les crevettes, facilitant ainsi sa surveillance dans l'environnement. Dans les conditions normales des lots de contrôle, aucune déformation ou changement histologique n'est observé. En revanche, lors de l'exposition au glyphosate, des changements notables sont observés.

Une section d'un faisceau musculaire montrant une infiltration hémocytaire extensive avec une légère nécrose musculaire et une vacuolisation (dégénérescence de la fibre musculaire) suite à un traitement par le glyphosate (CL₅₀^{96h}). Pendant la phase de récupération (CL₅₀^{96h}), une régénération des fibres musculaires est observée (Figure 24).

Pour les branchies, l'épithélium et la couche cuticulaire apparaissent normaux en conditions normales (24h). Lors de l'exposition au glyphosate (CL₅₀^{24, 96h}), des soulèvements épithéliaux des lamelles, des fusions lamellaires, des œdèmes et une légère nécrose sont observés. L'autoréparation des tissus branchiaux se produit en phase de récupération, avec une réparation partielle visible (CL₅₀^{96h}) (Figure 25). Concernant l'hépatopancréas, la lumière, la membrane basale du tubule hépatique et les cellules sécrétoires restent normales en conditions normales (24h). Sous traitement (CL₅₀^{24h}), aucune altération n'est observée, mais une inflammation avec infiltration hémocytaire et légère vascularisation se produit sous traitement prolongé (CL₅₀^{96h}). L'autoréparation est notée en phase de récupération (CL₅₀^{24, 96h}) (Figure 26).

3.4.2 Effet du glyphosate ($CL_{50}^{24,96h}$) sur la structure des branchies de la *P. adspersus* en phase de traitement et de récupération :

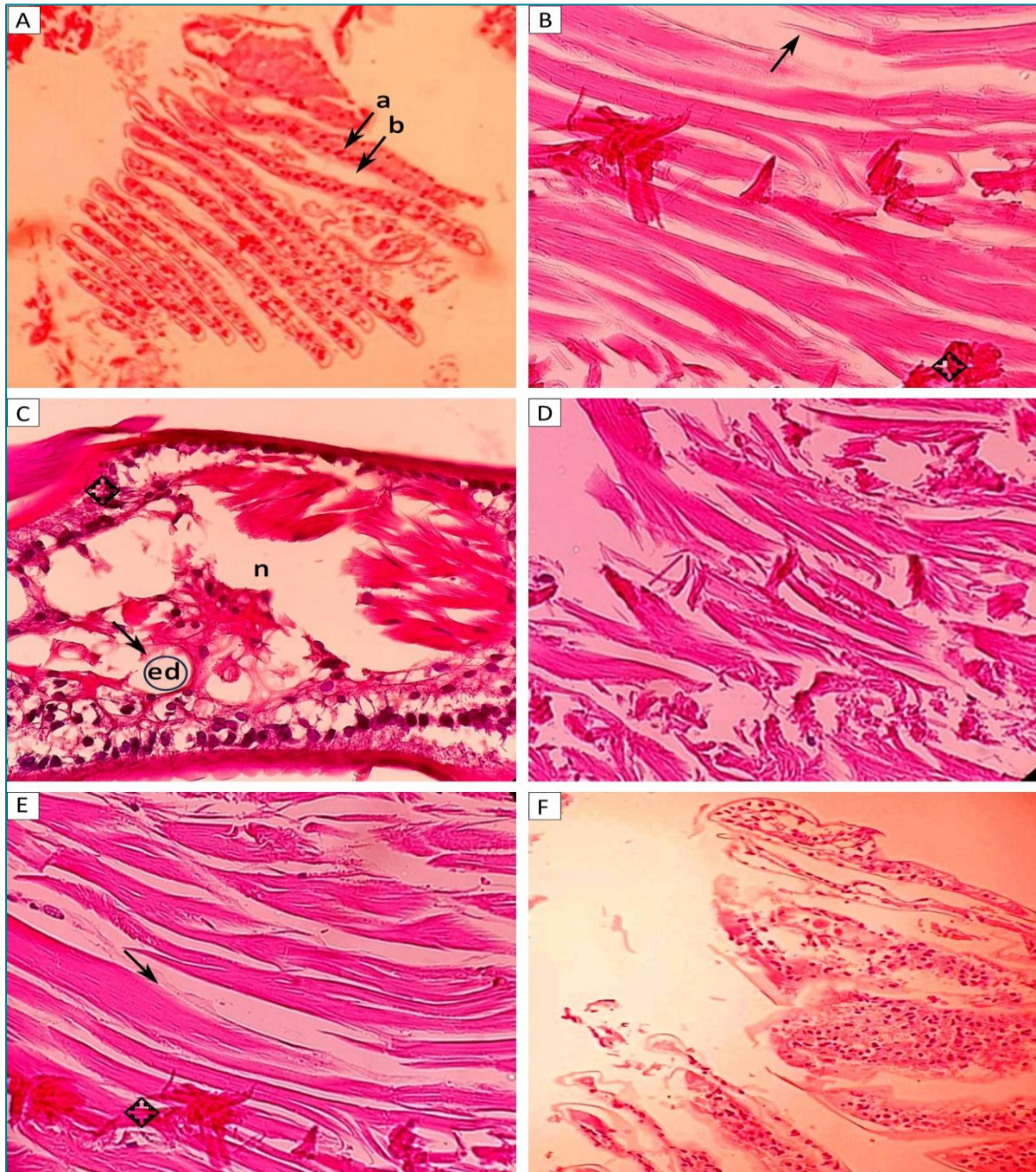


Figure 25. Coupe histologique des tissus branchiaux des crevettes *P. adspersus* colorés à l'hématoxyline et à l'éosine de Mayer-Bennet. (A) a : Épithélium, b : couche cuticulaire des branchies dans des conditions normales (24h), grossissement 10x. (B) et (C) Section histologique des tissus branchiaux dans les conditions de traitement ($CL_{50}^{24,96h}$), montrant un soulèvement épithélial des lamelles (flèche noire) et une fusion lamellaire (étoile) avec un œdème (ed) et une légère nécrose (n) respectivement, grossissement 40x. (D) et (E) Section histologique des tissus branchiaux dans des conditions normales (96h) et dans la phase de récupération respectivement, représentant une autoréparation peu remarquable, grossissement x40. (F) Section histologique des tissus branchiaux dans la phase de récupération (CL_{50}^{96h}) montrant une autoréparation partielle des branchies, grossissement x40.

3.4.3 Effet du glyphosate (CL₅₀^{24,96h}) sur la structure de l'hépatopancréas de la *P. adspersus* en phase de traitement et de récupération :

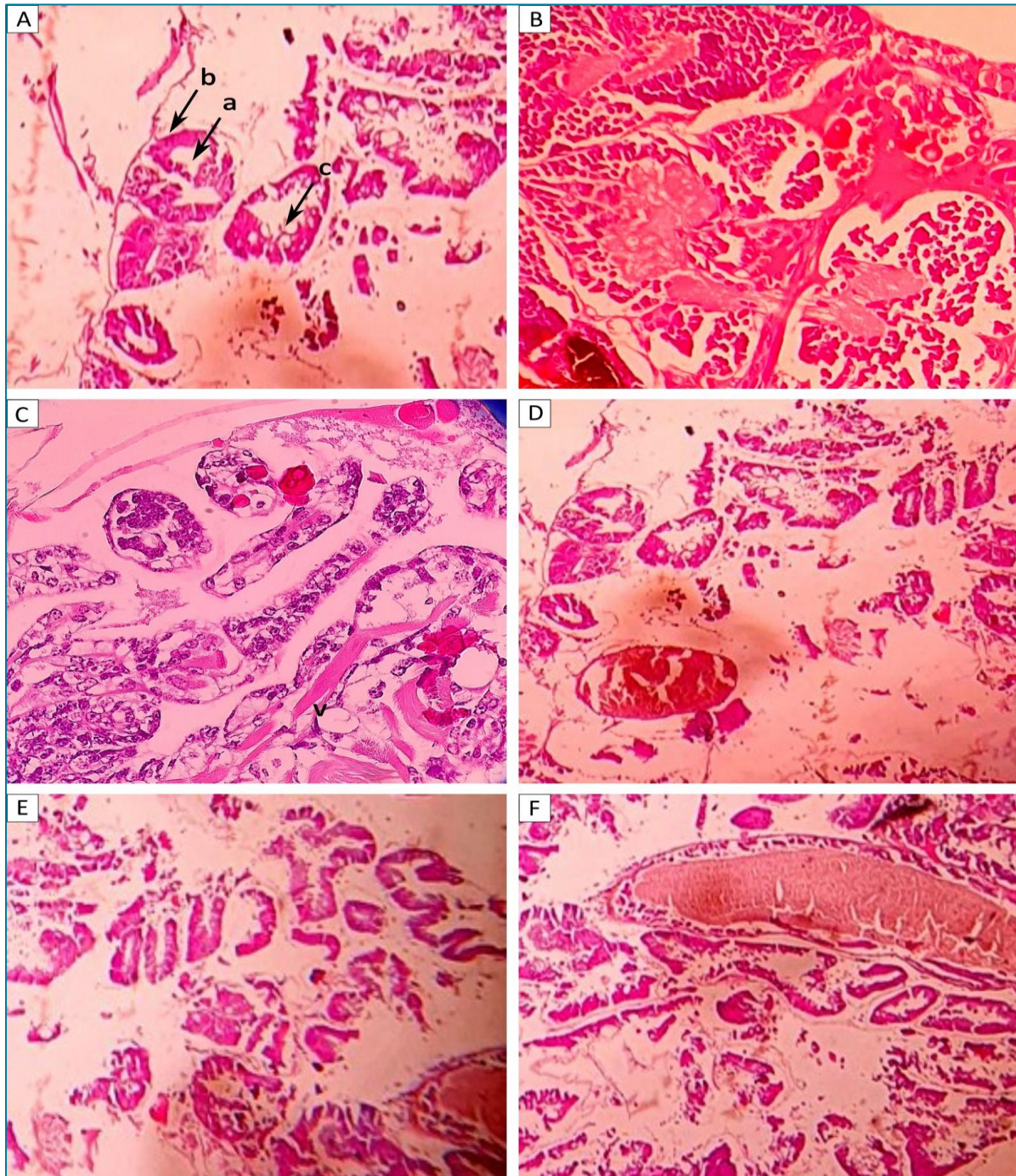


Figure 26. Coupe histologique de l'hépatopancréas des crevettes *P. adspersus* colorées avec l'hématoxyline et l'éosine de Mayer-Bennet. (A) a : lumière, b : limite de la membrane basale du tubule hépatique, c : cellules sécrétoires de l'hépatopancréas dans les conditions normales (24h), grossissement 10x. (B) Section histologique de l'hépatopancréas dans les conditions de traitement (CL₅₀^{24h}), grossissement 40x, sans changement observé. (C) Section histologique de l'hépatopancréas dans les conditions de traitement (CL₅₀^{96h}), montrant une irritation avec une infiltration hémocytaire et une légère vascularisation (v), grossissement 40x. (D, E, F) Section histologique de l'hépatopancréas dans les conditions normales et en phase de récupération montrant une capacité d'autoréparation en phase de récupération (CL₅₀^{24,96h}), grossissement 40x.

DISCUSSION



4 DISCUSSION

Les crustacés décapodes représentent une vaste et diversifiée catégorie d'organismes (Ajeegah et al., 2017). Du point de vue écologique, ils jouent un rôle clé dans les écosystèmes en tant qu'espèces essentielles de la chaîne alimentaire et sont économiquement significatifs dans l'industrie de la pêche (Lionetto et al., 2013). Ils servent également de modèles biologiques pour évaluer l'impact des substances étrangères telles que *Gammarus spp* (Consolandi et al., 2019), *Gammarus fossarum* (Lebrun & Gismondi, 2020), *Palaemon* (González-Castellano et al., 2015) et *Macrobrachium rosenbergii* (Mostafiz et al., 2020). En raison de leur distribution mondiale et de leur sensibilité aux pesticides, les crevettes sont proposées comme indicateurs de la santé des estuaires, justifiant leur utilisation dans l'évaluation de l'impact des pesticides (García-de la Parra et al., 2006). Dans un contexte récent, les pesticides synthétiques sont devenus omniprésents pour améliorer la productivité et la qualité des cultures agricoles (Ali et al., 2018). Les pesticides organophosphorés ont notamment supplanté les composés organochlorés dans les pratiques agricoles intensives, en raison de leur décomposition plus rapide et de leur moindre persistance dans les tissus animaux (Kumar et al., 2014). Cependant, la présence de résidus de ces substances dans les eaux, notamment celle des herbicides, pose un sérieux problème environnemental. En effet, cela peut perturber l'équilibre naturel des écosystèmes aquatiques, entraînant une diminution de la diversité des espèces, des altérations dans les chaînes alimentaires et le cycle des éléments nutritifs, ainsi qu'une fragilisation de la stabilité et de la résilience des écosystèmes (Alishahi et al., 2016). Ces conséquences mettent en lumière la nocivité des herbicides tant pour les organismes aquatiques que pour l'environnement dans son ensemble (Rahnama et al., 2018).

Le glyphosate, principal ingrédient actif de nombreux herbicides tels que le Rondo[®], a une demi-vie dans le sol qui est affectée par la composition minérale et organique, les conditions climatiques et l'activité microbienne (Avigliano et al., 2018). Dans le sol, les valeurs de demi-vie sont de l'ordre de 1,7 à 197 jours (Giesy et al., 2000), 16,9 à 151 jours (Bergström et al., 2011) et 30 à 174 jours (Singh & Walker, 2006), mais dans certains cas, le glyphosate reste détectable même après plusieurs mois (Laitinen et al., 2009). Pour les écosystèmes d'eau douce, Annett et al., (2014) ont rapporté une demi-vie de 7 à 142 jours. D'autres auteurs ont enregistré des valeurs de demi-vie pour les eaux de surface entre 1,5 et 16 jours (Vera et al., 2010), tandis que Mallat & Barceló (1998) ont observé une demi-vie de 60 à 770 heures pour les eaux souterraines. Dans l'eau de mer, la demi-vie de ce phytocide a été estimée à 47 ± 7 jours à 25 °C en condition de lumière, 267 ± 21 jours à la même température mais dans l'obscurité, et 315



Discussion

± 29 jours dans l'obscurité à 31 °C (Mercurio et al., 2014). La dégradation environnementale du glyphosate est principalement due par l'activité microbienne (Kryuchkova et al., 2014), tandis que le composé est plus résistant à la photolyse et à la décomposition chimique (Vera et al., 2010). De plus, un parcours de dégradation abiotique du glyphosate en raison du minéral de manganèse birnessite, couramment présent dans le sol, a également été proposé (Paudel et al., 2015). Les bactéries et les champignons dégradent le glyphosate à travers deux voies biochimiques principales (La Cecilia et al., 2018): la voie de la lyase C-P et la voie de l'AMPA (Helander et al., 2012), leur permettant d'utiliser l'herbicide comme source de phosphore (P), azote (N) et carbone (C) (Zhan et al., 2018).

De plus, l'utilisation extensive de pesticides peut entraîner leur introduction accidentelle dans les eaux douces et marines, présentant ainsi un risque écotoxicologique élevé pour les organismes aquatiques, en particulier lors de leurs premiers stades de vie. Bien que l'intérêt pour la présence d'herbicides comme le glyphosate dans les écosystèmes aquatiques soit croissant, les informations sur leurs effets sur les espèces marines non ciblées, notamment les invertébrés, restent limitées (Velisek et al., 2014). Par conséquent, l'étude des effets de ces composés sur les espèces aquatiques non ciblées revêt une importance cruciale. Les effets toxiques causés par l'exposition à ces substances peuvent être catégorisés selon la durée d'exposition, qui peut être à court ou à long terme, et selon le type d'exposition, qui peut être létale ou sublétale. La période d'exposition à court terme ne dépasse pas 96 heures, tandis que l'exposition à long terme est considérée comme étant de plus de 96 heures (Tableau 17).

Tableau 17 : Classification des effets des animaux exposés aux produits chimiques (Shefali et al., 2021)

Classification de l'exposition	Classification basée sur les effets	Description
Temps d'exposition	Court-terme	≤ 96 h (la mortalité est mesurée comme critère d'évaluation).
	Long-terme	Mesure du niveau cellulaire/moléculaire/biochimique/physiologique comme critère d'évaluation.
Type d'exposition	Létale	≥ 96 h (la mortalité est mesurée comme critère d'évaluation).
	Sublétale	Mesure du niveau cellulaire/moléculaire/biochimique/physiologique comme critère d'évaluation.

Les effets du glyphosate et de ses formulations sur la faune marine, en particulier les invertébrés, restent largement méconnus (Agbohessi & Imorou Toko, 2021), avec seulement quelques groupes taxonomiques étudiés à ce jour (Tableau 18).



Tableau 18 : Effets du glyphosate (en tant qu'ingrédient actif) et de ses formulations commerciales (HBG) sur d'autres invertébrés marins (Crustacés).

Composé testés	Concentrations	Espèces Crustacés	Effets	Références
Roundup® Glyphosate AKB 480	5, 10, 25, 50 et 100 (mg/L)	<i>Artemia salina</i>	Augmentation des taux de mortalité, même si le Roundup était plus toxique que l'AKB	De Brito Rodrigues et al., 2017
Roundup® Pro	103 à 107 (g/L) (Exposition in vivo)	<i>Clinectes sapidus</i>	Détermination de la CL ₅₀	Osterberg et al., 2012
Glyphosate (ingrédient actif)	0,02; 0,2 et 1 (mg/L) (Exposition in vivo)	<i>Neohelice granulata</i>	Détermination de la CL ₅₀	Avigliano et al., 2018
Roundup Ultramax®	0 et 0,2 (mg/L) (Exposition in vivo)	<i>N. granulata</i>	Diminution du poids corporel aucun effet sur l'indice gonado-somatique aucun effet sur la teneur en protéines vitello-géniques de l'ovaire augmentation du pourcentage d'ovocytes vitello-géniques réabsorbés	Canosa et al., 2018
Glyphosate (ingrédient actif)	0 à 0,98 (mg/L)	<i>Eriocheir sinensis</i>	Suppression du système immunitaire et lésions de l'ADN	Hong et al., 2017
Roundup	1,40 ; 2,80 et 5,60 (mg/L)	<i>Macrobrachium nipponensis</i>	Effets génotoxiques	Hong et al., 2018
Glyphosate et la polyoxyéthylénamine (POEA)	1,20 et 2,65 (mg/L)	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Effet sur les réserves énergétiques	Frontera et al., 2011
Roundup®	2,5 ; 7 et 25,3 (mg/L)	<i>Caridina nilotica</i>	Comportement	Mensah et al., 2011
Glyphosate (ingrédient actif)	10, 20 et 40 (µg/L)	<i>Gammarus pulex</i>	Effet sur le stress oxydatif	Pala, 2019
Roundup	390 (µg/L)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Détermination de la CL ₅₀	Tsui & Chu, 2003



4.1 Effet sur la toxicité aiguës

L'étude de Tsui & Chu (2003) a permis de mettre en évidence la présence de glyphosate dans les milieux aquatiques, explorant son impact sur divers organismes, notamment les crustacés *C. dubia* et *Acartia tonsa*, ainsi que sur d'autres éléments tels que les bactéries, les algues et les protozoaires.

En effet, les concentrations sublétales et létales de notre étude CL_{50} et CL_{25} à 24, 48, 72 et 96 heures sont estimées à environ (1,35 et 1,25 mg/L), (1,20 et 1,09 mg/L), (1,16 et 1,06 mg/L) et (1,14 mg/L et 1,06 mg/L), respectivement. Les crevettes sont donc sensibles au glyphosate et leurs concentrations létales sont inférieures à celles d'autres espèces, telles que *M. nipponense* (Hong et al., 2018), *C. nilotica* (De Souza Filho et al., 2014) et *G. pulex* (Pala, 2019).

Une attention particulière a été portée à la toxicité aiguë du glyphosate sur les différents stades de vie des espèces crustacés. Par exemple, la toxicité aiguë de deux formulations à base de glyphosate, à savoir Roundup® Original et glyphosate AKB 480 (AKB), sur les premiers stades de vie du crustacé *Artemia salina* a été étudiée ce qui a entraîné une augmentation significative du taux de mortalité, même si Roundup® était plus toxique que le glyphosate AKB 480 (De Brito Rodrigues., 2017).

En outre, des recherches menées sur la crevette d'eau douce *M. nipponense* ont estimé que la valeur CL_{50} du glyphosate après 96 heures d'exposition était d'environ 57,68 mg/L. Tandis que celle chez la crevette *G. pulex* ne dépassait pas 403 µg/L (Pala, 2019). Dans notre étude, les crevettes ont généralement présenté le premier effet négatif après 48 heures. Lorsque les premiers effets du glyphosate sont apparus, la mortalité a augmenté à des intervalles de concentration très courts. En effet, la $CL_{10,25,50}$ et la CL_{90} varient de 0,99 à 1,31 mg/L. Avec la phase de récupération, les crevettes ont pu retrouver leur état initial après 48 heures. Ces résultats suggèrent une différence de sensibilité des crevettes aux herbicides à base de glyphosate. Cependant, divers auteurs ont documenté que le glyphosate pur peut être relativement moins toxique pour les organismes aquatiques (Bridi et al., 2017). Néanmoins, ses formulations sont souvent plus toxiques pour les organismes aquatiques en raison de l'ajout de surfactants utilisés pour améliorer sa pénétration dans les plantes (Fiorino et al., 2018). Ceci confirme que les crevettes sont hautement sensibles aux formulations d'herbicides à base de glyphosate (HBG) dû à une variété de comportements et d'habitats (Agbohessi & Imorou Toko, 2021).



Discussion

Pour les larves et les adultes de la crevette d'eau douce *C. nilotica*, les valeurs respectives étaient de 2,45 mg/L et 27,76 mg/L (Mensah et al., 2015). Le poisson néotropical *Prochilodus lineatus* a présenté des valeurs autour de 13,69 mg/L (Langiano & Martinez, 2008), tandis que l'espèce d'eau froide *Salmo salar* a enregistré une valeur de 42 mg/L (Servizi et al., 1987).

Dans le cas du crabe bleu *Callinectes sapidus*, la toxicité aiguë de Roundup® Pro sur les mégalopes de crabe et les juvéniles des stades J1 à J4 a été étudiée après une exposition de 24 heures et la valeur de la CL₅₀ atteignait 316 mg/L (Osterberg et al., 2012). Globalement, les résultats de ces études susmentionnées suggèrent que les différences dans les valeurs de CL₅₀ peuvent être dues à des composés différents testés et aux espèces utilisées à différents stades de leur développement (Matozzo et al., 2020). Une exposition pendant 90 jours durant la période pré-reproductive (hiver) des femelles du crabe estuarien *N. granulata* au glyphosate (0,02, 0,2 et 1 mg/L) a entraîné une diminution du poids corporel avec toutes les concentrations testées. Alors, qu'aucune altération de l'indice gonadosomatique et du contenu en protéines vitellogéniques n'a été enregistrée. Cependant, une augmentation significative du pourcentage d'ovocytes vitellogéniques réabsorbés a été observée chez les crabes exposés à 1 mg/L du glyphosate, suggérant que ce produit peut affecter à la fois la croissance somatique et ovarienne chez l'espèce étudiée (Avigliano et al., 2018).

4.2 Effet du glyphosate sur les biomarqueurs

Les biomarqueurs biochimiques sont couramment utilisés pour évaluer les réponses biologiques induites par le stress lorsqu'un organisme est exposé à des polluants (Blank do Amaral et al., 2020). Dans le cadre de l'analyse des possibles effets néfastes du glyphosate sur *P. adspersus*, une batterie de biomarqueurs de neurotoxicité, de stress oxydatif et histologique a été déterminée. Le mécanisme d'action des organophosphorés (OP) comprend l'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE), essentielle à la transmission nerveuse et au développement neuronal du système nerveux central. Par ailleurs, les OP agissent en tant que perturbateurs endocriniens, engendrant des effets génotoxiques et immunotoxiques, ainsi qu'un stress oxydatif, bien qu'ils ne semblent pas augmenter les niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) chez les organismes aquatiques (Ali et al., 2018).

4.2.1 Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase



Discussion

De nombreuses études ont souligné l'intérêt de la mesure de l'inhibition de l'AChE chez les invertébrés aquatiques en tant que biomarqueur d'exposition/effet dans les eaux côtières et les rivières (Lionetto et al., 2013). Cependant, les cholinestérases sont des enzymes hautement polymorphes chez les invertébrés, codées par un certain nombre de gènes variant selon les espèces, ce qui nécessite de la prudence dans l'utilisation de l'AChE pour diagnostiquer l'exposition aux pesticides et la toxicité chez les invertébrés (Girard, 2006). L'activité de l'AChE a été identifiée et caractérisée biochimiquement dans de nombreuses espèces d'invertébrés aquatiques (Bonifacio et al., 2020), en particulier dans les mollusques bivalves comme les moules, qui sont largement utilisées dans le cadre de biosurveillance. Aussi, les crabes car ils sont capables d'accumuler des contaminants à la fois à partir de l'eau et de différents types de nourriture et atteignent souvent des niveaux de contamination plus élevés que d'autres organismes, tels que les moules (Micheletti et al., 2007).

Les modifications de l'activité de l'AChE ont également été associées à des changements de comportement (Bonifacio et al., 2020). Cependant, les résultats de la présente étude indiquent que l'activité de l'AChE chez *P. adspersus* a été inhibée de manière dose-dépendante après 24 à 96 heures et que lorsque les individus ont été transférés dans de l'eau propre, ils ont montré des schémas de récupération rapides. De nombreuses recherches ont fait état d'une diminution de l'activité de l'AChE chez les organismes aquatiques exposés au glyphosate pur ou aux formulations de glyphosate (Menéndez-Helman et al., 2012). Pala (2019) a également constaté une inhibition de l'activité de l'AChE chez la crevette *G. pulex* exposée à des concentrations sublétales de glyphosate (10, 20 et 40 µg/L) pendant 24 et 96 heures. Par ailleurs, le glyphosate pur a démontré une inhibition de l'activité de l'AChE in vitro chez des poissons tels que *Danio rerio* et *Jenynsia multidentata*, montrant une dépendance à la concentration (Sandrini et al., 2013). Des études antérieures ont montré que l'activité de l'AChE était inhibée après une exposition à des concentrations de 0,2 et 0,4 mg/L de Roundup® (glyphosate) pendant 96 h chez le poisson *Rhamdia quelen* (Gluszczak et al., 2007). De même, une réduction significative de 1,5 fois de l'activité AChE a été observée chez le polychète *Laeonereis acuta* après une exposition au Roundup à des concentrations de 3,25 et 5,35 mg/L pendant 96 h (De Melo Tarouco et al., 2017). En outre, des concentrations de glyphosate, allant de 0,075 à 15 mM, ont inhibé l'activité de l'AChE de manière dose-dépendante dans les branchies et les muscles de la moule brune marine, *Perna perna*. Cette activité enzymatique a été supprimée de plus de 50 %, même aux plus faibles concentrations testées (0,75 à 1 mM) chez *P. perna* que chez *D. rerio* et *J. multidentata* (Matozzo et al., 2020). L'inhibition de l'activité de l'AChE a également été observée chez les crabes *Carcinus maenas* exposés au fluoranthène (Rodrigues & Pardal, 2014),



Discussion

chez les crevettes *Macrobrachium borelli* contaminées par des organophosphorés (Lavarías et al., 2013), et chez les crevettes d'eau douce *Palaemonetes argentinus* exposées à l'organophosphoré fenitrothion (Lavarías & García, 2015). De plus, il a également été démontré que le glyphosate affecte les paramètres hématocytaires chez les espèces bivalves (Matozzo et al., 2019) et perturbe les gènes impliqués dans l'apoptose, la réponse immunitaire, le métabolisme énergétique, l'homéostasie du Ca^{2+} , la signalisation cellulaire et la réponse au stress du réticulum endoplasmique (Milan et al., 2018).

4.2.2 Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase

Les glutathion S -transférases (GST) sont des enzymes souvent utilisées comme biomarqueurs de composés généralement présents dans les zones portuaires, tels que les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP) et les pro-oxydants (Van der Oost et al., 2003). Les glutathion S-transférases (GST) constituent une famille d'enzymes essentielle au maintien d'un mécanisme de détoxification important (Sturve et al., 2021). Elles inactivent les métabolites secondaires tels que les aldéhydes insaturés, les époxydes et les hydroperoxydes (Allocati et al., 2018). Les GST jouent également un rôle important dans la détoxification des toxiques électrophiles tels que certains groupes de pesticides (Piner Benli & Çelik, 2021), les métaux lourds et les substances cancérogènes (Mazari et al., 2023).

Dans la présente étude, l'activité de la GST dans la chair des séries traitées au glyphosate aux deux concentrations (CL_{25} et CL_{50}) a augmenté progressivement et de manière significative à 48, 72 et 96 heures. Cependant, aucune période de latence n'a été observée chez les crevettes avant la première induction. En revanche, pendant la phase de récupération, l'activité de la GST a diminué de manière dose-dépendante à 72 et 96 heures.

Diverses recherches utilisant différents composés contre des espèces de crevettes ont montré une augmentation significative de l'activité de la GST, y compris *P. argentinus* exposé au fenitrothion (Lavarías & García, 2015), *M. borelli* traité avec des insecticides organophosphorés (Lavarías et al., 2013), et *Palaemon serratus* exposé au benzopyrène (BaP) (Silva et al., 2013). Cette augmentation a déjà été observée dans des études antérieures sur *P. adspersus* exposé au thiaméthoxame, un néonicotinoïde dont le produit commercial est l'Actara (Berghiche et al., 2018), et au diflubenzuron, un inhibiteur de la synthèse de la chitine (Lechekhab & Soltani, 2018), à des concentrations létales et sublétales. Selon Velisek et al., (2020), les niveaux de GST ont augmenté chez l'écrevisse marbrée *Saron marmoratus* après exposition au métazachlore et à son métabolite principal, le métazachlore OA, aux deux concentrations (0,0115 $\mu\text{mol/l}$ et 0,0790 $\mu\text{mol/l}$) ainsi qu'au métazachlore OA (0,0117 $\mu\text{mol/l}$ et 0,0805



$\mu\text{mol/l}$). Roundup induit un stress oxydatif chez les organismes aquatiques, tels que le poisson rouge *Carassius auratus* (Lushchak et al., 2009), *P. lineatus* (Modesto & Martinez, 2010) et *Anabas testudineus* (Samanta et al., 2014). L'expression de l'activité de la (GST) chez le poisson zèbre *D. rerio* a présenté une augmentation notable et temporellement dépendante suite à une exposition prolongée de trois jours à trois sulfamides distincts, à savoir le sulfaméthoxazole, le sulfadiazine et le sulfadimidine, conformément à l'étude menée par Lin et al., (2014). Par ailleurs, des constatations similaires ont été rapportées dans d'autres études portant sur différentes espèces. Amira et al., (2018) ont révélé l'impact de l'accumulation de métaux dans les sédiments sur la moule *Donax trunculus*, Lechekhab (2018) a documenté les effets observés après l'application de spiromesifen sur *P. adspersus*, tandis que Cheghib et al., (2020) ont démontré de manière significative l'effet de thiamethoxan sur le poisson *Gambusia affinis* à diverses concentrations.

4.2.3 Effet sur le malondialdéhyde

La peroxydation lipidique (LPO) est considérée comme un biomarqueur important des dommages cellulaires en raison de l'interaction entre les radicaux et les lipides membranaires (El-Beltagi & Mohamed, 2013). Les systèmes antioxydants et de détoxification sont incapables de neutraliser les intermédiaires actifs produits par les xénobiotiques et leurs métabolites, ce qui entraîne la production de MDA, qui est un indicateur primaire de la peroxydation lipidique (Halliwell, 1994). Les pesticides, les métaux et d'autres xénobiotiques provoquent la peroxydation des lipides, qui est la première étape de l'endommagement des membranes cellulaires et est considérée comme un indicateur important des dommages oxydatifs dans les composants cellulaires (Sule et al., 2022). La présente expérience a montré que le groupe exposé au glyphosate présentait des niveaux de MDA plus élevés en fonction de la dose que les groupes contrôles. En outre, lorsque les crevettes ont été retirées du milieu au glyphosate et remplacées par de l'eau de mer non traitée, les niveaux de MDA dans la chair des crevettes sont rapidement revenus à des niveaux normaux, c'est-à-dire après 24 heures de récupération. De plus, la corrélation négative entre les niveaux de MDA et de lipides reflète la peroxydation des lipides. De nombreuses études ont également rapporté des changements similaires dans les niveaux de MDA chez certains organismes aquatiques exposés au glyphosate. Les conclusions d'une recherche menée sur le crustacé d'eau douce *G. pulex* par Pala (2019) révèlent une augmentation notable des taux de MDA dans les cohortes exposées à l'herbicide glyphosate pendant toutes les phases d'exposition. Des recherches antérieures ont montré que l'inflammation induite par le glyphosate contribue au métabolisme des lipides chez les poissons



Discussion

(Liu et al., 2021). Samanta et al., (2014) ont noté une augmentation significative des niveaux de peroxydation des lipides dans divers tissus du poisson *A. testudineus* exposé au glyphosate (formulation de l'herbicide à base de glyphosate, Excel Mera-71) pendant 30 jours. Kaya et al., (2012) ont rapporté des niveaux élevés de MDA dans le plasma du poisson *Capoeta capoeta* après une exposition de 10 jours au glyphosate à une concentration de 0,02 mg/L. Plusieurs études ont été menées sur des organismes aquatiques et ont montré que les niveaux de MDA augmentent en fonction du temps d'exposition et de la concentration en pesticide, comme l'a démontré Khebbeb et al., (2010) une induction significative de MDA dans plusieurs tissus de la palourde *Ruditapes decussatus* exposée au cadmium. Les travaux Amamra et al., (2019) ont également constaté une induction de MDA chez *D. trunculus* prélevés dans le golfe d'Annaba, en raison d'une contamination domestique. En outre, des niveaux élevés de peroxydation lipidique, liés à la contamination métallique, ont été observés chez les troncs d'eau douce le crabe *C. maenas* collecté dans la lagune de Bizerte par rapport à un site de référence (Ben-Khedher et al., 2013). En revanche, les résultats ont montré une corrélation négative hautement significative entre les deux variables pendant les phases de traitement et de récupération. Nos résultats sont complémentaires à ceux rapportés par d'autres auteurs pour le glyphosate et les formulations à base de glyphosate et suggèrent un effet délétère sur les animaux. Chez les crustacés, l'exposition au Roundup peut perturber la production et l'élimination des ROS, conduisant à une diminution de l'efficacité des défenses antioxydantes voire à des dommages oxydatifs (Husak et al., 2022). Les résultats révèlent une réaction dose-dépendante du glyphosate, engendrant à la fois une neurotoxicité, une induction de dommages oxydatifs, et une altération de l'activité antioxydante, lors d'une exposition à des concentrations sublétales et létales. Par ailleurs, des recherches ont démontré une corrélation significative entre l'inhibition de l'ACHé et les modifications de l'activité des enzymes antioxydantes chez diverses espèces exposées aux pesticides. Cette corrélation a été observée chez les moules, les poissons (Kavitha & Rao, 2008), et même chez les humains (López et al., 2007).



4.3 Effet du glyphosate sur les altérations tissulaires

La contamination des environnements naturels et les réponses biologiques des organismes exposés nécessitent une exploration approfondie (De melo et al., 2019). Les recherches montrent que les changements environnementaux peuvent causer des dommages histologiques chez les crevettes, lesquelles sont particulièrement sensibles aux pesticides (Wang et al., 2020). L'examen histopathologique est un outil précieux pour évaluer l'impact des polluants sur les animaux aquatiques (De melo et al., 2019). En effet, l'analyse histologique détecte efficacement les modifications cellulaires dans les organes vitaux tels que la peau, les branchies, le foie et les reins (Capkin et al., 2010). L'exposition des invertébrés à des pesticides révèle des réponses inflammatoires et des réactions toxiques au niveau cellulaire (Altinok & Capkin, 2007). Dans le milieu aquatique, les xénobiotiques sont principalement absorbés par les branchies et la peau (Bisson & Hontela, 2002). Une étude sur les crevettes exposées au glyphosate pendant 24 et 96 heures à la concentration létale CL_{50} , a révélé diverses altérations structurales, notamment la fusion lamellaire, l'hyperplasie lamellaire, le soulèvement épithélial, la vacuolisation, la nécrose épithéliale, ainsi qu'un œdème.

Les effets du glyphosate sur les invertébrés, notamment les crustacés palémonidés, sont peu étudiés, malgré les risques posés par leurs habitudes alimentaires. Il a été observé que les (HBG) affectent les processus de mue et de reproduction des décapodes (Mensah et al., 2012). Cette étude a évalué les effets cytotoxiques des concentrations écologiquement pertinentes de glyphosate sur les tissus musculaires, les branchies et l'hépatopancréas, montrant que les branchies et le tissu musculaire étaient les plus affectés, certains tissus montrant des signes de restauration et d'autres des altérations irréversibles, confirmant ainsi plusieurs résultats antérieurs.

4.3.1 Effet du glyphosate sur les tissus musculaires de *P. adspersus*

Dans la présente étude, plusieurs altérations histopathologiques ont été observées dans le tissu musculaire de *P. adspersus* lorsqu'ils ont été exposés à une concentration létale de glyphosate. Les résultats histopathologiques incluent des processus de fragmentation par division du muscle (DM), de dégénérescence de la fibre musculaire (DFM), de vacuolisation et d'infiltration hémocytaire (I). De plus, un gonflement et une perte de striations associés simultanément à la fragmentation des fibres musculaires et de légère nécrose avec quelques pigmentations des cellules pendant la phase de traitement à 24 et 96 heures. Wang et al., (2020) ont observé chez



Discussion

la crevette blanche du pacifique *Litopenaeus vannamei* que les faisceaux musculaires présentaient une nécrose focale généralement accompagnée d'une infiltration hématocytaire modérée après un stress thermique élevé (Madeira et al., 2015). Ils ont également constaté que la crevette a une capacité d'autoréparation en cas de fluctuation de la température. Comme le tissu musculaire est le site primaire d'exposition, les polluants ont affecté l'épiderme musculaire de manière abrupte. Les cellules pigmentées sont une caractéristique prédominante de la réponse inflammatoire chronique. La présente enquête s'accorde étroitement avec un rapport similaire de (Tehrani et al., 2011) dans les tissus musculaires du crustacé *Artemia urmiana* en réponse aux pesticides carbamates, entraînant une dégénérescence, une nécrose de Zenker des fibres musculaires avec des hémorragies et des cellules semblables à des globules rouges. L'exposition du poisson *Labeo rohita* au lindane (HCH) a été trouvée pour induire la séparation des faisceaux musculaires accompagné un œdème intracellulaire dans les tissus musculaires. De plus, (Fatma, 2009) a observé une dégénérescence des faisceaux musculaires avec des agrégats de cellules inflammatoires et des zones focales de nécrose dans les tissus musculaires des poissons *Tilapia zillii* et *Solea vulgaris* exposés aux métaux lourds. De telles observations ont également été faites dans les tissus musculaires d' *Oreochromis mossambicus* exposés au diméthoate. Les altérations histopathologiques dans les tissus musculaires d' *Heteropneustes fossilis* exposés à l'eau de rivière polluée ont également été enregistrées par (Rakhi et al., 2013). Azadikhah et al., (2023) ont confirmé ces résultats en observant des lésions tissulaires à différents degrés chez tous les individus exposés au glyphosate (41%) à (50, 100 et 150 ml/L), les changements histopathologiques ont commencé à être observés au traitement avec la concentration de polluants la plus faible démontrant de légère fusion lamellaire et une hyperplasie basale et distale modérée à une concentration de (100 ml/L), notamment les lésions qui ont augmenté en gravité. Ils ont également signalé un léger anévrisme lamellaire, une infiltration leucocytaire et une légère nécrose.

4.3.2 Effet du glyphosate sur les tissus de branchies de *P. adspersus*

Chez les crustacés d'eau douce, les branchies sont des organes vitaux impliqués dans l'échange gazeux, l'absorption de sels, l'équilibre acido-basique et l'excrétion de composés azotés. Comme les branchies sont en contact étroit avec l'eau, ils ont été mentionnés depuis longtemps reconnus comme un indicateur précieux de la pollution aquatique en raison de leur vaste surface et de leur contact direct avec l'environnement externe (Al-Ghanbousi et al., 2012; Majumder, 2023 ; Xing et al., 2012).



Discussion

Plusieurs altérations progressives ont été observées chez les crevettes exposées. Les dommages les plus importants aux branchies ont été constatés, à la concentration létale CL₅₀ à 96 heures du glyphosate. Les échantillons se caractérisaient par une nécrose et un œdème au niveau des filaments branchiaux, ainsi qu'une fusion lamellaire modérée. De plus, ils ont montré un espace interlamellaire accru dans les lamelles (Majumder, 2023). D'autres recherche ont démontré des lésion tissulaires touchant le foie du poisson *Ctenopharyngodon idella*, elles allaient de légères à la concentration la plus faible de Roundup à modérées à la concentration intermédiaire, et sévères dans le traitement à la concentration la plus élevée en herbicide (Azadikhah et al., 2023 ; Majumder, 2023).

Dans la recherche de (Lavarías et al., 2022), l'hyperplasie des cellules épithéliales a été couramment observée chez les crevettes exposées à 0,005 mg/L d'insecticide le spirotétramate bio rationnel, une hyperplasie de l'épithélium a également été observée ainsi que l'accumulation d'hémocytes intercellulaires. De plus, les filaments branchiaux ont perdu leur structure normale. Il est possible que l'hyperplasie et l'infiltration des hémocytes aient induit la formation de tissu désorganisé dans les branchies. Des lésions similaires ont été observées chez d'autres espèces de *Palaemonidae* exposées à d'autres pesticides (Saravana Bahavan & Geraldine, 2000 ; Pereira Soares et al., 2019). Des lésions telles que l'hyperplasie des cellules épithéliales et des réponses inflammatoires pourraient être interprétées comme des réactions de défense de base. Ces deux types de dommages histologiques peuvent refléter un changement adaptatif au stress oxydatif induit par l'exposition au spirotétramate bio rationnel, conduisant à un épaississement des lamelles et ainsi, à une augmentation de la distance entre l'espace hémolympatique central et l'eau environnante (Lavarías et al., 2022).

Le glyphosate a provoqué de profonds changements dans les tissus des branchies, qui ont subi une nécrose, une hyperplasie, comme le confirme (Azadikhah et al., 2023) sur le poisson Grass Carp *C. idella* marquant une altération au foie et au branchies avec une hypertrophie et une infiltration de leucocytes. Les observations microscopiques des branchies du poisson *Oreochromis niloticus* exposées au chlorpyrifos, ont révélé plusieurs altérations histopathologiques, notamment un élargissement de l'espace interlamellaire dans les lamelles primaires et une hyperplasie épithéliales, ainsi qu'un soulèvement et une fusion des lamelles secondaires. Ces changements ont été documentés dans d'autres études exposant les branchies au chlorpyrifos, telles que celles menées par Pal et al., (2012) et Hossain et al., (2022). L'hyperplasie et le soulèvement épithéliaux peuvent agir comme une barrière de défense en augmentant la distance entre les toxines externes et la zone vasculaire des branchies. De plus, la fusion lamellaire secondaire est considérée comme une réponse protectrice contre le stress



Discussion

chez les poissons. Des chercheurs (Hedayati et al., 2014) ont étudié la toxicité chronique sur le requin iridescent *Pangasius hypophthalmus* et ont également souligné que la nécrose induite par les pesticides peut conduire à une hypoxie et une défaillance respiratoire. Étant donné le rôle vital des branchies dans la respiration et l'osmorégulation, toute altération histopathologique due à la toxicité peut compromettre leur fonction respiratoire, entraînant des problèmes d'insuffisance respiratoire et, potentiellement, la mort (Shah & Parveen 2022). Des études sur d'autres substances, telles que le glyphosate et le deltaméthrine, ont également révélé des dommages similaires aux branchies, affectant leur capacité d'échange de gaz et provoquant des détresses respiratoires. Ces résultats soulignent l'importance critique de préserver la qualité de l'eau pour maintenir la santé des organes vitaux (Vali et al., 2022).

4.3.3 Effet du glyphosate sur les tissus de l'hépatopancréas de *P. adspersus*

L'étude des altérations histopathologiques dans l'hépatopancréas des invertébrés s'avère être un outil organe clé du système digestif chez les crustacés, notamment les crevettes, essentiel pour évaluer l'état de santé des organismes exposés à divers composés (De melo et al., 2019). Cet organe multifonctionnel occupe la majeure partie de la région dorsale du céphalothorax et peut s'étendre vers l'arrière vers l'abdomen, chez certaines espèces les tubules hépatopancréatiques contiennent de la musculature, ce qui suggère que leur contraction facilite le mouvement du digesta à travers les hépatopancréas (Kibenge & Strange, 2021). Il existe des cellules spécialisées (cellules B, E, F et R) dans les parois des tubules hépatopancréas qui jouent un rôle dans la digestion (Vogt, 2019). Ces derniers, sont impliqués dans la production et le recyclage des enzymes, ainsi que dans l'absorption des nutriments et de l'eau, et dans ce cas, la digestion intracellulaire et la synthèse des protéines (Kibenge & Strange, 2021).

L'hépatopancréas agit à la fois comme un foie et un pancréas, assurant le métabolisme des nutriments et la production d'enzymes digestives. Chez les crustacés décapodes, comme les crevettes, ces organes sont particulièrement sensibles au stress oxydatif causé par les ROS (Mo et al., 2023 ; Romero et al., 2011). Il forme un réseau complexe, jouant un rôle crucial dans la régulation métabolique, les réponses immunitaires, la détoxification des xénobiotiques et l'accumulation de métaux et de pesticides organiques (Sousa & Petriella., 2007).

Ces caractéristiques rendent cet organe très sensible aux conditions physiologiques et environnementales (Saravana Bahavan & Geraldine, 2000 ; Lavarías et al., 2022 ; Wei & Yang, 2015).

Les crevettes exposées au glyphosate ont présenté plusieurs altérations dans l'hépatopancréas tel que la vacuolisation des cellules qui était l'une des principales altérations observées chez les



Discussion

crevettes exposées à la dose létale pendant 96 heures. Dans les conditions normales, les cellules B ont des vacuoles occupant une grande partie de la cellule (Al-Mohanna & Nott, 1986). Ces altérations sont courantes chez les crevettes exposées à des agents toxiques, comme cela a été rapporté pour *Macrobrachium malcolmsonii* exposé au glyphosate (De melo et al., 2019) et au l'endosulfan (Saravana Bhavan & Geraldine, 2000), ainsi que pour *L. vannamei* exposé à des métaux tels que Cu et Zn (Frías-Espericueta et al., 2008), et chez *P. argentinus* exposé au Cd (Chiodi Boudet et al., 2015). Comme rapporté pour *P. argentinus*, ces dommages à l'hépatopancréas compromettent ses fonctions d'absorption, de sécrétion et de digestion, perturbant ainsi la physiologie et la santé des organismes (De melo et al., 2019).

Mo et al., (2023) ont identifié des altérations significatives dans la morphologie de l'hépatopancréas de *L. vannamei* exposé à la concentration létale CL₅₀ pendant 48 heures. Parallèlement, des études ont examiné les larves de *M. borellii* exposées au thiométhoxam pendant 96 heures à des concentrations de 0,005 et 0,015 mg/L. L'analyse microscopique et histopathologique a révélé des dommages évidents au pancréas hépatique. Ces larves ont présenté une désorganisation de la couche cellulaire épithéliale, et à la concentration la plus élevée, une détérioration complète du pancréas hépatique a été observée. Chez les décapodes, la régénération du pancréas hépatique dépend des cellules E situées à l'extrémité des tubules. La diminution de ce type cellulaire pourrait perturber le cycle digestif normal. En outre, des études ont souligné que les dommages structurels du pancréas hépatique s'accompagnent souvent d'une réaction de stress antioxydant et immunitaire correspondante (Liang et al., 2022). L'étude menée par De Melo et al., (2019) a démontré que l'exposition à une concentration de 0,28 mg/L de glyphosate pendant 14 jours était toxique pour la crevette *Macrobrachium potiuna*. Cette exposition a entraîné une légère diminution de l'indice biologique de réparation (IBR) (biomarqueurs de réponse intégrés), suggérant une certaine atténuation des effets du glyphosate dans l'hépatopancréas. Des observations similaires ont été faites dans les tissus branchiaux exposés au glyphosate, où l'atténuation des effets génotoxiques a été attribuée à un taux élevé de division cellulaire et à la réparation de l'ADN (Guilherme et al., 2012).

Les conclusions mettent en évidence l'impératif de saisir les processus de défense et de régénération des tissus en contact avec les pesticides, en particulier chez les créatures aquatiques telles que les crevettes, afin d'évaluer leurs répercussions sur l'environnement et la santé publique. Dans cette optique, l'examen histopathologique de l'hépatopancréas offre des insights précieux sur la santé et la réponse biologique des invertébrés confrontés à diverses influences environnementales et chimiques (Sobjak et al., 2017).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES



5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La contamination de l'environnement, et plus spécifiquement des milieux aquatiques, par des substances toxiques est un problème contemporain majeur. Dans de nombreux cas, l'activité agricole est à l'origine de la présence de pesticides dans les milieux aquatiques, principalement par le processus de lessivage. A cet effet, nous entreprenons une recherche ayant pour but d'évaluer la toxicité aiguë de l'herbicide glyphosate, sous sa formulation commerciale, le Rondo[®] sur un modèle biologique non ciblé, en l'occurrence la crevette *P. adspersus* (Decapoda, Palaemonidae) capturée dans la lagune El-Mellah.

Les principaux objectifs de l'étude étaient d'estimer les concentrations sublétales (CL₁₀, CL₂₅) et létales (CL₅₀, CL₉₀) du glyphosate, à l'égard des crevettes après 24, 48, 72 et 96 heures (toxicité aiguë). Puis analyser les réponses biochimiques des biomarqueurs, l'acétylcholinestérase AChE, la glutathion-s-transférase (GST), du malondialdéhyde (MDA) et des lipides en phase de traitement par le glyphosate (CL₂₅ et CL_{50-96h}) et en phase de récupération (96h). Enfin, des observations des coupes histologiques de divers tissus (muscle les branchies et l'hépatopancréas) ont été réalisées après traitement au glyphosate (CL_{50-96h}) et après la phase de récupération (96h).

Les résultats toxicologiques obtenus après traitement statistique démontrent une toxicité aiguë du glyphosate à l'égard des crevettes avec un effet-concentration. L'analyse des biomarqueurs ont révélé que l'herbicide appliqué à deux concentrations, CL₂₅ et CL₅₀, provoquait une inhibition significative de l'activité de l'AChE dans la phase de traitement et ne revenait à des niveaux normaux qu'après une phase de récupération de 48 heures, une induction significative de la GST et du MDA dans la phase de traitement et revenait à des niveaux normaux pendant la phase récupération, ainsi qu'une diminution du contenu en lipidique tout au long des deux phases. De plus une corrélation négative entre le MDA et les lipides témoignant un effet sur la peroxydation lipidique. Les observations histologiques ont montré des altérations histopathologiques des tissus traitées par le glyphosate.

L'étude de l'impact du glyphosate sur les crevettes révèle des conséquences inquiétantes à la fois sur le plan biochimique et histologique. Son mode d'action réside dans l'inhibition de l'enzyme 5-enolpyruvoyl-shikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) impliquée dans la voie métabolique de l'acide shikimique, laquelle est nécessaire pour la synthèse des acides aminés



Conclusion et Perspectives

et des vitamines nécessaires pour le développement de la plante. Sur la base de la somme des résultats obtenus, le produit peut donc interférer avec une ou plusieurs fonctions physiologiques des organismes vivants.

Les résultats mettent en évidence les effets néfastes de l'exposition aiguë au glyphosate, perturbant l'équilibre physiologique des organismes et provoquant des altérations biochimiques significatives et des dommages structurels importants au niveau des tissus et des organes des crevettes exposées. De plus, l'espèce *P. adspersus* est capable de surmonter le stress oxydatif après une phase de récupération, démontrant une capacité de restauration des fonctions biochimiques. Cette recherche souligne l'urgence d'une gestion plus prudente de l'utilisation du glyphosate et la nécessité de mettre en place des mesures de protection de l'environnement pour prévenir les effets délétères sur la biodiversité aquatique.

Il serait pertinent de poursuivre des études approfondies supplémentaires à l'avenir, notamment la prolongation de la durée d'exposition à l'herbicide pour étudier la toxicité chronique et l'étude de la récupération sur une durée prolongée pour évaluer la réversibilité des effets toxiques à tous les niveaux d'organisation (organe, cellulaire et moléculaire). Il est aussi nécessaire de compléter cette étude par la réalisation d'un dosage par la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) pour examiner l'évolution du glyphosate et de ses métabolites dans la chair des crevettes et l'eau d'élevage.

RÉSUMÉS



6 RÉSUMÉS

6.1 RÉSUMÉ

La présente étude est menée dans le cadre du projet P.R.F.U (2019-2022) (D01N01UN230120190008) « Étude de quelques espèces aquatiques : aspects bioécologique, morphométrique et biochimique en rapport avec les facteurs environnementaux » du Laboratoire d'excellence de Biologie Animale Appliquée (LBAA).

Le glyphosate (GLY) [N-(phosphonométhyl) glycine] est l'un des herbicides les plus utilisés mondialement, posant des risques de contamination aquatique. Dans cette étude, la toxicité aiguë du glyphosate à l'égard de la crevette *P. adspersus* (Décapode, Palaemonidae) a été évaluée en estimant les concentrations sublétales (CL₁₀ et CL₂₅) et létales (CL₅₀ et CL₉₀) après 24, 48, 72 et 96 heures d'exposition. Ensuite, le composé a été ajouté à l'eau d'élevage aux deux concentrations CL₂₅ et CL₅₀ à 96 heures (déterminées précédemment). Les différents traitements ont été effectués pendant la phase d'exposition de 24, 48, 72 et 96 heures. Ensuite, les crevettes ont été transférées dans de l'eau de mer propre (sans herbicide) pour une phase de récupération, après 24, 48, 72 et 96 heures.

Les activités enzymatiques ont été mesurées dans les têtes et les fragments de chair des crevettes pour quantifier l'activité de l'AChE, GST et MDA, suivie d'une quantification des lipides. L'étude histologique a été menée sur différents organes, notamment le tissu musculaire, les branchies et l'hépatopancréas.

Les résultats obtenus après traitement statistique démontrent une toxicité aiguë du glyphosate à l'égard des crevettes avec un effet-concentration. En effet, les concentrations létales varient entre 0,98 à 1,59 mg/L. Pendant la phase de traitement, l'ANOVA à deux facteurs a révélé des effets hautement significatifs ($p < 0,001$) du glyphosate et du temps de traitement sur tous les biomarqueurs étudiés. Pendant la phase de récupération, les crevettes ont pu compenser les effets négatifs de l'herbicide. Ainsi, la nécessité d'un contrôle minutieux de l'utilisation de ce produit est nécessaire pour atténuer son impact sur les organismes vivants.

Mots clés : Crustacés, *Palaemon adspersus*, Herbicide, Glyphosate, Tests de toxicité, Mortalité, Biomarqueurs, Histologie.

6.2 ملخص

تم إجراء الدراسة الحالية كجزء من مشروع (D01N01UN230120190008) (P.R.F.U (2019-2022) "دراسة بعض الأنواع المائية: الجوانب البيئية الحيوية والمورفومترية والكيميائية الحيوية فيما يتعلق بالعوامل البيئية" لمختبر التميز في علم الأحياء الحيواني التطبيقي (LBAA)).

يعد الغليفوسات (GLY) [N-(فوسفونوميثيل) جليكين] أحد أكثر مبيدات الأعشاب استخدامًا في جميع أنحاء العالم، مما يشكل مخاطر التلوث المائي. في هذه الدراسة، تم تقييم السمية الحادة للغليفوسات ضد الجمبري *P. Adspersus* (Decapoda)، من Palaemonidae) خلال تقدير التركيزات شبه القاتلة (LC₁₀ و LC₂₅) والتركيز القاتلة (LC₅₀) بعد 24 و 48 و 72 و 96 ساعة من التعرض. بعد ذلك تمت إضافة المركب إلى مياه التربية بالتركيزين LC₂₅ و LC₅₀ عند 96 ساعة (تم تحديدهما سابقاً). تم إجراء المعالجات المختلفة خلال مرحلة التعرض لمدة 24، 48، 72 و 96 ساعة. ثم يُنقل بعد ذلك إلى مياه البحر النظيفة (بدون مبيدات الأعشاب) لمرحلة التعافي بعد 24 و 48 و 72 و 96 ساعة. تم قياس أنشطة الإنزيم في رؤوس الجمبري وشظايا اللحم لتحديد نشاط AChE و GST و MDA، متبوعاً بتقدير كمية الدهون. تم إجراء الدراسة النسيجية على أعضاء مختلفة، بما في ذلك الأنسجة العضلية والخياشيم والكبد البنكرياسي. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بعد المعالجة الإحصائية وجود سمية حادة للغليفوسات تجاه الجمبري مع تأثير تركيز. في الواقع، تتراوح التركيزات القاتلة بين 0.98 إلى 1.59 ملغم/لتر. خلال مرحلة العلاج، كشفت ANOVA ثنائية الاتجاه عن تأثيرات مهمة للغاية ($P > 0.001$) للغليفوسات ووقت العلاج على جميع المؤشرات الحيوية التي تمت دراستها. وخلال مرحلة التعافي، تمكن الجمبري من تعويض الآثار السلبية لمبيد الأعشاب. وبالتالي فإن الحاجة إلى مراقبة دقيقة لاستخدام هذا المنتج ضرورية للتخفيف من تأثيره على الكائنات الحية.

الكلمات المفتاحية: القشريات، باليمون/أدسبيرسوس، مبيدات الأعشاب، الغليفوسات، اختبارات السمية، الوفيات، المؤشرات الحيوية، علم الأنسجة.



6.3 ABSTRACT

This study is conducted within the framework of the P.R.F.U project (2019-2022) (D01N01UN230120190008) "Study of some aquatic species: bioecological, morphometric, and biochemical aspects in relation to environmental factors" by the Laboratory of Excellence in Applied Animal Biology (LBAA). Glyphosate (GLY) [N-(phosphonomethyl) glycine] is one of the most widely used herbicides globally, posing risks of aquatic contamination. In this study, the acute toxicity of glyphosate towards the shrimp *P. adspersus* (Decapoda, Palaemonidae) was evaluated by estimating sublethal (LC₁₀ and LC₂₅) and lethal (LC₅₀ and LC₉₀) concentrations after 24, 48, 72, and 96 hours of exposure. Subsequently, the compound was added to the rearing water at two concentrations, LC₂₅ and LC₅₀, for 96 hours (previously determined). Various treatments were performed during the exposure phase of 24, 48, 72, and 96 hours, followed by transferring to clean seawater (without herbicide) for a recovery phase after 24, 48, 72, and 96 hours.

Enzymatic activities were measured in the heads and flesh fragments of the shrimp to quantify the activity of AChE, GST, and MDA, followed by lipid quantification. Histological studies were conducted on various organs, including muscle tissue, gills, and hepatopancreas.

The results obtained after statistical analysis demonstrated the acute toxicity of glyphosate towards shrimp with a concentration-dependent effect. Indeed, lethal concentrations ranged between 0.98 to 1.59 mg/L. During the treatment phase, two-way ANOVA revealed highly significant effects ($p < 0.001$) of glyphosate and treatment time on all studied biomarkers. During the recovery phase, the shrimp were able to compensate for the negative effects of the herbicide. Thus, meticulous control of the use of this product is necessary to mitigate its impact on living organisms.

Keywords: Crustaceans, *Palaemon adspersus*, Herbicide, Glyphosate, Toxicity tests, Mortality, Biomarkers, Histology.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



7 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic Entomology*, 18(2), 265-267. doi: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>

Agbohessi, P., & Imorou Toko, I. (2021). Toxic effects of glyphosate-based herbicides on fish and other aquatic animals: bibliographic approach. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 15(6), 2685–2700. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v15i6.33>

Ajeegah, G. A., Yogback, G. E., Menbohan, S. F., Tchakonté, S., & Djieto-Lordon, C. (2017). Facteurs environnementaux et répartition spatiale des crustacés dans un cours d'eau peu anthropisé à Makak (Région du Centre Cameroun). *Physio-Géo*, 11, 181–196. <https://doi.org/10.4000/physio-geo.5487>

Allocati, N., Masulli M., Di Ilio C., & Federici L. (2018). Glutathione transferases: Substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41389-017-0025-3>.

Al-Ghanbousi, R., Ba-Omar, T., & Victor, R. (2012). Effect of deltamethrin on the gills of *Aphanius dispar*: a microscopic study. *Tissue and Cell*, 44(1), 7-14.

Ali, A., Mohamed, J., J., Kumar, A.J., M. S. A., & John, B. A. (2018). Organophosphorus pesticides toxicity on brine shrimp *Artemia*. *Journal CleanWAS*, 1(1), 23–26. <https://doi.org/10.26480/jcleanwas.01.2018.23.26>

Alishahi, M., Tulaby Dezfuly, Z., & Mohammadian, T. (2016). Acute toxicity evaluation of five herbicides: paraquat, 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid (2, 4-D), trifluralin, glyphosate and atrazine in *Luciobarbus esocinus* fingerlings. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 10(4), 319-331.

Al-Mohanna, S.Y & Nott, J.A. (1986). B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 66, 403–414. <https://doi.org/10.1017/S0025315400043034>.

Altinok, I., & Capkin, E. (2007). Histopathology of *Rainbow trout* exposed to sublethal concentrations of methiocarb or endosulfan. *Toxicologic Pathology*, 35, 405 410.

Amamra, F., Sifi, K., Kaouachi, N., & Soltani, N. (2019). Evaluation of the impact of pollution in the gulf of annaba (Algeria) by measurement of environmental stress biomarkers in an edible mollusk bivalve *Donax trunculus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2), 908–915.

Ameur. A., Berghiche, H., Barour, C., & Soltani, N. (2022). Morphometric, Reproductive and Environmental Biomarker Analysis of a Crustacean Species *Atyaephyra Desmaresti* (Millet, 1831) From Northeast Algeria. *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(6), 4579–4597. https://doi.org/10.15666/aeer/2006_45794597.

Amira, A., Merad, I., Almeida, C. M. R., Guimarães, L., & Soltani, N., (2018). Seasonal variation in biomarker responses of *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria):



Implication of metal accumulation in sediments. *Comptes Rendus – Geoscience*, 350(4), 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2018.02.002>.

Angthong, P., Uengwetwanit, T., Arayamethakorn, S., Chaitongsakul, P., Karoonuthaisiri, N., & Rungrassamee, W. (2020). Bacterial analysis in the early developmental stages of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61559-1>

Annett, R., Habibi, H. R., & Hontela, A. (2014). Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. *Journal of Applied Toxicology*, 34(5), 458–479. <https://doi.org/10.1002/jat.2997>

Araújo, R.J., Capin, A.A., Hearon, M.D., Ofengand, E.A., & Snedaker, S.C., (1999). Organochlorine compounds in subtropical and tropical marine organisms: a meta-analysis. *Toxicological and Industrial Health*, 215–231, <http://dx.doi.org/10.1177/074823379901500119>

Avigliano, L., Canosa, I.S., Medesani, D.A., & Rodríguez, E. (2018). Effects of glyphosate on somatic and ovarian growth in the estuarine crab *Neohelice granulata*, during the pre-reproductive period. *Water Air Soil Pollution*, 229, 44.

Azadikhah, D., Varcheh, M., Yalsuyi, A. M., Vajargah, M. F., & Chorehi, M. M. (2023). Hematological and Histopathological Changes of Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Exposed to Lethal and Sublethal Concentrations of Roundup (Glyphosate 41 % SL).

Bacci, F., & Campo, P. (2022). Emerging and less commonly recognized chemical contaminants: organic micropollutants. In: *Encyclopedia of Inland Waters*. Elsevier, pp. 247–259. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819166-8.00038-4>.

Benradia, H., Berghiche, H., & Soltani, N. (2016). Measure of environmental stress biomarkers in the shrimp *Palaemon adspersus* from the Mellah lagoon (Algeria): Spatial and Temporal variations. – *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(7): 2563-2566.

Ben-Khedher, S., Jebali, J., Kamel, N., Banni, M., Rameh, M., Jrad, A., & Boussetta, H. (2013). Biochemical effects in crabs (*Carcinus maenas*) and contamination levels in the Bizerta Lagoon: An integrated approach in biomonitoring of marine complex pollution. *Environmental Science and Pollution Research*. 20(4), 2616–2631. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1156-x>

Bergström, L., & Börjesson, E., Stenström, J. (2011). Laboratory and lysimeter studies of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a sand and a clay soil. *Journal of Environmental Quality*, 40, 98–108.

Bernal-Rey, D. L., Cantera, C. G., dos Santos Afonso, M., & Menéndez-Helman, R. J. (2020). Seasonal variations in the dose-response relationship of acetylcholinesterase activity in freshwater fish exposed to chlorpyrifos and glyphosate. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 187, 109673. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109673>.

Berthet, B. (2015). Reference Species, in: *Aquatic Ecotoxicology*. Elsevier, pp. 205–227.



- Berghiche, H., Touati, K., Chouahda, S., & Soltani, N. (2018). Impact of the neonicotinoid insecticide, actara®, on the shrimp *Palaemon adspersus*: Biomarkers measurement. *Advances in Science, Technology and Innovation*, 533–534. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70548-4_162
- Bisson, M., Hontela, A. (2002). Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of *rainbow trout* exposed in vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 180, 110–117.
- Blank do Amaral, A. M., Kuhn de Moura, L., de Pellegrin, D., Guerra, L. J., Cerezer, F. O., Saibt, N., Prestes, O. D., Zanella, R., Loro, V. L., & Clasen, B. (2020). Seasonal factors driving biochemical biomarkers in two fish species from a subtropical reservoir in southern Brazil: An integrated approach. *Environmental Pollution*, 266, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115168>
- Bocquen'e, G., & Galgani, F. (1998). Biological effects of contaminants: cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds. *ICES Technique in Marine Environmental Sciences*, 22.
- Bongaarts, J. (2019). Human population growth and the demographic transition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1532), 2985–2990. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0137>
- Bonifacio, A. F., Zambrano, M. J., & Hued, A. C. (2020). Integrated ecotoxicological assessment of the complex interactions between chlorpyrifos and glyphosate on a non-target species *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842). *Chemosphere* 261, 127782. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127782>
- Boukhalfa, H. H. (2016). Caractérisation de la répartition spatiale des jets de pulvérisation : contribution à l'évaluation de la pollution du milieu naturel. (Doctoral dissertation). Biskra: Université de Biskra.
- Boxall, RA. (2001). Post-harvest losses to insect - a world overview. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 48: 137-152.
- Bradford, M.M. (1976). A radical and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principe of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 254
- Bridi, D., Altenhofen, S., Gonzalez, J. B., Reolon, G. K., Bonan, C. D. (2017). Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology*, 392, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2017.10.007>
- Camacho-Jiménez, L., González-Ruiz, R., & Yepiz-Plascencia, G. (2023). Persistent organic pollutants (POPs) in marine crustaceans: Bioaccumulation, physiological and cellular responses. *Marine Environmental Research*, 192. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2023.106184>



- Canosa, I.S.; Silveyra, G.R.; Avigliano, L.; Medesani, D.A.; & Rodríguez, E.M.(2018). Ovarian growth impairment after chronic exposure to Roundup Ultramax® in the estuarine crab *Neohelice granulata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 1568–1575.
- Canosa, I.S., Zanitti, M., Lonné, N., Medesani, D.A., López Greco, L.S., & Rodríguez, E.M. (2019). Imbalances in the male reproductive function of the estuarine crab *Neohelice granulata*, caused by glyphosate. *Ecotoxicological Environmental Safety*, 182, 109405.
- Capkin, E., Terzi, E., Boran, H., Yandi, I., & Altinok, I. (2010). Effects of some pesticides on the vital organs of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Tissue and Cell*, 42(6), 376–382. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2010.10.001>
- Celander, M.C. (2011). Cocktail effects on biomarker responses in fish. *Aquatic Toxicology*, (105), 72–7.
- Cheghib, Y., Chouahda, S., & Soltani, N. (2020). Side-effects of a neonicotinoid insecticide (actara®) on a non-target larvivorous fish *Gambusia affinis*: Growth and biomarker responses. *Egyptian Journal of Aquatic Research* 46(2), 167–172. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.007>
- Chiodi Boudet, L. N., Polizzi, P., Romero, M. B., Robles, A., Marcovecchio, J. E., & Gerpe, M. S. (2015). Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium in white shrimp, *Palaemonetes argentinus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113, 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.11.019>
- Clapp, J. (2021). Explaining Growing Glyphosate Use: The Political Economy of Herbicide-Dependent Agriculture. *Global Environmental Change* ,67 , 102239. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2021.102239>
- Cooper, J., & Dobson, H. (2007). The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection*, 26: 1337-1348.
- Consolandi, G., Ford, A.T., & Bloor, M.C. (2019). Feeding Behavioural Studies with Freshwater *Gammarus spp*: The Importance of a Standardised Methodology. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, De La Lagune Mellah (Parc National D’El-Kala, Algérie Nord-Est). *Bulletin de la Société Zoologique*, 137(1-4):73 86.
- El-Beltagi, H. S., & Mohamed, H. I. (2013). Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41(1), 44–57. <https://doi.org/10.15835/nbha4118929>
- De Brito Rodrigues, L., de Oliveira, R., Abe, F.R., Brito, L.B., Moura, D.S., Valadares, M.C., Grisolia, C.K., de Oliveira, D.P., & de Oliveira, G.A.R. (2017). Ecotoxicological assessment of glyphosate-based herbicides: Effects on different organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 1755–1763.
- De Melo, M. S., dos Santos, T. P. G., Jaramillo, M., Nezzi, L., Rauh Muller, Y. M., & Nazari, E. M. (2019). Histopathological and ultrastructural indices for the assessment of glyphosate-based herbicide cytotoxicity in decapod crustacean hepatopancreas. *Aquatic Toxicology*, 210, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.03.007>



- De Melo Tarouco, F., de Godoi, F. G. A., Velasques, R. R., da Silveira Guerreiro, A., Geihs, M. A., & da Rosa, C. E., (2017). Effects of the herbicide Roundup on the polychaeta *Laeonereis acuta*: Cholinesterases and oxidative stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 135, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.014>
- Dos Santos, K. C., & Martinez C. B. R. (2014). Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup®, alone and in combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100(1), 7–14. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.11.014>
- Drach, P. (1939). Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. *Annal de l'Institut Océanographique*. 19, 103–391.
- De Souza, R. M., Seibert, D., Quesada, H. B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M. R., & Bergamasco, R. (2020). Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22–37. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035>
- De Souza Filho, J., Pires, F. S., Grisolia, C. K., & De Sabóia-Morais, S. M. T. (2014). Toxicological effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata*. *Current Topics in Toxicology*, 81–91.
- Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. In *Methods in enzymology*. Academic press, 186, 421-431. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.014>
- Draredja, B., Melouah, K., Beldi, H. & Benmarce S. (2012). Diversité De La Macrofaune Benthique De La Lagune Mellah (Parc National D'El-Kala, Algérie Nord-Est). *Bulletin de la Société Zoologique. Fr.* 137,(1-4): 73-86.
- Ecobichon, DJ. (2001). Pesticide use in developing countries. *Toxicology*, 160(1-3): 27-33.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Erraud, A., Bonnard, M., Duflot, A., Geffard, A., Danger, J.-M., Forget-Leray, J., & Xuereb, B. (2018). Assessment of sperm quality in palaemonid prawns using Comet assay: methodological optimization. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 11226–11237.
- Erraud, A., Bonnard, M., Geffard, O., Coulaud, R., Poret, A., Duflot, A., Forget-Leray, J., Geffard, A., & Xuereb, B. (2019). Signification of DNA integrity in sperm of *Palaemon serratus* (Pennant 1777): Kinetic responses and reproduction impairment. *Marine environmental research*, 144, 130–140.
- Fabrello, J., Grapputo, A., Munari, M., Marin, M. G., Masiero, L., Pacchioni, B., Millino, C., & Matozzo, V. (2020). Molecular and biochemical responses of vitellogenin in the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to the glyphosate-based herbicide Roundup® Power 2.0.



Environmental Science and Pollution Research, 27(21), 26543–26553.
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-08985-w>

Fatma, ASM. (2009). Histopathological studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World Journal of Fish & Marine Sciences*, 1(1):29-39.

Ferreira, C., Duarte, S. C., Costa, E., Pereira, A. M. P. T., Silva, L. J. G., Almeida, A., Lino, C., & Pena, A. (2021). Urine biomonitoring of glyphosate in children: Exposure and risk assessment. *Environmental Research*, 198. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111294>

Fincham, A. A., & Figueras, A. J. (1986). Larval keys and diagnoses for the subfamily Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) in the north-east Atlantic and aspects of functional morphology. *Journal of natural history*. 20 (1): 203-224.

Fincham, A. A., & Williamson, D. I. (1978). Crustacea decapoda: larvae, 6: Caridea, families: Palaemonidae and Processidae. *Fiches d'Identification du Zooplancton*.

Fiorino, E., Sehonova, P., Plhalova, L., Blahova, J., Svobodova, Z., & Faggio, C. (2018). Effects of glyphosate on early life stages: comparison between *Cyprinus carpio* and *Danio rerio*. *Environmental Science and Pollution Research* 25(9), 8542–8549.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-1141-5>

Fisher, R.A. & Yates. (1957). Statical tables for biological, *agricultural and medical research*. 5 ème édition, Olivier et Boyd. London; 64-66.

Frias-Espericueta, M.G., Castro-Longoria, R., Barron-Gallardo, G.J., Osuna-Lopez, J.I., Abad-Rosales, S.M., Paez-Osuna, F., & Voltolina, D. (2008). Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. *Aquaculture* 278, 97–100. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.03.008>

Freitas, R., Costa, E., Velez, C., Santos, J., Lima, A., Oliveira, C., Maria Rodrigues, A., Quintino, V., & Figueira, E. (2012). Looking for suitable biomarkers in benthic macroinvertebrates inhabiting coastal areas with low metal contamination: comparison between the bivalve *Cerastoderma edule* and the *Polychaete Diopatra neapolitana*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 75 (1). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.08.019>

Frontera, J. L., Vatnick, I., Chaulet, A., & Rodríguez, E. M. (2011). Effects of glyphosate and polyoxyethylenamine on growth and energetic reserves in the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda, Parastacidae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61(4), 590–598. <https://doi.org/10.1007/s00244-011-9661-3>

Gandar, A. (2015). Réponse aux stress multiples chez les poissons: effets croisés de la température et des cocktails de pesticides. Université Paul Sabatier - Toulouse III.

Gao, Y., Zhang, X., Wei, J., Sun, X., Yuan, J., Li, F., & Xiang, J. (2015). Whole transcriptome analysis provides insights into molecular mechanisms for molting in *Litopenaeus vannamei*. *PLoS ONE*, 10(12), 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144350>

García-de la Parra, L. M., Bautista-Covarrubias, J. C., Rivera-de la Rosa, N., Betancourt-Lozano, M., & Guilhermino, L., (2006). Effects of methamidophos on acetylcholinesterase



activity, behavior, and feeding rate of the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65(3), 3743. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.09.001>

Gevao, B., Semple, K.T., & Jones, K.C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution*, 108, 3–14, [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00197-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00197-9)

Ghanizadeh, H., & Harrington, K.C. (2017). Non-target site mechanisms of resistance to herbicides. *Critical Reviews in Plant Science*, 36, 24–34, <http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2017.1316134>

Giesy, J.P., Dobson, S., & Solomon, K.R. (2000). Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 167, 35–120.

Gill, J. P. K., Sethi, N., & Mohan, A., (2017). Analysis of the glyphosate herbicide in water, soil and food using derivatising agents. *Environmental Chemistry Letters*, 15(1), 85–100. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0585-z>

Girard, E. (2006). museum national d'histoire naturelle Altérations génétiques des cholinestérases chez des souris : conséquences morphologiques et fonctionnelles à la jonction neuromusculaire.

Gluszczak, L., Miron, D., dos, S., Moraes, B. S., Simões, R. R., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., & Loro, V. L. (2007). Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 146(4), 519–524. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.06.004>

Glynn, P.W., Rumbold, D.G., & Snedaker, S.C. (1995). Organochlorine pesticide residues in marine sediment and biota from the northern Florida reef tract. *Marine Pollution Bulletin*, 30, 397–402, [http://dx.doi.org/10.1016/0025-326X\(94\)00206-O](http://dx.doi.org/10.1016/0025-326X(94)00206-O)

Goldsworthy, A.C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormone. *General and Comparative Endocrinology*, 18: 306-314.

Gonçalves, B.B., Giaquinto, P.C., Santos, D.d., Melo, C.d., Brito, A.A., Portinho, J.L., Carvalho, W.F., & Rocha, T.L. (2019) . Ecotoxicology of glyphosate-based herbicides on aquatic environment. In: Ince, M., Ince, O.K., Ondrasek, G. (Eds.). *Biochemical Toxicology - Heavy Metals and Nanomaterials*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85157>

Gonçalves, B.B., Giaquinto, P.C., Silva, S., Melo, C., Lima, De, De, A.A., Antonio, A., & Darosci, B. (2019). Ecotoxicology of Glyphosate-Based Herbicides on Aquatic Environment 15.

González-Ortegón, E., Sargent, P., Pohle, G., & Martínez-Lage, A. (2015). The Baltic prawn *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda, Caridea, Palaemonidae): first record, possible establishment, and illustrated key of the subfamily Palaemoninae in northwest Atlantic waters. *REABIC*, 3: 299–312.

Grabowski, M. (2006). Rapid colonization of the Polish Baltic coast by an Atlantic palaemonid shrimp *Palaemon elegans* Rathke, 1837. *Aquatic Invasions*, 1(3), 116–123. <https://doi.org/10.3391/ai.2006.1.3.3>



- Guilherme, S., Gaivao, I., Santos, M.A., & Pacheco, M. (2012). DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide - Elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress. *Mutation Research. - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 743, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.10.017>
- Gull, A., Dar, A. A., & Chaturvedi, J. (2018). Impact of Pesticides on Invertebrates in Aquatic Ecosystem. 182–199. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-6111-8.ch011>.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
- Halliwell, B. (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Review*, 52(8):253–265. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1994.tb01453.x>
- Hedayati, A., Vajargah, M.F., Yalsuyi, A.M., Abarghoei, S., & Hajiahmadyan, M. (2014). Acute toxicity test of pesticide abamectin on common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Coastale Life Medecine*, 2, 841–844.
- Hendry, W.B (1909). Tableaux statiques. Le Journal de laryngologie, de rhinologie et d'otologie [Static tables. *The Journal of Laryngology, Rhinology and Otolgy*], 24(9):483-490 (in French). <https://doi:10.1017/S1755146300183556>
- Helander, M., Saloniemi, I., & Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Trends Plante Science*, 17, 56–574.
- Herrera-Herrera, A.V., Asensio-Ramos, M., Hernández-Borges, J., & Rodríguez-Delgado, M.Á. (2016). Pesticides and herbicides: types, uses, and determination of herbicides. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, pp. 326–332, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00536-5>
- Holthuis, L.B. (1980). Shrimps and Prawns of the World: *An Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries*. FAO Fisheries Synopsis 125(1): xvii + 271.
- Hong, Y., Yang, X., Huang, Y., Yan, G., & Cheng, Y. (2018). Assessment of the oxidative and genotoxic effects of the glyphosate-based herbicide roundup on the freshwater shrimp, *Macrobrachium nipponensis*. *Chemosphere*, 210, 896–906. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.069>
- Hong, Y., Yang, X., Yan, G., Huang, Y., Zuo, F., Shen, Y., Ding, Y., & Cheng, Y. (2017). Effects of glyphosate on immune responses and haemocyte DNA damage of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 71, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.09.062>
- Hossain, M. A., Sutradhar, L., Sarker, T., Saha, S., & Iqbal, M. M. (2022). Toxic effects of chlorpyrifos on the growth, hematology, and different organs histopathology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(7), 103316.
- Husak, V., Strutynska, T., Burdyluk, N., Pitukh, A., Bubalo, V., Falfushynska, H., Strilbytska, O., & Lushchak, O. (2022). Low-Toxic Herbicides Roundup and Atrazine Disturb Free



Radical Processes in *Daphnia* in Environmentally Relevant Concentrations. *EXCLI Journal*, 21, 595–609. <https://doi.org/10.17179/excli2022-4690>

Islam, M.S., Ahmed, M.K., Raknuzzaman, M., & Habibullah -Al- Mamun, H. (2015). Heavy metal pollution in surface water and sediment: a preliminary assessment of an urban river in a developing country, *Ecological Indicators*, 48. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.08.016>

Kadim, M. K., & Risjani, Y. (2022). Biomarker for monitoring heavy metal pollution in aquatic environment: An overview toward molecular perspectives. *Emerging Contaminants*, 8, 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2022.02.003>

Kadim, M.K., Sudaryanti, S., & Yuli, E.H. (2013). Pencemaran Residu Pestisida di Sungai Umbulrejo Kecamatan Dampit Kabupaten Malang (pollution of pesticide Residues in the Umbulrejo river District Dampit, Malang), *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 20 (3). <https://doi.org/10.22146/jml.18493>

Karasali, H., Pavlidis, G., & Marousopoulou, A. (2019). Investigation of the presence of glyphosate and its major metabolite AMPA in Greek soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 36308–36321. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06523-x>

Kavitha, P. & Rao, J. V. (2008). Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology Pharmacology*, 26, 192-198.

Kaya, I., Karapehliyan, M., Yılmaz, M., Ersan., Y., & Koç, E. (2012). Investigation of effects on plasma nitric oxide, malondialdehyde and total sialic acid levels of glyphosate in Kars creek transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* [Guldenstaedt, 1773]) in Turkey. *Fresenius Environmental Bulltin* 21(1A).

Kennedy, C. (2017). Glyphosate fate and toxicity to fish with special relevance to salmon and steelhead populations in the Skeena River watershed. Report, 55 p.

Key, P.B., Wirth, E.F., & Fulton, M.H., (2006). A review of grass shrimp, *Palaemonetes spp.*, as a bioindicator of anthropogenic impacts. *Environmental Bioindicators* 1, 115–128.

Khaled-Khodja, S., Samar, M. E. H., & Durand, G (2016). Contamination Métallique de l'Eau et du Sédiment d'Oued Bouhamra = Metal Contamination of Water and Sediment from Wadi Bouhamra. Synthèse: *Revue Des Sciences et de La Technologie*, 32, 135–146. <https://doi.org/10.12816/0027961>

Khebbeb, E-M., Naji, S., & Amrani, A. (2010). The effect of Cadmium on malondialdehyde and reduced glutathione concentration in several tissues of bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Scholars Research Library, Annals of Biological Research*, 1(2): 166-173.

Kibenge, F. S. B., & Strange, R. J. (2021). Introduction to the anatomy and physiology of the major aquatic animal species in aquaculture. *Aquaculture Pharmacology*, 1–111. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821339-1.00001-5>



- Kim K., Kabir E., & Ara, S. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects, *Science Total Environment*, 575. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
- Knipowitsch, NM. (1909). Annuaire du Musée Zoologique de l'Académie Impériale des St. Petersburg 14: 131–245.
- Kotta., J, Orav-Kotta., H, Paalme., T, Kotta., I & Kukk., H. (2003). Benthos studies in the Estonian coastal sea during 1998– 2001. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, *Biology and Ecology*, 52: 85–90
- Kryuchkova, Y.V., Burygin, G.L., Gogoleva, N.E., Gogolev, Y.V., Chernyshova, M.P., Makarov, O.E., Fedorov, E.E., & Turkovskaya, O.V. (2014). Isolation and characterization of a glyphosate-degrading rhizosphere strain, *Enterobacter cloacae* K7. *Microbiological Research*, 169, 99–105.
- Kumar, A., Arun M.S., & Jawahar, A.A. (2014). Effect of two organophosphorus pesticides on the reproductive bionomics of freshwater fairy shrimp *Streptocephalus dichotomus* (Baird, 1860) (Crustacea: Anostraca). *International Journal of Bioassays*, 3 (09), 3307-3312.
- la Cecilia, D., & Maggi, F. (2018). Analysis of glyphosate degradation in a soil microcosm. *Environmental Pollution*, 233, 201–207.
- Labbaci, A., Chaoui, L., & Kara, M.H. (2019). Age, growth and reproduction of the Mediterranean killifish *Aphanius fasciatus* Nardo, 1827 in Mellah Lagoon (Eastern Algeria). *Environmental Biology of Fishes*, 102 : 663–674 <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00863-w>
- Langiano, V do C., & Martinez, C. B. R. (2008). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 147(2), 222–231. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.09.009>
- Langston, W.J., Pope, N.D., Jonas, P.J.C., Nikitic, C., Field, M.D.R., Dowell, B., Shillabeer, N., R.H. & Swarbrick, A.R. (2010). Brown, Contaminants in fine sediments and their consequences for biota of the Severn Estuary, *Marine Pollution Bulltj.* 61, 68-82, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.12.014>
- Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhiainen, L., Siimes, K., & Turtola, E (2009). Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant Soil*, 323, 267–283.
- Lavariás, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N., & Heras, H. (2013). Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 96: 10-16.
- Lavariás, S., & García, C. F. (2015). Acute toxicity of organophosphate fenitrothion on biomarkers in prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Palaemonidae). *Environmental Monitoring and Assessment* 187(3). <https://doi.org/10.1007/s10661-014-4224-5>.
- Lavariás, S. M. L., Arrighetti, F., Landro, S. M., & Colpo, K. D. (2022). Sensitivity of embryos and larvae of the freshwater prawn *Macrobrachium borellii* to the latest generation pesticide



spirotetramat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 248(August), 114257. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114257>

Lebrun, J.D., & Gismondi, E. (2020). Behavioural and biochemical alterations in gammarids as induced by chronic metallic exposures (Cd, Cu and Pb): Implications for freshwater biomonitoring. *Chemosphere*, 127253.

Lechekhab, H. (2018). Evaluation des risques environnementaux de trois insecticides sélectifs sur un organisme non ciblé *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda). Thèse De Doctorat, Spécialité : Science et Biologie Animale, 81p.

Lechekhab, H., & Soltani, N. (2018). Environmental risks of an insecticide (Dimilin® 25 wp) on the shrimp *Palaemon adspersus*: biochemical composition of cuticle and oxidative stress, Volume 27 – No. 3/2018 pages 1862-1867.

Li, H., Zhang, R., Sun, F., & Zhang, Y. (2020). Evaluation of toxicological responses and promising biomarkers of *topmouth gudgeon* (*Pseudorasbora parva*) exposed to fipronil at environmentally relevant levels. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 24081–24089. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08555-0>

Liang, Z., Chen, T., Yang, F., Li, S., Zhang, S., & Guo, H. (2022). Toxicity of chronic waterborne zinc exposure in the hepatopancreas of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Chemosphere* 309, 136553. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136553>

Llerena, J. P. P., Coasaca, R. L., Rodriguez, H. O. L., Llerena, S. Á. P., Valencia Y. D., & Mazzafera, P. (2021). Metallothionein production is a common tolerance mechanism in four species growing in polluted Cu mining areas in Peru. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112009>

Lin, T., Yu, S., Chen, Y., & Chen, W. (2014). Integrated biomarker responses in zebrafish exposed to sulfonamides. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38(2), 444–452. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.07.020>

Liu, J., Dong, C., Zhai, Z., Tang, L., & Wang, L. (2021). Glyphosate-induced lipid metabolism disorder contributes to hepatotoxicity in juvenile common carp. *Environmental Pollution*, 269, 116186. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116186>.

López, O., Hernández, A. F., Rodrigo L., Gil, F., Pena, G., Serrano, J. L., Parrón, T., Villanueva, E. & Pla, A. (2007). Changes in antioxidant enzymes in humans with long-term exposure to pesticides. *Toxicology Letters*, 171, 146-53.

Lushchak, V., Kubrak, OI., Storey, JM., Storey, KB., & Lushchak, VI. (2009). Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. *Chemosphere* 76(7):932–937. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.04.045>

Lionetto, M.G., Caricato, R., A. C. & T. S. (2013). a New Individuation : IV(802), 83–100.

Madeira, D., Mendonça, V., Dias, M., Roma, J., Costa, P.M., Larginho, M., Vinagre, C., & Diniz, M.S., (2015). Physiological, cellular and biochemical thermal stress response of intertidal shrimps with different vertical distributions: *Palaemon elegans* and *Palaemon*



serratus. *Comparative Biochemistry and Physiology part A Molecular and Integrative Physiology* 183, 107–115.

Majumder, R. (2023). Effects of chlorpyrifos on histopathological biomarkers of the freshwater teleost *Oreochromis niloticus*. *Fisheries and Aquatic Life*, 31(4), 207–214. <https://doi.org/10.2478/aopf-2023-0020>

Mallat, E., & Barceló, D (1998). Analysis and degradation study of glyphosate and of aminomethylphosphonic acid in natural waters by means of polymeric and ion-exchange solid-phase extraction columns followed by ion chromatography-post-column derivatization with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 823, 129–136.

Margni, M., Rossier, D., Crettaz, P., & Jolliet, O. (2002). Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 93, 379–392, [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809\(01\)00336-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-8809(01)00336-X)

Masotti, F., Garavaglia, B.S., Piazza, A., Burdisso, P., Altabe, S., Gottig, N., & Ottado, J. (2021). Bacterial isolates from Argentine Pampas and their ability to degrade glyphosate. *Science Total Environment*, 774, 145761. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145761>

Matozzo, V., Fabrello, J., & Marin, M. G. (2020). The effects of glyphosate and its commercial formulations to marine invertebrates: A review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(6). <https://doi.org/10.3390/JMSE8060399>

Matozzo, V., Munari, M., Masiero, L., Finos, L., & Marin, M. G. (2019). Ecotoxicological hazard of a mixture of glyphosate and aminomethylphosphonic acid to the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819). *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50607-0>

Matozzo, V., Fabrello, J., Masiero, L., Ferraccioli, F., Finos, L., Pastore, P., Di Gangi, I. M., & Bogialli, S. (2018). Ecotoxicological risk assessment for the herbicide glyphosate to non-target aquatic species: A case study with the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 233, 623–632. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.100>

Mazari, A. M. A., Zhang, L., Ye, Z. W., Zhang, J., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2023). The Multifaceted Role of Glutathione S-Transferases in Health and Disease. *Biomolecules*, 13(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/biom13040688>

Mebdoua, S. (2017). République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'École Nationale l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique 2 Supérieure Agronomique

Menéndez-Helman, R. J., Ferreyroa, G. V., Dos Santos Afonso, M., & Salibián, A., (2012). Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *cnesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(1), 6–9. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0423-8>

Meng, Y. & Zou, E. (2009). A Molecular Biomarker for Disruption of Crustacean Molting: The N-acetyl-b-glucosaminidase mRNA in the Epidermis of the Fiddler Crab. *Bulltin Environment Contamination Toxicology*, 82:554-558.



- Mensah, P. K., Muller, W. J., & Palmer, C. G. (2011). Acute toxicity of Roundup® herbicide to three life stages of the freshwater shrimp *Caridina nilotica* (Decapoda: Atyidae). *Physics and Chemistry of the Earth*, 36(14–15), 905–909. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2011.07.071>
- Mensah, P. K., Palmer, C. G., & Odume, O. N., (2015). Ecotoxicology of Glyphosate and Glyphosate-Based Herbicides — Toxicity to Wildlife and Humans. *Toxicity and Hazard of Agrochemicals July*. <https://doi.org/10.5772/60767>
- Mercurio, P., Flores, F., Mueller, J.F., Carter, S., & Negri, A.P (2014). Glyphosate persistence in seawater. *Marine Pollution Bulletin*, 85, 385–390.
- Micheletti, C., Critto, A. & Marcomini, A. (2007). Assessment of ecological risk from bioaccumulation of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in a coastal lagoon. *Environment International*, 33, 45-55.
- Milan, M., Dalla Rovere, G., Smits, M., Ferrareso, S., Pastore, P., Marin, M. G., Bogialli, S., Patarnello, T., Bargelloni, L., & Matozzo, V., (2018). Ecotoxicological effects of the herbicide glyphosate in non-target aquatic species: Transcriptional responses in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 237, 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.049>
- Mirella da Silva, P. (2018). Toxicological evaluation of the herbicide glyphosate in the cultured oyster *Crassostrea gasar*. *Journal of Aquaculture & Marine Biology* 7(6), 343–350. <https://doi.org/10.15406/jamb.2018.07.00231>
- Mo, B., Li, J., Liao, G., Wang, L., & Fan, L. (2023). Toxic effects of glyphosate on histopathology and intestinal microflora of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Aquatic Toxicology*, 255. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106399>
- Modesto, K.A., & Martinez, C.B.R. (2010). Chemosphere Effects of Roundup Transorb on fish : hematology , antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere* 81, 781–787. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.005>
- Moss, S., Ulber, L., & Hoed den, I. (2019). A herbicide resistance risk matrix. *Crop Protection*.115, 13–19, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.005>
- Mostafiz, F., Md, Monirul, I., Badhan, S., Md, K. H., Moniruzzaman, M., & Md, H. A M. (2020). Bioaccumulation of trace metals in freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* from farmed and wild sources and human health risk assessment in Bangladesh. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 16426-16438. <https://doi: 10.1007/s11356-020-08028-4>
- Nafissa, S., Mohammed, B., & Khaoula, T. (2020). Pesticide Use and Risk Perceptions for Human Health and the Environment: a Case Study of Algerian Farmers. *PONTE International Scientific Researches Journal*, 76(5). <https://doi.org/10.21506/j.ponte.2020.5.2>
- Nasrabadi, T., Bidhendi, G.N., Karbassi, A.R., Grathwohl, P., & Mehrdadi, N. (2011). Impact of major organophosphate pesticides used in agriculture to surface water and sediment quality (Southern Caspian Sea basin, Haraz River). *Environmental Earth Science*. 63 (4), 873–883.



Naili, F. (2014). Evaluation de la rémanence de l'herbicide Glyphosate dans les cultures maraichères de la wilaya de Jijel. Mémoire de Magister en Biologie appliquée, Université Constantine 1, Algérie, 114 p.

Ogunbiyi, O. D., Akamo, D. O., Oluwasanmi, E. E., Adebajo, J., Isafiade, B. A., Ogunbiyi, T. J., Alli, Y. A., Ayodele, D. T., & Oladoye, P. O. (2023). Glyphosate-based herbicide: Impacts, detection, and removal strategies in environmental samples. *Groundwater for Sustainable Development*, 100961. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2023.10096>

Oruç, E. Ö., & Usta, D. (2007). Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2006.06.005>

Osterberg, J.S., Darnell, K.M., Blickley, T.M., Romano, J.A., & Rittschof, D. (2012). Acute toxicity and sub-lethal effects of common pesticides in post-larval and juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 424–425, 5–14.

Pal, S., Kokushi, E., Koyama, J., Uno, S., & Ghosh, A. R. (2012). Histopathological alterations in gill, liver and kidney of common carp exposed to chlorpyrifos. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(3), 180-195.

Pala, A. (2019). The effect of a glyphosate-based herbicide on acetylcholinesterase (AChE) activity, oxidative stress, and antioxidant status in freshwater amphipod: *Gammarus pulex* (Crustacean). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 36869–36877. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06804-5>

Paudel, P., Negusse, A., & Jaisi, D.P. (2015). Birnessite-catalyzed degradation of glyphosate: A mechanistic study aided by kinetics batch studies and NMR spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 79, 815–825.

Pereira Soares, M., Oliveira, N., Rebelo, D., Marcondes, S.F., Fernandes, C.E., Domingues, I., Soares, A., & Hayd, L. (2019). Cypermethrin-based formulation Barrage® induces histological changes in gills of the Pantanal endemic shrimp *Macrobrachium pantanalense*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 67, 66–72.

Picqué, A. (2016). Evaluation des impacts du Glyphosate sur la santé humaine. Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie, Université de Picardie, Picardie, 66 p.

Piešova, E. (2005). The effect of glyphosate on the frequency of micronuclei in bovine lymphocytes in vitro. *Acta Veterinaria* 55:101–109 The effect of glyphosate-based herbicide on aquatic organisms—a case study vol 13. <https://doi.org/10.2478/limre-2013-0024>

Piner Benli, P., & Çelik, M. (2021). Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to neonicotinoid insecticide sulfoxaflor induced oxidative damage in zebrafish in vivo. *Science Progress*, 104(2), 1–16. <https://doi.org/10.1177/00368504211028361>

Porter, S.N., Humphries, M.S., Buah-Kwofie, A., & Schleyer, M.H., (2018). Accumulation of organochlorine pesticides in reef organisms from marginal coral reefs in South Africa and



links with coastal groundwater. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 295–305, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.10.028>

Purba, N.P., Handyman, D.I.W., Pribadi, T.D., Syakti, A.D., Pranowo, W.S., Harvey, A., & Ihsan, Y.N (2019). Marine debris in Indonesia: a review of research and status, in: *Marine Pollution Bulletin*, vol. 146, Elsevier Ltd, 2019, p. 134-144, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.057>

Rahnama, R., Tulaby Dezfuly, Z., & Alishahi, M. (2018). Acute Toxicity of Herbicides on the Survival of Adult Shrimp, *Artemia Franciscana*. *Iranian Journal of Toxicology*, 12(6), 45–51. <https://doi.org/10.32598/ijt.12.6.557.1>

Rakhi, SF., AHMM, Reza MS, Hossen Z, & Hossain.(2013). Alterations in histopathological features and brain acetylcholinesterase activity in stinging catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to polluted river water. *International Aquatic Research*, 5 (7): 1-18.

Rathke, (1837). Ventilatory behavior and chloride regulation in relation to oxygen tension in the shrimp *Palaemon adspersus* 1 (2), 193-200.

Rawtani, D., Khatri, N., Tyagi, S., & Pandey, G. (2018). Nanotechnology-based recent approaches for sensing and remediation of pesticides. *Journal Environment Management*, 206, 749–762, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.11.037>

Ribeiro, Y. M., Moreira, D. P., Weber, A. A., Sales, C. F., Melo, R. M. C., Bazzoli, N., Rizzo, E., & Paschoalini, A. L. (2022). Adverse effects of herbicides in freshwater Neotropical fish: A review. *Aquatic Toxicology*, 252 (February). <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2022.106293>

Risjani, Y., Santoso, D.R., Couteau, J., Hermawati, A., Widowati, I., & Minier, C. (2020). Impact of anthropogenic activity and lusi-mud volcano on fish biodiversity at the *Brantas Delta*, Indonesia, in: IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, vol. 493, IOP Publishing, 12007. No. 1.

Rodrigues, E. T., & Pardal, M. Â. (2014). The crab *Carcinus maenas* as a suitable experimental model in ecotoxicology. *Environment International*, 70, 158–182. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.018>

Rodriguez-Gil, J. L., Prosser, R., Poirier, D., Lissemore, L., Thompson, D., Hanson, M., & Solomon, K. R. (2017). Aquatic hazard assessment of MON 0818, a commercial mixture of alkylamine ethoxylates commonly used in glyphosate-containing herbicide formulations. Part 1: Species sensitivity distribution from laboratory acute exposures *Environmental Toxicology and Chemistry* 36(2), 501–511. <https://doi.org/10.1002/etc.3559>

Rohani, M. F. (2023). Pesticides toxicity in fish: Histopathological and hemato-biochemical aspects A review. *Emerging Contaminants*, 9(3), 100234. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2023.100234>

Rollin, M. (2021). Activité chitinolytique et propriétés structurales de la cuticule chez la crevette *Palaemon serratus* : Description au cours du cycle de mue et perspectives d'utilisation en écotoxicologie. <https://hal.univ-reims.fr/tel-03578339v1>



Romero, M.C., Tapella, F., Sotelano, M.P., Ansaldo, M., & Lovrich, G.A. (2011). Oxidative stress in the subantarctic false king crab *Paralomis granulosa* during air exposure and subsequent re-submersion. *Aquaculture*, 319, 205–210.

Rice, Pamela J., Rice, Patricia J., Arthur, E.L., & Barefoot, A.C. (2007). Advances in pesticide environmental fate and exposure assessments. *Journal Agriculture Food and Chemistry*. 55, 5367–5376, <http://dx.doi.org/10.1021/jf063764s>

Salas-Moya, C., Vargas-Castillo, R., Alvarado, J. J., Azofeifa-Solano, J. C., & Cortés, J. (2021). Decapod crustaceans associated with macroinvertebrates in Pacific Costa Rica. *Marine Biodiversity Records*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s41200-020-00199-w>

Sandrini, J. Z., Rola, R. C., Lopes, F. M., Buffon, H. F., Freitas, M. M., Martins, C de M. G., & da Rosa, C. E. (2013). Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: In vitro studies. *Aquatic Toxicology*, 130–131, 171–173. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.01.006>.

Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, AK., & Ghosh, AR. (2014). Evaluation of metabolic enzymes in response to Excel Mera 71, a glyphosate based herbicide, and recovery pattern in freshwater teleostean fishes. *BioMedical Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/425159>

Santana, M. S., Domingues, de Melo G., Sandrini-Neto, L., Di Domenico, M., & Prodocimo, M. M., (2022). A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. *Chemosphere* 291(P1), 132730. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132730>

Saravana Bhavan, P., & Geraldine, P. (2000). Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan . *Aquatic Toxicology*, 50, 331–339.

Saunders, L. E., & Pezeshki, R. (2015). Glyphosate in runoff waters and in the root-zone: A review. *Toxics* 3(4), 462–480. <https://doi.org/10.3390/toxics3040462>

Servizi, J.A., Gordon, R. W., & Martens, D. W. (1987). Acute toxicity of Garlon and Roundup herbicides to *Salmon*, *Daphnia*, and *trout*. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*, 39.

Shah, Z. U., & Parveen, S. (2022). Oxidative, biochemical and histopathological alterations in fishes from pesticide contaminated river Ganga, India. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-07506-8>

Shefali R, Kumar, R., Sankhla, M. S., Kumar, R., & Sonone, S. S. (2021). Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 10131–10140. <https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1013110140>

Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., New Hall. & Feidman, L. (1966). A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analytic Biochemistry*, 19: 415-528.



Singh, B.K., & Walker, A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiological Review*, 30, 428–471.

Sobjak, T.M., Romao, S., do Nascimento, C.Z., dos Santos, A.F.P., Vogel, L., & Guimaraes, A.T.B., (2017). Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish. *Chemosphere* 182, 267–275. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.031>

Song, Y., Song, X., Wu, M., Pang, Y., Shi, A., Shi, X., Niu, C., Cheng, Y., & Yang, X. (2020). The protective effects of melatonin on survival, immune response, digestive enzymes activities and intestinal microbiota diversity in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) exposed to glyphosate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology*, 238(May), 108845. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108845>

Song, Y., Villeneuve, D.L., Toyota, K., Iguchi, T., & Tollefsen, K.E. (2017). Ecdysone receptor agonism leading to lethal molting disruption in arthropods: review and adverse outcome pathway development. *Environmental science & technology* 51, 4142–4157.

Sousa, L.G., & Petriella, A.M. (2007). Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution Review *Biological Tropical* 55, 79–86.

Sturve, J., Gustavsson, M., Moksnes, P. O., & de Abreu, D. C. (2021). Effects of pesticides and metals on penaeid shrimps in Maputo Bay, Mozambique – A field study. *Marine Pollution Bulletin*, 173(PA), 112964. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112964>

Sule, R. O., Condon, L., & Gomes, A. V. (2022). A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress - The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* . <https://doi.org/10.1155/2022/5563759>

Schulz, R. (2004). Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpoint-source insecticide pollution : a review. *Journal Environment Quality*, 33, 30.

Sumampouw, O.J., & Risjani, Y.(2014). Bacteria as indicators of environmental pollution: review, *International Journal Ecosystems.*, 4 (6) 251e258, <https://doi.org/10.5923/j.ije.20140406.03>

Sidabutar, N. V., Namara, I., Hartono, D. M., & Soesilo, T. E. B. (2017). The effect of anthropogenic activities to the decrease of water quality. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 67(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/67/1/012034>

Silva, C., Oliveira, C., Gravato, C., & Almeida, J.R. (2013). Behaviour and biomarkers as tools to assess the acute toxicity of benzo (a) pyrene in the common prawn *Palaemon serrates*. *Marine Environmental Research*. 90: 39- 46.

Tehrani AAG, Sadeghi Z, Badamchi NH, Sanjou Mansoub A, & Azhari. (2011). Effect of Carbamates pesticides on Instar I-II larvae and Adult *Artemia urumiana*. *Annals of Biological research*, 2(3):515-525.



- Teichert, N., Lepage, M., Hette-Tronquart, N., & Argillier, C. (2021). La protection des milieux aquatiques. Vulnérabilité et sensibilité fonctionnelle des communautés de poissons. *Sciences Eaux & Territoires*, N° 37(3), 76–81. <https://doi.org/10.3917/set.037.0076>
- Telahigue, K., Rabeh, I., Mhadhbi, L., Nechi, S., Chelbi, E., Ben Ali, M., Hedfi, A., AL-Harbi, M. S., & Hajji, T. (2022). Glyphosate exposure modulates lipid composition, histo-architecture and oxidative stress status and induces neurotoxicity in the smooth scallop *Flexopecten glaber*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 184(February), 105099. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105099>
- Thanomsit, C., Saowakoon, S., Wattanakornsiri, A., Nanuam, J., Prasatkaew, W., Nanthanawat, P., Mongkolvai, P., & Chalorchaoenyng, W. (2020). Glyphosate (Roundup): Fate in Aquatic Environment, Adverse Effect and Toxicity Assessment in Aquatic organisms. *Naresuan University Journal: Science and Technology*, 28(28), 1.
- Tsui, M.T.K., & Chu, L.M. (2003). Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52, 1189–1197. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00306-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00306-0).
- Vali, S., Majidiyan, N., Azadikhah, D., Varcheh, M., Tresnakova, N., & Faggio, C. (2022). Effects of Diazinon on the Survival, Blood Parameters, Gills, and Liver of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella* Valenciennes, 1844; Teleostei: Cyprinidae). *Water (Switzerland)*, 14(9). <https://doi.org/10.3390/w14091357>
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N.P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental and Toxicological Pharmacy* 13 (2), 57–149.
- Velisek, J., Stara, A., Kubec, J., Zuskova, E., Buric, M., & Kouba, A. (2020). Effects of metazachlor and its major metabolite metazachlor OA on early life stages of marbled crayfish. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57740-1>
- Velisek, J., Stara, A., Koutnik, D., Zuskova, E., & Kouba, A. (2014). Effect of prometryne on early life stages of marbled crayfish (*Procambarus fallax f. virginalis*). *Neuroendocrinology Letters*. 35((Suppl 2)), 93–98.
- Vera, M.S., Lagomarsino, L., Sylvester, M., Pérez, G.L., Rodríguez, P., Mugni, H., Sinistro, R., Ferraro, M., Bonetto, C., & Zagarese, H. (2010). New evidences of Roundup (glyphosate formulation) impact on the periphyton community and the water quality of freshwater ecosystems. *Ecotoxicology*, 19, 710–721.
- Vogt, G. (2019). Functional cytology of the hepatopancreas of decapod crustaceans. *Journal Morphology* 280, 1405–1444. <https://doi.org/10.1002/jmor.21040>
- Wang, J., Wang, Z., Dou, Y., Cong, J., Sun, H., Wang, L., & Duan, Z. (2024). Ecological risk assessment for typical organophosphorus pesticides in surface water of China based on a species sensitivity distribution model. *Science of the Total Environment*, 913, 169805. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169805>



Wang, Z., Zhou, J., Li, J., Lv, W., Zou, J., & Fan, L. (2020). A new insight into the intestine of Pacific white shrimp: Regulation of intestinal homeostasis and regeneration in *Litopenaeus vannamei* during temperature fluctuation. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics*, 35(May). <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2020.100687>

Wei, K., & Yang, J. (2015). Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Ecotoxicological Environment Safety*, 113, 446–453.

Xing, H., Wang, X., Sun, G., Gao, X., Xu, S., & Wang, X. (2012). Effects of atrazine and chlorpyrifos on activity and transcription of glutathione-S-transferase in common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2), 233-244.

Zenkevich, L. (1963). Biology of the seas of the U.S.S.R. *Interscience Publishers, New York*. 1-956

Zhan, H., Feng, Y., Fan, X., & Chen, S (2018). Recent advances in glyphosate biodegradation. *Applied Microbiological Biotechnology* 102, 5033–5043.

Zomer, J., Coimbra, R., Moreira, F., Francisco, H., Marques, M., Martinez, C. De, Martins, G., & Eduardo, C. (2013). Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata* : in vitro studies. *Aquatic Toxicology* 130–131, 171–173. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.01.006>

ANNEXE

- **Publications catégorie (A) (01):**

Boukari, A., Hamoudi, F. S., & Soltani, N. (2021). Biochemical modification in an edible mollusk (*Donax trunculus*) during transplantation into a polluted environment. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(3), 2416–2422.

- **Publications catégorie (B) (01):**

Hamoudi, F. S., Berghiche, H., & Chouahda, S. (2024). *Assessing the effect of glyphosate on the shrimp*. 32(1), 107–115. <https://doi.org/10.15421/012410>

- **Communication internationales (07):**

HAMOUDI Faten-Selma., BOUKARI Asma., SOLTANI Nouredine., 2019. Transplantation de *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba d'un site de référence à un site contaminé : examen des réserves énergétiques. Les 18^{èmes} Journées Tunisiennes Des Sciences de la Mer, 26-28 octobre 2019, Kélibia-Tunisie. (**Communication orale**).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2021. Évaluation des risques écotoxicologiques du glyphosate à l'égard de la crevette *Palaemon adspersus*: toxicité aiguë., International Journal of Human Settlements, 19-20 Février 2021. (**Communication orale**).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2022. Évaluation des risques Eco toxicologiques du glyphosate, à l'égard de la crevette *Palaemon adspersus* : dosage de biomarqueur., 1st International Webinar of Animal Biodiversity, Protection and Environment" WIBAPE2022 ‘’, 26-27 Mai . (**Communication affichée**).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2022. Evaluation of the effect of glyphosate on the shrimp *Palaemon adspersus*: Effect on neurotoxicity, international seminar on valorization of agronomic, ecological and food resources (isvarfr 2022). 18, 19 & 20 october, Skikda, Algeria. (**Communication affichée**).

BERGHICHE Hinda, BALI Imen, CHOUAHDA Salima. HAMOUDI Faten-Selma., 2023. Inventory of the freshwater crustaceans (Crustacea) of north-east Algeria: taxonomy and distribution. 5th AGBIOL23 Conferences AGRICULTURAL, BIOLOGICAL & LIFE SCIENCECONFERENCE 18-20, September, Edirne, Turkey. (**Communication affichée**).

BERGHICHE Hinda, HAMOUDI Faten-Selma & CHOUAHDA Salima., 2023. Évaluation des effets du glyphosate sur la crevette *Palaemon adspersus* : activités des biomarqueurs. 1^{er} SÉMINAIRE INTERNATIONAL SCIENTIFIQUE TUNISO-ALGÉRIEN «Valorisation des Ressources Naturelles et Biosurveillance» Amir Palace - Monastir, Tunisie, 20,21 & 22 Décembre. (Communication affichée).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023. Toxic effects of glyphosate on the intestinal histopathology of *Palaemon adspersus*. Applied research in food sciences, health and environment (1st IS ARFSHE 23), December 17-18th ANNABA. (Communication Orale).

- **Communication nationales (06):**

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023. Analyse de l'incidence du glyphosate sur la crevette *Palaemon adspersus* en mesurant la toxicité aigue et son activité sur les biomarqueurs. Premier séminaire national des Eaux, Environnement et Pollution SEEP23. Alger. (Communication Affichée).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023. Assessment of glyphosate impacts on the shrimp *Palaemon adspersus*: Acute toxicity and biomarker. Le 1er Séminaire National sur : Biodiversité, Santé, Environnement : Enjeux du Développement Durable (SNBSEEDD'2023) le 03 Octobre. Mila. (Communication Affichée).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023. Environmental risks of an herbicide (glyphosate ®) on the shrimp *Palaemon adspersus*: influence on oxidative stress. 3ème édition national du séminaire des sciences d'interfaces chimie-biologie (SNCISB,18-19 Octobre). Souk Ahras. (Communication Affichée).

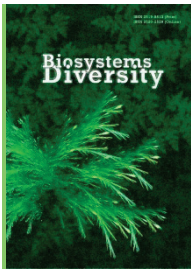
HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023.Analyses des effets ecotoxicologiques du glyphosate sur la crevette *Palaemon adspersus* pendant son exposition et son épuration. National Doctorial Days of Applied Sciences & Innovation (DD-ASI) November 15-16. Annaba. (Communication Affichée).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2023. Ecotoxicological Impacts of Glyphosate on the *Palaemon Adspersus* Shrimp: Comprehensive Analysis of Effects and Risks. 2ème Séminaire National Environnement & Gestion Durable (2ème SNEGD'23). 09-10 Décembre. Université de Relizane. (Communication Affichée).

HAMOUDI Faten-Selma & BERGHICHE Hinda., 2024. In-depth Analysis of the Ecotoxicological Impacts of a Widely Used Pesticide on the *Palaemon Adspersus* Shrimp. Premier séminaire national de Biodiversité et santé environnementale, Université Chadli Bendjedid El-Taref. 3-4 Mai. (**Communication orale**).

- **Tâches pédagogiques :**

- Chargée de TP de Biologie cellulaire (1ère année tronc commun).
- Chargée de TP de Biologie animale (1ère année tronc commun).
- Chargée de TP de Biologie végétale (1ère année tronc commun).
- Chargée de TP de Histologie (Licence).
- Chargée de TD de Ecotoxicologie spéciale (Master II).
- Chargée de TP de Ecotoxicologie environnementale (Master I).
- Assistante encadrement Master II : Ecotoxicologie Animale / Biologie et Physiologie de la Reproduction.



Assessing the effect of glyphosate on the shrimp *Palaemon adspersus*: Acute toxicity and biomarker responses

F. S. Hamoudi, H. Berghiche, S. Chouahda

Annaba University, Annaba, Algeria

Article info

Received 02.12.2023

Received in revised form 10.01.2024

Accepted 21.01.2024

Laboratory of Applied Animal
Biology, Annaba University,
BP12, Sidi Amar, Annaba, Algeria.
Tel.: +213-776-32-15-43. E-mail:
hindaberghichebentoubal@gmail.com

Hamoudi, F. S., Berghiche, H., & Chouahda, S. (2024). Assessing the effect of glyphosate on the shrimp *Palaemon adspersus*: Acute toxicity and biomarker responses. *Biosystems Diversity*, 32(1), 107–115. doi:10.15421/012410

Glyphosate, a widely used agricultural herbicide, poses a risk of aquatic contamination. This study assessed the acute toxicity of glyphosate in the shrimp *Palaemon adspersus* (Decapoda, Palaemonidae). The sublethal (LC₁₀ and LC₂₅) and lethal (LC₅₀ and LC₉₀) concentrations were estimated after 24 and 96 hours of exposure. The compound was added to rearing water at LC₂₅ and LC₅₀ for 96 hours during the exposure phase (24, 48, 72, and 96 hours). Shrimp were then transferred to clean seawater and collected during the recovery phase (24, 48, 72, and 96 hours). Enzymatic activities in shrimp heads and flesh fragments were measured for acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, and malondialdehyde, followed by lipid quantification. Toxicological data indicated the toxicity of glyphosate against shrimp, exhibiting a dose-response effect. Lethal concentrations LC_{10, 25, 50, 90} were 1.15, 1.25, 1.35, 1.59 mg/L after 24 hours and 0.99, 1.06, 1.14, 1.31 mg/L after 96 hours. Two-way ANOVA during the treatment phase showed significant ($P < 0.05$) effects of glyphosate concentration and treatment time on all the biomarkers. During the recovery phase, shrimp compensated for herbicide effects, demonstrating acute toxicity that caused oxidative stress and neurotoxic effects at sublethal concentrations. Careful control is recommended to minimise the negative impacts on non-target aquatic organisms.

Keywords: Decapoda; herbicide; glyphosate; toxicity tests; biomarkers; biochemical responses.

Introduction

The primary environmental challenges facing the Mediterranean Sea coastline include urbanisation, sewage and urban runoff, waste disposal, industrial discharge, maritime transportation, sand erosion and eutrophication (Boukari et al., 2021; Sebbih et al., 2023). Pesticides are crucial tools for improving crop yields in agricultural fields (Zhang et al., 2017), and play an irreplaceable role in disease vector control (Wang et al., 2022). They boost agricultural product productivity and gross output, while reducing crop losses caused by pests, plant diseases, and weeds. However, their long-term and immoderate applications worldwide can potentially disturb the homeostasis of the natural environment and threaten the health of humans and other organisms (Lieschova et al., 2018; Bilan et al., 2019; Kozak et al., 2020). They also affect macroinvertebrates and microorganisms in aquatic environments (Gull et al., 2019). A study of the impact of pesticides on ponds revealed that, regardless of the pesticides used, the number of applications made, or the rate at which they were applied, there were still significant direct negative effects on various groups of invertebrates, such as amphibians (Ruiz de Arcaute et al., 2020), fish (Bonifacio et al., 2020), and crustaceans (Parlapiano et al., 2021). However, their use also affects human and environmental health.

Glyphosate, also known as N-(phosphonomethyl) glycine, is a systemic herbicide introduced in 1971 (Fabrello et al., 2020). Registered under CAS number 107-83-6 with the chemical formula C₃H₈NO₃P, it originated from glycine and encompasses three functional groups: carboxylic acids, phosphonic acids, and amines. Functioning as an active ingredient in non-selective, broad-spectrum herbicides, glyphosate is widely used. This herbicide, penetrating leaves and systemically reaching roots, is a key component in various formulations. Commonly comprised of isopropylamine salt, a surfactant (typically polyethoxylated tallowamine), and water, these formulations contribute to its global application. Glyphosate serves as the primary component in over 750 herbicides, with an annual usage ranging from 0.6 million to 1.2 million tons globally (Rodriguez-Gil et al., 2017). According to findings of Clapp (2021), the application of

glyphosate-based herbicides is a common agricultural practice globally. They are generally applied before sowing and as a pre-harvest drying treatment to accelerate and standardise the ripening process (De Carvalho et al., 2020). The herbicidal activity of glyphosate constrains plant growth by inhibiting 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, a key enzyme in the biosynthesis of aromatic amino acids, such as phenylalanine, tyrosine, and tryptophan. Study of the literature reveals that glyphosate residues and their metabolites have been commonly detected in surface waters and can cause adverse effects on non-target organisms, including fish, molluscs and crustaceans (Robichaud & Rooney, 2021). This is mainly due to the fact that glyphosate is not metabolised in the plant and root systems distribute this herbicide into deep soil layers where microorganism activity is relatively low. Therefore, its persistence and transport in the soil depends on its composition, climatic conditions, and microbial activity (Mirella da Silva, 2018).

The use of biochemical biomarkers to assess toxicity effects under controlled laboratory conditions remains a useful approach to provide indications of xenobiotic toxicity (Santana et al., 2022). Thus, there are biomarkers indicative of neurotoxic responses, such as acetylcholinesterase, a neurotransmitter hydrolase that helps in the transmission of nerve impulses by the hydrolytic metabolism of acetylcholine into choline and acetate (Bernal-Rey et al., 2020). Glutathione S-transferase biomarkers related to oxidative stress or malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, have been widely used as biomarkers of free radical damage in lipid molecules. The former is an important enzyme in the conjugation phase (phase II), as it combines with contaminants and generates compounds that are more easily excreted (Ribeiro et al., 2022). Lipid peroxidation is known to cause cellular injury through the inactivation of membrane enzymes and receptors, depolymerisation of polysaccharides, and cross-linking and fragmentation of proteins. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione, and glutathione reductase are oxidative stress biomarkers (Li et al., 2020), whereas metallothioneins are widely used as biomarkers of metal contamination by binding and removing toxic metals. Integrated analysis of these biomarkers may help overcome possible variati-

ons in biomarkers and assess polluted sites (dos Santos & Martinez, 2014). Furthermore, multiple scientific studies have confirmed that shrimps are indicators of estuarine health because of their global distribution and sensitivity to most pesticides (Ameur et al., 2022). The genus *Palaemonetes* (Crustacea, Decapoda, Caridea) is a good model for assessing the effects of pollution. The physiological, and toxicological aspects of non-target aquatic species need to be clarified, and the effects of xenobiotics on these organisms determined. The aim of this study was to assess the acute toxicity of glyphosate, an herbicide intensively used in Algeria which can reach the aquatic environment through runoff (Cheloufi et al., 2017). The study was conducted on a non-targeted biological model, the shrimp *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) (Decapoda, Palaemonidae) fished in the El-Mellah Lagoon and is considered to be a good model for monitoring the effects of pesticides. The main objectives of this study were to estimate the sublethal (LC_{10} , LC_{25}) and lethal (LC_{50} , LC_{90}) concentrations of glyphosate, commercial formulation Rondo[®], against the shrimp after 24 and 96 hours. Additionally, selected biomarkers acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, malondialdehyde and lipid quantities were

determined in order to obtain additional information on the toxicity of this product during the treatment and recovery phases.

Materials and methods

Collection and maintenance of organisms. The shrimp *P. adspersus* was collected from the El-Mellah Lagoon, located on the extreme eastern side of Algeria ($8^{\circ}20' E$ $36^{\circ}54' N$), in the constriction zone of the channel that leads to the Mediterranean Sea (Fig. 1). This site is far from any source of pollution and is considered as a relatively clean site away from pollution sources. The shrimp were transported and acclimated to laboratory conditions for one week prior to the start of the experiment. Their rearing in the laboratory was maintained in glass aquaria ($100 \times 60 \times 80$ cm) filled with seawater (salinity 37 psu; temperature $22-25^{\circ}C$; photoperiod 12:12 h light/dark) for 3/4 days. The filtration was performed using a water filter at a flow rate of 180 l/h (Rena 225). The shrimp were fed fresh mussels daily in the afternoon during the experiment. Shrimps of a similar size (length: 25 mm; weight: 850 mg) were used in the experiment.

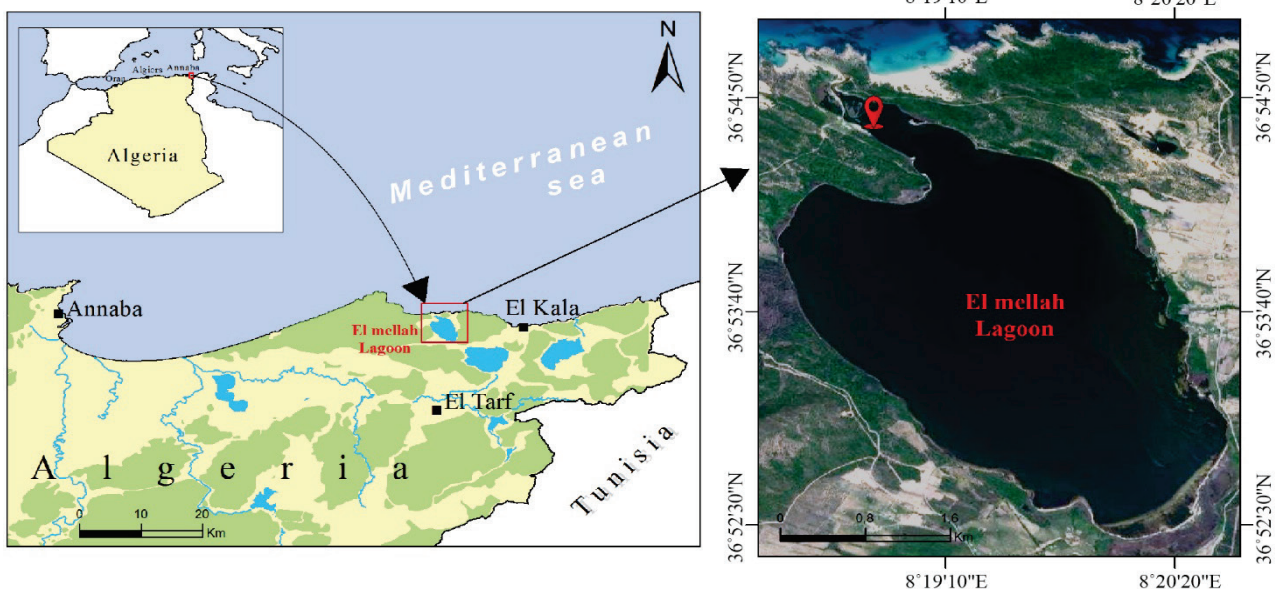


Fig. 1. Geographical location of the sampling site: El-Mellah Lagoon (El-Kala) (ArcGIS 10.3)

Herbicide. Glyphosate is the active ingredient in the commercial preparation of Rondo[®] (480 mg/L). It is an anionic organophosphate herbicide which is recognised for its potent and non-selective weed elimination properties (Ogunbiyi et al., 2023) with a molecular formula ($C_3H_8NO_3P$).

Acute toxicity test. Acute toxicity tests were performed on *P. adspersus* adults (15 individuals) placed in plastic boxes containing one litre of rearing water with a commercial formulation of glyphosate, Rondo[®] (480 mg/L) (1.75, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 mL), corresponding respectively to different concentrations (0.84, 0.96, 1.08, 1.20, 1.32 mg/L). The experiment was conducted with five replicates for each concentration. In addition, a control series was conducted in parallel. Mortality was checked daily for 96-hours and assessed considering the cumulative mortality. The percentage of mortality was corrected (Abbott, 1925) and then subjected to angular transformation according to Hendry (1909). The sublethal (LC_{10} and LC_{25}) and lethal (LC_{50} and LC_{90}) concentrations were determined along with their corresponding 95% confidence limits (95% LC), and the slope of the concentration-mortality lines was calculated using a regression probit analysis method.

Treatment and collecting tissues. Glyphosate was added to the rearing water containing mixed-sex *P. adspersus* shrimp at stage A (early post-molt), as described by Roberston et al. (1987). The compound was used at LC_{25} and LC_{50} concentrations obtained from shrimp after 96-hours. Samples (head and flesh) were taken from *P. adspersus* at different exposure times of 24, 48, 72, and 96 hours from the control and treated groups during the exposure period, and then transferred to clean water for 24, 48, 72, and 96 hours for the recovery period.

Biomarker analysis. After dissecting *P. adspersus*, shrimp heads were used to assess acetylcholinesterase activity, while flesh fragments (weight: 49–50 mg) were employed for the quantification of glutathione S-transferase, malondialdehyde, and lipid levels. Assays were conducted on five individuals in both the treated and control groups, spanning a treatment period of 96 hours and a re-recovery period of 96 hours.

Acetylcholinesterase activity. Specific activity of acetylcholinesterase in the *P. adspersus* cephalothorax was determined according to the method described by Ellman et al. (1961). The method is based on a coupled enzyme reaction involving acetylthiocholine as the specific substrate for acetylcholinesterase and 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) as an indicator of the enzyme reaction at 412 nm. The results are expressed as micromoles of thiocholine produced per minute per milligram of protein ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ of protein).

Glutathione S-transferase analysis. In this study glutathione S-transferase activity was determined using the method described by Habig et al. (1974), based on the glutathione S-transferase-catalysed conjugation of reduced glutathione with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as a substrate. The increase in chloro-2,4-dinitrobenzene conjugate was monitored at 340 nm, and enzyme activity was expressed in micromoles of chloro-2,4-dinitrobenzene conjugate per minute per milligram of protein ($\mu\text{mol}/\text{mn}/\text{mg}$ of protein).

Malondialdehyde analysis. Lipid peroxidation was estimated by the quantification of malondialdehyde rates using the method described by Draper & Hardley (1990). Malondialdehyde determination was used as an index of lipid peroxidation. This method is based on measuring the colour produced during the reaction between thiobarbituric acid (TBA) and ma-

londialdehyde. The rate of malondialdehyde was measured at 532 nm and expressed as $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ of protein.

Lipid content essay. The lipid content was estimated according to the method described by Folch et al. (1957). Lipids were extracted using a mixture of chloroform/methanol/water (2/1/0.8). The lipid extract was placed in a pre-weighed screw tube and evaporated under nitrogen flow, and the total lipid content was estimated by the difference in the weight of the tube before and after evaporation. The lipid extracts from the samples were taken in a mixture of toluene/ethanol (4v/1v), which allowed the preservation of lipids at low temperature ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) without risk of alteration for several months. The absorbance was measured by excitation at 530 nm.

In parallel, enzymatic activity was calculated in terms of the protein content of the sample (Bradford, 1976) using Coomassie Brilliant Blue G250 as a reagent and bovine serum albumin as the standard. Absorbance was measured at 595 nm and reported as $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ of protein.

Statistical analysis. The results are presented as arithmetic mean \pm standard deviation ($x \pm \text{SD}$). Normal distribution of data (Shapiro-Wilk's test) and homogeneity of variances (Bartlett's test) were assessed. Data for the bioassay were analysed using nonlinear sigmoid curve fitting, and the activity of the treatment was evaluated in terms of a concentration-dependent response. The goodness of fit of the curve model was evaluated based

on the R^2 values. Toxicity statistical analyses were performed using R (version 4.2.1; R Core Team, 2022) and RStudio (RStudio Team, 2022). For all biomarkers, statistical analysis was performed using the SPSS software (V22.0, IBM Corporation, NY, USA). Two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's comparison test with HSD post-hoc analysis was used to assess the differences between the control, treated, and recovered series, with $P < 0.05$, indicating a statistically significant difference. Pearson's correlation test was used to correlate malondialdehyde with lipid content.

Results

Acute toxicity of glyphosate. As shown in Figure 2, glyphosate at different concentrations (0.84, 0.96, 1.08, 1.20, 1.32 mg/L) was added to the rearing medium of *P. adspersus* and mortality was observed at 24 and 96-hours. The corrected cumulative mortality varied from $8.9 \pm 2.2\%$ for the lowest concentration (0.84 mg/L) to $97.8 \pm 2.2\%$ for the highest concentration (1.32 mg/L) with dose-response manner. Mortality was not observed in the control group. Statistical analysis indicated a significant effect of the concentration ($P < 0.05$). The lethal concentrations and the corresponding 95% fiducial limits (95% FL) are listed in (Table 1).

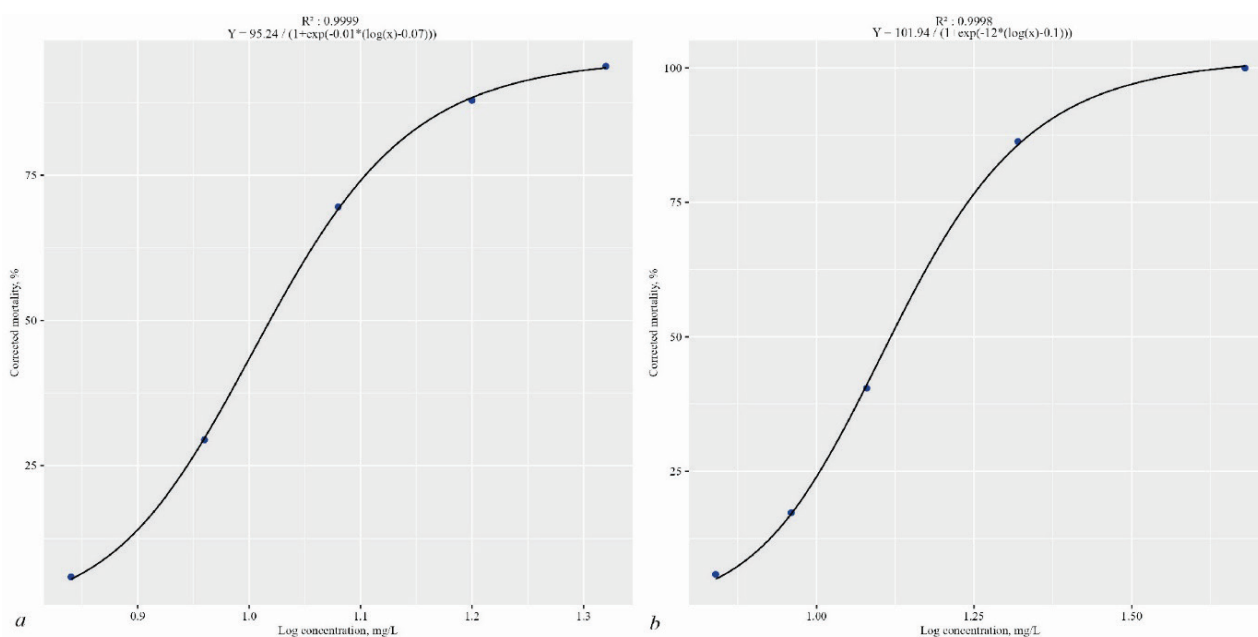


Fig. 2. Effect of glyphosate on adult *P. adspersus* shrimp after 24 (a) and 96-hours (b): sigmoidal dose-dependent response curve of corrected mortality (%) as a function of the decimal logarithm of concentration

Table 1

Glyphosate lethality parameters in adult *P. adspersus* shrimp after 24 and 96-hours: the data were expressed in terms of lethal concentration (LC, %) together with the corresponding 95% fiducial limits (FL [95%]), coefficient of determination (R^2), and hill slope ($n = 5$ repeats, each containing 15 individuals)

Time	Concentrations	Values, mg/L	Fiducial limits 95%	R^2	Hill slope
24 h	LC ₁₀	1.15	0.82–1.18	0.9999	13.63
	LC ₂₅	1.25	1.03–1.29		
	LC ₅₀	1.35	1.24–1.47		
	LC ₉₀	1.59	1.03–1.61		
96 h	LC ₁₀	0.99	0.88–1.07	0.9998	15.61
	LC ₂₅	1.06	0.99–1.11		
	LC ₅₀	1.14	1.09–1.18		
	LC ₉₀	1.31	1.22–1.44		

Effects of glyphosate on biomarker measurements during treatment and recovery phases. All treatments were performed on mixed-sex *P. adspersus* at Stage A (early postmolt). The results obtained for the variation in the enzymatic activities of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, malondialdehyde, and lipid content in the treated and control groups

after the treatment (24, 48, 72 and 96-hours) and recovery phases (24, 48, 72, and 96-hours) are presented in (Fig. 3–6).

Changes in acetylcholinesterase activity. The enzymatic activity of acetylcholinesterase in the head fragments of the control series decreased over time, up to 96 hours. Treatment with glyphosate at both LC₂₅ and LC₅₀ revealed a significant ($P < 0.05$) dose-dependent decrease in acetylcholinesterase activity after 24 to 96-hours (Fig. 3a). The most significant inhibitory action was recorded at 48 h with LC₅₀ (1.14 mg/L), where acetylcholinesterase activity was the lowest compared to the treated series. This activity increased significantly (p) after 96 hours, as compared with 48 and 72 hours. A two-way ANOVA revealed a highly significant time effect ($F_{3,48} = 11.964$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 1428.893$; $P < 0.05$), and time/treatment interactions ($F_{6,48} = 35.160$; $P < 0.05$).

During the recovery phase, acetylcholinesterase activity remained inhibited after 24 and 48 hours, with a significant difference between the treated and control series. However, acetylcholinesterase activity returned to normal levels after 72 and 96 hours, with no significant difference between the treatment (LC₂₅ and LC₅₀) and control series (Fig. 3b). A two-way ANOVA revealed a highly significant effect of time ($F_{3,48} = 16.797$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 27.461$; $P < 0.05$) and time/treatment interaction ($F_{6,48} = 7.337$; $P < 0.05$).

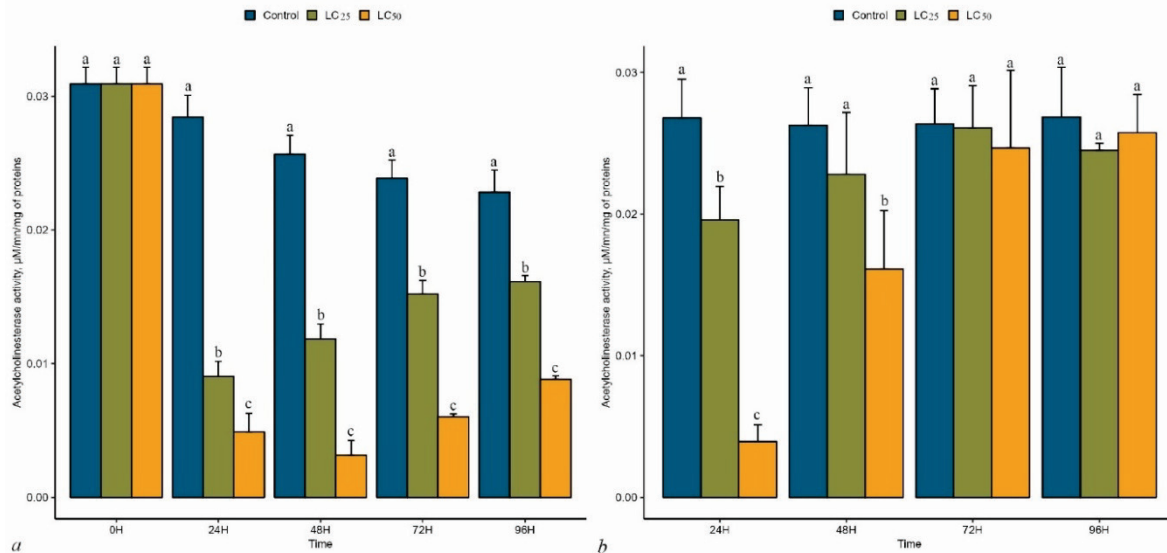


Fig. 3. Effect of glyphosate on acetylcholinesterase in *P. adspersus* during the treatment (a) and recovery (b) periods (LC₂₅ = 1.06 mg/L and LC₅₀ = 1.14 mg/L); different letters indicate differences between dose within one time (hours) of observations (Tukey's test, $P < 0.05$); $\bar{x} \pm SD$, $n = 5$

Changes in glutathione S-transferase activity. Under normal conditions, the enzymatic activity of glutathione S-transferase in flesh fragments increased over time, up to 96 hours. Treatment with glyphosate at both LC₂₅ and LC₅₀ revealed a significant ($P < 0.05$) dose-dependent induction of glutathione S-transferase after 48 to 96-hours (Fig. 4a). The highest activity was observed at the LC₅₀ (1.14 mg/L). A two-way ANOVA revealed a highly significant time effect ($F_{3,48} = 602.007$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 1411.895$; $P < 0.05$), and time/treatment interactions ($F_{6,48} = 152.013$; $P < 0.05$).

During the recovery phase, glutathione S-transferase activity was induced at 24 and 48 hours, with a significant difference between the treated and control series. However, glutathione S-transferase activity returned to normal levels at 72 and 96 hours, with no significant difference between the treated and control series (Fig. 4b). A two-way ANOVA revealed a highly significant time effect ($F_{3,48} = 1508.926$; $P < 0.05$), treatment effect

($F_{2,48} = 1304.721$; $P < 0.05$), and time/treatment interaction ($F_{6,48} = 378.949$; $P < 0.05$).

Changes in malondialdehyde activity. In the control series, malondialdehyde activity in flesh fragments increased over time to 96 h. Treatment with glyphosate at both LC₂₅ and LC₅₀ revealed a significant ($P < 0.05$) dose-dependent induction of malondialdehyde after 24 to 96-hours (Fig. 5a). The most potent activity was observed at 48 hours, as measured with LC₅₀. A two-way ANOVA revealed a highly significant time effect ($F_{3,48} = 90.835$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 655.325$; $P < 0.05$), and time/treatment interaction ($F_{6,48} = 27.135$; $P < 0.05$).

During the recovery phase, malondialdehyde activity returned to normal levels significantly from 24 to 96-hours (Fig. 5b). A two-way ANOVA revealed no significant effect of time ($F_{3,48} = 1.764$; $P > 0.05$), a significant treatment effect ($F_{2,48} = 8.008$; $P < 0.05$), and no significant time/treatment interaction ($F_{6,48} = 0.039$; $P > 0.05$).

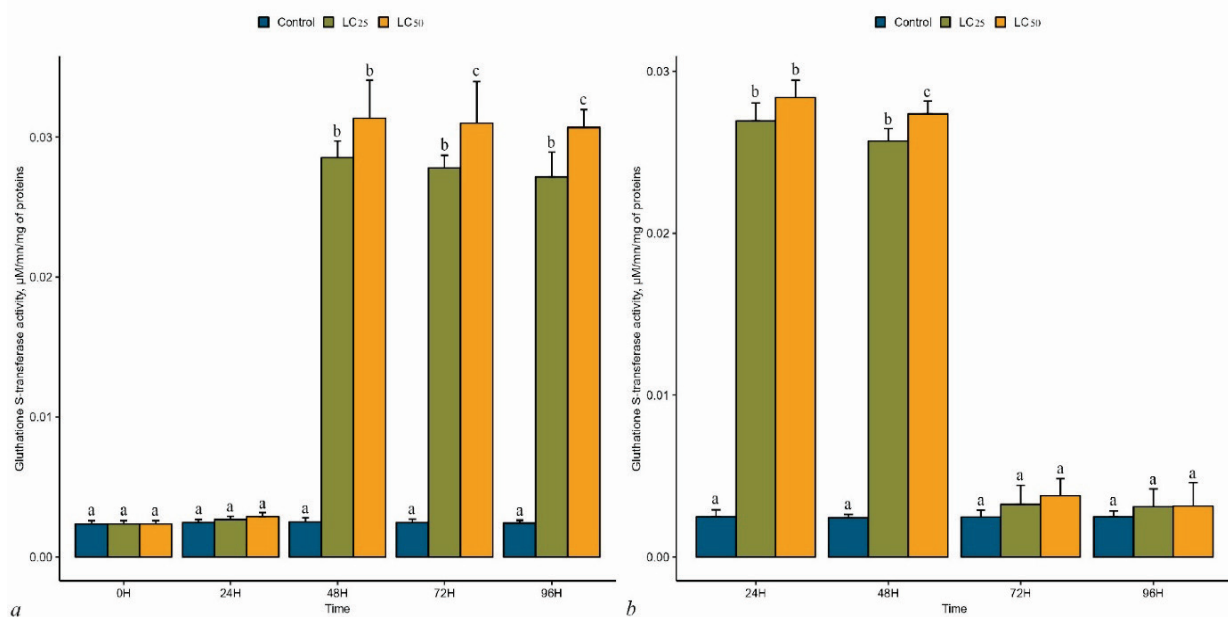


Fig. 4. Effect of glyphosate on glutathione S-transferase in *P. adspersus* during the treatment (a) and recovery (b) periods (LC₂₅ = 1.06 mg/L and LC₅₀ = 1.14 mg/L); different letters indicate differences between dose within one time (hours) of observation (Tukey's test, $P < 0.05$); $\bar{x} \pm SD$, $n = 5$

Changes in lipid activity. As shown in the figure, under normal conditions, the lipid content in the flesh fragments decreased over time, up to 96 hours. Treatment with glyphosate at both LC₂₅ and LC₅₀ revealed a

significant ($P < 0.05$) dose-dependent decrease in lipid levels after 24 to 96-hours (Fig. 6a). The most significant reduction was obtained with the LC₅₀ at the end of the treatment. A two-way ANOVA revealed a highly

significant time effect ($F_{3,48} = 12.763$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 379.597$; $P < 0.05$), and significant time/treatment interaction ($F_{6,48} = 3.814$; $P < 0.05$). During the recovery phase, the lipids were maintained at low levels (Fig. 6b). Two-way ANOVA revealed a significant effect of time ($F_{3,48} = 17.237$; $P < 0.05$), treatment effect ($F_{2,48} = 412.549$; $P < 0.05$), and a significant treatment/time interaction ($F_{6,48} = 3.207$; $P < 0.05$).

Correlation test. The Pearson correlation test, employed to analyse data between malondialdehyde and lipid levels after glyphosate-treatment and recovery phases is displayed in Figure 7. The results showed a highly significant negative correlation ($P < 0.05$) between the two variables during both the treatment and recovery phases.

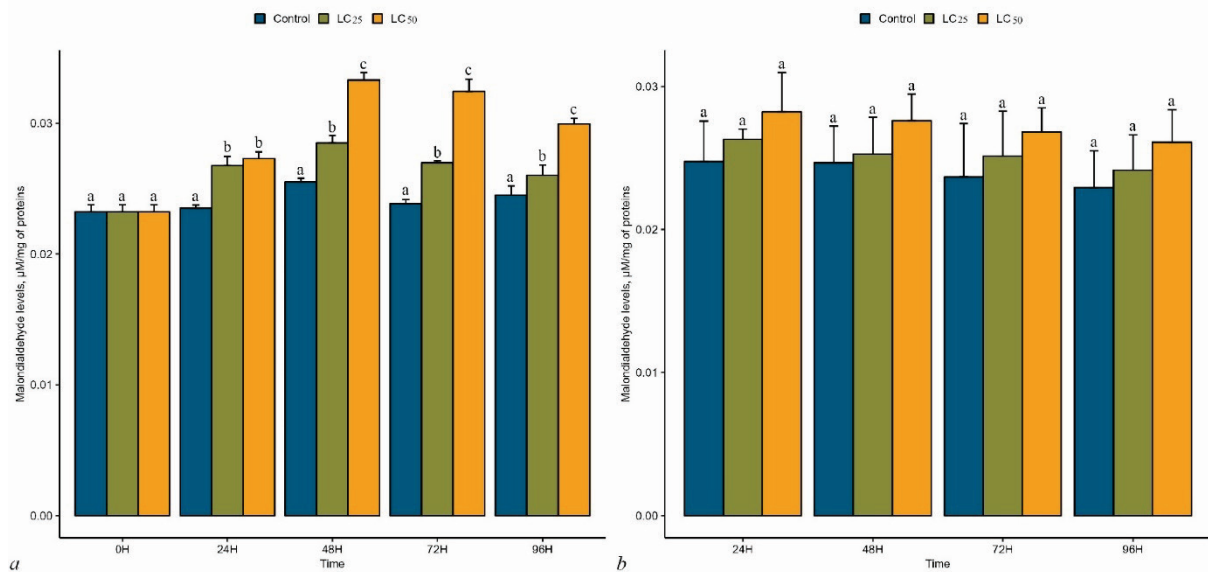


Fig. 5. Effect of glyphosate on malondialdehyde activity in *P. adspersus* during the treatment (a) and recovery (b) periods ($LC_{25} = 1.06$ mg/L and $LC_{50} = 1.14$ mg/L); different letters indicate differences between dose within one time (hours) of observation (Tukey's test, $P < 0.05$); $\bar{x} \pm SD$, $n = 5$

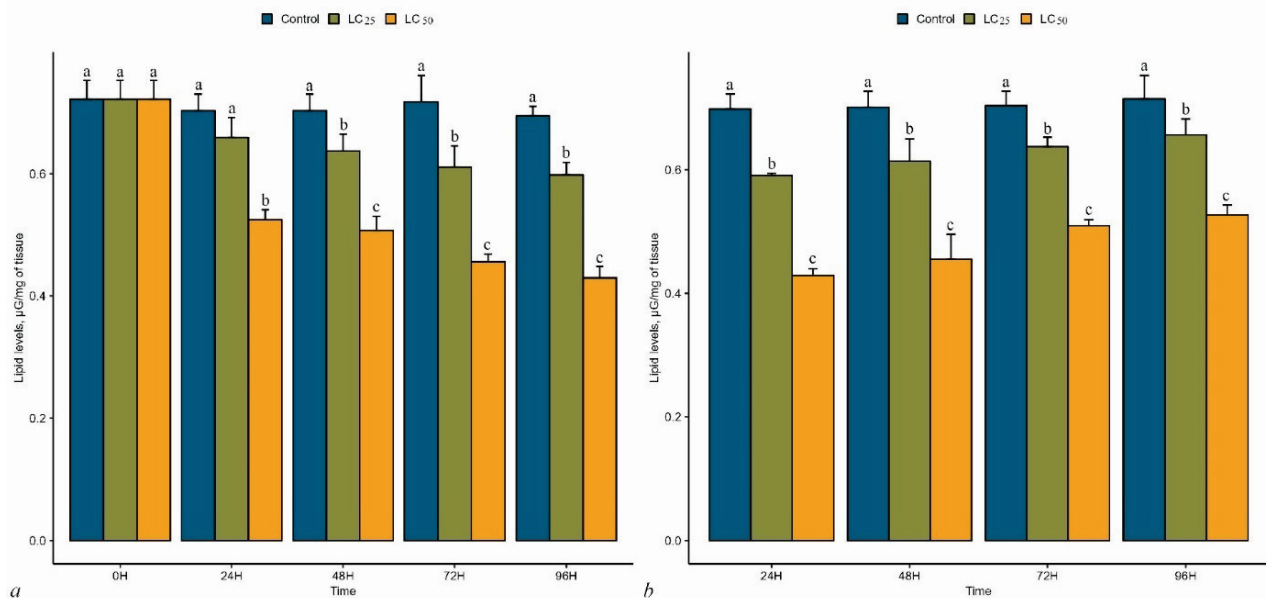


Fig. 6. Effect of glyphosate on lipids in *P. adspersus* during the treatment (a) and recovery (b) periods ($LC_{25} = 1.06$ mg/L and $LC_{50} = 1.14$ mg/L); different letters indicate differences between dose within one time (hours) of observation (Tukey's test, $P < 0.05$); $\bar{x} \pm SD$, $n = 5$

Discussion

Decapod crustaceans are a large and diverse group of organisms. Ecologically, they are key species in the food chain, play an essential role in ecosystem function, and are economically important species in the fisheries sector. They are also excellent biological models for determining the impact of xenobiotics such as *Gammarus* spp. (J.C. Fabricius, 1775), (Amphipoda, Gammaridae) (Consolandi et al., 2019), *Gammarus fossarum* (Koch, 1836) (Amphipoda, Gammaridae) (Lebrun & Gismondi, 2020), *Palaemon serratus* (Pennat, 1777) (Decapoda, Palaemonidae) (González-Ortegón et al., 2014), *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) (Decapoda, Palaemonidae) (Mostafiz et al., 2020). Owing to their

worldwide distribution and sensitivity to most pesticides, shrimps have been proposed as indicators of estuarine health. This justifies their use as a model for assessing the impact of pesticides. In addition, the extensive application of pesticides can accidentally lead to their introduction into fresh and marine surface water. These contaminants pose a high ecotoxicological risk to aquatic organisms, particularly in their early life stages. Although, there is growing interest in the presence of herbicides, such as glyphosate, in aquatic ecosystems, information on the effects of this compound on non-target marine species, particularly invertebrates, is limited. Therefore, it is crucial to investigate the effects of this compound on non-target aquatic species. The objectives of this study were to examine the acute toxicity of Rondo® (a commercial formulation of glyphosate)

against the adult shrimp *P. adspersus*, by determining the various lethal and sublethal concentrations. Next, enzymatic activities were measured in the head and flesh fragments of the shrimp to quantify acetylcholinesterase, glutathione S-transferase, and malondialdehyde activity, followed by the quantification of lipids in the treatment and depuration phases.

Indeed, the 24 and 96-hours sublethal and lethal LC₅₀ and LC₂₅ concentrations are estimated at around 1.35 and 1.25 mg/L at 24 hours and 1.14 and 1.06 mg/L at 96-hours, respectively. So, shrimp are sensitive to glyphosate, and their lethal concentrations are lower than those of other species, such as *Macrobrachium nipponense* (De Haan, 1849) (Decapoda, Palaemonidae) (Hong et al., 2018), *Eriocheir sinensis* (H. Milne Edwards, 1853) (Decapoda, Varunidae) (Hong et al., 2017), and *Caridina nilotica* (Roux, 1833) (Decapoda, Atyidae) (Filho et al., 2014). To date, se-

veral studies have demonstrated that glyphosate and its commercial formulation have significant toxic effects on freshwater organisms, particularly crustaceans and fish (Bastos Gonçalves et al., 2020). Hong et al. (2019) demonstrated considerable variability in the 96-hours LC₅₀ value of glyphosate, depending on factors such as species, life stage, and environmental conditions. For larvae and adults of the freshwater shrimp *C. nilotica*, the respective values were 2.45 and 27.76 mg/L (Mensah et al., 2015). Neotropical fish *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes, Prochilodontidae) exhibited values around 13.69 mg/L (Langiano & Martinez, 2008), while the cold-water species *Salmo salar* (Linnaeus, 1758) (Salmoniformes, Salmonidae) recorded a value of 42 mg/L (Servizi et al., 1987).

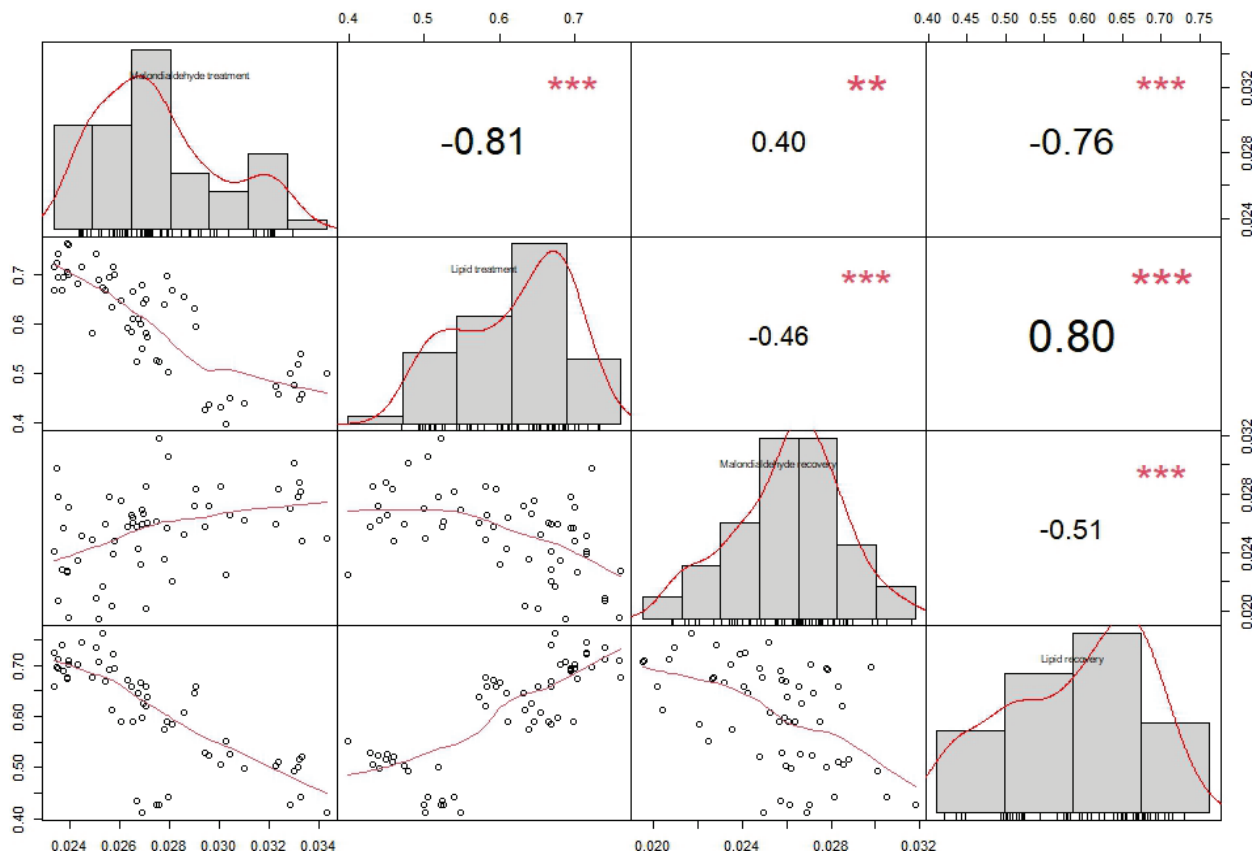


Fig. 7. Pearson correlation test between malondialdehyde and lipid levels (n = 60)

Furthermore, research conducted on the freshwater shrimp *M. nipponense* has estimated the LC₅₀ value of glyphosate after 96 hours of exposure to be approximately 57.68 mg/L. In addition, according to (Hong et al., 2017), the lethal concentration (LC₅₀) of glyphosate in the crab *E. sinensis* was significantly high, reaching 97.89 mg/L, whereas that in the shrimp *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758) (Amphipoda, Gammariidae) did not exceed 403 µg/L (Pala, 2019). Moreover, Osterberg et al. (2012) showed that the 24-hours LC₅₀ value of Roundup (the glyphosate-based commercial formulation) in the juvenile blue crab *Callinectes sapidus* (Rathbun, 1896) (Decapoda, Portunidae) reached 316 mg/L. Furthermore, in our study, shrimp generally exhibited the first negative effect after 48 hours. When the first effects of glyphosate appeared, the mortality increased at very short concentration intervals. Indeed, LC₁₀, LC₂₅, LC₅₀ and LC₉₀ range from 0.99 to 1.31 mg/L. With depuration, shrimp were able to return to their initial state after 48 hours. These results suggest a difference in shrimp sensitivity to glyphosate-based herbicides. However, various authors have documented that pure glyphosate may be relatively less toxic to aquatic organisms (Bridi et al., 2017). However, its formulations are often more toxic to aquatic organisms because of the addition of surfactants which are used to improve its penetration into plants (Fiorino et al., 2018). This confirmed that shrimp were highly sensitive to glyphosate-based herbicide formulations. This is due to a variety of behaviours and habitats.

Biochemical biomarkers are often assessed when an organism is exposed to pollutants, leading to a cascade of biological responses triggered by stress. To analyse the probable adverse effects of glyphosate on *P. adspersus*, a set of neurotoxicity and oxidative stress biomarkers was determined. The tissue acetylcholinesterase level is commonly used as a sensitive parameter in the assessment of pesticide neurotoxicity in non-target organisms. As modulators of neurotransmission, changes in acetylcholinesterase activity have also been associated with changes in behavioural patterns (Bonifacio et al., 2020). Glyphosate is categorised as a non-acetylcholinesterase inhibitor in animals (Sandrini et al., 2013). However, the results of the present study indicate that acetylcholinesterase activity in *P. adspersus* was inhibited in a dose-dependent manner after 24 to 96-hours and when individuals were transferred to clean water, they showed rapid recovery patterns. Numerous research endeavors have reported a decrease in acetylcholinesterase activity in aquatic organisms exposed to pure glyphosate or glyphosate formulations (Menéndez-Helman et al., 2012). As well, Pala (2019) revealed inhibition of acetylcholinesterase activity in the shrimp *G. pulex* treated with glyphosate at sublethal concentrations (10, 20, and 40 µg/L) for 24 and 96 hours. Similarly, pure glyphosate inhibited acetylcholinesterase activity *in vitro* in a concentration-dependent manner in fish, such as *Danio rerio* (Hamilton, 1822), (Cypriniformes, Cyprinidae) and *Jenynsia multidentata* (Jenyns, 1842), (Cyprini-

nodontiformes, Anablepidae) (Sandrini et al., 2013). Previous studies have shown that acetylcholinesterase activity was inhibited after exposure to concentrations of 0.2 and 0.4 mg/L of Roundup® (glyphosate) for 96 hours in the fish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Siluriformes, Heptapteridae) (Gluszcak et al., 2007). Similarly, a significant 1.5-fold reduction in acetylcholinesterase activity in Polychaeta *Laeonereis acuta* (Treadwell, 1923) (Phyllostocida, Nereididae) was observed after exposure to Roundup at concentrations of 3.25 and 5.35 mg/L for 96 hours (De Melo Tarouco et al., 2017). In addition, pure concentrations of glyphosate, ranging from 0.075 to 15 mM, inhibited acetylcholinesterase activity in a dose-dependent manner in the gills and muscles of the marine brown mussel, *Perna perna* (Linnaeus, 1758) (Mytiloidea, Mytilidae). This enzymatic activity was suppressed by more than 50%, even at the lowest concentrations tested (0.75 to 1 mM) in *P. perna* than in *D. rerio* and *J. multidentata* (Matozzo et al., 2020). Inhibition of acetylcholinesterase activity has also been observed in crabs *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758), (Decapoda, Carcinidae) exposed to fluoranthene (Rodrigues & Pardal, 2014), in the shrimp *Macrobrachium borelli* (Nobili, 1896) (Decapoda, Palaemonidae) contaminated by organophosphates (Lavarias et al., 2013), and in the freshwater shrimp *Palaemonetes argentinus* (Nobili, 1901) (Decapoda, Palaemonidae) exposed to organophosphorus fenitrothion (Lavarias & Garcia, 2015). Moreover, glyphosate has also been shown to affect haemocyte parameters in bivalve species (Matozzo et al., 2019), and to disrupt genes involved in apoptosis, immune response, energy metabolism, Ca²⁺ homeostasis, cell signalling, and endoplasmic reticulum stress response.

Glutathione S-transferases constitute an enzyme family pivotal in sustaining a significant detoxification mechanism. They inactivate secondary metabolites such as unsaturated aldehydes, epoxides, and hydroperoxides. Glutathione S-transferases also play an important role in the detoxification of electrophilic toxicants such as some groups of pesticides (Piner Benli & Çelik, 2021). In addition, they metabolise and eliminate a range of environmental pollutants, heavy metals, and carcinogens (Mazari et al., 2023). In the current study, glutathione S-transferase activity in the flesh of glyphosate-treated series at both concentrations (LC₂₅ and LC₅₀) increased progressively and significantly at 48, 72, and 96 hours. However, a latency period was observed in the shrimp before the first induction. During the depuration phase, glutathione S-transferase activity decreased in a dose-dependent manner at 72 and 96-hours. Diverse research using various compounds against shrimp species have shown a significant increase in glutathione S-transferase activity, including *P. argentinus* exposed to fenitrothion (Lavarias & Garcia, 2015), *M. borelli* treated with organophosphorus insecticides, and *P. serratus* exposed to benzopyrene (BaP) (Silva et al., 2013). This increase has already been observed in previous studies of *P. adspersus* exposed to thiamethoxam, a neonicotinoid with the commercial product actara (Berghiche et al., 2018), and diflubenzuron, a chitin synthesis inhibitor (Lechekhab & Soltani, 2018), at lethal and sublethal concentrations. According to Velisek et al. (2020), glutathione S-transferase levels increased in marbled crayfish (decapod) after exposure to metazachlor and its primary metabolite, metazachlor OA, at both concentrations (0.0115 and 0.0790 µmol/L) and metazachlor OA (0.0117 and 0.0805 µmol/L). Roundup induces oxidative stress in aquatic organisms, such as goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) (Cypriniformes, Cyprinidae) (Lushchak et al., 2009), *P. lineatus* (Modesto & Martinez, 2010), and *Anabas testudineus* (Bloch, 1792) (Perciformes, Anabantidae) (Samanta et al., 2014). Glutathione S-transferase activity in zebrafish increased significantly in a time-dependent manner after exposure to three sulfonamides (sulfamethoxazole, sulfadiazine and sulfadimidine) for three days (Lin et al., 2014). Previous authors reported similar effects on *Donax trunculus* (Linnaeus, 1758) (Cardiida, Donacidae), Amira et al. (2018) highlighted the implication of metal accumulation in sediments, Lechekhab (2018) observed effects by applying spiromesifen on *P. adspersus*, and finally, through the application of thiamethoxan Cheghib et al. (2020) also demonstrated a significant effect in *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) at various concentrations.

Lipid peroxidation is considered an important biomarker of cell damage because of the interaction between radicals and membrane lipids. Antioxidant and detoxification systems are unable to neutralise the active

intermediates produced by xenobiotics and their metabolites, resulting in the production of malondialdehyde, which is a primary indicator of lipid peroxidation. Pesticides, metals, and other xenobiotics cause lipid peroxidation, which is the first stage of cellular membrane damage and is accepted as an important indicator of oxidative damage in cellular components (Sule et al., 2022). The present experiment showed that the glyphosate-exposed group had higher levels of malondialdehyde in a dose-dependent manner than the controls. Additionally, when shrimp were removed from the glyphosate medium and replaced with untreated seawater, malondialdehyde levels in the shrimp flesh rapidly returned to normal levels, i.e. after 24 hours of depuration. Furthermore, the negative correlation between malondialdehyde and lipid levels reflected lipid peroxidation. Multiple studies have also reported similar changes in the malondialdehyde levels in certain aquatic organisms exposed to glyphosate. The results of a freshwater amphipod study, *G. pulex* (crustacean), by Pala, 2019, indicate a significant increase in malondialdehyde levels in groups treated with glyphosate herbicide for all exposure durations. Previous research has shown that glyphosate induced inflammation contributes to lipid metabolism in fish (Liu et al., 2021). Samanta et al. (2014) noted a significant increase in lipid peroxidation levels in various tissues of fish *A. testudineus* exposed to glyphosate (formulation of glyphosate-based-herbicide, Excel Mera-71) for 30 days. Kaya et al. (2012) reported elevated malondialdehyde levels in the plasma of fish *Capoeta capoeta* (Güldenstädt, 1773) (Cyprinodontiformes, Cyprinidae), after a 10 days exposure to glyphosate at a concentration of 0.02 mg/L. Several studies have been carried out on aquatic organisms and have shown that malondialdehyde levels increase as a function of exposure time and pesticide concentration. For example, Khebbab et al. (2010) demonstrated a significant induction of malondialdehyde in several tissues of the clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) (Veneroidea, Veneridae) exposed to cadmium. Another study conducted in *D. trunculus* collected from the Sidi Salem site due of domestic and industrial contamination in the Gulf of Annaba in eastern Algeria noted an induction of malondialdehyde (Amamra et al., 2019). In addition, high levels of lipid peroxidation, linked to metallic contamination, were observed in the crab *C. maenas* collected in the Bizerte Lagoon compared with a reference site (Ben-Khedher et al., 2013). By contrast, the results showed a highly significant negative correlation between the two variables during treatment and recovery phases.

Our results are complementary to those reported by other authors for glyphosate and glyphosate-based formulations and suggest a deleterious effect on animals. In crustaceans, exposure to Roundup can disrupt the production and elimination of reactive oxygen species, leading to a decrease in the efficiency of antioxidant defences or even oxidative damage (Husak et al., 2022). However, the results showed a dose-dependent effect on neurotoxicity, induction of oxidative damage, and antioxidant activity during exposure to sublethal and lethal concentrations of glyphosate.

Conclusion

Although information on glyphosate levels in aquatic environments is limited, the results of this study clearly indicate that glyphosate has a dose-dependent effect on neurotoxicity, induction of oxidative damage and antioxidant activity during exposure to sublethal and lethal concentrations of glyphosate. Furthermore, the shrimp are highly sensitive to glyphosate-based herbicide formulations and are also able to recover from the depressive effects of glyphosate. Therefore, glyphosate is a major threat to the environment and should only be used to a limited extent.

We are thankful to the staff of the Laboratory of Applied Animal Biology for their help and assistance, all of which have facilitated the realization of this scientific contribution.

This work was supported by the National Fund for Scientific Research to Pr. H. Boudjelida, University of Badji Mokhtar Annaba "Laboratory of Applied Animal Biology", and the Ministry of High Education and Scientific Research of Algeria (University Research-Treaning Project to Prof. S. Chouahda).

References

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267.

- Amamra, F., Sifi, K., Kaouachi, N., & Soltani, N. (2019). Evaluation of the impact of pollution in the gulf of Annaba (Algeria) by measurement of environmental stress biomarkers in an edible mollusk bivalve *Donax trunculus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(2), 908–915.
- Ameur, A., Berghiche, H., Barour, C., & Soltani, N. (2022). Morphometric reproductive and environmental biomarker analysis of a crustacean species *Athyaphyra desmaresti* (Millet, 1831) from North East Algeria. *Applied Ecology and Environmental Research*, 20(6), 4579–4597.
- Amira, A., Merad, I., Almeida, C. M. R., Guimaraes, L., & Soltani, N. (2018). Seasonal variation in biomarker responses of *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Implication of metal accumulation in sediments. *Comptes Rendus Geoscience*, 350(4), 173–179.
- Ben-Khedher, S., Jebali, J., Kamel, N., Banni, M., Rameh, M., Jrad, A., & Boussetta, H. (2013). Biochemical effects in crabs (*Carcinus maenas*) and contamination levels in the Bizerta Lagoon: An integrated approach in biomonitoring of marine complex pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 2616–2631.
- Berghiche, H., Touati, K., Chouahda, S., & Soltani, N. (2018). Impact of the neonicotinoid insecticide, Actara®, on the shrimp *Palaemon adspersus*: Biomarkers measurement. In: Recent advances in environmental science from the Euro-Mediterranean and surrounding regions. Proceedings of Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI-1). Tunisia 2017. Springer International Publishing. Pp. 533–534.
- Bemal-Rey, D. L., Cantera, C. G., dos Santos Afonso, M., & Menéndez-Helman, R. J. (2020). Seasonal variations in the dose-response relationship of acetylcholinesterase activity in freshwater fish exposed to chlorpyrifos and glyphosate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 187, 109673.
- Bilan, M. V., Lieshchova, M. A., Tishkina, N. M., & Brygadyrenko, V. V. (2019). Combined effect of glyphosate, saccharin and sodium benzoate on the gut microbiota of rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(2), 228–232.
- Bonifacio, A. F., Zambrano, M. J., & Hued, A. C. (2020). Integrated ecotoxicological assessment of the complex interactions between chlorpyrifos and glyphosate on a non-target species *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842). *Chemosphere*, 261, 127782.
- Boukari, A., Hamoudi, F. S., & Soltani, N. (2021). Biochemical modification in an edible mollusk (*Donax trunculus*) during transplantation into a polluted environment. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(3), 2416–2422.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.
- Bridi, D., Altenhofen, S., Gonzalez, J. B., Reolon, G. K., & Bonan, C. D. (2017). Glyphosate and Roundup® alter morphology and behavior in zebrafish. *Toxicology*, 392, 32–39.
- Cheghib, Y., Chouahda, S., & Soltani, N. (2020). Side-effects of a neonicotinoid insecticide (Actara®) on a non-target larvivorous fish *Gambusia affinis*: Growth and biomarker responses. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(2), 167–172.
- Cheloufi, R., Alayat, H., & Messaadia, H. (2017). Effet d'un apport de deux types de fumiers de bétail sur la biodégradation de deux herbicides (Glyphosate et 2,4-D) dans les sols agricoles de périmètre irrigable de Bounamoussa, extrême Nord Est Algérien [Effect of the addition of two types of livestock manure on the biodegradation of two herbicides (Glyphosate and 2,4-D) in the agricultural soils of the irrigable perimeter of Bounamoussa, extreme North-East Algeria]. *Afrique Science*, 13(5), 161–173 (in French).
- Clapp, J. (2021). Explaining growing glyphosate use: The political economy of herbicide-dependent agriculture. *Global Environmental Change*, 67, 102239.
- Consolandi, G., Ford, A. T., & Bloor, M. C. (2021). Feeding behavioural studies with freshwater *Gammarus* spp: The importance of a standardised methodology. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 253, 1–41.
- Cruz de Carvalho, R., Feijão, E., Matos, A. R., Cabrita, M. T., Utkin, A. B., Novais, S. C., Lemos, M. F. L., Caçador, I., Marques, J. C., Reis-Santos, P., Fonseca, V. F., & Duarte, B. (2022). Effects of glyphosate-based herbicide on primary production and physiological fitness of the macroalgae *Ulva lactuca*. *Toxics*, 10(8), 430.
- de Arcaute, C. R., Brodeur, J. C., Soloneski, S., & Larramendy, M. L. (2020). Toxicity to *Rhinella arenarum* tadpoles (Anura, Bufonidae) of herbicide mixtures commonly used to treat fallow containing resistant weeds: Glyphosate-dicamba and Glyphosate-flurochloridone. *Chemosphere*, 245, 125623.
- de Melo Tarouco, F., de Godoi, F. G. A., Velasques, R. R., da Silveira Guerreiro, A., Geihs, M. A., & da Rosa, C. E. (2017). Effects of the herbicide Roundup on the polychaeta *Laeonereis acuta*: Cholinesterases and oxidative stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 135, 259–266.
- do Carmo Langiano, V., & Martinez, C. B. (2008). Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147(2), 222–231.
- dos Santos, K. C., & Martinez, C. B. (2014). Genotoxic and biochemical effects of atrazine and Roundup®, alone and in combination, on the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 7–14.
- Draper, H. H., & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 186, 421–431.
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95.
- Fabrello, J., Grapputo, A., Munari, M., Marin, M. G., Masiero, L., Pacchioni, B., Millino, C., & Matozzo, V. (2020). Molecular and biochemical responses of vitellogenin in the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to the glyphosate-based herbicide Roundup® Power 2.0. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 26543–26553.
- Fiorino, E., Sehonova, P., Phalova, L., Blahova, J., Svobodova, Z., & Faggio, C. (2018). Effects of glyphosate on early life stages: Comparison between *Cyprinus carpio* and *Danio rerio*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 8542–8549.
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509.
- Gluszczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B. S., Simões, R. R., Schetinger, M. R. C., Morsch, V. M., & Loro, V. L. (2007). Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146(4), 519–524.
- González-Ortegón, E., Sargent, P., Pohle, G., & Martínez-Lage, A. (2014). The Baltic prawn *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda, Caridea, Palaemonidae): First record, possible establishment, and illustrated key of the subfamily Palaemoninae in northwest Atlantic waters. *Aquatic Invasions*, 10(3), 299–312.
- Gull, A., Dar, A. A., & Chaturvedi, J. (2019). Impact of pesticides on invertebrates in aquatic ecosystem. In: Handbook of research on the adverse effects of pesticide pollution in aquatic ecosystems. Khurshed Ahmad Wani and Mamta, IGI Global. Pp. 182–199.
- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974). Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249(22), 7130–7139.
- Hendry, W. B. (1909). Tableaux statiques [Static tables]. *Le Journal de Laryngologie, de Rhinologie et d'Otologie*, 24(9), 483–490 (in French).
- Hong, Y., Huang, Y., Yan, G., Pan, C., & Zhang, J. (2019). Antioxidative status, immunological responses, and heat shock protein expression in hepatopancreas of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* under the exposure of glyphosate. *Fish and Shellfish Immunology*, 86, 840–845.
- Hong, Y., Yang, X., Huang, Y., Yan, G., & Cheng, Y. (2018). Assessment of the oxidative and genotoxic effects of the glyphosate-based herbicide Roundup on the freshwater shrimp, *Macrobrachium nipponensis*. *Chemosphere*, 210, 896–906.
- Hong, Y., Yang, X., Yan, G., Huang, Y., Zuo, F., Shen, Y., Ding, Y., & Cheng, Y. (2017). Effects of glyphosate on immune responses and haemocyte DNA damage of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*, 71, 19–27.
- Husak, V., Strutyńska, T., Burdyliuk, N., Pitukh, A., Bubalo, V., Falfushynska, H., Strilbitska, O., & Lushchak, O. (2022). Low-toxic herbicides Roundup and Atrazine disturb free radical processes in *Daphnia* in environmentally relevant concentrations. *EXCLI Journal*, 21, 595.
- Kaya, İ., Karapehlivan, M., Yilmaz, M., Ersan, Y., & Koç, E. (2012). Investigation of effects on plasma nitric oxide, malondialdehyde and total sialic acid levels of glyphosate in Kars creek transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* [Guldenstaedt, 1773]) in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(1A), 123–126.
- Khebbab, M. E., Nadj, S., & Amrani, A. (2010). The effect of cadmium exposure on malondialdehyde and reduced glutathione concentrations in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria). *Annals of Biological Research*, 1(2), 166–173.
- Kozak, V. M., Romanenko, E. R., & Brygadyrenko, V. V. (2020). Influence of herbicides, insecticides and fungicides on food consumption and body weight of *Rossius kessleri* (Diplopoda, Julidae). *Biosystems Diversity*, 28(3), 272–280.
- Lavarias, S., & Garcia, C. F. (2015). Acute toxicity of organophosphate fenitrothion on biomarkers in prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Palaemonidae). *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 1–11.
- Lebrun, J. D., & Gismondi, E. (2020). Behavioural and biochemical alterations in gammarids as induced by chronic metallic exposures (Cd, Cu and Pb): Implications for freshwater biomonitoring. *Chemosphere*, 257, 127253.
- Lechekhab, H. (2018). Evaluation des risques environnementaux de trois insecticides sélectifs sur un organisme non ciblé *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda) [Environmental risk assessment of three selective insecticides on a non-target organism *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda)]. Université Badji Mokhtar, Spécialité, Science et Biologie Animale (in French).
- Lechekhab, H., & Soltani, N. (2018). Environmental risks of an insecticide (Dimilin® 25 wp) on the shrimp *Palaemon adspersus*: Biochemical composition of cuticle and oxidative stress. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(3), 1862–1867.

- Li, H., Zhang, R., Sun, F., & Zhang, Y. (2020). Evaluation of toxicological responses and promising biomarkers of topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*) exposed to Fipronil at environmentally relevant levels. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 24081–24089.
- Lieshchova, M. A., Tishkina, N. M., Bohomaz, A. A., Gavrilin, P. M., & Brygadyrenko, V. V. (2018). Combined effect of glyphosate, saccharin and sodium benzoate on rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 9(4), 591–597.
- Lin, T., Yu, S., Chen, Y., & Chen, W. (2014). Integrated biomarker responses in zebrafish exposed to sulfonamides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38(2), 444–452.
- Liu, J., Dong, C., Zhai, Z., Tang, L., & Wang, L. (2021). Glyphosate-induced lipid metabolism disorder contributes to hepatotoxicity in juvenile common carp. *Environmental Pollution*, 269, 116186.
- Lushchak, V., Kubrak, O. I., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2009). Low toxic herbicide Roundup induces mild oxidative stress in goldfish tissues. *Chemosphere*, 76(7), 932–937.
- Matozzo, V., Fabrello, J., & Marin, M. G. (2020). The effects of glyphosate and its commercial formulations to marine invertebrates: A review. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(6), 399.
- Matozzo, V., Munari, M., Masiero, L., Finos, L., & Marin, M. G. (2019). Ecotoxicological hazard of a mixture of glyphosate and aminomethylphosphonic acid to the mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck 1819). *Scientific Reports*, 9(1), 14302.
- Mazari, A. M., Zhang, L., Ye, Z. W., Zhang, J., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2023). The multifaceted role of glutathione S-transferases in health and disease. *Biomolecules*, 13(4), 688.
- Menéndez-Helman, R. J., Ferreyro, G. V., dos Santos Afonso, M., & Salibián, A. (2012). Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *Chesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 6–9.
- Mirella da Silva, P. (2018). Toxicological evaluation of the herbicide glyphosate in the cultured oyster *Crassostrea gasar*. *Journal of Aquaculture and Marine Biology* 7(6), 343–350.
- Modesto, K. A., & Martinez, C. B. (2010). Effects of Roundup transorb on fish: Hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 81(6), 781–787.
- Mostafiz, F., Islam, M. M., Saha, B., Hossain, M. K., Moniruzzaman, M., & Habibullah-Al-Mamun, M. (2020). Bioaccumulation of trace metals in freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* from farmed and wild sources and human health risk assessment in Bangladesh. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 16426–16438.
- Ogunbiyi, O. D., Akamo, D. O., Oluwasanmi, E. E., Adebajo, J., Isafiade, B. A., Ogunbiyi, T. J., Alli, Y. A., Ayodele, D. T., Oladoye, P. O., & Oladoye, P. O. (2023). Glyphosate-based herbicide: Impacts, detection, and removal strategies in environmental samples. *Groundwater for Sustainable Development*, 2023, 100961.
- Osterberg, J. S., Damell, K. M., Blickley, T. M., Romano, J. A., & Rittschof, D. (2012). Acute toxicity and sub-lethal effects of common pesticides in post-larval and juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 424, 5–14.
- Pala, A. (2019). The effect of a glyphosate-based herbicide on acetylcholinesterase (AChE) activity, oxidative stress, and antioxidant status in freshwater amphipod: *Gammarus pulex* (crustacean). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(36), 36869–36877.
- Parlapiano, I., Biandolino, F., Grattagliano, A., Ruscito, A., Libralato, G., & Prato, E. (2021). Effects of commercial formulations of glyphosate on marine crustaceans and implications for risk assessment under temperature changes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112068.
- Piner Benli, P., & Çelik, M. (2021). Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to neonicotinoid insecticide sulfoxaflor induced oxidative damage in zebrafish *in vivo*. *Science Progress*, 104(2), 368504211028361.
- Ribeiro, Y. M., Moreira, D. P., Weber, A. A., Sales, C. F., Melo, R. M. C., Bazzoli, N., Rizzo, E., & Paschoalini, A. L. (2022). Adverse effects of herbicides in freshwater Neotropical fish: A review. *Aquatic Toxicology*, 2022, 106293.
- Robertson, L., Bray, W., Leung-Trujillo, J., & Lawrence, A. (1987). Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 18(3), 180–185.
- Robichaud, C. D., & Rooney, R. C. (2021). Low concentrations of glyphosate in water and sediment after direct over-water application to control an invasive aquatic plant. *Water Research*, 188, 116573.
- Rodrigues, E. T., & Pardal, M. Á. (2014). The crab *Carcinus maenas* as a suitable experimental model in ecotoxicology. *Environment International*, 70, 158–182.
- Rodríguez-Gil, J. L., Prosser, R., Poirier, D., Lissemore, L., Thompson, D., Hanson, M., & Solomon, K. R. (2017). Aquatic hazard assessment of MON 0818, a commercial mixture of alkylamine ethoxylates commonly used in glyphosate-containing herbicide formulations. Part 1: Species sensitivity distribution from laboratory acute exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(2), 501–511.
- Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, A. K., & Ghosh, A. R. (2014). Evaluation of metabolic enzymes in response to Excel Mera 71, a glyphosate-based herbicide, and recovery pattern in freshwater teleostean fishes. *BioMed Research International*, 2014, 425159.
- Sandrini, J. Z., Rola, R. C., Lopes, F. M., Buffon, H. F., Freitas, M. M., Martins, C. D. M. G., & da Rosa, C. E. (2013). Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: *In vitro* studies. *Aquatic Toxicology*, 130, 171–173.
- Santana, M. S., de Melo, G. D., Sandrini-Neto, L., Di Domenico, M., & Prodocimo, M. M. (2022). A meta-analytic review of fish antioxidant defense and biotransformation systems following pesticide exposure. *Chemosphere*, 291, 132730.
- Sebbih, A., Moumeni, N., Belfetmi, N. Z., Daas, T., & Maamcha, O. (2023). Marine pollution effects on the reproduction process of *Perinereis cultrifera* (Annelida, Polychaeta) in Algeria. *Biosystems Diversity*, 31(1), 113–122.
- Servizi, J. A., Gordon, R. W., & Martens, D. W. (1987). Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, *Daphnia*, and trout. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 39, 15–22.
- Silva, C., Oliveira, C., Gravato, C., & Almeida, J. R. (2013). Behaviour and biomarkers as tools to assess the acute toxicity of benzo (a) pyrene in the common prawn *Palaemon serratus*. *Marine Environmental Research*, 90, 39–46.
- Sule, R. O., Condon, L., & Gomes, A. V. (2022). A common feature of pesticides: Oxidative stress—the role of oxidative stress in pesticide-induced toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 5563759.
- Velisek, J., Stara, A., Kubec, J., Zuskova, E., Buric, M., & Kouba, A. (2020). Effects of metazachlor and its major metabolite metazachlor OA on early life stages of marbled crayfish. *Scientific Reports*, 10(1), 875.
- Wang, M., Wang, H., Chen, G., Liu, J., & Hu, T. (2022). Spiromesifen conferred abnormal development in zebrafish embryos by inducing embryonic cytotoxicity via causing oxidative stress. *Aquatic Toxicology*, 252, 106324.
- Zhang, S., Xu, J., Kuang, X., Li, S., Li, X., Chen, D., Zhao, X., & Feng, X. (2017). Biological impacts of glyphosate on morphology, embryo biomechanics and larval behavior in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 181, 270–280.