

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Badji Mokhtar Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Animale Appliquée



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de :

MAGISTER

Spécialité : Biologie Environnementale

Option : Biologie et Ecologie Animale

Thème

**Activité d'un insecticide organophosphoré (Actara) :
Impact sur le système de détoxification, la croissance
et la reproduction de *Gambusia affinis***

Présenté par :

Mlle. Rahma BELHAMRA

Directeur de mémoire :

Mr. Noureddine SOLTANI Pr. Université Badji Mokhtar Annaba

Devant le jury :

Président	Mr. Hamid BOUDJELIDA	Pr. Université Badji Mokhtar Annaba
Examineur	Mme. Nassima REHIMI	Pr. Université Badji Mokhtar Annaba
Examineur	Mme. Samira KILANI	Dr. Université Badji Mokhtar Annaba

Année universitaire 2011-2012

Remerciements

Le mérite en revient largement à ceux qui ont encouragé et suivi la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont en premier lieu à Monsieur *A. Boudjlida* professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, qui me fait l'honneur de présider ce jury.

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée *LBAA* de l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, sous la direction scientifique du Professeur *N. Soltani*, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant dans son équipe et pour toutes les connaissances que j'ai acquises à ses côtés.

Je tiens à exprimer mes remerciements à Mme *N. Rehim*, Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail.

Mes profondes remerciements vont également à Mme *S. Kilani*, Docteur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Enfin, je m'adresse avec mes vifs remerciements à Madame *Fella Kermiche-Achaichia*, pour le démarrage de ce travail et les valeureux conseils qu'elle a bien voulu me prodiguer.

J'ai aussi une pensée pour toutes les gambusies, qui ont participés, de façon bien involontaire, à la réalisation de cette thèse.

SOMMAIRE

1. Introduction	1
2. Matériel et Méthodes	4
2.1. Présentations de l'espace utilisée.....	4
2.2. Technique d'élevage.....	5
2.3. Insecticide et traitement.....	7
2.4. Tests de toxicité.....	8
2.5. Prélèvement des organes.....	9
2.6. Techniques biométrique.....	9
2.7. Activités enzymatiques.....	10
2.7.1. Dosage du glutathion.....	10
2.7.2. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	12
2.8. Extractions et dosage des acides nucléiques.....	14
2.8.1. Dosage de l'ADN.....	14
2.8.2. Dosage de l'ARN.....	14
2.9. Extractions et dosage des protéines.....	16
2.10. Analyses statistiques.....	17
3. Résultats	18
3.1. Toxicité aigüe de l'Actara.....	18
3.2. Effet de l'actara sur les indices métriques.....	22
3.3. Effet de l'actara sur les biomarqueurs.....	27
3.4. Effet de l'actara sur la reproduction.....	31
4. Discussion	37
4.1. Toxicité de l'actara.....	37
4.2. Effet sur les indices métriques.....	38
4.3. Dosage des biomarqueurs.....	39
4.4. Effet sur les acides nucléiques et les protéines.....	42
5. Conclusion et perspectives	44
6. Résumés	45
7. Références bibliographiques	48

1. INTRODUCTION

Aujourd'hui plus que jamais, la protection de la santé et le respect de l'environnement font partie des préoccupations de l'homme qui est confronté chaque jour à de nouveaux dangers. Le développement de l'activité humaine a été accompagné par une altération des ressources naturelles et une perturbation des différents écosystèmes. Compte tenu de son statut de réceptacle final, le milieu aquatique regroupe les écosystèmes les plus touchés, directement ou indirectement, par les effets délétères des polluants. La pollution des milieux aquatiques s'est amplifiée dans la seconde moitié du XXème siècle avec notamment une urbanisation croissante et le développement des activités industrielles et agricoles.

Les pollutions occasionnées par les activités agricoles induisent généralement une diminution de la biodiversité, une banalisation du milieu, voire même la destruction de certains maillons des écosystèmes. Depuis la révolution verte qui a débuté dans les années 60, les pesticides font partie intégrante du système agricole. Ils sont devenus le principal moyen de lutte contre les organismes nuisibles. Leurs utilisations abusives ont entraîné des effets néfastes sur la faune et la flore. Les insecticides organophosphorés (POS) sont des pesticides de seconde génération. Bien que moins persistants que les organochlorés, ils sont cependant beaucoup plus toxiques. Ces dérivés de l'acide phosphorique sont neurotoxiques et regroupent les pesticides les plus toxiques pour les mammifères (Regnault & Roger, 2005). Les organophosphorés agissent en perturbant la transmission de l'influx nerveux ; ils ont comme cible les synapses où ils inactivent l'enzyme acétylcholinestérase et empêchent ainsi la dégradation de l'acétylcholine (Regnault & Roger, 2005). Ce neurotransmetteur s'accumule donc dans les synapses et provoque une hyperexcitation qui conduit à la mort. La persistance couplée au caractère lipophile des organophosphorés a contribué à leur bioaccumulation dans la faune à travers la chaîne alimentaire (Wiberg *et al.*, 2000). La détection de ces insecticides au niveau de plusieurs écosystèmes a été rapportée par plusieurs études récentes (Xue *et al.*, 2005 ; Connor *et al.*, 2007).

L'étude des polluants et de leurs effets sur les écosystèmes a donné naissance à une discipline récente qu'est l'écotoxicologie dont le développement est consécutif à l'augmentation des rejets et des accidents dus à l'intensification des activités anthropogéniques (Valavanidis *et al.*, 2006). De nombreuses études ont été réalisées dans notre laboratoire concernant l'impact de ces composés toxiques sur plusieurs organismes visés, spécialement, sur des insectes à intérêt agronomique, tels que *Tenebrio molitor* et *Ephestia kuehniella* (Soltani *et al.*, 2002 ; Taïbi *et al.*, 2003; Amrani *et al.*, 2004; Soltani-Mazouni *et al.*, 2004; Aribi *et al.*, 2006; Chebira *et al.*, 2006; Berghiche *et al.*, 2008; Khebbeb *et al.*, 2008), *Apis mellifera* (Achou & Soltani, 1997; Barour *et al.*, 2005 ; Loucif-Ayad *et al.*, 2008) et *Lymantria dispar* (Ouakid *et al.*, 2005); à intérêt médical, chez la blatte germanique *Blattella germanica* (Habes *et al.*, 2006; Kilani-Morakchi *et al.*, 2006, 2009), les moustiques du genre *Culex* (Rehimi & Soltani, 1999; Boudjelida *et al.*, 2006; Tine-Djebbar & Soltani, 2008 ; Alouani *et al.*, 2009; Bouaziz *et al.*, 2011 ; Rehimi *et al.*, 2011), ainsi que sur des espèces non visées telles que le myriapode *Eupolybothrus nudicornis* (Daas *et al.*, 1996, 2007), le poisson *Gambusia affinis* (Drardja-Beldi & Soltani, 2003 ; Soltani *et al.*, 2008 ; Chouahda & Soltani, 2009, 2010 ; Chouahda *et al.*, 2007, 2010; Zaidi & Soltani, 2010, 2011), la crevette *Penaeus kerathurus* (Soltani & Bezzazel, 2002 ; Morsli & Soltani, 2003 ; Lechekhab & Soltani, 2009).

Aujourd'hui, deux approches complémentaires sont utilisées comme indicateurs de pollution : les biomarqueurs et les bioindicateurs (Valavanidis *et al.*, 2006). Les biomarqueurs permettent de détecter les pressions environnementales dans un milieu donné avant même que les effets néfastes se fassent sentir au niveau des organismes (Den Besten *et al.*, 2001). Les cholinestérases (ChEs) et la glutathion S-transférase (GST) ont été largement utilisées comme biomarqueurs environnementaux chez différentes espèces (Payne *et al.*, 1996 ; Flammarion *et al.*, 2002 ; Corsi *et al.*, 2003). L'ACHé constitue en effet la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés, carbamates), herbicides et autres molécules neurotoxiques dont les métaux lourds, surtout utilisée en milieu marin (Galgani & Bocquené, 1998), l'inhibition de l'activité de l'ACHé s'est également révélée intéressante dans le cadre d'étude de la qualité des milieux aquatiques continentaux (Payne *et al.*, 1996 ; Flammarion *et al.*, 1998 ; Sturm *et al.*, 1999 ; Barra *et al.*, 2001). L'activité de l'ACHé peut également être modulée par la température du milieu, et certains facteurs intrinsèques, tels que la taille des organismes, peuvent être à l'origine des différences d'activités observées (Flammarion *et al.*, 2002).

Les GSTs sont des enzymes de métabolisation de phase II sont plus particulièrement impliquées dans les créations de conjugaison avec l'ion glutathion fournissant aux xénobiotiques un caractère plus hydrophile qui facilite leur élimination hors de l'organisme (Haubruge & Amichot, 1998). Ces enzymes sont présentes sous plusieurs isoforme dont certaines sont inductibles par les contaminants qu'elles détoxiquent. Cette particularité en fait une activité intéressante en tant que biomarqueurs de contamination par des molécules de type HAP, PCB et pesticides (Narbonne *et al.*, 1991). Le glutathion réduit (GSH) intervient notamment dans la détoxification des xénobiotiques en

neutralisant divers produits du stress oxydant grâce à son potentiel réducteur mais également dans la prolifération cellulaire et la régulation de l'apoptose (Sies, 1999; Dringen, 2000). Une baisse du taux de GSH peut être considérée comme un indicateur de toxicité *via* l'induction d'un stress oxydant. Le GSH fonctionne comme un antioxydant en bloquant les radicaux donnant l'oxydation du GSH en glutathion disulfide (GSSG).

Plusieurs espèces sont utilisées en prenant en compte les différents niveaux trophiques. Ces espèces sentinelles doivent en outre être sélectionnées au sein de communautés biocénétiques sur la base de leur pertinence vis-à-vis des types de biomarqueurs choisis ainsi que leur praticité expérimentale (Suter, 2005). De nombreuses espèces de poissons répondent à ces deux critères, dans l'optique d'une évaluation de la qualité des écosystèmes (Van Der Oost *et al.*, 2003). Parmi eux, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Cyprinodontiforme : Poeciliidae) est un poisson larvovore d'eau douce ; il est d'après Wilson (1965) et Garcia (1983) le prédateur naturel des moustiques le plus répandu et utilisé pour cela dans la lutte antipaludéenne (Farley & Younce, 1979; Lichtenberg & Getz, 1985 ; Zaidi & Soltani, 2011). C'est un modèle très utilisé dans les études éco-toxicologiques pour évaluer les risques environnementaux des xénobiotiques (Mulvey *et al.*, 1995; Dréze *et al.*, 2000; Tataru *et al.*, 2002). Ainsi, des insecticides organophosphorés ont été testés sur des enzymes cibles chez *G. affinis* afin d'expliquer leur différence de toxicité (Chouahda *et al.*, 2010).

En Algérie, divers travaux ont été menés sur les plans, physiologique, biologique et écologique, pour permettre son intégration dans le programme de lutte biologique : Abouzeitoun (1991), Drarja-Beldi (1993 et 2001), Tidjani (1997), Ouali (1997), Aissaoui (1998), Soltani *et al.* (1999), Bouzioukh (2000), Bendali *et al.* (2002), Drarja-Beldi & Soltani (2003), Soltani *et al.* (2008). Les recherches scientifiques indiquent que l'utilisation massive des pesticides dans l'environnement a un impact sur la reproduction, la croissance, le développement neurologique, le comportement, ainsi que le fonctionnement des systèmes immunitaires et endocriniens de quelques organismes non visés.

La lutte chimique a posé à long terme d'énormes inconvénients avec, entre autres, l'apparition d'espèces de plus en plus résistantes, l'accumulation et la concentration des résidus chez les vertébrés, notamment chez les poissons, les oiseaux et chez l'homme (Khan *et al.*, 2008). Dans ce contexte, le présent travail vise en premier lieu à déterminer la toxicité aiguë de l'Actara, un insecticide organophosphoré très utilisé en agriculture, à l'égard des adultes femelles de *G. affinis* en précisant les CL_{50} et CL_{90} , ainsi que son impact sur différents indices métriques : rapport gonado-somatique (RGS), rapport hépato-somatique (RHS), indice de condition (K), chez les adultes femelles. Dans une seconde série d'expériences l'impact de ce xénobiotique a été envisagé sur deux biomarqueurs du stress environnemental (AChE et GSH). Enfin, dans une troisième partie, ses effets sont examinés sur la reproduction en menant un dosage des acides nucléiques et des protéines ovariens durant la période d'activité sexuelle.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Présentation de l'espèce utilisée

Gambusia affinis (Baird & Girard, 1853) est un poisson ovovivipare, originaire des eaux douces du Sud-Est des États-Unis d'Amérique ; il s'est implantée en région méditerranéenne suite à des introductions pour lutter contre les larves de moustique vecteurs du paludisme (Allardi & Keith, 1991), capable d'éradiquer les moustiques du fait qu'il consomme de 42 à 167% de son poids par jour (Chipps & Wahl, 2004). Son régime comporte des petits crustacés, du zooplancton, divers mollusques et arthropodes aquatiques, des débris, des juvéniles de poissons (y compris de sa propre espèce), et des moustiques gobés surtout au moment de l'émergence de l'imago (Fraval, 2002).

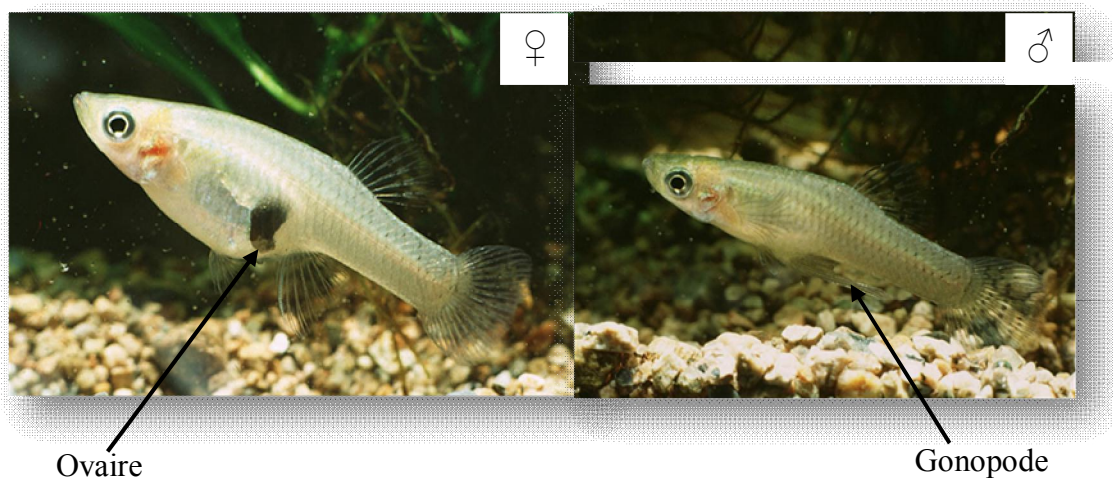


Figure 1. *Gambusia affinis* femelle et mâle (10 mm).

Selon Cadwallader & Backhouse (1983), le corps de la gambusie est petit et trapu, le dos un peu arqué en avant de la nageoire dorsale, la tête est grande avec une surface supérieure aplatie. Une bouche petite, tournée vers le haut, avec une bande de petites dents sur les deux lèvres. Les yeux sont larges et positionnés près du profil dorsal, la nageoire dorsale a des petites taches noires, et la nageoire caudale possède plusieurs lignes indistinctes de croix noires, la nageoire anale est très différente entre les femelles et les mâles. Les gambusies sont capables de changer de couleur en changeant le niveau d'agrégation des pigments de mélanine dans les chromatophores pour s'adapter à la couleur de son environnement (Pyke, 2005) (Fig.1).

Sa position systématique, selon Grasse (1958) est la suivante :

Embranchement	: Vertébrés
Classe	: Poissons
Sous classe	: Téléostomes
Super ordre	: Téléostéens
Ordre	: Cyprinodontiformes
Famille	: Poeciliidae
Genre	: <i>Gambusia</i>
espèce	: <i>affinis</i> (Baird & Girard, 1853)

Ce poisson non-migrateur vit en eau douce et saumâtre, avec une gamme de pH de 6,0 à 8,0 et le plus souvent à des températures entre 12 à 29° C (FishBase, 2003). Il est relativement robuste et résistant aux changements environnementaux (Daradja-Beldi, 1993), survivant dans les eaux avec peu d'oxygène, dans des salinités élevées et des températures allant jusqu'à 42° C pour de courtes périodes (Mc Cullough, 1998). Les gambusies sont plus abondantes dans la partie inférieure des cours d'eau. Lors d'expériences en laboratoire, il a été montré que les variables d'habitat les plus importantes pour la gambusie sont l'eau calme et un couvert végétal immergé assez dense (Pyke, 2005).

La gambusie possède un dimorphisme sexuel se caractérisant par une différence de taille très nette à l'état mature (Fig.1). Les mâles croissent à 40mm de longueur, tandis que les femelles atteignent 70mm de long (FishBase, 2003). Lorsque le mâle arrive à la maturité sexuelle, les rayons de la nageoire anale s'enroule et se transforme en organe copulateurs : le gonopode (Fig.1), il est utilisé lors de l'accouplement pour une fertilisation interne (Turner, 1941) ; par contre, chez la femelle, la nageoire anale reste inchangée et est de forme arrondie.

Leur mode de reproduction est ovovivipare, la femelle est reconnue par la tâche noire sombre au-dessus du corps et qui correspond à l'ovaire (Chambolle, 1970). La fécondation est interne et associée à une gestation intra-folliculaire au sein de l'ovaire (Constantz, 1989). La durée de la gestation est assez variable, elle varie entre 25 et 35 jours (Drardja-Beldi 1993). Les femelles ont la capacité de stocker le sperme dans le repli de l'épithélium ovarien et de le disperser pour une nouvelle fécondation sans l'implication des mâles (Robbins *et al.*, 1987 ; Haynes, 1993 ; Chambolle, 1970). Leur survie est très longue puis qu'une femelle peut être l'objet de 4 à 5 gestations successives sans nouvelle insémination (Chambolle, 1973). La taille des portées est généralement autour de 60 jeunes, mais les femelles peuvent transporter plus de 300 alevins (McDowall, 2000).

Les adultes mâles atteignent la maturité sexuelle au bout de quatre semaines, par contre six semaines pour les adultes femelles (McDowall, 2000). Wurtsbaugh & Cech. (1983) ont observé chez *G. affinis* une relation linéaire croissante entre la température de l'eau et la croissance jusqu' à 30°C. Au dessus de 35°C, la croissance est ralentie. Aussi, l'augmentation de la densité des poissons semble freiner la croissance (Busack & Gall, 1983).

2.2. Technique d'élevage

Les poissons ont été récoltés à Ain El Berda (Fig. 2) (36°44'50" N et 7° 40'14" E). La pêche des gambusies a été pratiquée à l'aide d'une grande épuisette avec une ouverture de maille de 1mm (Fig.3). Sa robustesse rend son transport et son élevage assez aisés.

Au laboratoire, l'élevage des poissons est réalisé dans des aquariums d'une capacité de 50 à 80 litres (Fig. 4), remplis d'eau de robinet préalablement exposée à l'air libre pendant 48 heures afin de la débarrasser des hypochlorites de sodium (Drardja-Beldi, 1993). Les aquariums sont munis de pompe à air (Nirox X5) et de filtres (ATMAN, AT 1000F). Les paramètres physico-chimiques de l'eau sont une température de $21,0 \pm 0,3$ C°, une salinité de $318,4 \pm 43,4$ mg/l, un pH : $7,4 \pm 0,1$ et un taux d'oxygène dissous de $3,5 \pm 0,4$ mg/l. Les poissons sont nourris quotidiennement avec une préparation à base de crevettes et des poissons déshydratés, commercialisée sous le nom de Tetramin® (Tetrawerk, Allemagne).



Figure 2. Site d'échantillonnage (Ain El Berda, Annaba).



Figure 3. Technique de pêche à l'épuiette.



Figure 4. Elevage de *G. affinis* au laboratoire.

2.3. Insecticide et traitement

2.3.1. Présentation de l'insecticide

L'Actara® 25WG est un insecticide doté d'un large spectre d'activité pour usage foliaire et au sol. Il agit sur les insectes par contact et ingestion. Sa matière active le thiaméthoxam appartenant à la classe chimique des néonicotinoïdes, sous-classe des thianicotinyls. Ce néonicotinoïde de deuxième génération se distingue de ceux qui existent sur le marché par sa structure chimique : il possède un hétérocycle chlorothiazole et un anneau oxadiazinane qui insère le groupe nitroguanadine. Cette particularité structurale lui confère des caractéristiques physico-chimiques, toxicologiques et biologiques propres, différentes de celles des autres substances de son groupe, comme par exemple la photostabilité, le coefficient de partition, la solubilité dans l'eau, le spectre d'activité et les doses d'utilisation. Le nom commun est : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-méthyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4-imine (fig.5), et sa formule de structure est : $C_8H_{10}ClN_5O_3S$ avec un poids moléculaire de 291.7147 g. Il a été présenté à la conférence de Brighton en 1998 (Senn *et al.*, 1998).

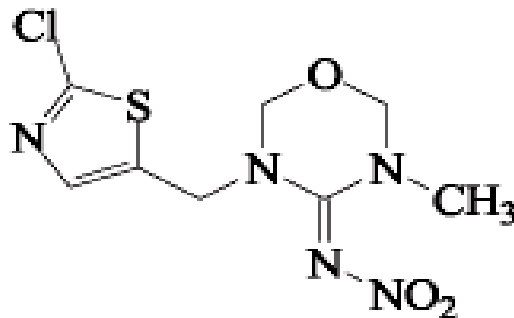


Figure 5. Structure chimique du Thiaméthoxam.

2.3.2. Traitement

L'actara a été utilisé à différentes concentrations additionnées à l'eau d'élevage de *G. affinis* : 75, 85, 100 et 125 mg de matière active /L.

- La première série d'expérience, vise à examiner la toxicité aiguë de l'actara vis-à-vis des femelles adultes de *G. affinis*.
- La deuxième série elle envisage l'effet de l'actara sur la croissance des gambusies femelles adultes.
- La troisième série a pour objectif d'évaluer l'effet de l'actara sur deux biomarqueurs (AChE et GSH).
- Quant à la quatrième série de traitement est destinée pour le dosage des acides nucléiques (ADN, ARN) et des protéines dans les ovaires.
- La dose utilisée dans les expériences correspondant à la $CL_{50}/24h$ obtenue dans la première partie à l'égard des femelles adultes *G. affinis*.

2.4. Tests de toxicité

Ces tests ont pour but d'estimer les concentrations létales 50 et 90 (CL 50 et CL 90) de l'actara vis-à-vis de *G.affinis*. Ils sont conduits avec 3 répétitions comportant chacune 10 individus.

2.4.1. Mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les gambusies traitées par l'actara à différentes concentrations ainsi que chez les témoins est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée (\%)} = \frac{\text{Nombre de poissons morts après traitement}}{\text{Nombre total de poissons traités}} \times 100$$

2.4.2. Mortalité corrigée

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

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

2.4.3. Transformation angulaire

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

2.4.4. Analyse des probits

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probit (Fisher & Yates, 1957). Le logarithme décimal des concentrations en fonction du probit nous permet de déterminer la droite de régression à partir de la quelle les CL50 et CL90 sont précisées (Finney, 1971).

2.4.5. Intervalle de confiance

La méthode de Swaroop *et al.*, (1966) précise l'intervalle de confiance (IC) avec une probabilité de 95% (Limite supérieure = CL50 × FCL50 ; Limite inférieure = CL50 / FCL50).

Aussi deux paramètres sont nécessaires :

- Le 1^{er} paramètre est le S (Sloppe), donné par la formule suivante :

$$S = (\text{CL84} / \text{CL50} + \text{CL50} / \text{CL16}) / 2$$

- Le 2^{ème} paramètre est la CL50 donné par la formule suivante :

$$\text{FCL50} = \text{Anti log C}$$

$$C = 2,77 / \sqrt{N} \times \log S$$

N : Nombre total des individus testés (CL16 – CL84).

2.5. Prélèvement des organes

Après l'anesthésie, par une solution d'éther dilué dans la quelle le poisson est immergé, quelques minutes (3-5 min) jusqu'à ce que ses opercules cessent de battre (Kah, 1986), le poisson ensuite est fixé latéralement sur une plaque de paraffine à l'aide d'épingles par l'orifice buccale et la nageoire anale. L'incision se fait de l'orifice génital jusqu'aux opercules (Fig.6). Après avoir dégagé le tégument recouvrant la cavité génitale, l'hépatopancréas et l'ovaire sont récupérés, la tête sera prélevé en dernier.

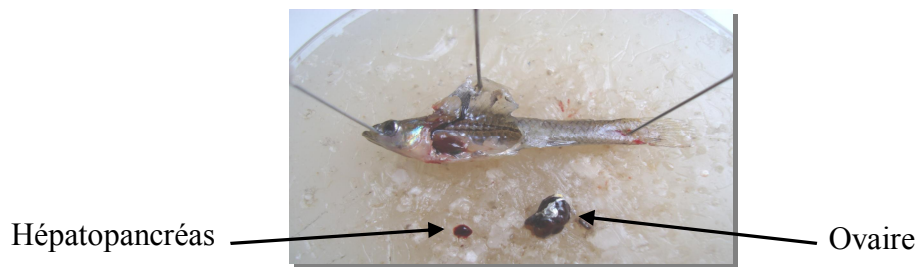


Figure 6. Dissection de la femelle *G. affinis*.

2.6. Techniques biométrique

2.6.1. Mensuration et pesées

La longueur totale (L) est la distance entre l'extrémité de la nageoire caudale et l'extrémité du maxillaire ou le poisson doit être bien étalé sur une règle (Kerstant, 1985). Les corps entiers des poissons ainsi que les hépatopancréas ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (Sartorius).

2.6.2. Rapport gonado-somatique

Le rapport gonado-somatique (RGS) permet de caractériser l'importance pondérale des gonades et il s'exprime, selon Bougis (1952), par la formule suivante :

$$\text{RGS} = \frac{\text{PG}}{\text{PT}} \times 100$$

PG : Poids des gonades (mg), PT : Poids total du corps (mg).

2.6.3. Rapport hépto-somatique

Le rapport hépto-somatique (RHS) est exprimé selon Bougis (1952), par la formule suivante :

$$\text{RHS} = \frac{\text{PH}}{\text{PT}} \times 100$$

PH : Poids de l'hépatopancréas (mg), PT : Poids total du corps (mg).

2.6.4. Coefficient de condition

Le coefficient de condition s'exprime par la formule de Le Cren (1951) suivante :

$$\text{K} = \frac{\text{P}}{\text{L}^3} \times 100$$

P : Poids total du corps (mg), L : Longueur totale (mm).

2.7. Activités enzymatiques

2.7.1. Dosage du glutathion

Le dosage du glutathion est effectué au niveau de l'hépatopancréas des femelles adultes témoins et traités à l'actara après 24 heures d'exposition. Il est quantifié selon la méthode de Weckberker & Cory (1988), qui repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobinzoïque(DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation (30 secondes) des échantillons (fragments de l'hépatopancréas) dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M (7,44 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée) à l'aide d'un ultrason (Sonifer B-30). L'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) 0,25% (0,25 g d'ASS, 100 ml d'eau distillée). Ainsi, 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé pendant 15 mn dans un bain de glace, puis centrifugé à 1000 tours /mn pendant 5 mn. Une fraction aliquote (500 µl) du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris /EDTA (0,02 M, pH 9,6) (63,04 g tris, 7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée) et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) (3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu) (fig.7).

Le mélange est laissé pendant 5 mn à température ambiante avant la mesure des absorbances contre un blanc où les 500 µl du surnageant sont remplacés par 500 µl eau distillée. Le taux de GSH est exprimé par rapport aux quantités de protéines.

Le taux de glutathion (µM/mg de protéines) est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta D_o}{13,1} \times \frac{V_d}{V_h} \times \frac{V_t}{V_s} \text{ / mg de protéines}$$

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

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

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

V_d : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1ml (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).

V_h : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

V_t : volume total dans la cuve : 1,525 ml (0,5 ml surnageant + 1ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB).

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

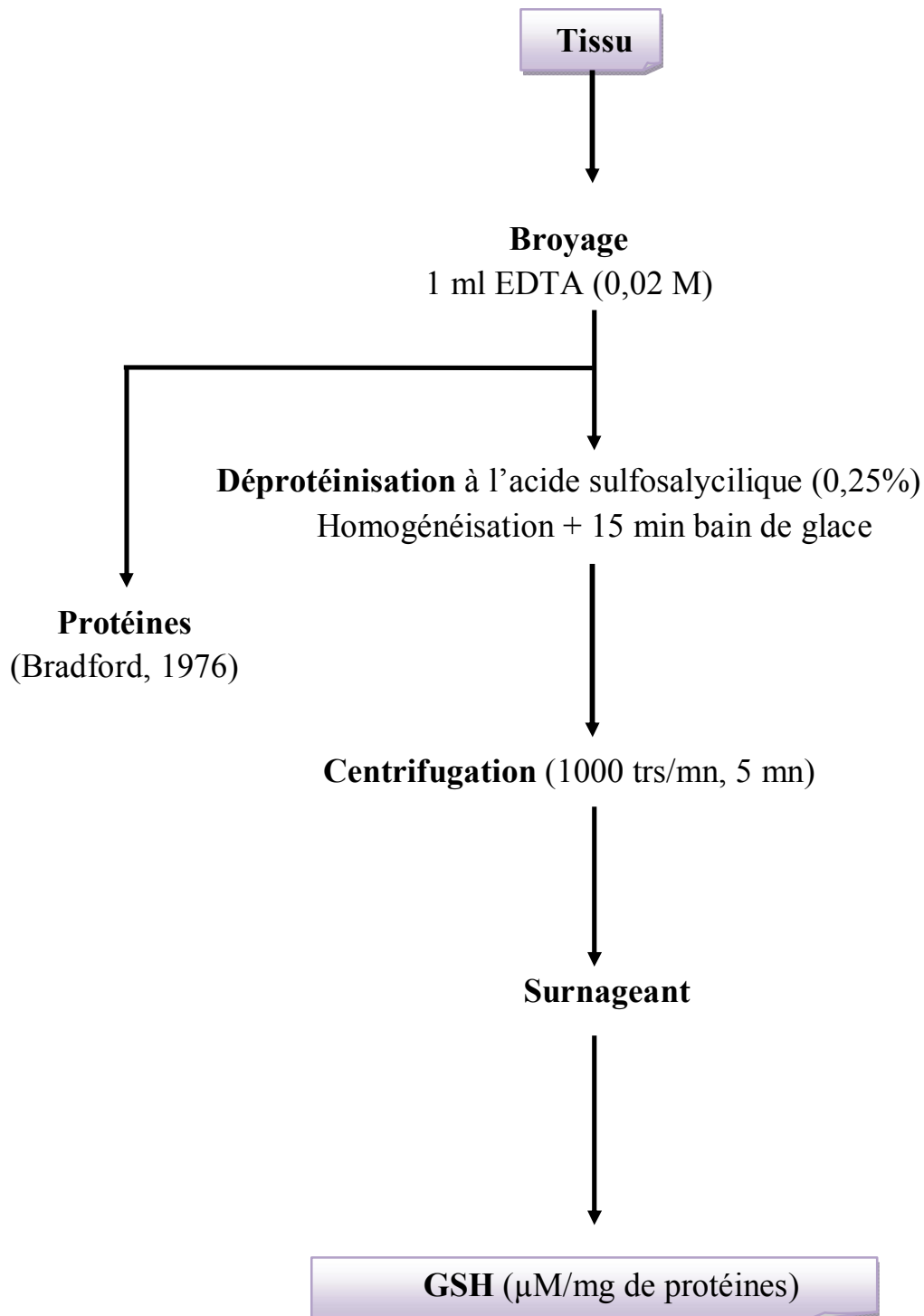


Figure 7. Dosage du glutathion (Weckberker & Cory, 1988).

2.7.2. Dosage de l'acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellman *et al.*, 1961) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique, on la révèle grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm. Les échantillons sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38,03 mg éthylène glycol tris-beta-aminoéthyl éther N N N' N' ou EGTA, 1 ml triton X 100%, 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris 10mM) à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons (Sonifer B-30) puis centrifugés à 5000 tours/mn pendant 5 mn (fig.8). Le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE.

Le dosage de l'AChE est déterminée comme suit : 100 µl de surnageant sont additionnées à 100 µl de DTNB (0,1 M, pH 8) (39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃ Na, dans 10 ml tris 0,1 M pH 7) et 1 ml du tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl de substrat acétylthiocholine iodide (Sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc ou le surnageant à été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (100 µl).

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{1,36 \times 10^4} \times \frac{Vt}{Vs} \text{ / mg de protéines}$$

X: nanomole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (nM/mn/mg de protéines).

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

1,36 × 10⁴ : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M⁻¹cm⁻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 acétylcholine].

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

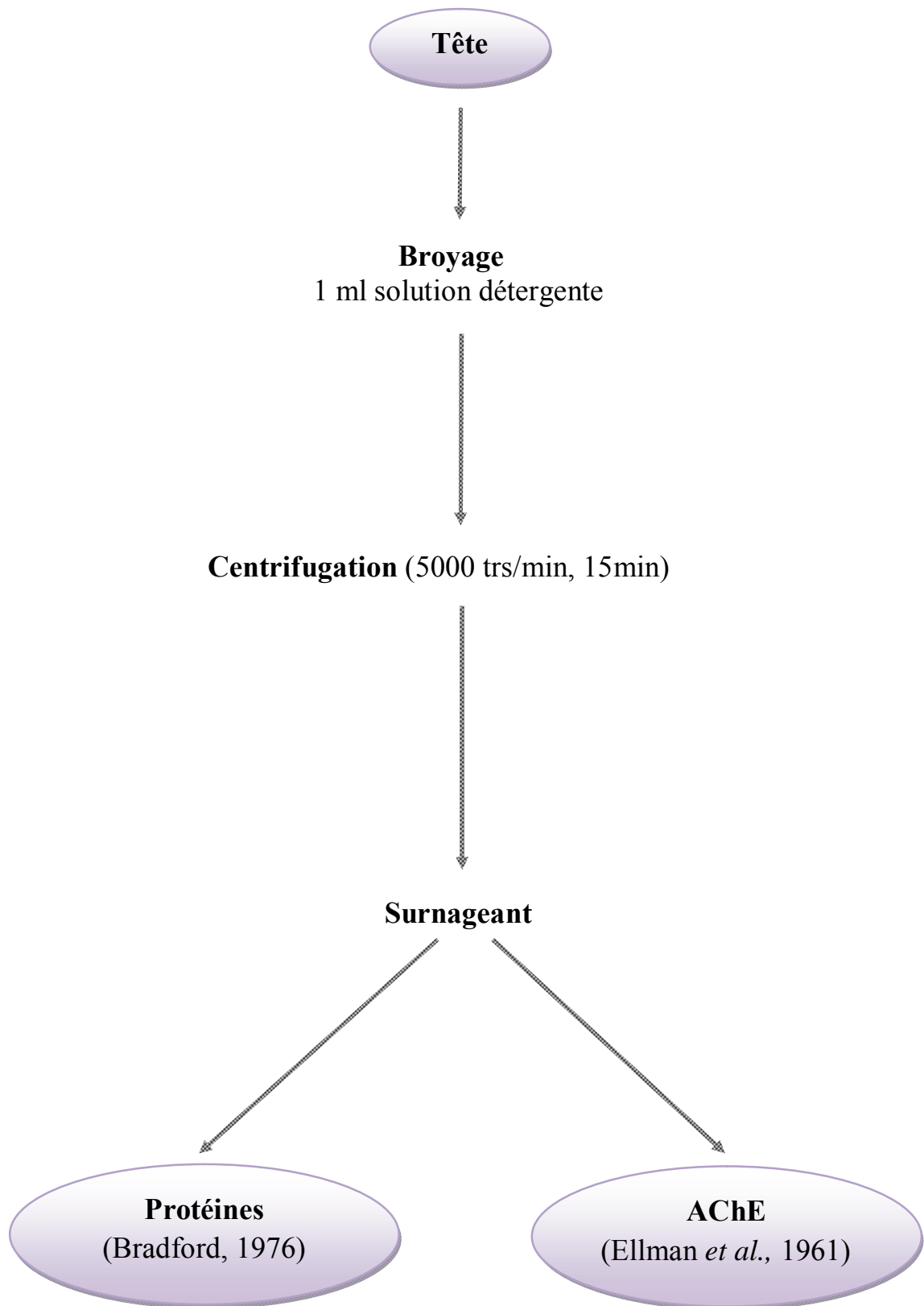


Figure 8. Dosage de l'acétylcholinestérase (Ellman *et al.*, 1961).

2.8. Extractions et dosage des acides nucléiques

L'extraction des acides nucléiques est faite selon la méthode de Shibko *et al.*, 1966 (fig.9), les ovaires sont déposés dans des tubes d'ependorf contenant 500 µl d'eau distillée additionnés de 2 µl de phénylméthylsilfonylfluoride (PMSF) (45 mg/1 ml éthanol), puis stockés au congélateurs à -20°C jusqu'au jour du dosage.

2.8.1. Dosage de l'ADN

L'ADN a été quantifié selon la méthode de Schneider (1957) qui utilise la diphénylamine comme réactif (1 g de diphénylamine; 100 ml d'acide acétique glacial ; 2,75 ml d'acide sulfurique) et une solution mère de thymus de veau comme standard (Sigma) (1mg/ml) (Tableau 1).

Tableau 1 : Dosage ADN, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5
ADN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (µl)	500	480	460	440	420
Diphénylamine (ml)	1	1	1	1	1

Après chauffage au bain marie pendant 20 minutes à 90°C, il se développe alors une coloration rosâtre. Le dosage de l'ADN a été effectué sur des fractions aliquotes (100 µl) des extraits biologiques à laquelle est additionné 1 ml de réactif de diphénylamine. Les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 602 nm contre un blanc de gamme.

2.8.2. Dosage de l'ARN

L'ADN a été quantifié selon la méthode de Burton (1956) qui utilise l'orcinoïl comme réactif (0,5 g de FeCl₃; 1g d'orcinoïl et 100 ml d'HCl 96%) et une solution mère (1 mg/ml) de levure de boulanger comme standard (Sigma) (Tableau 2).

Tableau 2 : Dosage ARN, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5
ARN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (ml)	1,5	1,48	1,46	1,44	1,42
Orcinoïl (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

Les tubes après agitations, sont chauffés au bain marie à 90°C pendant 10 min. Il se forme une coloration bleu clair. Le dosage de l'ARN a été effectué sur des fractions aliquotes (100 µl) des extraits biologiques auxquels sont additionnés 1,5 ml de réactif d'orcinoïl. Les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 660 nm contre un blanc de gamme.

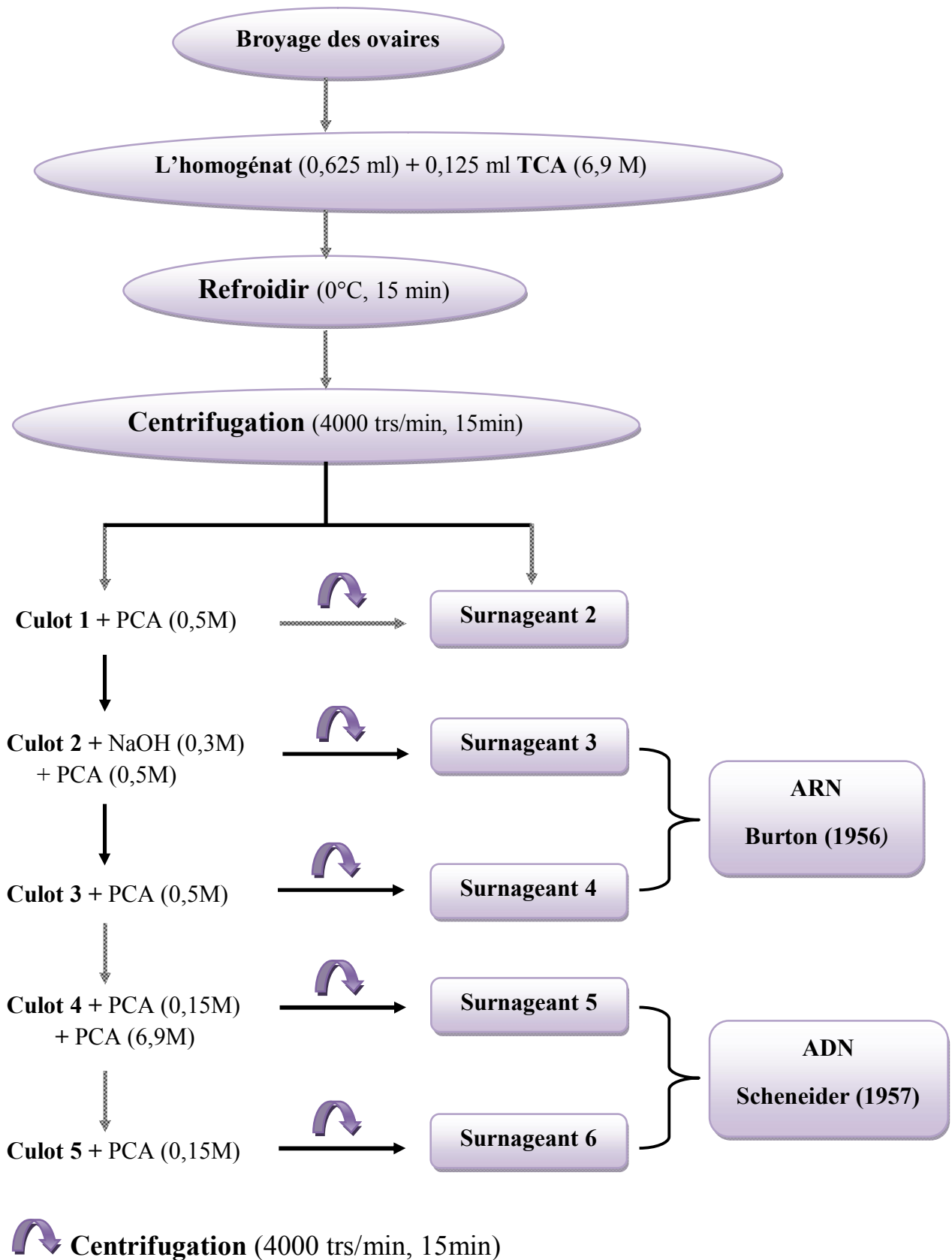


Figure 9: Extraction des acides nucléiques (Shibko *et al.*, 1966).

2.9. Extractions et dosage des protéines

L'extraction des protéines a été réalisée selon Shibko *et al.*, 1966. Les échantillons ont été conservés dans 1ml d'acide trichloroacétique 20% (TCA). Après un broyage aux ultrasons (Sonifer B-30) et une centrifugation (5000 tours/ mn pendant 10 mn). Au culot 1 sera ensuite additionné 1 ml d'un mélange éther/chloroforme (1V/1V). Une deuxième centrifugation (5000 tours/mn pendant 20 mn) permet de récupérer le culot 2 ; il sera repris dans 1 ml de soude (NaOH) à 0,1 N pour l'estimation des protéines totales (fig. 10).

La quantification des protéines a été faite selon la méthode de Bradford (1976) sur une fraction aliquote de 0,1ml de l'homogénat additionnée de 4 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G 250, Merk) comme réactif (100 mg de BBC, 50 ml d'éthanol 95 %, 100 ml d'acide orthophosphorique 85% et complété à 1000 ml par l'eau distillée). L'albumine de sérum de bœuf (BSA, Sigma) a été utilisée comme standard. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm dans un spectrophotomètre, et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère d'albumine de bœuf (1 mg /ml) selon les indications ci-dessous dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

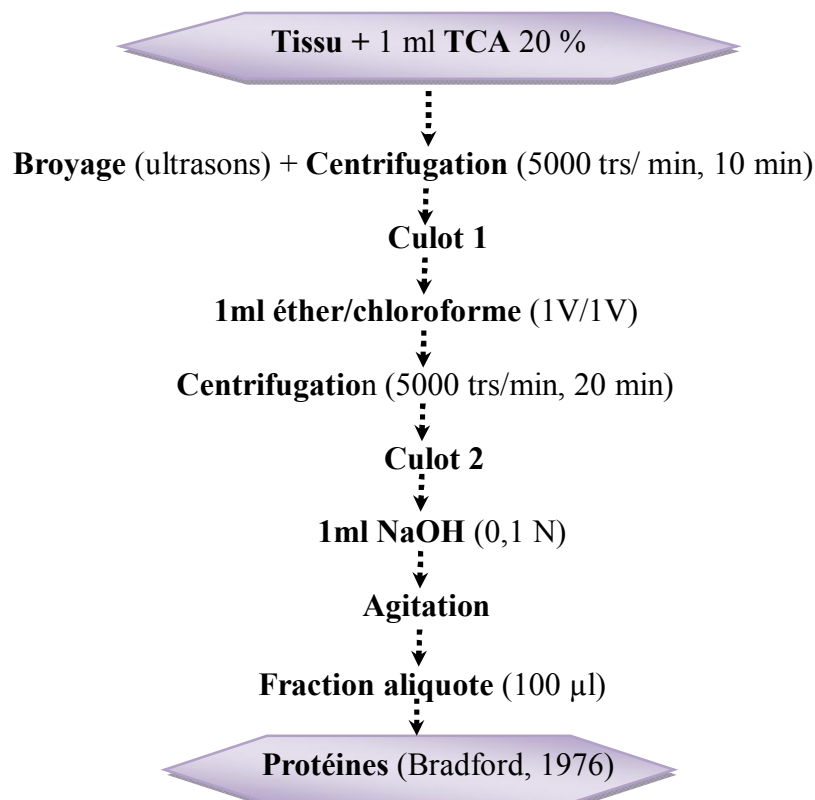


Figure 10: Extraction des protéines (Shibko *et al.*, 1966).

2.10. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne \pm l'écart type établie sur un effectif précisé dans les tableaux. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel MINITAB (Version 14, PA State College, USA) disponible au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée. Des équations de régression linéaire ont été déterminées pour les différents dosages afin d'établir les concentrations dans les différents échantillons. Les séries témoins et traités ont été comparées deux a deux avec le test t de Student. Une analyse de la variance à un critère de classification a également été effectuée.

3. Résultats

3.1. Toxicité aigüe de l'actara

Le traitement avec l'actara à différentes concentrations (75, 85, 100 et 125 mg/L), a montré que le taux de mortalité observée est nul chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à $90,00 \pm 17,32$ % pour la concentration la plus élevée (125 mg/L) (Tableau 4).

Tableau 4 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : mortalité observée (%) ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg/L)					
	Témoins	75	85	100	125
Répétitions					
R₁	0	10	60	90	100
R₂	0	10	70	80	100
R₃	0	10	50	40	70
m ± s	0,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	60,00 ± 10,00	70,00 ± 26,45	90,00 ± 17,32

Les mortalités corrigées par la formule d'Abbott (1925) montrent l'effet réel du traitement ; les mortalités varient de $10,00 \pm 0,00$ % pour la faible concentration (75 mg/L) jusqu'à $90,00 \pm 17,32$ % pour la concentration la plus élevée (125 mg/L) (Tableau 5).

Tableau 5 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : mortalité corrigée (%) ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg/L)				
	75	85	100	125
Répétitions				
R₁	10	60	90	100
R₂	10	70	80	100
R₃	10	50	40	70
m ± s	10,00 ± 0,00	60,00 ± 10,00	70,00 ± 26,45	90,00 ± 17,32

Les taux corrigés subissent une transformation angulaire (Tableau 6) et font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification. L'analyse statistique des données (Tableau 7) indiquent un effet concentration très hautement significatif ($p \leq 0,001$). Le classement des concentrations par le test de Tukey révèle trois groupes de concentration : le groupe A renferme la concentration 75 mg/L, le groupe B renferme les concentrations 85 et 100 mg/L, tandis que le groupe C renferme la concentration 125 mg/L (Tableau 8 ; Fig. 11).

Tableau 6 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : transformation angulaire ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg/L)	75	85	100	125
Répétitions				
R₁	18,43	50,77	71,57	84,26
R₂	18,43	56,79	63,43	84,26
R₃	18,43	45,00	39,23	56,79
m ± s	18,43 ± 0,00	50,89 ± 8,33	58,07 ± 16,82	75,10 ± 15,85

Tableau 7 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : analyse de la variance à un critère de classification ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Factorielle	3	10425	3475	12,64	0,001***
Résiduelle	8	2200	275		
Totale	11	1262			

Tableau 8 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : classement des concentrations ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg/L)	Mortalité corrigée	Mortalité transformée	Classement
75	10,00 ± 0,00	18,43 ± 0,00	A
85	60,00 ± 10,00	50,89 ± 8,33	B
100	70,00 ± 26,45	58,07 ± 16,82	B
125	90,00 ± 17,32	75,10 ± 15,85	C

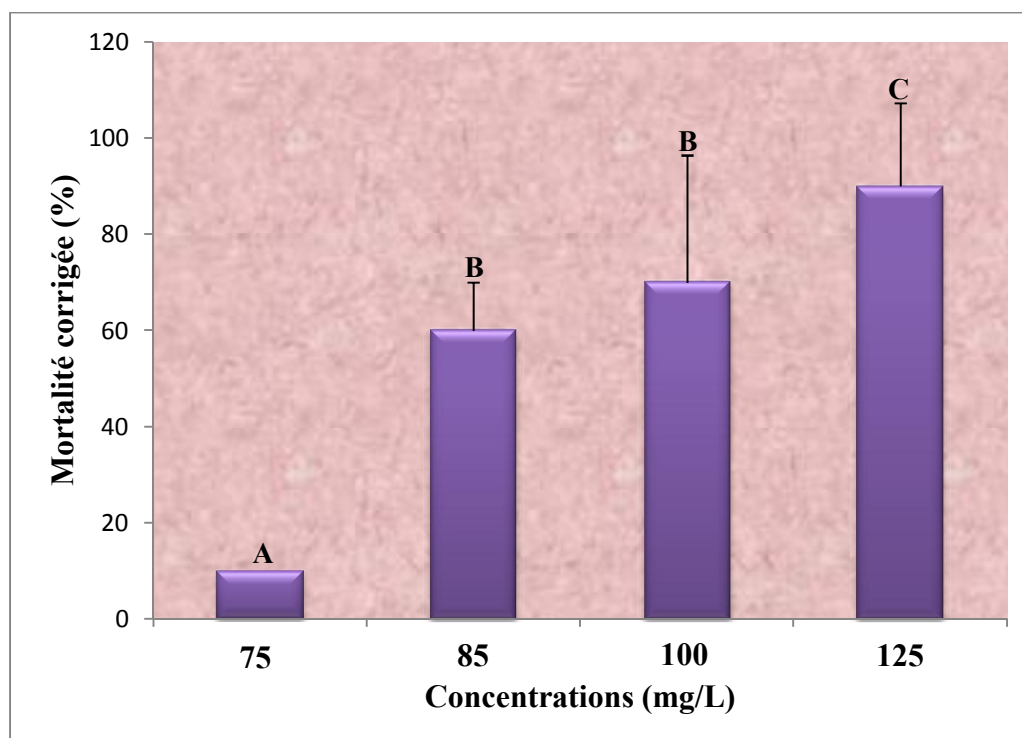


Figure 11. Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : classement des concentrations.

Tableau 9 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : transformation en probits ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration(mg/L)	75	85	100	125
Mortalités corrigées	10	60	70	90
Probits	3,7184	5,2533	5,5244	6,2816

Tableau 10 : Toxicité de l'actara (mg/L) à l'égard des adultes femelles de *Gambusia affinis* après une exposition de 24h : transformation des concentrations en logarithmes décimaux ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg/L)	75	85	100	125
Log concentrations	1,87	1,92	2	2,09

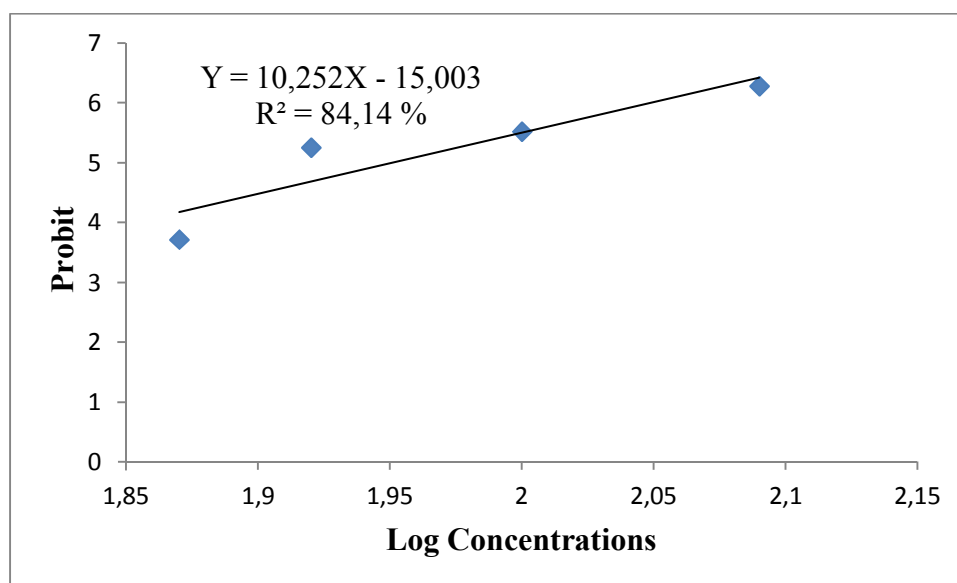


Figure 12. Toxicité de l’actara (mg/L) après 24h d’exposition des femelles de *Gambusia affinis*.

L’équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des concentrations est représentée dans la figure 12. Avec un coefficient de détermination $R^2 = 84,14\%$, elle révèle une liaison positive très forte entre le Probit et le logarithme décimal des concentrations. Les concentrations létales 50 (CL50) et 90 (CL90), déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement 89,35 mg/L, 119,16 mg/L (Tableau 11).

Tableau 11 : Toxicité de l’actara (mg/L) après 24h d’exposition des femelles de *Gambusia affinis* : paramètres de toxicité et détermination des différentes concentrations létales (CL10, CL25, CL50 et CL90) avec leur intervalle de confiance (IC).

Traitement	Droite de régression	Slope	CL10 (IC)	CL25 (IC)	CL50 (IC)	CL90 (IC)
Actara	$Y = 10,252X - 15,003$	1,25	67,00 (62,61-71,69)	76,79 (71,76-82,16)	89,35 (83,50-95,63)	119,16 (111,36-127,50)

3.2 Effet de l'actara sur les indices métriques

3.2.1. Rapport gonado-somatique et hépto-somatique

Les résultats concernant le rapport gonado-somatique (RGS) chez les femelles adultes sont représentées dans le tableau 12 et la figure 13. La comparaison avec le test "t" de Student des valeurs moyennes obtenues chez les séries traitées et témoins révèle que le traitement à l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) provoque une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du RGS comparativement aux témoins. En effet, le RGS passe de $17,44 \pm 1,86$ chez les témoins à $9,24 \pm 1,60$ chez les traitées. D'autre part, on enregistre également une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) du rapport hépto-somatique (RHS) (Tableau 14, Figure 14) ; le RHS atteint la valeur moyenne de $0,07 \pm 0,01$ chez les séries traitées contre $0,18 \pm 0,02$ chez les séries témoins. Par ailleurs, l'analyse de la variance indique un effet traitement très hautement significatif ($p < 0,001$) pour le RGS et le RHS (Tableaux 13 et 15).

Tableau 12 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le rapport gonado-somatique des adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$). Les moyennes d'un même traitement après 24 heures d'exposition.

Répétitions \ RGS	Témoins	Traitées
1	16,1	7,01
2	18,46	9,18
3	17,01	11,3
4	22,3	11,58
5	16,56	7,58
6	17,31	8,52
7	16,16	8,08
8	17,72	9,26
9	16,54	11,14
10	16,29	8,83
Moyenne \pm Ecart-type	17,44 \pm 1,86 a	9,24 \pm 1,60 b

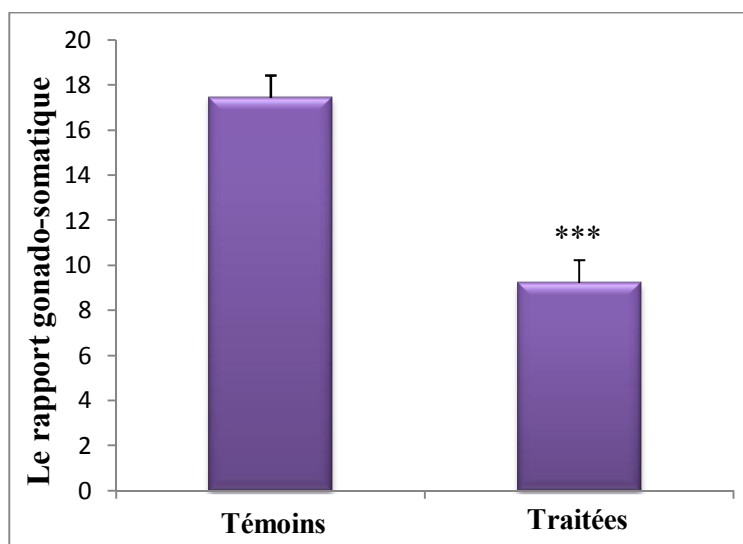


Figure 13. Rapport gonado-somatique chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$).

Tableau 13 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le rapport gonado-somatique des adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	335,97	335,97	111,23	0,000***
Erreur Résiduelle	18	54,37	3,02		
Totale	19	390,34			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significatif)

Tableau 14 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le rapport hépato-somatique des adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$). Les moyennes d'un même traitement après 24 heures d'exposition.

RHS Répétitions	Témoins	Traitées
1	0,19	0,11
2	0,23	0,06
3	0,15	0,08
4	0,17	0,09
5	0,18	0,07
6	0,20	0,073
7	0,21	0,05
8	0,20	0,076
9	0,16	0,09
10	0,14	0,10
Moyenne \pm Ecart-type	0,18 \pm 0,02 a	0,07 \pm 0,01 b

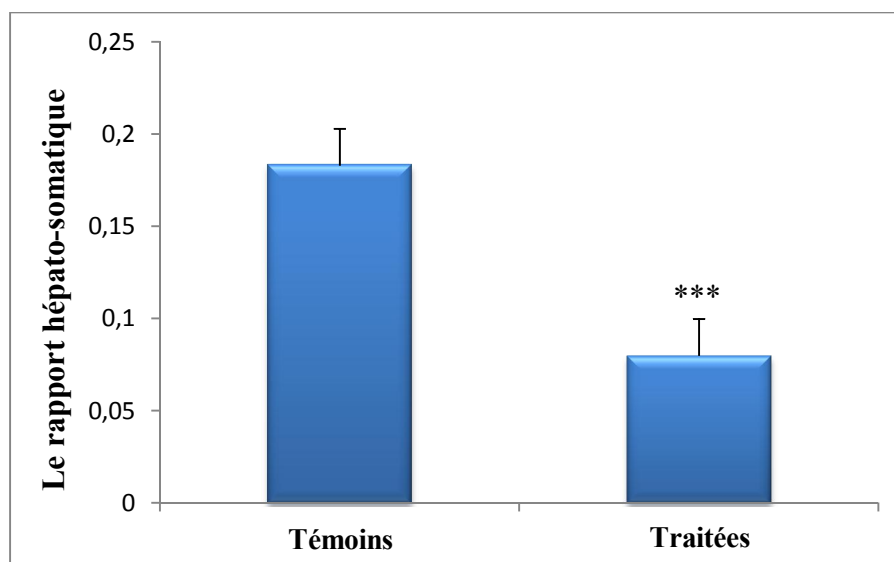


Figure 14. Rapport hépato-somatique chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$).

Tableau 15 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le rapport hépato-somatique des adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	0,053148	0,053148	94,02	0,000***
Erreur Résiduelle	18	0,010175	0,000565		
Totale	19	0,063323			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significatif)

3.2.3. Indice de condition

L'analyse statistique avec le test "t" de Student des taux moyens traitées et témoins chez les femelles adultes de *G. affinis* indiquent que le traitement n'a pas d'effet significatif ($p > 0,05$) sur l'indice de condition au cours du traitement (Tableau 16; Fig 15). De plus, l'analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet traitement non significatif ($p > 0,05$) (Tableau 17).

Tableau 16 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur l'indice de condition des adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$). Les moyennes d'un même traitement après 24 heures d'exposition.

Indice de condition Répétitions	Témoins	Traitées
1	1,16	0,88
2	1,01	1,02
3	0,97	0,98
4	1,11	0,9
5	1,08	0,91
6	1,13	0,94
7	1,08	0,95
8	0,97	1,01
9	1,01	0,96
10	0,99	0,8
Moyenne \pm Ecart-type	1,05 \pm 0,06 a	0,93 \pm 0,04 a

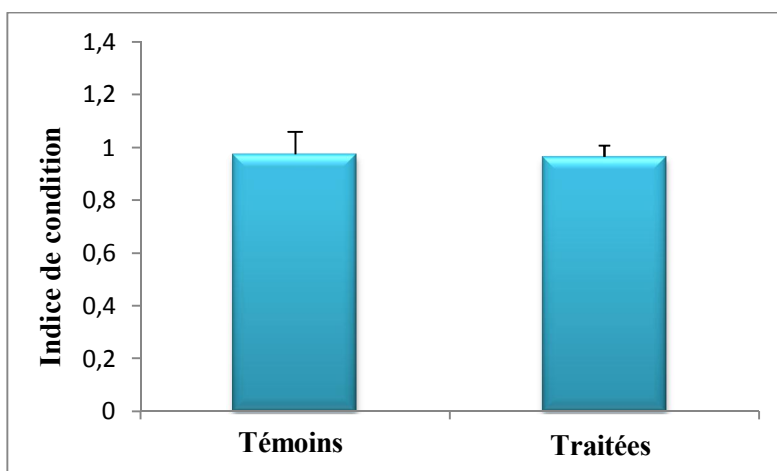


Figure 15. Indice de condition chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$).

Tableau17 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur l'indice de condition des adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	0,0005	0,0005	0,01	0,911 ^{NS}
Erreur Résiduelle	18	0,7043	0,0391		
Totale	19	0,7048			

^{NS} : $p > 0,05$ (non significatif)

3. 3. Effet de l'actara sur les biomarqueurs

3.3.1. Glutathion

La détermination du taux de glutathion a été réalisée par application de la formule de Weckberker & Cory (1988) au niveau de l'hépatopancréas des adultes femelles. L'analyse statistique avec le test "t" de Student des taux moyens du GSH chez les femelles adultes de *G. affinis* indique une diminution significative ($p < 0,05$) après une période d'exposition de 24 heures pour passer de $0,47 \pm 0,13 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les individus témoins à $0,24 \pm 0,07 \mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines chez les individus traités (Tableau 18 ; Fig. 16). L'analyse de la variance à un critère de classification indique qu'il y'a un effet traitement significatif ($p < 0,05$) (Tableau 19).

Tableau 18 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35 \text{ mg/L}$) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$). Les moyennes d'un même traitement après 24 heures d'exposition.

Taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) Répétitions	Témoins	Traitées
1	0,68	0,16
2	0,43	0,32
3	0,54	0,26
4	0,34	0,18
5	0,38	0,32
Moyenne \pm Ecart-type	$0,47 \pm 0,13$ a	$0,24 \pm 0,07$ b

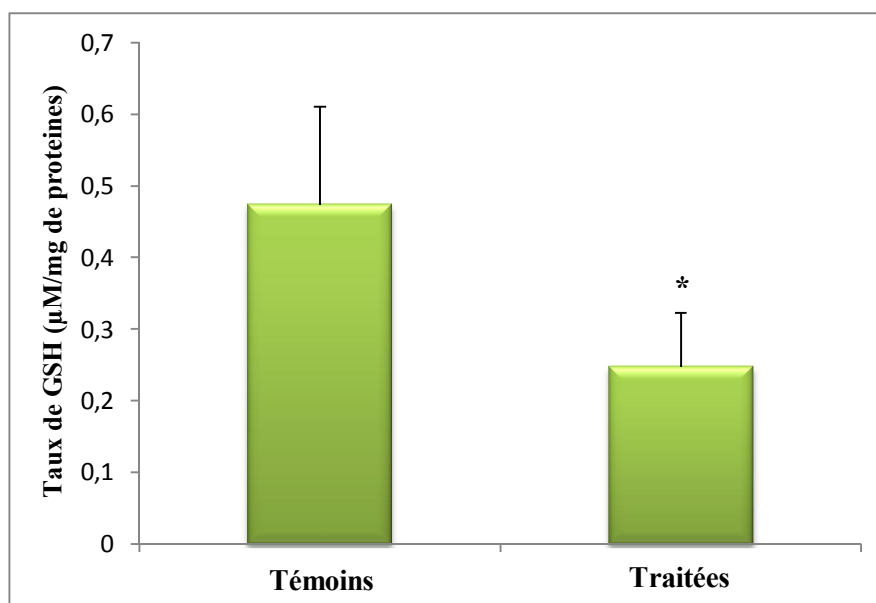


Figure 16. Effet de l'Actara ($CL_{50} = 89,35 \text{ mg/L}$) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$).

Tableau 19 : Effet de l'Actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le taux de GSH (μ M/ mg de protéines) chez les adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	0,1277	0,1277	10,38	0,012*
Erreur Résiduelle	8	0,0984	0,0123		
Totale	9	0,2261			

* : $p < 0,05$ (significatif)

3.3.1. Acétylcholinestérase

L'activité enzymatique de l'AChE est déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.*, (1961) en utilisant les têtes des adultes femelles, et calculée d'après les pentes des droites de régressions exprimant l'absorbance en fonction du temps. La comparaison des moyennes des adultes femelles traitées avec les adultes femelles témoins par le test "t" de Student indique une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité enzymatique de l'AChE cérébrale après une période d'exposition de 24 heures pour passer de $19,31 \pm 4,12$ nM/min/mg de protéines chez les individus témoins à $10,62 \pm 0,86$ nM/min/mg de protéines chez les individus traités (Tableau 20; Fig 17). L'analyse de la variance à un critère de classification (Traitement) indique qu'il y'a un effet traitement très hautement significatif ($p < 0,001$) (Tableau 21).

Tableau 20 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur l'activité enzymatique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 6$).

Activité spécifique de l'AChE (nM/mg/de protéines)	Témoins	Traitées
	Répétitions	
1	25,71	11,99
2	19,15	10,87
3	16,78	10,47
4	14,99	9,77
5	22,69	9,67
6	16,57	10,96
Moyenne \pm Ecart type	19,31 \pm 4,12 a	10,62 \pm 0,86 b

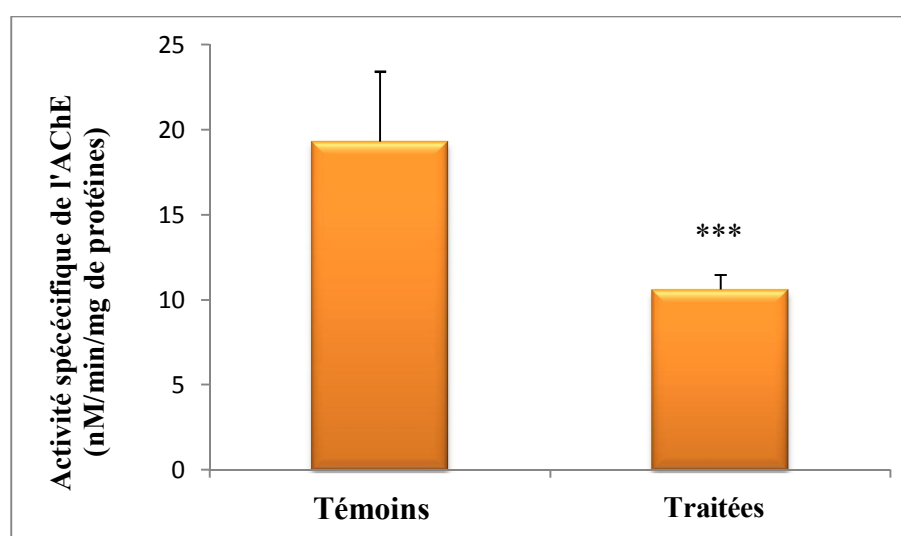


Figure 17. Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur l'activité enzymatique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 6$).

Tableau 21 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur l'activité enzymatique de l'AChE (nM/min/mg de protéines) chez les adultes femelles de *G.affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	226,72	226,72	25,57	0,000***
Erreur Résiduelle	10	88,68	8,87		
Totale	11	315,41			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significatif)

3.4. Effet de l'actara sur la reproduction

3.4.1. Effet de l'actara sur le taux des acides nucléiques

L'extraction de l'ADN et l'ARN ovariens de *G. affinis* ont été extraits selon le procédé de Shibko *et al.*, (1966). Les ovaires sont prélevés des femelles pendant la période de l'activité sexuelle.

3.4.1.1. Effet de l'actara sur le taux d'ADN

La comparaison des moyennes avec le test "t" de Student désigne une inhibition très hautement significative ($p < 0,001$) des taux de l'ADN après une période d'exposition de 24 heures pour passer de $5,65 \pm 0,84$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles témoins à $2,33 \pm 0,62$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles traitées (Tableau 22; Fig 18). L'analyse de la variance à un critère de classification (Traitement) indique qu'il y'a un effet traitement très hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 23).

Tableau 22 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$), après une exposition de 24 heures.

Taux d'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu)	Témoins	Traitées
Répétitions		
1	5,84	1,74
2	7,04	2,77
3	5,1	2,13
4	4,99	1,82
5	5,28	3,19
Moyenne \pm Ecart type	$5,65 \pm 0,84$ a	$2,33 \pm 0,62$ b



Figure 18. Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le taux de l'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$).

Tableau 23 : Effet de l'Actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le taux de l'ADN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G.affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	27,556	27,556	49,82	0,000***
Erreur Résiduelle	8	4,425	0,553		
Totale	9	31,981			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significative)

3.4.1.2. Effet de l'actara sur le taux d'ARN

Concernant les valeurs moyennes des taux d'ARN, la comparaison avec le test "t" de Student désigne aussi une inhibition très hautement significative ($p < 0,001$) après une période d'exposition de 24 heures pour passer de $8,18 \pm 1,21 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles témoins à $2,94 \pm 0,41 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles traitées (Tableau 24 ; Fig 19). L'analyse de la variance à un critère de classification (Traitement) indique qu'il y'a un effet traitement très hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 25).

Tableau 24 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35 \text{ mg}/\text{L}$) sur le taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$), après une exposition de 24 heures.

Taux d'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) Répétitions	Témoins	Traitées
	1	7,97
2	9,59	3,05
3	8,53	2,62
4	6,28	3,05
5	8,53	3,54
Moyenne \pm Ecart type	8,18 \pm 1,21 a	2,94 \pm 0,41 b

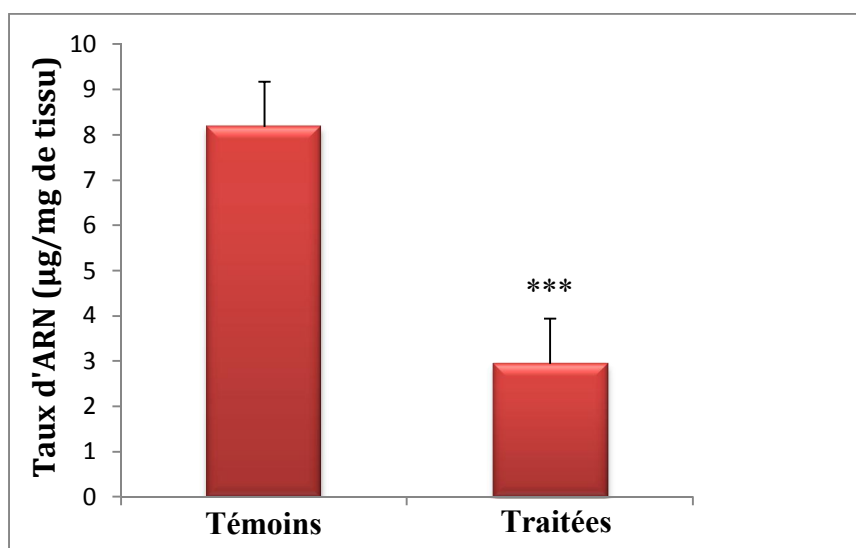


Figure 19. Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35 \text{ mg}/\text{L}$) sur le taux de l'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$).

Tableau 25 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur le taux de l'ARN ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	68,435	68,435	83,14	0,000***
Erreur Résiduelle	8	6,585	0,823		
Totale	9	75,020			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significative)

3.4.2. Effet de l'actara sur le taux des protéines

La quantification des protéines dans les ovaires a été réalisée à partir d'une courbe de référence utilisant l'albumine comme protéine standard. La comparaison des valeurs moyennes des taux des protéines ovariennes traitées avec celle des témoins avec le test "t" de Student indique que l'actara provoque une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) en passant de $8,41 \pm 1,56$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles témoins à $3,18 \pm 0,77$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu chez les femelles traitées (Tableau 26 ; Fig 20). L'analyse de la variance révèle aussi un effet traitement très hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 27).

Tableau 26 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur les taux des protéines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 5$), après une exposition de 24 heures.

Taux des protéines $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu	Témoins	Traitées
Répétitions		
1	8,71	3,71
2	7,74	3,88
3	7,96	2,19
4	10,69	2,03
5	8,14	4,16
6	7,38	3,72
7	9,83	2,17
8	6,56	3,26
9	6,38	3,47
10	10,72	3,26
Moyenne \pm Ecart-type	8,41 \pm 1,56a	3,18 \pm 0,77b

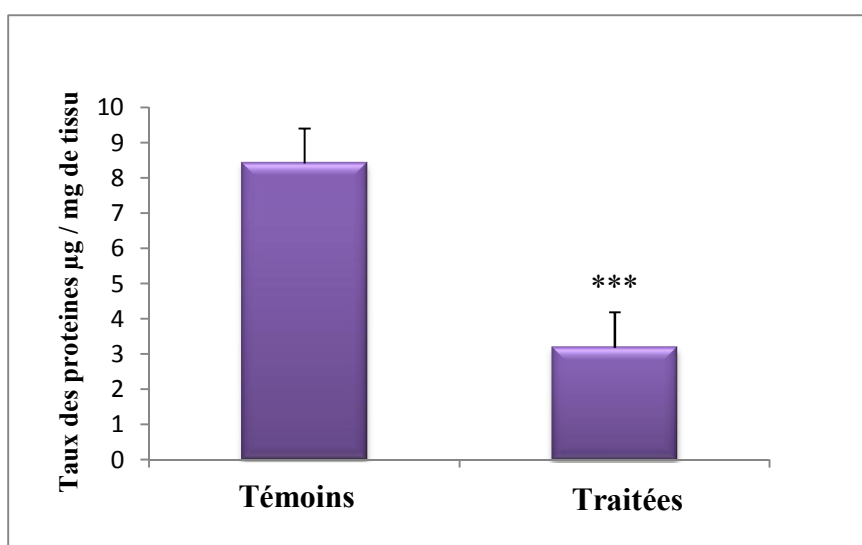


Figure 20. Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur les taux des protéines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* ($m \pm s$; $n = 10$).

Tableau 27 : Effet de l'actara ($CL_{50} = 89,35$ mg/L) sur les taux des protéines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *G. affinis* : Analyse de la variance à un seul critère de classification (Traitement).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	F obs	P
Traitement	1	136,5	136,5	89,67	0,000***
Erreur Résiduelle	18	27,41	1,52		
Totale	19	163,97			

*** : $p < 0,001$ (très hautement significative)

4. Discussion

4.1. Toxicité de l'Actara

Les pesticides organophosphorés (OPs) ont été trouvés fréquemment dans l'environnement pour constituer un risque écotoxicologique (Ballesteros & Parrado, 2004). Leur concentration dans les sources d'eau (Barceló *et al.*, 1990; Konstantinou *et al.*, 2006), dans l'air (Tuduri *et al.*, 2006) et la nourriture (Bai *et al.*, 2006; Darko & Akoto, 2008) peut varier entre quelques ppb à des niveaux ppm. Leur présence peut affecter directement la santé des écosystèmes aquatiques et terrestre.

Les essais de toxicité aiguë de l'actara ont été menés sur les femelles adultes de *G. affinis* avec une exposition de 24h. Différentes concentrations (15, 25, 35, 45, 55, 65, 75, 85, 95, 100, 125 et 150 mg/L) ont été testées afin d'estimer les concentrations létales 50 (CL₅₀) et 90 (CL₉₀) et leurs intervalles de confiance à 95%. Les concentrations létales avec leur intervalle de confiance correspondant sont les suivantes, respectivement : CL₅₀ : 89,35 (83,50-95,63) et CL₉₀ : 119,16 (111,36-127,50) mg/L.

En Algérie, très peu de travaux ont été consacrés à l'impact des insecticides OPs sur les organismes non visés. En comparant nos résultats à ceux d'autres travaux nous constatant que l'actara est moins toxiques par rapport à d'autres insecticides organophosphorés. Chouahda *et al.* (2009) ont étudié l'influence d'un organophosphoré (malathion) à l'égard des adultes femelles de *G. affinis* après 24 heures d'exposition, les données ont montré une CL₅₀ de 18,10 (17,77-18,43) mg/L et une CL₉₀ : 22,17 (111,36-127,50) mg/L. Ailleurs quelques études portant sur l'écotoxicité des pesticides organophosphorés (Burkepile *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2008), mais quelques unes fournissent des données sur les dangers des produits de dégradation (Kim *et al.*, 2006; Kralj *et al.*, 2007; Virag *et al.*, 2007). Des travaux menés par Rendon-Von Osten *et al.* (2005) ont déterminées les valeurs de la CL₅₀ des trois pesticides le chlorpyrifos, le glyphosate, le carbofuran et leur mélange sur *G. affinis* après 96 h d'exposition, sauf dans le cas du carbofuran pour laquelle a été calculé après 24 h depuis presque tous les poissons sont morts dans cette période. Les valeurs étaient respectivement : 0,085 mg/L, 17,79 mg/L, 0,636 mg/L et 0,011 mg/L pour le mélange chlorpyrifos/glyphosate. Rao *et al.* (2003, 2005) révèlent une CL₅₀ de 0,297 mg/L chez *G. affinis* à l'égard du chlorpyrifos.

D'autres organismes ont fait l'objet d'essais toxicologiques après exposition aux différents organophosphorés. Ramesh & Muniswamy (2009) ont examiné la toxicité aiguë (CL₅₀/96 h) du chlorpyrifos sur un poisson d'eau douce, *C. carpio* : 0,160 mg/L. Srivastava & Singh (2001) ont précisé la CL₅₀/24h du diméthoate pour l'espèce de poisson *C. punctatus* ; elle est de 17,92 mg/L. Selon Tilak & Swarna kumari (2009), la toxicité aiguë du Nuvan sur la carpe herbivore *Ctenopharyngodon idella* a été déterminée pendant 24, 48, 72 et 96 h d'exposition, les CL₅₀ correspondant aux différentes expositions sont : 13,1; 10,9; 9,8 et 6,5 mg/L. La toxicité du chlorpyrifos a été aussi déterminée par Rao *et al.*, (2003, 2005) sur *Oreochromis mossambicus* (CL₅₀: 0,0259 mg /L).

4.2. Effet sur les indices métriques

L'étude de la croissance permet d'observer indirectement les effets d'un stress polluant sur une des composantes de la fitness des organismes et présente l'avantage d'intégrer l'histoire de vie des individus (Adams *et al.*, 1992 ; Laroche *et al.*, 2002 ; Marchand *et al.*, 2003) (Fig. 21). D'autres indicateurs de l'état global de santé des organismes tels que le facteur ou indice de condition, le rapport hépatosomatique, l'index gonadosomatique, le rapport RNA/DNA, la charge corporelle en lipides, entre autres renseignent sur les coûts métaboliques induits par un stress polluant et indirectement sur le statut énergétique et la croissance de l'individu exposé (Adams *et al.*, 1990 ; Lambert & Dutil, 1997). Ces indices de condition ont l'avantage d'être simples et relativement rapides à mesurer mais présente une forte variabilité d'origine environnementale et/ou intrinsèque (Lambert & Dutil 1997; Leamon *et al.*, 2000; Webb & Gagnon, 2002). Malgré les précautions à prendre lors de leur interprétation, ces indices constituent des indicateurs d'effets très informatifs surtout lorsqu'ils sont mesurés conjointement à d'autres types de réponse (Adams *et al.*, 1990, 1999). Une modification de la croissance peut refléter un changement de la quantité d'énergie présente dans un organisme et suggérer l'existence d'une diminution de la conversion énergétique en tissus somatiques.

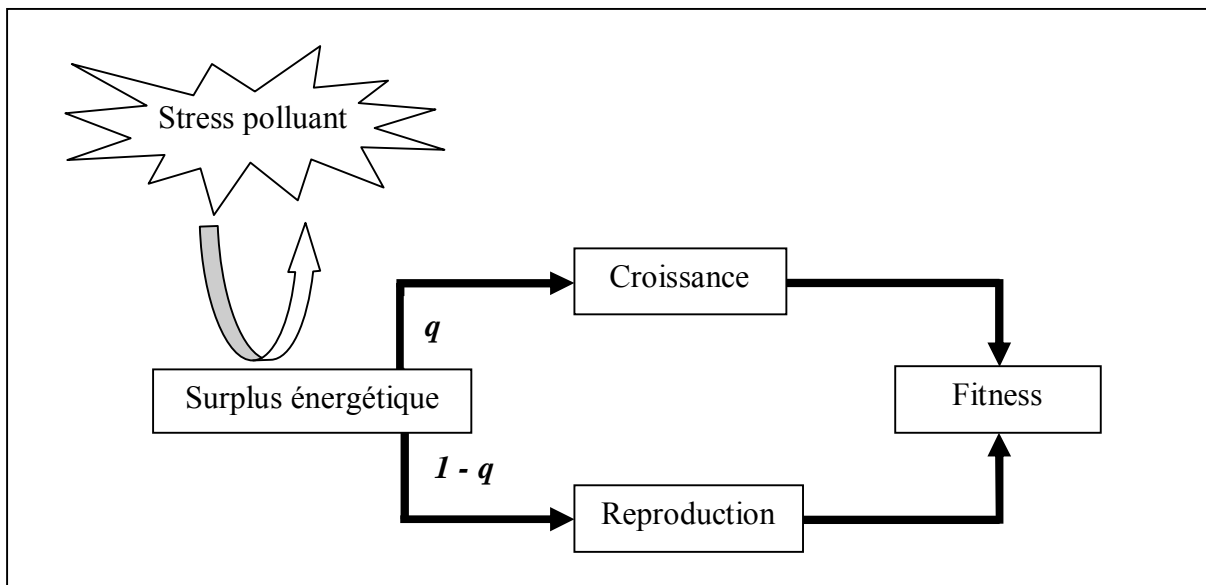


Figure 21. Devenir du surplus énergétique (énergie disponible après excrétion et métabolisme général). Si une proportion q de cette énergie est allouée à la croissance, une proportion $1 - q$ sera disponible pour la reproduction (d'après Lawrence *et al.*, 2003).

Nos résultats ont permis de mettre en évidence que l'actara, additionné à l'eau d'élevage des femelles adultes de *G. affinis* à la dose de 89,35 mg/L (CL₅₀/24h), réduit significativement les rapports hépto-somatique et gonado-somatique; par contre, il n'a aucun effet significatif ($p > 0,05$) sur l'indice de condition. Les modifications du rapport hépto-somatique et du rapport gonado-somatique au cours de temps 24h, permettent de suivre les cycles hépatiques et sexuels et précisent le rôle du foie et de la gonade au cours de la

croissance (Stequert, 1971). Nos résultats sont en accord avec des travaux antérieurs menés avec d'autres insecticides. En effet, Drez *et al.* (2000) ont observé une réduction significative de la croissance des mâles et des femelles de *Gambusia holbrooki* après traitement avec le 4-nonylphenol. Aissaoui (1998) rapporte que le traitement des femelles adultes de *G. affinis* par le lindane organochloré pendant un mois, induit une réduction significative du poids. Draredja-Beldi & Soltani (2003) signalent que le diflubenzuron provoque une réduction de la croissance des alevins de *G. affinis* après 30 jours d'exposition (toxicité chronique). Des études antérieures ont révélé que le halofenozide (RH-0345) un insecticide agoniste de l'hormone de mue affecte également la croissance des alevins de *G. affinis* (Chouahda *et al.*, 2006).

D'autres insecticides agonistes des ecdystéroïdes comme le tébufénozide ou le méthoxyfenozide perturbent les paramètres de la reproduction, la composition biochimique des ovaires et le taux de l'hormone de mue chez *Ephestia kuehniella* (Hami *et al.*, 2005 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012). Selon Chad *et al.*, 2006, le perchlorate de sodium augmente le RGS chez les femelles de *G. holbrooki*. Chez les larves de *L. decemlimata* le halofenozide provoque des mues prématurées suivies d'une inhibition de l'exuviation (Smaghe *et al.*, 1999). Enfin, le diflubenzuron, un insecticide inhibiteur de la synthèse de la chitine, interfère avec le développement et la croissance ovarienne chez *Tenebrio molitor in vivo* (Amrani *et al.*, 2004) et *in vitro* (Soltani *et al.*, 1998).

4.3. Dosage des biomarqueurs

L'utilisation des biomarqueurs s'est généralisée, essentiellement chez les moules et les poissons (Livingstone, 1993). En comparaison, peu d'études similaires ont été conduites pour évaluer la qualité des milieux dulçaquicoles, bien que ces derniers soient largement soumis à diverses pollutions d'origine industrielle, agricole et domestique (Réseau du Bassin Adour-Garonne, 1997). Les effets des contaminants sur l'intégrité des tissus de divers organes ont été mis en évidence chez plusieurs espèces de poissons marin et d'eau douce (Evans *et al.*, 2000; Hylland *et al.*, 2003).

4.3.1. Taux de glutathion

Une baisse du taux de GSH peut être considérée comme un indicateur de toxicité via la génération d'un stress oxydant. La voie de biosynthèse du GSH est constituée de deux étapes principales: la liaison du glutamate à la cystéine est catalysée par la γ -glutamylcystéine synthase (GCS), puis la liaison entre la glutamyle-cystéine et la glycine est catalysée par la glutathion synthétase (GS). Il intervient notamment dans la détoxification des xénobiotiques en neutralisant divers produits du stress oxydant grâce à son potentiel réducteur mais également dans la prolifération cellulaire et la régulation de l'apoptose (Sies, 1999 ; Dringen, 2000). Une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif (Droge, 2002).

Afin d'évaluer la toxicité de l'actara sur le stress oxydant, nous avons mesuré le taux de glutathion réduit. Nos résultats révèlent que l'actara additionné dans l'eau d'élevage de *G. affinis* provoque une diminution significative ($p < 0,05$) du taux de glutathion hépatique après

24 h d'exposition. Une diminution du taux de glutathion chez *G. affinis* traité au malathion et au cadmium, exposés pendant 24 heures, a été observée respectivement par Rosety *et al.*, (2005) et Braia (2009). L'exposition du corps entier des femelles de *G. affinis* traitées avec le diflubenzuron provoque aussi une inhibition du taux de GSH (Draredja-Beldi & Soltani., 2003 ; Zaidi, 2005). Cette réduction est également signalée par Aissaoui (1998) dans l'hépatopancréas de la même espèce exposée au lindane pendant 24h.

La réduction du taux de la GSH a été également signalée chez plusieurs espèces animales traitées par divers pesticides. Une autre étude révèle que des faibles doses de pesticides sont efficaces pour réduire le niveau de glutathion chez les téléostéens d'eau douce ; en effet, chez *Channa punctatus* exposé aux métacid groupe insecticide et aux carbaryl (deux insecticides) pendant 7 jours, une diminution significatif du taux de GSH a été enregistrée et a différentes doses (Ghosh *et al.*, 1993). Elnwishy *et al.* (2007) ont montré également une diminution significative du taux de GSH chez *Oreochromis niloticus* après une exposition au diazinon (insecticide organophosphoré)

La relation entre la diminution du taux de GSH et le niveau de contamination est rapportée par Ringwood *et al.* (1999) chez les juvéniles de la moule, *Crassostrea virginica*, exposées à un mélange de polluants industriels et par Cossu *et al.* (2000) chez le bivalve *Unio tumidus* exposé au cuivre. Par contre, d'autres études ont signalé une augmentation du taux de GSH dans le foie de la truite arc-en-ciel traitée avec le cadmium (Ait-Aissa *et al.*, 2003). Cette augmentation correspond à un mécanisme précoce de défense cellulaire et serait suffisant pour prendre en charge les premières atteintes cellulaires, évitant ainsi l'apparition d'un stress oxydant plus important.

4.3.2. Taux de l'acétylcholinestérase

La neurotoxicité correspond généralement à une perturbation de l'influx nerveux, le cas de l'acétylcholinestérase (AChE) enzyme impliqué dans la transmission de l'influx nerveux son inhibition traduit l'exposition à une ou plusieurs substances ayant une action neurotoxique (fig. 22). La mesure de l'inhibition de l'activité de l'AChE dans le muscle de poisson est un biomarqueur dont l'expression traduit spécifiquement l'exposition des poissons à des produits phytosanitaires de la famille des organophosphorés ou de celle des carbamates (Bocquéne *et al.*, 1990, 1993 ; Payne *et al.*, 1996). Ce biomarqueur a principalement été utilisé en milieu marin (Galgani & Bocquéne, 1998). Pour les poissons des milieux aquatiques continentaux, cette mesure s'est également révélée intéressante (Richert, 1994 ; Payne *et al.*, 1996).

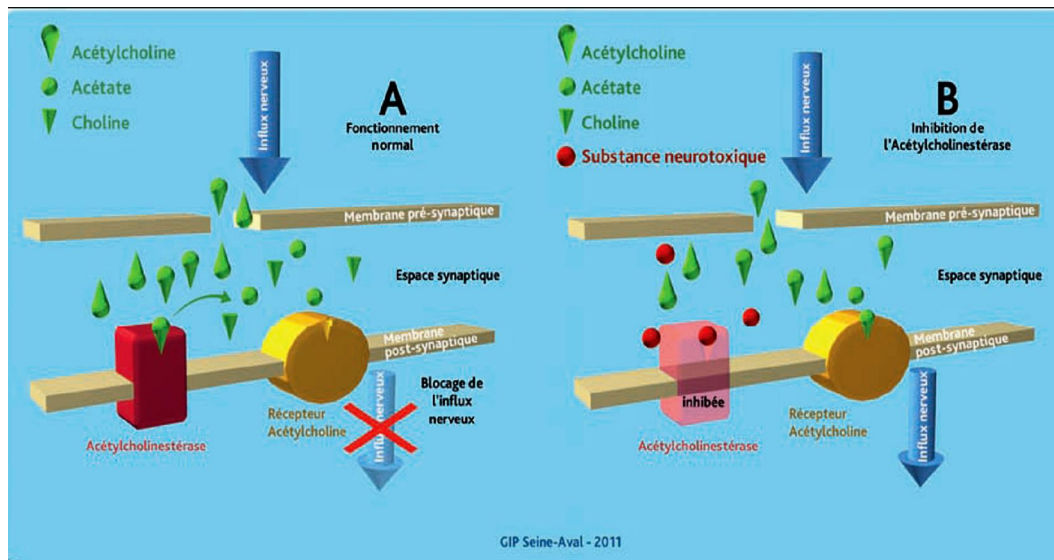


Figure 22. Mécanisme d'action d'une substance neurotoxique sur la transmission de l'influx nerveux. A : Fonctionnement normal ; B : Impact d'une substance neurotoxique = inhibition de l'acétylcholinestérase.

Il a été également observé dans notre étude après dosage de l'activité de l'acétylcholinestérase chez les adultes femelles de *G. affinis* traitées à la CL_{50} (89,35 mg/L) de l'actara, une inhibition très hautement significative ($p < 0,001$). Nos résultats sont en accord avec ceux de Renden-Von Osten *et al.* (2005) qui rapportent que le chlopyrifos et le carbofuran (organophosphoré et carbamate) inhibent significativement après 24 heures d'exposition, l'activité de l'AChE au niveau des cerveaux et des muscles de *G. yucatana*. Une diminution de l'AChE a été également signalée chez les individus de *G. affinis* exposés aux chlopyrifos (Rao *et al.*, 2005 ; Kavitha & Rao, 2008), chez la même espèce une réduction rapide de l'AChE a été enregistrée après 48 heures du traitement aux différents pesticides : le chlopyrifos (0,1 ppm), le parathion (0,15 ppm) et le méthyle parathion (8 ppm) (Boone & Chambers, 1996).

Fernandez *et al.* (2002) et Bernhoorn & Vuren (2004) ont souligné aussi une diminution de l'AChE dans le cerveau de plusieurs familles de poissons exposées à un pesticide organophosphorés, dans le muscle et le cerveau d'*Anguilla anguilla* traité par différentes concentrations d'un herbicide (le thiobencarbe) et dans le muscle d'autres poissons (*Oreochromis moscambicus* et *Labeo umbratus*) au niveau d'un écosystème pollué par les insecticides organophosphorés.

Des résultats similaires sont reportés par Rodrigues *et al.* (2011) au niveau du cerveau et le muscle de *Lapomis gibbosus* exposé au chlorfenvinphos (insecticide organophosphoré). En effet, l'activité de l'AChE mesurée dans le muscle d'un autre poisson (*Carassius auratus*) a été inhibée suite à une exposition au carbofuran (Bretaud *et al.*, 2000). Selon VarÈ *et al.* (2001), la diminution de l'AChE peut être provoquée par d'autres organophosphorés et chez d'autres poissons, par exemple l'inhibition de l'AChE est de 76% après une exposition de 96 h au dichlorvos chez *Dicentrarchus labrax*. Chez *Blattella germanica* Morakchi *et al.*, 2005 ont

observé après incorporation par voie orale d'un insecticide néonicotinoïde (acétamipride) à la dose de 2% correspondant à la DL₅₀, une inhibition significative de l'ACHé après 24, 48 et 72 heures de traitement en particulier chez les femelles. Ces résultats suggèrent que les perturbations neurochimiques induites par l'exposition aux insecticides et en particulier des organophosphorés pourraient être étroitement liées à l'action de ces pesticides sur la transmission cholinergique.

4.4. Effet sur les acides nucléiques et les protéines ovariens

De nombreuses études expérimentale *in vitro* et *in vivo* ont montré que les pesticides organophosphorés exercer une activité génotoxique (Bolognesi, 2003). Ces xénobiotiques apparaissent comme un potentiel inhibiteur de la synthèse d'ADN et d'ARN, les composés organophosphorés (OPs) peuvent attaquer de nombreuses enzymes responsables de la voie métabolique normale (Tripathi & Verma, 2004). Par conséquent, la diminution de l'ARN réduisant ainsi le niveau de synthèse protéique. Maruthanayagam & Sharmila, 2004 rapporté des résultats similaires. Les protéines sont principalement impliquées dans l'architecture de la cellule. Au cours d'une période d'un stress chronique, ils sont aussi une source d'énergie (Umminger, 1977). Au cours de l'état de stress, les poissons ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier les substances toxiques et à surmonter le stress. Les réponses comportementales des *G. affinis* exposés à la CL₅₀/ 24h (89,35 mg/L) de l'actara ont montré qu'ils étaient dans des conditions de stress. Une diminution très hautement significative ($p < 0,001$) des taux d'ADN et d'ARN ainsi que des protéines ovariens a été enregistrée.

Des travaux faits avec les dérivés de la benzoylphénylurée comme par exemple l'injection du triflumuron (TFM) à des nymphes de *T. molitor* nouvellement exuvies réduit le contenu en chitine, mais sans effet sur le taux en protéines cuticulaires (Soltani *et al.*, 1996). L'essai conduit en traitement continu sur les femelles de *G. affinis*, indique que les taux des protéines ovariennes et hépatopancréatiques sont significativement réduits par le dimilin comparativement aux témoins. Des résultats similaires ont été obtenus chez les femelles de *G. affinis* traitées au lindane (Aissaoui, 1998). Des expériences réalisées par Soltani *et al.* (1999) ont montré que le TFM, un dérivé des benzoylphénylurées, affecte le taux ovarien des protéines chez *G. affinis*. Les travaux menés *in vivo* et *in vitro* sur l'incorporation ovarienne de la leucine traitée ont montré que le DFB inhibe la synthèse protéique dans les ovaires de *T. molitor* traduisant ainsi son impact sur la vitellogenèse (Soltani-Mazouni & Soltani, 1995).

D'autres chercheurs comme Malla Reddy & Bashamohideen (1995); Singh *et al.* (1996) ont également signalé une baisse en constituant des protéines dans les tissus des poissons exposés à différentes concentrations sublétales d'insecticides. Murty & Devi (1982) ont enregistré une baisse dans les taux de protéines dans les tissus de *C. punctatus* suite de l'expo-aiguë au malathion. De même, réduction de la teneur en protéines du cerveau, le foie et les ovaires de *C. punctatus* a été enregistré en raison de cythion (Narayan Ram & Satyanesan, 1986). En outre, toute obstruction dans la synthèse de l'ARN peut aussi influencer sur la teneur en protéines car il joue un rôle important rôle dans la synthèse des protéines.

Dans la présente enquête, une baisse significative au niveau de l'ARN a été également observée chez les gambusies traitées.

Nos résultats concernant les acides nucléiques semble on accord avec celle de Tripathi *et al.*, 2003, qui a également signalé une diminution significative d'ADN et d'ARN dans les tissus des gonades des poissons exposés a la diméthoate (Organophosphorés): *C. punctatus* CL₅₀/24h (17,92 mg / L).

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre travail a été réalisé dans le contexte général de l'étude des effets de la contamination chimique sur les écosystèmes d'eau douce, en suivant une direction encore peu explorée à ce jour, à savoir de tenter leur analyse conjointe à l'échelle de l'individu et à celle de la population de poissons provenant du milieu naturel. Nous avons fait le choix d'un insecticide organophosphoré (Actara) comme contaminant chimique, et un poisson larvivoire : *Gambusia affinis* comme un organisme sentinelle des milieux dulçaquicoles. Cette étude a été réalisée en vue d'estimer les CL₅₀ et CL₉₀ de l'actara additionné à l'eau d'élevage des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24 H, puis d'évaluer l'effet de cet insecticide sur les indices métriques (RGS, RHS et K). De plus, l'impact de ce xénobiotiques sur deux biomarqueurs (GSH, AChE) chez les femelles adultes a été examiné. Enfin, l'effet de l'actara sur la reproduction de ce poisson a été évalué par la quantification des taux d'ADN, d'ARN et protéines ovariens.

Les tests toxicologiques ont montré que l'actara entraîne une mortalité de l'espèce étudié avec une relation dose-réponse. Concernant les indices métriques, l'actara affecte de manière très hautement significative le RGS et le RHS et présente un effet non significatif sur le coefficient de condition K. La mesure des taux de GSH et de l'activité de l'AChE révèle une inhibition, ce qui confirme l'action neurotoxique de l'actara vis-à-vis des poissons et la stimulation du système de détoxification par le GSH. La réduction très hautement significative des taux d'acides nucléiques et des protéines ovariens suggère que l'insecticide testé peut interférer avec la reproduction de cette espèce auxiliaire non ciblée.

En perspective, il conviendrait de poursuivre ces recherches par :

- La réalisation des tests de toxicité aigüe pour déterminer CL₅₀ et CL₉₀ chez les alevins et les adultes mâles de *G. affinis*.
- Le dosage des biomarqueurs (GSH et AChE) chez les alevins et les adultes mâles ainsi que d'autre biomarqueurs comme le cytochrome P450, la glutathion peroxydase.
- Une étude de la structure fine des organes cibles comme l'hépatopancréas et les gonades est également envisagées.

RESUME

L'étude menée porte sur l'évaluation de certaines réactions d'un organisme non visés d'eau douce, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae), à la présence d'un insecticide organophosphoré (Actara 25% WG) largement utilisé en agriculture pour lutter contre les insectes nuisibles. L'expérimentation s'est déroulée dans des conditions de laboratoire, et plusieurs approches ont été mises en oeuvre :

Toxicologie : La toxicité aigüe (24 h) de l'actara a été effectuée chez les adultes femelles de *G. affinis* à différentes concentrations, ce qui a entraîné une mortalité de l'espèce étudiée avec une relation dose-réponse.

Morphométrie : Les résultats montrent que l'actara additionné à l'eau d'élevage des adultes femelles de *G. affinis* semble réduire très significativement les rapports gonado-somatiques et hépato-somatiques, par contre aucun effet n'a été marqué sur l'indice de condition.

Biochimie : L'impact de l'actara a été déterminé par un dosage de deux biomarqueurs du stress environnemental : le glutathion réduit (GSH) et l'acétylcholinestérase (AChE). En effet, on enregistre une inhibition du taux de GSH et de l'activité de l'AChE chez les femelles adultes. Ces réponses confirment la neurotoxicité et le mécanisme d'action primaire de l'actara et la stimulation du système de détoxification suite au stress induit par le traitement. La mesure de l'inhibition de l'activité AChE chez ces espèces est un marqueur fiable de l'exposition.

Reproduction : Le traitement réduit très significativement les acides nucléiques ADN et ARN ainsi que le taux des protéines ovariens suggérant ses effets secondaires sur le potentiel reproducteur de cette espèce auxiliaire non ciblée.

Mots clés : *Gambusia affinis*, Insecticide, Actara, Toxicité aigüe, Biomarqueurs, Reproduction, Risques écotoxicologiques.

ABSTRACT

The study focuses aimed the evaluation of the impact of an organophosphorus insecticide (actara), wickly used in agriculture against a non targeted organism, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). The experiment was conducted in laboratory conditions, and several approaches have been examined:

Toxicology: Acute toxicity (24 h) of actara was determined against adult females of *G. affinis* at different concentrations, which resulted in a mortality of the species studied with a relation dose-response.

Morphometry: The results show that actara appears to reduce very significantly the gonado-somatic index and hepato-somatic index, no effect was observed on the condition index.

Biochemistry: The impact of actara was determined on two biomarkers of environmental stress: reduced glutathione (GSH) and acetylcholinesterase (AChE). Indeed, there was an inhibition of GSH and AChE activity in adult females. This confirms the neurotoxicité and the primary mechanism of action of actara and stimulation following detoxification system to stress induced by the treatment. The mesure of inhibition of AChE activity in these species is a reliable marker of exposure.

Reproduction: The treatment significantly reduces the nucleic acids DNA and RNA and the rate of ovarian proteins contents suggesting its side effects on the reproductive potential of this species auxiliary not targeted.

Key words: *Gambusia affinis*, Insecticide, Actara, Acute toxicity, Biomarkers, Reproduction, Ecotoxicological risks.

ملخص

تهدف هذه الدراسة لتقييم بعض من ردود الأفعال، لسمك مفترس ليرقات البعوض : *Gambusia affinis* الذي يعيش في المياه العذبة، وذلك في حضور الأكتارا 25 % وهو مبيد فعال ضد الحشرات الثاقبة و الماصة، كثير الاستعمال في المجال الفلاحي. أجريت هذه الدراسة في الشروط المخبرية، قد تم دراسة عدة ميادين :

فحص السمية الحادة : تم تحديد السمية الحادة للاكتارا لدى كبار اناث *G. affinis* وفق تراكيز مختلفة و قد ثبت أن الاكتارا يسبب وفيات لدى الاسماك حسب العلاقة تركيز- اجابة.

النمو و المعاملات المترية: بعد اضافة الاكتارا الى مياه تربية كبار اناث *G. affinis* ، اظهرت النتائج ان له تأثير فعال على علاقة وزن المبيض RGS و علاقة وزن الكبد RHS، لكن بعكس ذلك ليس له تأثير على مؤشر الشرط K.

المؤشرات الحيوية : تم تحديد تأثير الاكتارا عن طريق فحص مؤشرين حيويين: الاستيل كولين استراز AChE والغلوتاثيون GSH ، المستخدمة في تقييم التوتر البيئي. وقد كشفت الاستجابة لهذه المؤشرات، تثبيط في نشاط AChE و انخفاض في كمية GSH عند كبار اناث الأسماك.

التناسل: اظهرت النتائج أن الاكتارا يقلل بشكل ملحوظ من معدل الاحماض النووية: ADN،ARN و البروتينات في المبيض لدى اناث *G. affinis*.

الكلمات المفتاحية: *Gambusia affinis*، مبيدات الحشرات، الاكتارا، السمية الحادة، المؤشرات الحيوية، التناسل.

Références bibliographiques

- Abbot W. B., 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology.*, 18: 265-267.
- Abouzeitoun M.H., 1991.** Evaluation de la lutte biologique contre les larves de moustiques *Culex pipiens pipiens* (Diptère, Culicidae) utilisant un poisson *Gambusia affinis* (Téléostéen, Cyprinodontiformes) et l'impact de *Simocephales vitulus* (Crustacés, Cladocère). Thèse magister en physiologie animale. Univ. Annaba : 135p.
- Achou M. & Soltani N., 1997.** Impact of *Varroa jacobsoni* on the morphometry and biochemical composition of hemolymph in honeybees *Apis mellifera intermissa* L. *Parasitica.*, 53: 127-134.
- Adams S.M., Shugart L., Southworth G.R. & Hinton D.E., 1990.** Application of bioindicators in assessing the health of fish populations experiencing contaminant stress. In: *Biomarkers of environmental contamination* (eds. McCarthy J. F., Shugart L. R.), pp: 333-353. Lewis Publishers, CRC Press, Boca Raton.
- Adams S.M., Bevelhimer M.S., Greeley M.S., Levine D.A & Teh S.J., 1999.** Ecological risk assessment in a large river-reservoir: 6. Bioindicators of fish population health. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 18: 628-640.
- Adams S.M., Crumby W.D., Greeley M.S., Jr., Shugart L.R. & Saylor C.F., 1992.** Responses of fish populations and communities to pulp mill effluents: a holistic assessment. *Ecotoxicology and Environment Safety.*, 24: 347-60.
- Aissaoui R., 1998.** Contribution à l'étude de la toxicité d'un insecticide organochloré, le lindane : Impact sur quelques organes d'un poisson Téléostéen d'eau douce *Gambusia affinis*. Thèse magister. Univ. Annaba : 124p.
- Aït-Aïssa S., Palluel O. & Porcher J.M., 2003.** Biomarqueurs précoces d'écotoxicité. INERIS, rapport final DRC 00-02: 79p.
- Allardi J. & Keith P., 1991.** Atlas préliminaire des poisons d'eau douce de France. Coll. Patrimoines Naturels, vol.4, Secrétariat Faune-Flore, Paris, 234 p.
- Alouani A., Rehim N. & Soltani N., 2009.** Larvicidal activity of a Neem tree extract (Azadirachtin) against mosquito larvae in the republic of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences.* 2 (1):15-22.

- Amrani L., Zerguine K., Farine J.P., Smagghe G. & Soltani-Mazouni N., 2004.** Imidazole derivate KK-42 reduces ecdysteroid titers and interfere with reproductive processes in adult females of *Tenebrio molitor*. *Pest. Biochem. Physiol.*, 80: 163-172.
- Aribi N., Smagghe G., Lakbar S., Soltani-Mazouni N. & Soltani N., 2006.** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analogue, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pest. Biochem. Physiol.*, 8: 55-62.
- Bai Y., Zhou L. & Wang J., 2006.** Les résidus de pesticides organophosphorés dans les aliments du marché dans Shaanxi région, la Chine. *Food Chem.*, 98: 240-242.
- Ballesteros E. & Parrado MJ., 2004.** Continu extraction en phase solide et de gaz détermination chromatographique des pesticides organophosphorés dans naturel et les eaux potables. *J. Chromatogr. A.*, 1029: 267-273
- Barceló D., Porte C., J Cid. & Albaiges J., 1990.** Détermination des composés organophosphorus dans Les eaux côtières méditerranéennes et des échantillons de biotes utilisant chromatographie en phase gazeuse avec de l'azote- phosphore et detection.Intern masse à ionisation chimique par spectrométrie. *J. Environ. Anal. Chem.*, 38: 199-209.
- Barour C., Tahar A., Radloff S.E. & Hapburn H.R., 2005.** Multivariate analysis of honeybees, *Apis mellifera* Linneaus (Hymenoptera: Apidae) of the northeastern and southern regions of Algeria. *Afric. Entomol.*, 13(1): 17-23.
- Barra R., Notarianni V. & Gentili G., 2001.** Biochemical biomarker responses and chlorinated compounds in the fish *Leuciscus cephalus* along a contaminant gradient in a polluted river. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.*, 66: 582-590.
- Bendali F, Djebbar F. & Soltani N., 2002.** Efficacité comparé de quelques espèces de poisons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57 (4): 255-265.
- Berghiche H., Houamria M., Van de Velde S., Soltani N. & Smagghe G., 2008.** Effect of two insect growth regulators on the ecdysteroid contents in eggs of the mealworm. *Belg. J. Zool.*, 138(2): 140-145.
- Bernhoorn I.E.J. & Van Vuren J.H.J., 2004.** The use of different enzymes in feral freshxater as a tool for the assessment of water pollution in Africa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59: 180-185.

- Bismuth C., 1993.** Armes chimiques, description et risques toxiques. *Réanim Urgence*; 2: 625-33.
- Bismuth C., 1992.** Les oximes. In: Baud FJ, Barriot P, Riou B, éd. *Les antidotes*. Paris : Masson pp: 227-46.
- Bliss C.I., 1938.** The determination of dosage mortality curve from small numbers. *Quart J Pharm.*, p2: 192-216.
- Bocquéne G., Galgani F. & Truquet P., 1990.** Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. *Mar. Environ. Res.*, 30 : 75-89.
- Bocquéne G., Galgani F. & Walker C.H., 1998.** Les cholinestérases, biomarqueurs de neurotoxicité. In: *Biomarqueurs en écotoxicologie - Aspects fondamentaux* (eds. Lagadic L., Caquet T., Amiart J. C., Ramade F), pp : 209-240, Paris.
- Bocquéne G., Galgani F., Burgeot T., Dean L. & Truquet P., 1993.** Acetylcholinesterase levels in marine organisms along french coasts. *Mar. Pollut. Bull.*, 26 (2): 101-106.
- Bolognesi C., 2003.** Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.*, 543 (3): 251-72.
- Boone S. & Chambers J.E., 1996.** Time Course of Inhibition of Cholinesterase and Aliesterase Activities, and Nonprotein Sulfhydryl Levels Following Exposure to Organophosphorus Insecticides in Mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Toxicol. Sci.*, 29 (2): 202-207.
- Bouaziz A., Boudjelida H. & Soltani N., 2011.** Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annals of Biological Research*, 2011, 2 (3) :134-142.
- Boudjelida H., 2006.** Contribution a la lutte contre insecte à intérêt médical (*Culex pipiens L.*) et deux ravageurs des cultures (*Ceratitis capitata Weid.* et *Cydia pomonella L.*). Thèse de doctorat d'état en Science Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba, Algérie.
- Bougis P., 1952.** Recherche biométrique sur les Rougets *Mullus barbatus L.* et *Mullus surmuletus L.* *Arch. Zool. Expér. Gen. Fr.*, 89 (2): 57-174.

- Bouzioukh F., 2000.** Effets secondaires de quelques insecticides nouveaux sur la croissance, le métabolisme et la reproduction chez un poisson larvifère *Gambusia affinis* : aspect morphologique, histologique et biochimique. Thèse de Magistère. Université d'Annaba. Algérie.
- Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Braia F.M.H., 2009.** Toxicité comparée du malathion et du cadmium à l'égard de Donax (Mollusca, Bivalvia) et mesure de biomarqueurs. Mémoire de magistère en Ecologie et Environnement, option Toxicologie Fondamentale et Appliquée. Département de Biologie, Université d'Annaba., 99 p.
- Brethead S., Toutant J.P. & Saglio P., 2000.** Effects of carbofuran, diuron and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47: 117-124.
- Burkepile DE., Moore MT. & la Hollande MM., 2000.** La sensibilité de cinq non-cible organismes à l'exposition diazinon aqueuse. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 64: 114-121.
- Burton A., 1956.** Study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochim.*, 62: 315-323.
- Busack C. A. & Gall G. A. E., 1983.** An initial description of the quantitative genetics of growth and reproduction in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Aquaculture*, 32: 123-140.
- Cadwallader P. L. & Backhouse G. N., 1983.** A guide to the freshwater fish of Victoria. Victorian Government Printing Office, Melbourne, Australia. 249 p.
- Chad C., Smith & Craig Sargent R., 2006.** Female fitness declines with increasing female density but not male harassment in the western mosquitofish, *Gambusia affinis*, *Animal Behavior*, 71., pp: 401-407.
- Chambolle P., 1970.** Modalités du développement et analyse des facteurs physiologiques de la reproduction chez *Gambusia* sp. (Poisson Téléstéen) ; recherches descriptives et expérimentales. Thèse 3ème cycle. Univ. Bordeaux I : 192 p.
- Chambolle P., 1973.** La reproduction du *Gambusia*. *Bull. Biol. Ec. Belg.*, 107: 27-10.

- Chebira S., Soltani N., Muylle S. & Smagghe G., 2006.** Uptake distribution of three insect growth regulators diflubenzuron, flucyclozuron and halofenozide in pupae and adults of *Tenebrio molitor*. *Phytoparasitica.*, 34 (2): 187-196.
- Chipps S.R & Wahl D.H., 2004.** Development and evaluation of a western mosquitofish bioenergetics model. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 133: 1150-1162.
- Chouahda S., Berghiche H. & Soltani N., 2010.** Toxicité aiguë du malathion à l'égard des adultes d'un poisson larvifère, *Gambusia affinis*. *Bulletin de l'INSTM NS.*, 14 : 158-163.
- Chouahda S. & Soltani N., 2009.** Impact du cadmium et du Halofenozide sur les indices métriques des femelles adultes d'un poisson culiciphage, *Gambusia affinis*. *Science & Technologie C.*, 29: 9-14.
- Chouahda S., Sifi K. & Soltani N., 2007.** Evaluation de l'impact d'un insecticide sélectif efficace contre les moustiques sur la croissance des alevins d'un poisson larvifère, *Gambusia affinis*. *Journal Algérien de Médecine.*, 1 & 2 Vol. XV : 17-19.
- Chouahda S., Sifi K. & Soltani N., 2007.** Impact du cadmium et du halofenozide sur les indices métriques des femelles adultes d'un poisson culiciphage : *Gambusia affinis*. *Bulletin de l'Institut National des Sciences de la Mer et Technologies de la Mer (INSTM, Salammbô)*, NS 11 :174-177.
- Chouahda S., Sifi K. & Soltani N., 2006.** Toxicité du cadmium et de l'halofenozide chez les alevins d'un poisson culiciphage *Gambusia affinis* : croissance et activités enzymatiques. *Bulletin de l'Institut National des Sciences de la Mer et Technologies de la Mer (INSTM, Salammbô)*, NS 10 : 137-140.
- Connor MS., Davis JA., Leatherbarrow J., Greenfield BK., Gunther A., Hardin D., Mumley T., Oram JJ. & Werme C., 2007.** The slow recovery of San Francisco Bay from the legacy of organochlorine pesticides. *Environ Res.*, 105: 87-100.
- Constantz G.D., 1989.** Reproductive biology of poeciliid fishes. In Ecology and evolution of livebearing fishes (poeciliidae). Meffe G. K. & Snelson F. F. J. (eds)., Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, *New Jersey.*, pp: 149-161.
- Corsi I., Mariottini M., Sensini C., Lancini L. & Focardi S., 2003.** Cytochrome P450, acetylcholinesterase and gonadal histology for evaluating contaminant exposure levels in fishes from a highly eutrophic brackish ecosystem : the Orbetello Lagoon, Italy. *Mar. Pollut. Bull.*, 46: 203-212.

- Cossu C., Doyotte A., Babut M., Exinger A. & Vasseur P., 2000.** Antioxidant biomarkers in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, in response to different contamination profiles of aquatic sediments. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 45: 106-121.
- Daas T., Bouzerna N. & Descamps M., 1996.** Développement post-embryonnaire et cycle biologique de *Eupolybothrus elongatus* (Newport) dans l'Est Algérien. *Mem. Mus. Nam. Hist. Nat.*, 169: 365-370.
- Daas O., Scaps P., Bouzerna N. & Descamps M., 2007.** Effects of two ecdysteroid analogs (RH-0345 and RH-2485) on the total growth of *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda: Chilopoda). *Life. Environ.*, 57 (1/2): 1-5.
- Darko G. & Akoto O., 2008.** L'apport alimentaire de résidus de pesticides organophosphorés dans légumes de Kumasi, au Ghana. *Chem. Toxicol.*, 46: 3703-3706.
- Dembélé K., Haubruge E. & Gaspar Ch., 1999.** Recovery of acetylcholinesterase activity in the common carp (*Cyprinus carpio* L) after inhibition by organophosphate and carbamate compounds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62: 731-42.
- Den Besten P.J., Valk S., Van Weerlee E., Nolting R.F., Postma J. F. & Everaarts J.M., 2001.** Marine Environmental Research., Vol. 51(4): 365-387.
- Draredja-Beldi H., 1993.** Contribution à l'étude de *Gambusia affinis* (Téléostéen, Poeciliidae), poisson prédateur des larves de moustiques, croissance des alevins, étude du cycle sexuel et corrélations métaboliques. Thèse magister en physiologie animale. Univ. Annaba : 107p.
- Draredja-Beldi H., 2001.** Reproduction de *Gambusia affinis* (Poisson, téléostéen) dans la région d'Annaba. *Synthèse.*, 9 : 15-18.
- Drardja-Beldi H. & Soltani N., 2003.** Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non-target species. *Comm. Agric. Appl. Bio. Sci.*, 68 (4a): 299-305.
- Drèz V., Monod G., Cravedi J.P., Biagianti-Risbourg S. & Le Gac F., 2000.** Effects of 4-nonylphenol on sex differentiation and puberty in mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Ecotoxicol. Kluwer. Acad. Pub.*, 9: 93-103.
- Dringen R., 2000.** Metabolism and functions of glutathione in brain. *Progress in Neurobiology* 62: 649-671.
- Droge W., 2002.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82: 47-95.

- Ellman G.L., Courtney K.D., Andres V. & Featherstone R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology and Physiology.*, 38: 84-90.
- Elnwshy N.H., Ahmed M.T., El-Sherif M.S. & El-Hameed M.A., 2007.** The Effect of Diazinon on Glutathine and Acetylcholinesterase in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Agriculture & Social Sciences.*, 2: 52-54.
- Evans C., Hills J. & Dickson M., 2000.** Heavy metal pollution in Antarctica: a molecular ecotoxicological approach to exposure assessment. *Journal of Fish Biology.*, 57: 8-19.
- Farley D.G & Younce A., 1979.** Dynamics of *Gambusia affinis* in Fresno Country rice fields. *Proc. Calif. Mosq Vect. Contr. Assoc.*, 47: 71.
- Fernandez-Vega C., Sancho E., Ferando M.D. & Andreu-Moliner E., 2002.** Thiobencarb induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla Anguilla*. *Pestic. Biochem. and Physiol.*, 72: 55-63.
- Finney D. J., 1971.** Probit analysis (3rd edn) *Cambridge University Press*, London.
- Fisher R. A. & Yates F., 1957.** Statical tables for biological agricultural and medical research. 5^{ème} edition, Olivier et Boyd. London., pp: 64-66.
- Flammarion P., Devaux A., Nehls S., Migeon B., Noury P. & Garric J., 2002.** Multibiomarker responses in fish from the Moselle River (France). *Ecotoxicoly and Environmental Safety.*, 51: 145-53.
- Flammarion P., Brion F., Palazzi X., Babut M., Garric J., Migeon B., Noury P., Thybaud E. & Tyler C.R., 2000.** Estrogenic effects on chub (*Leuciscus cephalus*) : induction of vitellogenin and effects on the testicular structure. *Ecotoxicology*, 9: 127-135.
- Flammarion P., Migeon B., Urios S., Morfin P. & Garric J., 1998.** Effect of Methidathion on the cytochrome P450 1A in the cyprinid fish gudgeon (*Gobio gobio*). *Aquatic Toxicology.*, 42: 93- 102.
- Fränze O., 2003.** Bioindicators and environmental stress assessment. Bioindicators and biomonitor: principles, concepts and applications, B.A. Market, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors (Amsterdam : Elsevier Science Ltd)., pp: 41-84.
- Fraval A., 2002.** Elles aussi, elles aiment les insectes, les Gambusies. *Insectes*, 125(2) : 14-16.

- Galgani F & Bocquéne G., 1998.** Biomarqueurs moléculaires d'exposition des organismes marins aux pesticides organophosphorés et carbamates. In: *Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement* (eds. Lagadic L., Caquet T., Ramade F.), pp : 111-134. Tech & Doc Lavoisier, Paris.
- Garcia R., 1983.** Mosquito management ecological approaches. *Env.Management.*, 7: 73-78.
- Garric J., Morin S & Vincent-Hubert F., 2010.** Les biomarqueurs en écotoxicologie: *définition, intérêt, limite, usage*, *Science Eaux & Territoires.*, 1 p: 12-17.
- Grasse P.P., 1958.** Traité zoologie, des agnates et des poissons. Tome 12. Fas.2 Ed. Masson et Cie.
- Ghosh P., Ghosh S., Bose S. & Bhattacharya S., 1993.** Glutathione depletion in the liver and kidney of *Channa punctatus* exposed to carbaryl and metacid-50. *Science of The Total Environment.*, 134: 1641-645.
- Habes D., Morakchi S., Aribi N., Farine J.P. & Soltani N., 2006.** Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alteration in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pest. Biochem. Physiol.*, 84: 17-24.
- Hami M., Taïbi F., Smaghe G. & Soltani-Mazouni N., 2005.** "Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the mediterranean flour moth", *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*, 70/4., pp: 767-772.
- Hanski I., 2005.** Landscape fragmentation, biodiversity loss and the societal response - The longterm consequences of our use of natural resources may be surprising and unpleasant. *EMBO reports*, 6, pp: 388-392.
- Haubruge E. & Amichot M., 1998.** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 2(3): 161-174.
- Haynes J.L., 1993.** Annual reestablishment of mosquitofish population in Nebraska. *Copeia* 1993: 232-230.
- Hylland K., Feist S., Thain J. & Förlin L., 2003.** Molecular/cellular processes and the health of the individual. In: *Effects of pollution on fish, molecular effects and population responses* (eds. Lawrence A. J., Hemingway K. L.), pp: 134-178. Blackwell Sciences.

- Jobling S., Nolan M., Tyler C.R., Brighty G., Sumpter J.P., 1998.** Widespread sexual disruption in wild fish. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2498-2506.
- Kah O., 1986.** Central regulation of reproduction in teleosteen. *Fish physiol. Biochem.*, 2: 25-34.
- Kaiser J., 2001.** Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment (Enfield: Sciences publishers inc).
- Kavitha V. & Rao J.V., 2008.** Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 26: 192-198.
- Kerstant M., 1985.** Age, growth, maturity and mortality estimates of horse mackerel *Trachurus trachurus* from the western West of Great Britain and Ireland in 1984. *Arch. Fishwiss.*, 36 : 115-154.
- Khan Z.R., Midega C.A.O., Njuguna E.M., Amudavi D.M., Wanyama J.M. & Pickett J.A., 2008.** Economic performance of push-pull technology for stemborer and Striga weed control in smallholder farming systems. *Crop Prot.*, 27: 1084-1097.
- Khebbeb M.E.H., Gaouaoui R. & Bendjeddou F., 2008.** Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Afric. J. Biotech.*, 7(8): 1166-1170.
- Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P., Smaghe G. & Soltani N., 2009.** Halofenozide affect sexual behaviour, cuticular hydrocarbon and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *Belgian Journal of Zoology.*, 139 (2): 147-155.
- Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P., Smaghe G. & Soltani N., 2006.** Cuticular hydrocarbon profiles in *Blattella germanica*: effets of halofenozide, borifuracab. *Comp. Appl. Biol Sci, Ghent.*, 71(2b): 555-562.
- Kim TS., Kim JK., Choi K., Stenstrom MK. & Zoh KD., 2006.** Mécanisme de dégradation et l'évaluation de toxicité en TiO₂ photocatalyse et la photolyse du parathion. *Chemosphere.*, 62: 926-933.
- Konstantinou IK., Hela DG. & Albanis TA., 2006.** Le statut de pollution par les pesticides dans les eaux de surface (rivières et lacs) de la Grèce. Partie I. Examen sur la présence et les niveaux. *Environ. Pollut.*, 141: 555-570.

- Kralj MB., Trebse P. & Framno M., 2007.** Les applications des techniques de bioanalyse dans l'évaluation des procédés d'oxydation avancée dans la dégradation des pesticides. *Tendances Analyt. Chem.*, 26: 1020-1031.
- Lambert Y. & Dutil J. D., 1997.** Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of atlantic cod (*Gadus morhua*), *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science.*, 54: 104-112.
- Laroche J., Quiniou L., Juhel G., Auffret M. & Moraga D., 2002.** Genetic and physiological responses of flounder (*Platichthys flesus*) populations to chemical contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 2705-12.
- Lauwrence A. J., Arukwe A., Moore M., Sayer M., Thain J., 2003.** Molecular/cellular processes and the physiological response to pollution. In: *Effects of pollution on fish, molecular effects and population responses* (eds. Lawrence A. J., Hemingway K. L.), pp: 83-133. Blackwell Sciences.
- Leamon J. H., Schultz E. T. & Crivello J. F., 2000.** Variation among four health indices in natural populations of the estuarine fish, *Fundulus heteroclitus* (Pisces, Cyprinodontidae), from five geographically proximate estuaries. *Environmental Biology of Fishes* : 451-458.
- Lechekheb H. & Soltani N., 2009.** Impact d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine (dimilin[®]) sur la composition biochimique de la cuticule de *Penaeus kerathurus*. *Bulletin de l'INSTM NS.*, 13: 96-100.
- Le Cren E.D., 1951.** The length-weight relationship and seasonal cycle in goad weight and condition in the perch. *J. Anim. Ecol.*, 20: 201-219.
- Lichtenberg E.R. & Getz W., 1985.** Economics of rice field mosquito control in California. *Bioscience.*, 35: 292-297.
- Livingstone D.R., 1993.** Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology.*, 57: 195-211.
- Loucif-Ayad W., Aribi N. & Soltani N., 2008.** Evaluation of secondary effects of some acaricides on *Apis mellifera intermissa* (Hymenoptera, Apidae): acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activities. *Europ. J. Sci. Res.*, 21(4): 642-649.

- Malla Reddy P. & Bashamohideen Md., 1995.** Altération du métabolisme des protéines dans certains tissus de poissons, *Cyprinus carpio*, au cours de sous-létale concentration de cyperméthrine. En suivi environnemental et de l'évaluation., 36:183-190.
- Marchand J., Tanguy A., Laroche J., Quiniou L. & Moraga D., 2003.** Responses of European flounder *Plastichthys flesus* populations to contamination in different estuaries along the Atlantic coast of France. *Marine Ecology Progress Series.*, 260: 273-284.
- Markert B.A., Breure, A.M. & Zechmeister, H.G., 2003.** Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications, B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors. (Oxford : Elsevier Science Limited), pp: 3-39.
- Maruthanayagam C. & Sharmila G., 2004.** *Nature Env. Polln. Techn.* Vol-3(4), p: 491-494.
- McCullough P. R., Gaustad, J. E., Rosing, W., & Van Buren D., 1999.** In ASP Conf. Ser. 181, Microwave Foregrounds, ed. A. de Oliveira-Costa & M. Tegmark (San Francisco: ASP): 253.
- McDowall R. M., 2000.** New Zealand Feshwater Fishes. Auckland, New Zealand: Reed Books.
- Morakchi-Kilani S., Farine J.P., Aribi N. & Soltani N., 2005.** Effects of a neonicotinoid insecticide on acetylcholinesterase activity and cuticular hydrocarbon profils in *German Cockroaches*. *Comp. Appl. Biol. Sci*, Ghent University., 70/4: 843-848.
- Morsli M.S. & Soltani N., 2003.** Effects d'un insecticide inhibiteur de la synthèse de la chitine, le diflubenzuron sur la cuticule de la crevette *Penaeus Kerathus*. *J. Rech. Océanog.*, 28(1/2): 85-88.
- Mulvey M., Newman M.C., Chazal A., Keklak M.M. & Heagler M., 1995.** Genetic and demographic responses of mosquitofish (*Gambusia hollbrooki*, Girard 1859): population stressed by mercury. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 14: 1411-1418.
- Murty A.S. & Devi P., 1982.** L'effet de l'endosulfan et son isomères sur les protéines des tissus, de glycogène et de lipides dans le poisson *Channa punctatus*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 17: 280-286.
- Narayan Ram R. & Satyanesan G., 1986.** Les organophosphorés induit des changements biochimiques dans le cerveau, le foie et les ovaires des poissons, *Channa punctatus* (Bloch). *Proc. Ind. Nat. Sci. Acad.* Partie B: 67-71.

- Narbonne J.F., Ribera D., Michel X., Raoux C., Garrigue P., Monod J.L., Lemaire P., Galgani F., Romeo M., Salaun J.P. & Lafaurie M., 1991.** Indicateurs biochimiques de contamination de l'environnement marin : Etude comparative en mer Méditerranée. *Océanis.*, 17: 257-275.
- Ouakid M.L., Farine J.P & Soltani N. 2005.** Effets des extraits de plantes associés au chêne-liège sur l'attraction en enceinte des chenilles de *Lymantria dispar*. *IOBC/wps Bull.*, 28 (8): 171-178.
- Ouali K., 1997.** Observation de l'influence de quelques facteurs externes et internes sur les principales phases du cycle de reproduction d'un poisson téléostéen vivipare, *Gambusia affinis*. Thèse magister. Univ. Annaba : 95p.
- Payne J.F., Mathieu A., Melvin W. & Fancey L.L., 1996.** Acetylcholinesterase, an old biomarker with a new future? Field trials in association with two urban rivers and a paper mill in Newfoundland. *Marine Pollution Bulletin.*, 32: 225-231.
- Pyke G.H., 2005.** A review of biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Rev. Fish. Biol. Fisher.*, 15: 339-365.
- Ramesh H. & Muniswamy D., 2009.** In vivo inhibition of acetylcholinesterase activity in functionally different tissues of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*, under chlorpyrifos exposure. 24 (2/4): 123-36.
- Rao J.V., Ghousia B., Pallella R., Usman P.K. & Nageswara Rao., 2005.** Changes in behavior and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* in response to the sub-lethal exposure to chlorpyrifos. *International Journal of Environmental Research and Public Health.*, 2(3): 478-483.
- Rao J.V., Rani le S.H.C., Kavitha P., Rao R.N. & Madhavendra S.S., 2003.** Toxicité du chlorpyrifos pour le poisson, *Oreochromis mossambicus*. *Bulletin de Contamination de l'environnement et de toxicologie.*, 70: 985-992.
- Rehimi N., Alouani A. & Soltani N., 2011.** Efficacy of Azadirachtin against Mosquito Larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under Laboratory Conditions. *European Journal of Scientific Research*, Vol., 57(2): 223-229.
- Rehimi N. & Soltani N., 1999.** Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. *J. Appl. Ent.*, 123 : 437-441.

- Regnault & Roger C. 2005.** *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.* Londre-Paris-New-York: TEC & DOC, 1013 p.
- Rendon-Von Osten J., Ortiz-Arana A., Guilhermino L. & Soares A.M.V.M., 2005.** *In vivo* evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere.*, 58: 627-636.
- Réseau du Bassin Adour-Garonne, 1997.** *Atlas et Données sur l'eau* (Toulouse: Publications de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne), 149 p.
- Richert C., 1994.** Comparaison de marqueurs biochimiques chez les poissons et d'indicateurs écologiques pour le diagnostic *in situ* de la pollution toxique dans les cours d'eau. Thèse de l'Université Claude Bernard-Lyon I, 190 p.
- Ringwood A.H., Connors D.E., Keppler C.J. & Dinovo A.A., 1999.** Biomarkers studies with juvenile oysters (*Crassostrea virginica*) deployed *in situ*. *Biomarkers.*, 4: 400-414.
- Robbins L.W., Hartman G.D. & Smith M.H., 1987.** Dispersal, reproductive strategies, and the maintenance of genetic-variability in mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Copeia* 1987: 156-164.
- Rodrigues S.R., Caldeira C., Castro B.B., Gonçalves F., Nunes Sara B. & Antunes C., 2011.** Cholinesterase (ChE) inhibition in pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*) as environmental biomarker : ChE characterization and potential neurotoxic effects of xenobiotics. *Pest. Biochem. Physiol.*, 99: 181-188.
- Rosety M., Rosety-Rodreguez M., Ordonez F.J. & Rosety I., 2005.** Time crouse variations of antioxidant enzyme activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion. *Histol Histopathol.*, 20: 1017-20.
- Senn R., Hofer D., Hoppe T., Angst M., Wyss P., Brandl F., Maienfisch P., Zang L. & White S., 1998.** CGA 293'343' – a novel broad spectrum insecticide supporting sustainable agriculture worldwide. In: *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference - Pests and Diseases*, pp 27–36.
- Schneider W.C., 1957.** Determination of nuclear acids in tissu by pentose analysis. In “Methods in enzmology”. Ed. Colowick S. P. and KAPLAN N. O., *Acar. Press, New York*, 2: 680-684.

- Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyeck C., New hall A. & Freidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, 19: 415-428.
- Smaghe G., Nakagawa Y., Carton b., Kamel Mourad A., Fujita T. & Tirry L., 1999.** Comparative ecdysteroid action of ring-substituted dibenzoylhydrazine in *Spodoptera exigua*, *Archives of insect Biochemistry and Physiology*, 41 pp: 42-53.
- Soltani N., Chouahda S. & Smaghe G., 2008.** Evaluation of halofenozide against prey mosquito larvae *Culex pipiens* and the predator fish *Gambusia affinis*: impact on growth and enzymatic activities. *Comm. Appl. Biol.Sci. Ghent.*, 73(3): 659-666.
- Soltani N. & Bezzazel N., 2002.** Profil des ecdystéroïdes hémolympatiques et corrélations avec la sécrétion cuticulaire au cours d'un cycle de mue chez la crevette, *Penaeus Kerathurus*. *J. Rech. Océanogr.*, Vol. 27, fasc., 3(4): 226-231.
- Soltani N., Aribi N., Berghich H., Lakbar S. & Smaghe G., 2002.** Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and cuticle secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 72 : 83-90.
- Soltani-Mazouni N. & Soltani N., 1995.** Effet du diflubenzuron en traitement *In vivo* and *in vitro* sur la morphométrie de *Tenebrio molitor*. *Fac. Landbouww. Univ. Gent.*, 60 (35) : 961-967.
- Soltani-Mazouni N., Boukachabia A. & Smaghe G., 2004.** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction & Development.*, Vol. 56 (2): 157-163.
- Soltani-Mazouni N., Hami M. & Gramdi H., 2012.** Biological activity of some molting hormone agonists in mealworms : ecdysteroids and protein synthesis in ovaries. *Rev. Sci. Technol.(Synthèse).*, pp : 7-10.
- Soltani N., Smaghe G. & Soltani-Mazouni N., 1998.** Evaluation of the ecdysteroid agonist RH-0345 on the hormonal production by tegumental explants and ovaries application, *Med. Fac. Landbouww, Univ Ghent*, 63(2b), pp: 547-554.
- Soltani N., Rehim N., Beldi H. & Bendali., 1999.** Activité du triflumuron sur *Culex pipiens pipiens* (diptra : Culicidae) et impact sur deux espèces larvivores non visées. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S)*, 35 (suppl.): 502-508.

- Soltani N., Soltani-Mazouni N., Quennedy B. & Delachambre J., 1996.** Protein synthesis in developing ovaries of mealworm under *in vivo* and *in vitro* conditions: Effects of diflubenzuron. *J. Stored. Prod. Res.*, 32(3): 205-212.
- Sies H., 1999.** Glutathione and role in cellular functions. *Free Radical Biology & Medicine.*, 27: 916- 921.
- Singh N.N., Das V.K. & Singh S., 1996.** Effet de la Aldrin sur glucides, protéines et métabolisme ionique de l'eau douce un poisson-chat *Heteropneustes fossilis*. Bulletin de l'environnement . La contamination mentale et de toxicologie., 57:204-210.
- Srivastava VK. & Singh A., 2001.** Les études de la variation saisonnière de la toxicité de la Foire utilisé organophosphorés commerciale, carbamate et des pesticides pyréthrinoïdes de synthèse poissons d'eau douce contre les *Channa punctatus* et les réponses comportementales de poissons traités. *Malaisie biologie appliquée.*, 30:17-23.
- Stequert B., 1971.** Contribution à l'étude de la croissance et de la reproduction du Bar (*Dicentarchus labrax* L.) dans le réservoir à poissons du bassin d'Arcachon. Rapport D.E.A, Université de Bordeaux I : 54p.
- Sturm A., Wogram J., Hansen P.D. & Liess M., 1999.** Potential use of cholinesterase in monitoring low level in organophosphates in small streams: natural variability in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 18: 194-200.
- Swaroop S., Gilroy A. B. & Uemura K., 1966.** Statistical methods in Malaria eradication. *World Health Organisation, Geneva.*, 164 p.
- Suter G.W., Norton S.B. & Fairbrother A., 2005.** Individuals versus organisms versus populations in the definition of ecological assessment endpoints. *Integr. Environ. Assess. Manag.*, 1: 397-400.
- Taïbi F., Smagghe G., Amrani L. & Soltani-Mazouni N., 2003.** Effect of ecdysone agonist, RH-0345, on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. biochem. Physiol.*, 135 : 257-267.
- Tatara C.P., Newman M.C. & Mulvey M., 2002.** Effect of mercury and *Gpi-2* genotype on standard metabolic rate of eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Environmental Toxicology and Chemistry.*, 20: 782-6.

- Tidjani O.H., 1997.** Topographie, structure et ultrastructure des mécano -récepteurs de la ligne latérale d'un poisson Téléostéen prédateur de larves de moustiques *Gambusia affinis*. Thèse magister. Univ. Annaba : 87p.
- Tilak KS. & Swarna Kumari R., 2009.** La toxicité aiguë de Nuvan, un composé organophosphoré à poissons d'eau douce *Ctenopharyngodon idella* et son effet sur la consommation d'oxygène. *Journal de biologie environnementale.*, 30 (6): 1031-3.
- Tine-Djebbar F. & Soltani N., 2008.** Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata* : analyses morphométriques, biochimique et énergétique. *Rev. Sci. Technol. (Synthèse)*., 18: 23-34.
- Tripathi G. & Verma P., 2004.** Endosulfan mediated biochemical changes in the fresh water fish *Clarias batrachus* . *Biomed. Environ. Sci. Mar.*, 17 (1): 47-56.
- Tripathi A.K., Prajapati V. & Kumar S., 2003.** Bioactivity of l-carvone, d-carvone and dihydrocarvone towards three stored product beetles. *J. Econ. Entomol.*, 96: 1594-1601.
- Tuduri L., Harner T., Blanchard P., Li YF., Poissant L., Waite DT., Murphy C. & Bezler W., 2006.** A review of currently used pesticides (CUPs) in Canadian air and précipitations. Part 2: Regional information and perspectives, *Atmos. Environ.*, 40: 1579–1589.
- Turner C. L. 1941.** Morphogenesis of the Gonopodium in *Gambusia affinis affinis*. *J Morphol.*, 69: 16-185.
- Umminger BL., 1977.** Relation entre la concentration sanguine de sucre dans l'ensemble des vertébrés à Stan- le taux métabolique standard. *Biochimie et de physiologie comparée.*, 55:457-460.
- Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenakis M. & Scoulios M., 2006.** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64: 178-189.
- Van Der Oost R., Beyer J. & Vermeulen N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13: 57-149.
- VarÈ I., Navarro JC., Amat F. & Guilhermino L., 2001.** *Chemosphere.*, 48: 563-569.
- Virag D., Naar Z. & Kiss A., 2007.** Microbial Toxicity of Pesticide Derivatives Produced with UV-photodegradation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79: 356–359.

- Webb D. & Gagnon M. M., 2002.** Biomarkers of exposure in fish inhabiting the Swan-Canning Estuary, Western Austria - a preliminary study. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery.*, 9: 259-269.
- Weckbercker G. & Cory J.C., 1988.** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione -depleted mouse leukemia L 12: O Cells in vitro cancer. *Letters.*, 40: 257-264.
- Wiberg K., Letcher R.J., Sandau C.D., Norstrom R. J, Tysklind M. & Bidleman T.F., 2000.** The enantioselective bioaccumulation of chiral chlordane and α -HCH contaminants in the polar bear food chain. *Environ Sci Technol.*, 34: 2668-2674.
- Wilson F., 1965.** The genetics of colonizing species. *Acad.Pres.New-York*, 588 p.
- Wurtsbaugh W.A. & Cech J.J.Jr., 1983.** Growth and Activity of Juvenile Mosquitofish: temperature and ration effects. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 112: 653-660.
- Xue N., Xu X. & Jin Z., 2005.** Screening 31 endocrine-disrupting pesticides in water and surface sediment samples from Beijing Guanting reservoir. *Chemosphere.*, 61:1594–1606.
- Zaidi N., 2005.** Effets secondaires d'un insecticide selectif (Dimilin) sur un organisme non ciblé, *Gambusia affinis* : croissance, activités enzymatiques et analyse par CLHP des résidus. Mémoire de Magistère, Université d'Annaba. Algérie. 63p.
- Zaidi N. & Soltani N., 2011.** Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control.*, 59(2): 106-113. www.elsevier.com/locate/ybcon.
- Zaidi N. & Soltani N., 2010.** Chronic toxicity of flucycloxuron in the mosquitofish, *Gambusia affinis*: acetylcholinesterase and catalase activities and pattern of recovery. *Annals of Biological Research.*, 1(4): 210-217. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- Zhang Z., Huang J.,Y u G. & Hong H., 2008.** Occurrence of PAHs, PCBs, and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. *Environ. Pollut. Jul* ; 130 (2): 249-61.
- [http:// www.Fishbase.org](http://www.Fishbase.org).