



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

Thèse En Vue de l'Obtention du Diplôme De  
Doctorat En Science  
Spécialité: Science et Biologie Animale

**Evaluation des risques environnementaux de  
trois insecticides sélectifs sur un organisme non  
ciblé *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda)**

Présentée et soutenue par :

**M<sup>me</sup> LECHEKHAB-AHMEDCHAOUCH Hanene**

Membres de Jury:

Présidente : Pr. H. BENTOUBAL-BERGHICHE	Université d'Annaba
Directeur de thèse: Pr. N. SOLTANI	Université d'Annaba
Examinatrice : Pr. F. TINE-DJEBAR	Université de Tébessa
Examinatrice : Dr. S. CHOUAHDA	Université d'Annaba
Examinatrice: Dr. N. ZAIDI	Université de Skikda
Examinatrice: Dr. W. KHATI	Université d'El-Tarf

Année universitaire 2017-2018

## Remerciement

Je remercie **Dieu** tout puissant de m'avoir donné la force et la capacité d'effectuer ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier **M<sup>me</sup> Hind BENTOUBAL-BERGHICHE** (Professeur à l'Université d'Annaba) qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Ma sincère reconnaissance s'adresse à **M Nouredine Soltani** (Professeur à l'Université d'Annaba), d'avoir été le directeur de cette thèse et de m'avoir ouvert les portes de ses connaissances et de ses laboratoires.

Mes sincères remerciements aux membres de jury de cette thèse : **M<sup>me</sup> Fouzia TINE-DJEBAR** (Professeur à l'Université de Tébessa), **M<sup>me</sup> Wylia KHATI** (Maître de Conférences à l'Université d'El-Tarf), **M<sup>me</sup> Salima CHOUAHDA** (Maître de Conférences à l'Université d'Annaba), **M<sup>me</sup> Nedjouda ZAIDI** (Maître de Conférences à l'Université de Skikda), qui avec leurs compétences et commentaires avisés seront d'un apport considérable à ce travail.

Je remercie également mes collègues de l'Université Badji Mokhtar Annaba et de l'Université Chadli Benjdid d'El-Tarf.

Et surtout, je tiens à remercier infiniment toute ma famille. Du fond du cœur, merci pour tous.

# **SOMMAIRE**

# Sommaire

1. INTRODUCTION.....	1
2. MATERIEL ET METHODE .....	6
2.1. Présentation de l'espèce.....	6
2.2. Anatomie générale d'une crevette.....	7
2.3 Distribution géographique et site d'échantillonnage.....	9
2.4. Elevage des Crevettes.....	10
2.5. Datation des Crevettes.....	10
2.6. Présentation des xénobiotique.....	12
2.6.1. Diflubenzuron.....	12
2.6.2. Méthoxyfénozide.....	13
2.6.3. Spiromesifen.....	14
2.7. Dose et traitement .....	15
2.8. Prélèvement des organes .....	16
2.9. Croissance pondérale.....	16
2.10. Détermination de la composition biochimique de la cuticule.....	17
2.11. Dosage des biomarqueurs.....	18
2.11.1. Dosage du glutathion.....	18
2.11.2. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	19
2.11.3. Dosage de la glutathion S-transférase.....	20
2.11.4. Extraction et dosage du malondialdéhyde.....	20
2.12. Extraction et dosage des lipides totaux.....	21
2.13. Extraction et dosage des protéines.....	24
2.14. Analyse statistique.....	24
3. RESULTATS .....	25
3. 1. Effets des régulateurs de croissance sur <i>Palaemonadspersus</i> .....	25
3.1.1. Effet sur le poids .....	25
3.1.2. Effet sur la composition biochimique de la cuticule .....	27
3.1.2.1. Effet sur le taux de la chitine cuticulaire.....	28
3.1.2.2. Effet sur le taux des protéines cuticulaires.....	31
3.1.2.3. Effet sur le taux des sels calciques cuticulaire.....	33
3.1.3. Effet sur les biomarqueurs.....	36
3.1.3.1. Effet sur le taux du glutathion (GSH).....	36
3.1.3.2. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase.....	39

3.2. Effet du spiromesifen sur <i>Palaemonadspersus</i> .....	42
3.2.1. Essai insecticide.....	42
3.2.2. Effets du spiromesifen sur la glutathion S-transférase.....	45
3.2.3. Effets du spiromesifen sur l'acétylcholinestérase.....	46
3.2.4. Effets du spiromesifen sur le taux du glutathion.....	48
3.2.5. Effets du spiromesifen sur les taux de lipides totaux corporels.....	49
3.2.6. Effets du spiromesifen sur le taux de malondialdéhyde.....	51
4. DISCUSSION.....	52
4.1. Effet du dimilin et du mét/oxyfenozide sur <i>P. adspersus</i> .....	55
4.1.1. Effet sur le poids corporel de <i>P. adspersus</i> .....	55
4.1.2. Effet sur la composition biochimique de la cuticule.....	58
4.1.2.1. Effet sur la chitine.....	59
4.1.2.2. Effet sur les protéines.....	60
4.1.2.3. Effet sur les sels calciques.....	61
4.1.3. Effets du dimilin et du methoxyfenozide sur les biomarqueurs.....	63
4.1.3.1. Effet sur le taux du glutathion.....	63
4.1.3.2. Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase.....	67
4.2. Effet du spiromesifen sur <i>Palaemonadspersus</i> .....	70
4.2.1. Toxicité à l'égard de <i>P. adspersus</i> .....	70
4.2.2. Impact sur les biomarqueurs.....	71
4.2.2.1. Effets sur l'activité de la glutathion S-transférase.....	71
4.2.2.2. Effets sur l'activité de l'acétylcholinestérase.....	73
4.2.2.3. Effets sur le taux du glutathion.....	74
4.2.2.4. Effets sur le taux des lipides corporels.....	75
4.2.2.5. Effets sur le taux du malonedialdéhyde.....	76
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	78
6. RESUMES .....	80
7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	86
ANNEXE PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES	

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Photographie de <i>P. adspersus</i> (Rathke, 1837) (Photo personnelle).	<b>06</b>
<b>02</b>	Anatomie externe d'une Crevette. (Anatomie d'une Crevette: Crusta-Fauna.htm).	<b>08</b>
<b>03</b>	Anatomie interne d'une Crevette. (Anatomie d'une Crevette: Crusta-Fauna.htm).	<b>08</b>
<b>04</b>	Localisation géographique de la zone d'échantillonnage: la lagune El-Mellah, El-Kala (Algérie Nord-Est).	<b>09</b>
<b>05</b>	Différents stades du cycle de mue d'après (Schiafone, 2003).	<b>12</b>
<b>06</b>	Formule chimique du diflubenzuron.	<b>13</b>
<b>07</b>	Formule chimique du méthoxyfénozide.	<b>14</b>
<b>08</b>	Formule de structure du spiromesifen.	<b>14</b>
<b>09</b>	Organes prélevés pour les dosages.	<b>16</b>
<b>10</b>	Extraction des lipides totaux selon Shibko <i>et al.</i> , (1966).	<b>23</b>
<b>11</b>	Poids (g) des témoins <i>P. adspersus</i> ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ) aux différents stades de mue (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>26</b>
<b>12</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>27</b>
<b>13</b>	Durée relative (en jours) des différents stades du cycle de mue de <i>P. adspersus</i> dans nos conditions d'élevage ( $\pm 1 =$ un jour).	<b>28</b>
<b>14</b>	Taux (%) de la chitine de la cuticule à différents stades du cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoins ( $m \pm s$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>29</b>
<b>15</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux de chitine cuticulaire (%) chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>30</b>
<b>16</b>	Taux (%) des protéines cuticulaires à différents stades du cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoins ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>32</b>
<b>17</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux des protéines cuticulaire (%) chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>33</b>
<b>18</b>	Taux (%) des sels calciques de la cuticule à différents stades du cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoins ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>35</b>
<b>19</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux des sels calciques (%) chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>36</b>
<b>20</b>	Taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair au cours des stades d'un cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>38</b>
<b>21</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux GSH chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre	<b>39</b>

	ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	
<b>22</b>	Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez <i>P. adspersus</i> témoin au cours du cycle de mue ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>41</b>
<b>23</b>	Effet du DFB et du MEF sur le taux AChE chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>42</b>
<b>24</b>	Droite de régression exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>44</b>
<b>25</b>	Effet du spiromesifen sur l'activité du GST ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ protéines) chez <i>Palaemon adspersus</i> . (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>46</b>
<b>26</b>	Effet du spiromesifen sur l'activité de l'AChE (nM/min/mg protéines) chez <i>Palaemon adspersus</i> . (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>48</b>
<b>27</b>	Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez <i>Palaemon adspersus</i> . (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>49</b>
<b>28</b>	Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez <i>Palaemon adspersus</i> . (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>50</b>
<b>29</b>	Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez <i>Palaemon adspersus</i> . (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$ ).	<b>52</b>

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Les différents stades de mue et leurs caractéristiques	<b>11</b>
<b>02</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	<b>22</b>
<b>03</b>	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>24</b>
<b>04</b>	Poids (g) de <i>P. adspersus</i> témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>26</b>
<b>05</b>	Poids (g) de <i>P. adspersus</i> témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>26</b>
<b>06</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>27</b>
<b>07</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>27</b>
<b>08</b>	Taux (%) de la chitine dans la cuticule au cours des différents stades de mue chez <i>P. adspersus</i> témoins. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>29</b>
<b>09</b>	Taux (%) de chitine de la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>29</b>
<b>10</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) de la chitine dans la cuticule à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm s$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>30</b>
<b>11</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux de chitine cuticulaire (%) dans la cuticule à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>30</b>
<b>12</b>	Taux (%) des protéines cuticulaires au cours des différents stades de mue chez <i>P. adspersus</i> témoins. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>32</b>
<b>13</b>	Taux (%) de la chitine cuticulaires au cours des différents stades d'un cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>32</b>
<b>14</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des protéines cuticulaires à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>33</b>
<b>15</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des protéines cuticulaires à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traitées ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>33</b>
<b>16</b>	Taux (%) des sels calciques dans la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>35</b>

<b>17</b>	Taux (%) des sels calciques de la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>35</b>
<b>18</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des sels calciques dans la cuticule à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>35</b>
<b>19</b>	Effet du DFB et du MEF sur le taux (%) des sels calciques dans la cuticule à l'intermue chez <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>36</b>
<b>20</b>	Taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair au cours le cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>38</b>
<b>21</b>	Taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair au cours du cycle de mue chez <i>P. adspersus</i> témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>38</b>
<b>22</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair de <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>38</b>
<b>23</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair de <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>39</b>
<b>24</b>	Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez <i>P. adspersus</i> témoin au cours du cycle de mue ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.	<b>41</b>
<b>25</b>	Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez <i>P. adspersus</i> témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification.	<b>41</b>
<b>26</b>	Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair de <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm SD$ , $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>41</b>
<b>27</b>	Effet du DFB et du MEF sur le taux du glutathion ( $\mu M/mg$ de protéines) dans la chair de <i>P. adspersus</i> témoins et traités ( $m \pm s$ , $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>42</b>
<b>28</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu g/L$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adspersus</i> nouvellement éxuviées, sur le taux de mortalité observée ( $m \pm SD$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 20 individus).	<b>43</b>
<b>29</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu g/L$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adspersus</i> nouvellement éxuviées, sur le taux de mortalité corrigée ( $m \pm SD$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 20 individus).	<b>43</b>
<b>30</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu g/L$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adspersus</i> nouvellement éxuviées. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ( $m \pm SD$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 20 individus).	<b>43</b>
<b>31</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu g/L$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adspersus</i> nouvellement éxuviées. Analyse de la variance à un critère de classification des données transformées. ( $m \pm SD$ , $n = 3$ répétitions	<b>43</b>

	comportant chacune 20 individus).	
<b>32</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adpersus</i> nouvellement éluviées. Transformation en probits des mortalités corrigées. ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	<b>44</b>
<b>33</b>	Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez <i>P. adpersus</i> nouvellement éluviées sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en logarithmes décimaux. ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	<b>44</b>
<b>34</b>	Efficacité du spiromesifen additionné a l'eau de mer sur <i>P. adpersus</i> nouvellement éluviées, analyse des probits (IC: intervalle de confiance).	<b>44</b>
<b>35</b>	Toxicité du spiromesifen additionné à l'eau d'élevage de <i>P. adpersus</i> nouvellement éluviées: détermination des concentrations létales et sublétales et létales (Logiciel GraphPad Prism).	<b>45</b>
<b>36</b>	Effet du spiromesifen ( $\text{CL}_{10}= 4,21\mu\text{g /L}$ et $\text{CL}_{25}= 8,98 \mu\text{g /L}$ ) sur l'activité de la GST ( $\mu\text{M/min/mg}$ protéines) aux différents jours de traitement chez <i>P. adpersus</i> témoins et traitées ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>45</b>
<b>37</b>	Effet du spiromesifen sur l'activité du GST ( $\mu\text{M/min/mg}$ protéines) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).	<b>46</b>
<b>38</b>	Effet du spiromesifen ( $\text{CL}_{10}= 4,21\mu\text{g /L}$ et $\text{CL}_{25}= 8,98 \mu\text{g /L}$ ) sur l'activité de l'AChE ( $\text{nM/min/mg}$ protéines) aux différents jours de traitement chez <i>P. adpersus</i> témoins et traitées ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>47</b>
<b>39</b>	Effet du spiromesifen sur l'activité de l'AChE ( $\text{nM/min/mg}$ protéines) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).	<b>48</b>
<b>40</b>	Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M/mg}$ de protéines) chez <i>P. adpersus</i> . Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>49</b>
<b>41</b>	Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M/mg}$ de protéines) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).	<b>49</b>
<b>42</b>	Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>50</b>
<b>43</b>	Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).	<b>51</b>
<b>44</b>	Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M/mg}$ de protéines) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).	<b>51</b>
<b>45</b>	Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M/mg}$ de protéines) chez <i>Palaemon adpersus</i> . Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).	<b>52</b>

# **INTRODUCTION**

## 1. Introduction

Les progrès dans la protection des récoltes en agriculture ont largement contribué à l'augmentation des rendements et à la régularité de la production (Nauen & Bretschneider, 2002 ; Calvet *et al.*, 2005). L'agriculture a développé des systèmes de production fondés sur l'utilisation de certains produits et actuellement elle apparaît très dépendante des pesticides conventionnels utilisés contre les plantes et les insectes nuisibles (Nauen & Bretschneider, 2002; Belasque *et al.*, 2010). Aujourd'hui, l'utilisation systématique de ces pesticides est remise en question avec la prise de conscience croissante des risques qu'ils peuvent générer pour l'environnement (Van Der Werf, 1997), voire pour la santé de l'homme (Mc Cauley *et al.*, 2000 ; Long, 2000). Leurs effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbateurs endocriniens ont été mis en évidence chez l'homme (Gatignol & Étienne, 2010 ; De Jaeger, *et al.*, 2012) même en concentration très faible dite concentration environnementale (Costa *et al.*, 2004 ; Colborn, 2006 ; Grandjean & Landrigan, 2006 ; Bjorling-Poulsen *et al.*, 2008).

L'existence de risques pour l'environnement est liée à la nature des pesticides qui sont par définition toxiques pour certains êtres vivants, même à très faibles doses, et ont donc certainement des effets sur les écosystèmes (Stegeman & Hahn, 1994 ; Scott & Sloman, 2004) et sur les organismes non-ciblés (Kegley *et al.*, 1999 ; Gagné *et al.*, 2008). Leurs effets sont connus : des changements au niveau moléculaire, cellulaire ou tissulaire, des modifications de réponses immunitaires ou des variations de l'activité de certaines enzymes qui peuvent avoir des répercussions sur la survie, la croissance et la reproduction des individus et par voie de conséquence sur la dynamique des populations (Chambost-Manciet, 2002). Ils peuvent être à l'origine de la disparition de certaines espèces animales et/ou végétales (Denys & Tschardtke 2002 ; Altieri & Nicholls, 2004 ; Bianchi *et al.*, 2006) et par conséquent, entraînent le dysfonctionnement de la chaîne trophique (Gold, 2002).

Un autre problème qui s'ajoute aux effets des pesticides, l'apparition des espèces résistantes qui limite l'efficacité des pesticides ce qui provoque d'énormes pertes économiques (Eriksson *et al.*, 1992 ; Snedeker, 2001 ; Hemingway *et al.*, 2002 ; Boyer, 2006 ; Bonde *et al.*, 2008 ; Brévault *et al.*, 2009 ; Toma *et al.*, 2011 ; Guedes & Cutler, 2014 ; Guedes *et al.*, 2016).

De plus, les pesticides sont fréquemment mis en cause dans la dégradation de l'état écologique des eaux douces de surface et des eaux côtières (Delorme *et al.*, 2002; Mokbel *et*

*al.*, 2015). Le développement de la surveillance des milieux met par ailleurs en évidence l'ampleur de la dispersion des pesticides dans l'environnement : le sixième rapport IFEN sur les pesticides dans les eaux pointe ainsi une contamination quasi-généralisée des eaux par ces produits chimiques (CEMAGREF, 2005).

Suite à l'ampleur des dégâts engendrés par les pesticides conventionnels la recherche a poussé l'industrie phytosanitaire à développer des molécules plus sélectives et à faibles risques écotoxicologiques (Liu & Chen, 2000 ; Grafton-Cadwell *et al.*, 2005 ; Dhadialla *et al.*, 2010 ; Hui *et al.*, 2013), dégradables et moins toxiques envers les organismes non ciblés (Pineda *et al.*, 2011 ; Agüero *et al.*, 2014 ; Tiwari *et al.*, 2012), de grande stabilité métabolique et environnementale (Dhadialla *et al.*, 1998 ; Cassida & Quistad, 1998), agissant sur des processus biochimiques spécifiques aux organismes visés (El-Sayed *et al.*, 1997). Ces molécules sélectives sont utilisées à plus faible dose (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010), laissant ainsi, moins de résidus dans les denrées alimentaires (Cassida & Quistad, 1998 ; Dhadialla *et al.*, 1998).

Ces nouveaux pesticides dits non polluants sont représentés par les perturbateurs de croissance des insectes (Insect Growth Disruptors= IGDs) appartenant aux insecticides de la troisième génération (Pener & Dhadialla, 2012), ou encore par les pesticides d'origine naturelle (biopesticides). Les régulateurs de croissance synthétiques (IGRs) agissent spécifiquement (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010) via les deux principales hormones du développement (hormone juvénile ou HJ et les ecdystéroïdes) (Arthur *et al.*, 2009) ou via la synthèse de la chitine, composé majeur de la cuticule chez les Arthropodes (Ishaaya, 1990 ; Dhadialla *et al.*, 2010).

La description, le mode d'action et le domaine d'application des IGRs ont fait l'objet de nombreux travaux (Taylor, 2001 ; Tunaz & Uygun, 2004 ; Dallaire *et al.*, 2004 ; Ware & Whitacre, 2004 ; Dhadialla *et al.*, 2005 ; Ishaaya *et al.*, 2005 ; Collins, 2006 ; Gilbert & Gill, 2010 ; Perveen, 2011). En fonction du mode d'action, ces molécules sont réparties en trois groupes (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010): les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile (JH) ou de l'ecdysone (Kaakeh *et al.*, 1997 ; Aribi *et al.*, 2006), les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Oberlander & Silhacer, 1998 ; Soltani *et al.*, 1993 ; Merzendorfer, 2013 ; Chebira *et al.*, 2006 ; Soltani *et al.*, 1999) et enfin, les agonistes et antagonistes des ecdystéroïdes (Aribi *et al.*, 1999 ; Soltani *et al.*, 2002 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012 ; Amira *et*

*al.*, 2013 ; Daas-Maamcha *et al.*, 2013 ; Kilani-Morakchi *et al.*, 2014). Parmi ces IGRs nous avons testé dans notre étude deux molécules : le diflubenzuron, le méthoxyfénozide.

Le diflubenzuron est un inhibiteur de la synthèse de la chitine (ISC) (Soltani *et al.*, 1993 ; Merzendorfer, 2013) et est le premier représentant de la classe de benzoylphenyl urée (BPU). Le diflubenzuron a été développé et commercialisé dans les années 1970 par la firme Philips-Duphar (Van Daalen *et al.*, 1972). Cette molécule agit sur la sécrétion de la cuticule en réduisant l'épaisseur de la cuticule (Ishaaya & Casida, 1974 ; Morsli, 2016) et en perturbant la synthèse de la chitine (Cohen, 1987 ; Ishayaa, 1990 ; Soltani *et al.*, 1993 ; Soltani *et al.*, 1999).

Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine interfère avec le système endocrinien, affectant ainsi la reproduction et le développement des insectes ciblés (Dhadialla *et al.*, 1998, 2005) ce qui conduit à la mort des insectes lors de la mue suivante. Ils empêchent la sécrétion de la chitine de la cuticule des insectes et interfèrent avec le processus de mue qui assure le développement normal de l'exosquelette chez les insectes (Muthukrishna *et al.*, 2012).

En raison de leur faible toxicité pour les mammifères et les insectes prédateurs, les dérivés de la benzoylurée sont largement utilisés dans les programmes de lutte intégrée et de gestion de la résistance aux insecticides (Sun *et al.*, 2015). La résistance des insectes aux insecticides est due à la réduction des taux de pénétration cuticulaire (Bull & Patterson, 1993 ; Pasteur & Reymond, 1996), à l'altération des sites cibles tels que l'acétylcholinestérase (Hemingway *et al.*, 1993) et l'intervention des systèmes de détoxification (Sun *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2007).

La deuxième molécule est le méthoxyfénozide (RH-2485, MEF) un analogue des ecdystéroïdes significativement actif envers plusieurs espèces de lépidoptères (Hoelscher & Baret, 2003 ; Baret, 2008). Les analogues des ecdystéroïdes agissent en induisant des mues précoces et incomplètes (Retnakaran *et al.*, 2001); ils miment l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques (ECRs) des écdystéroïdes naturels (Wing, 1988 ; Carlson *et al.*, 1994 ; Riddiford *et al.*, 2000 ; Dhadialla *et al.*, 2005 ; Beckage *et al.*, 2004 ; Paul *et al.*, 2006), empêchant l'expression des gènes normalement activés en l'absence de l'ecdysone endogène (Wing *et al.*, 1988 ; Retnakaran *et al.*, 1995). Ils perturbent le système hormonal en induisant des mues prématurés incomplètes et létales dans divers ordres d'insectes (Dhadialla *et al.*, 2005 ; Dhadialla & Ross, 2007 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012 ; Smaghe *et al.*, 2013 ) et la formation d'adultes malformés (Sundaram *et al.*, 2002 ; Bouzeraa

& Soltani-Mazouni, 2012). Les analogues des ecdystéroïdes affectent généralement la reproduction en réduisant la fécondité et la fertilité (Taibi *et al.*, 2003 ; Seth *et al.*, 2004 ; Dhadialla *et al.*, 2005 ; Saenz-de-Cabezón *et al.*, 2005 ; Rodríguez *et al.*, 2010 ; Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012), produisent une activité ovicide, provoquent une altération du processus de la spermatogenèse (Dhadialla *et al.*, 1998 ; Nakagawa, 2005), une perturbation du comportement sexuel (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009) et nuisent de manière générale à la dynamique des populations (Pineda *et al.*, 2009 ; Ono, 2017).

Il est intéressant d'examiner aussi les effets d'un nouvel insecticide/acaricide, le spiromesifen, qui a un mode d'action spécifique soit l'inhibition de la biosynthèse des lipides chez les insectes nuisibles (Nauen *et al.*, 2002 ; Liu, 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005 ; ARLA, 2007). Il est recommandé dans les programmes de gestion et de surveillance de la résistance aux insecticides (Guthrie *et al.*, 2003 ; Horowitz & Ishaaya, 2004 ; Nauen & Konanz, 2005 ; Ishaaya & Horowitz, 2007) tout en respectant davantage l'environnement (Nicolaus *et al.*, 2005 ; Sharma *et al.*, 2007).

Cet insecticide/acaricide a une faible toxicité pour les Arthropodes non ciblés (Nicolaus *et al.*, 2005) comme les abeilles (Nauen *et al.*, 2002 ; Nicolaus *et al.*, 2005) et les bourdons (Bielza *et al.*, 2005), ainsi que chez les mammifères (Dekeyser, 2005), avec une dose journalière admissible de 0,022 mg/Kg (Sharma *et al.*, 2007). Ce produit est actuellement homologué en Algérie pour un usage sur les plantes ornementales, légumières et fruitières cultivées sous serre et en plein champ sous le certificat n° 0644250 ([www.algeria.bayercropscience.com](http://www.algeria.bayercropscience.com)). Ce pesticide a déjà fait l'objet d'un travail au niveau du Laboratoire de Biologie Animale et Appliquée sur *Drosophila melanogaster* (Bensafi-Gheraibia *et al.*, 2013 ; Kissoum & Soltani, 2016 ; Kissoum, 2017) et sur deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014 ; Bouabida *et al.*, 2017).

Le spiromesifen est surtout actif contre les aleurodes (mouches blanches) et de nombreuses espèces d'acariens après application foliaire y compris les populations d'acariens résistants à d'autres insecticides (Nauen *et al.*, 2002 ; Bretschneider *et al.*, 2003 ; Liu, 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005) en laboratoire également sur *Bemisia tabaci* (Prabhaker, 2008) ou encore, *Tetranychus urticae* (Marčić, 2010). De plus, il est devenu utile pour la gestion de la résistance aux insecticides dans de nombreuses cultures comme le coton, le thé, les légumes, les fruits ou les plantes ornementales (Nauen *et al.*, 2002 ; Weber, 2005 ; Sharma *et al.*, 2007).

Dans notre présent travail nous avons estimé qu'il était intéressant de connaître les répercussions possibles de ces trois insecticides sélectifs sur une espèce non visées, du groupe d'Arthropodes aquatiques : Les Crustacés, un groupe voisin des insectes, sont caractérisés par la présence d'un exosquelette de nature chitino-protéique qui est imprégné de carbone et de sels calciques. Cette cuticule constitue le squelette externe des Crustacés, elle est peu extensible ce qui rend nécessaire la mue qui est un processus cyclique, décrit par Drach (1939,1944) chez les Crustacés.

Les Crustacés du golf d'Annaba ont fait l'objet de plusieurs recherches notamment au niveau de notre Laboratoire de Biologie Animale Appliquée. Ces recherche ont porté sur des aspects physiologiques (Soltani & Bezzazel, 2002 ; Soltani *et al.*, 2002 ; Derbal & Soltani, 2008) et toxicologiques (Morsli & Soltani, 2003 ; Soltani *et al.*, 2009 ; Morsli *et al.*, 2015 ; Gheid *et al.*, 2011 ; Benradia *et al.*, 2016 ; Berghiche *et al.*, 2018). En Algérie, très peu de travaux ont été consacrés à l'impact des IGDs sur les Crustacés (Morsli & Soltani, 2003 ; Soltani *et al.*, 2009 ; Morsli *et al.*, 2015 ; Berghiche *et al.*, 2016).

Notre étude a été réalisée au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée sur une crevette appelée *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda, Palaemonidae), une espèce très abondante au niveau du golfe d'Annaba. Les résultats obtenus se répartissent en deux parties:

- La première partie concerne l'impact de deux IGDs, le dimilin (un inhibiteur de la synthèse de la chitine) et le méthoxyfénozide (un agoniste de l'hormone de mue) sur le poids corporel des crevettes, la composition biochimique (chitine, protéines, sels calciques) de la cuticule et les variations de deux biomarqueurs: le glutathion (GSH) et l'acétylcholinestérase (AChE) biomarqueurs du stress environnemental et neurotoxicité, respectivement.
- La seconde partie traite les effets de deux concentrations sublétales (CL<sub>10</sub> et CL<sub>25</sub>) du spiromesifen (un inhibiteur de la synthèse des lipides) sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) et de l'acétylcholinestérase (AChE), le taux du glutathion (GSH), les taux de lipides et enfin sur les taux de malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de la peroxydation lipidique (Zielinski & Pörtner, 2000).

# **MATERIEL ET METHODES**

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Présentation de l'espèce

*Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) communément appelée "bouquet balte ou chevrette", a une longueur qui varie entre 5 à 11 cm; les femelles sont de plus grande de taille par rapport aux mâles. Leur corps est translucide strié de fines rayures transversales au niveau des articulations et présente des chromatophores sombres sur la moitié ventrale du rostre. Ce dernier est long et légèrement recourbé vers le haut dans sa partie distale, surtout chez les plus grands individus avec 6 à 7 dents dorsales et 4 à 5 ventrales. Ces Crevettes possèdent des pinces très longues dotées d'une grande force et présente une bosse au niveau dorsal (Fig. 1).



**Figure 1.** Photographie de *P. adspersus* (Rathke, 1837) (Photo personnelle).

Cette Crevette à une valeur commerciale importante dans le domaine de la pêche, elle est utilisée comme appât vivant pour la pêche sportive (Manent & Abella-Gutiérrez, 2006). Elle est également une précieuse ressource de production en aquaculture (Holthuis, 1980).

La Crevette *P. adspersus* a été décrite comme espèce opportuniste omnivore et charognarde (Guerao & Ribera, 1996), se nourrissant d'une grande variété d'organismes benthiques (crustacés, polychètes et mollusques), détritits organiques et matériels végétaux; ses habitudes alimentaires peuvent varier sensiblement selon les changements dans leur cycle de vie, l'âge, la taille et la disponibilité et distribution des ressources alimentaires dans l'environnement (Guerao, 1994 ; Guerao & Ribera, 1996 ; Jayachandran, 2001 ; Kuprijanov *et al.*, 2015). La position systématique de *P. adspersus* selon la dernière classification est la suivante:

Embranchement: Arthropoda

Sous-Embranchement: Crustacea

Classe: Malacostraca

Sous-Classe: Eumalacostraca

Super Ordre: Eucarida

Ordre: Decapoda

Sous-Ordre: Pleocyemata

Infra-Ordre: Caridea

Super-Famille: Palaemonoidea

Famille: Palaemonidae

Sous-Famille: Palaemoninae

Genre: *Palaemon*

Espèce: *adpersus* (Rathke, 1837).

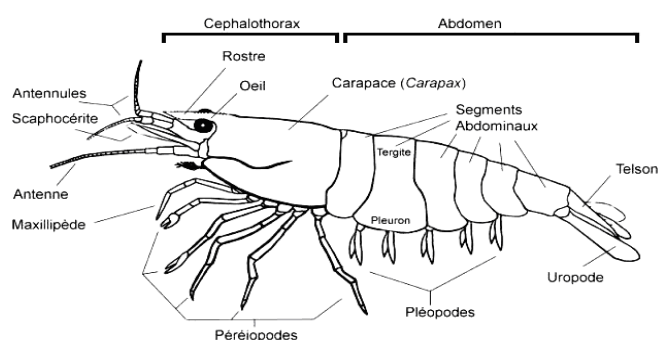
## 2.2. Anatomie générale d'une Crevette

Comme tous les arthropodes, les Crustacés ont un exosquelette formé d'une cuticule assez épaisse. Leur corps est composé de plusieurs segments, chacun portant une paire d'appendices à deux branches. Au cours de l'évolution, les segments et certaines parties du corps se sont spécialisés. Les appendices prenant part à la respiration, à la nage, à la reptation et à l'alimentation se sont fortement modifiés et sont devenus mâchoires, organes reproducteurs ou autres, quand ils n'ont pas régressé ou disparu.

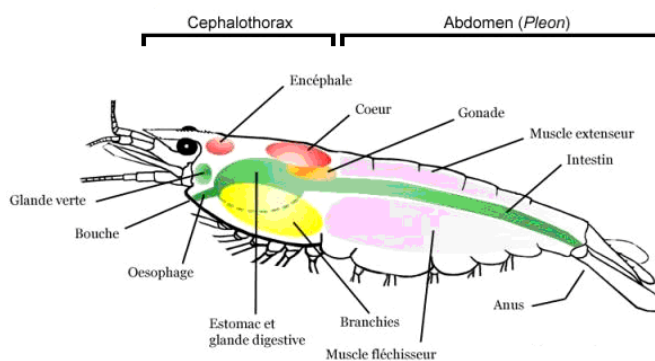
La tête est généralement fusionnée avec plusieurs segments pour former le céphalothorax et l'abdomen lui fait suite (Fig. 2). La carapace part de la tête et recouvre la plus grande partie du corps, voire le corps entier. La tête porte deux paires d'organes sensoriels: antennes et une paire de mandibules, derrière lesquelles se trouvent deux autres paires de pièces buccales: les maxilles. Elle comprend également une paire d'yeux composés. Le céphalothorax porte des appendices servant à la locomotion et à la respiration. Ces derniers, appelés branchies, sont protégés par la carapace. D'autres appendices forment des

pinces tandis que ceux situés sur l'abdomen servent à la locomotion ou à la respiration, mais sont souvent de taille réduite. La portion caudale, le telson, est parfois utilisée pour la nage.

La cavité principale du corps fait partie du système circulatoire dans lequel le sang est pompé par un cœur dorsal (Fig. 3). L'intestin est un tube droit souvent pourvu d'un moulin gastrique, comparable à un gésier servant à broyer les aliments, et d'une paire de glandes digestives qui sécrètent des sucs et absorbent les nutriments. Des structures comparables aux reins des vertébrés sont situées près des antennes. Le système nerveux est composé de ganglions cérébraux, à proximité des organes des sens, d'une chaîne ganglionnaire et de nerfs situés sous l'intestin dans la partie ventrale.



**Figure 2.** Anatomie externe d'une Crevette. (Anatomie d'une Crevette: Crusta-Fauna.htm).



**Figure 3.** Anatomie interne d'une Crevette. (Anatomie d'une Crevette: Crusta-Fauna.htm).

### 2.3. Distribution géographique et site d'échantillonnage

La Crevette Baltique *P. adspersus* vie dans les milieux peu profonds (0 - 6 m) (Solari *et al.*, 2017). Elle est un habitant commun des côtes, des lagunes et des estuaires répartis de la mer Baltique, le long de la côte occidentale de la Norvège, le golfe de Gascogne et les îles britanniques, jusqu'à la côte marocaine et la Méditerranée, la mer Adriatique, la mer Noire et les eaux de l'Atlantique Nord-Ouest (Hayward & Ryland, 1996 ; Zariquiey-Álvarez, 1968 ; Lapińska & Szaniawska, 2006 ; González-Ortegón *et al.*, 2015).

Notre récolte d'échantillons a été effectuée au niveau de la lagune El-Mellah où la Crevette est très abondante. La lagune se situe à l'extrême Nord-Est de la côte Algérienne (9,5 km à l'ouest de la ville d'El-Kala et 48,75 km à l'est de la ville d'Annaba), en bordure de la méditerranée entre le cap rosa et le cap roux. Elle s'étend du Nord au Sud sur 4 km et d'Est en Ouest sur 2 km (Messerer, 1999), couvrant ainsi une superficie de 865 hectares qui communique avec la mer par un chenal d'environ 870 m de longueur et 15 m de largeur (ONDPA, 2005) et reçoit les eaux douces des oueds Mellah et Bouaroug au sud et R'kibet à l'ouest (Derbal *et al.*, 2005). Ses coordonnées géographiques au centre sont de 36° 53' 565 Nord - 8° 19' 560 Est et la profondeur maximale est de 6,40 m. La lagune est un plan d'eau saumâtre dont la température et la salinité varient de 1,40 à 30,50°C et de 15,90 à 37,10 ‰, respectivement (Draredja *et al.*, 2012).



**Figure 4.** Localisation géographique de la zone d'échantillonnage: la lagune El-Mellah, El-Kala (Algérie Nord-Est).

## 2.4. Elevage des Crevettes

Une fois pêchées, les Crevettes sont transportées dans un bac en plastique d'une contenance de 30 L d'eau de mer. L'aération est assurée par brassage permanent de l'eau jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Les Crevettes capturées sont transférées dans des aquariums d'une capacité de 80 L, constitués d'une fine couche de sable fin de 4 cm d'épaisseur avec quelque galet. L'éclairage se fait à la lumière naturelle. La salinité est proche de celle de l'eau de mer 37 ‰ et la température est comprise entre 22 et 27°C. L'eau doit être propre et continuellement oxygénée par des pompes à air (Rena 301: 2204, 651/mn). En captivité dans leur nouveau milieu les Crevettes se nourrissent de la chair fraîche des haricots de mer distribuée en fin de journée. Le nettoyage des aquariums est effectué chaque matin, en enlevant la nourriture en excès ainsi que les coquilles.

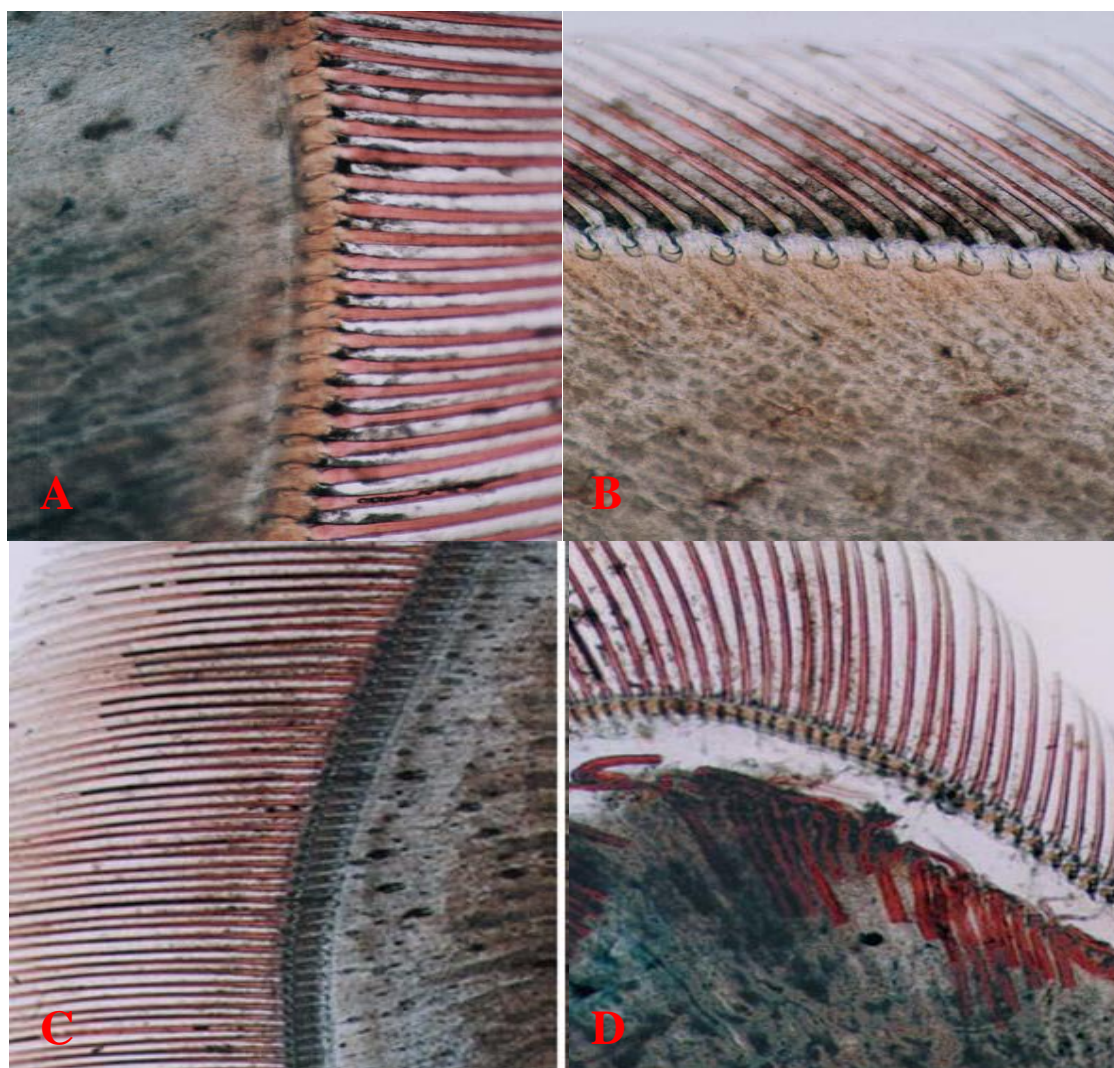
## 2.5. Datation des Crevettes

Il est possible de subdiviser le cycle de mue chez les Crustacés Décapodes en quatre périodes essentielles, selon la nomenclature adoptée par Drach & Tchernigovtzeff (1967) et Cognie (1970): deux périodes en post mue (A et B), une intermue (C) et une prémue (D), qui est elle-même subdivisée en trois stades ; stade D0 – D1, D2, D3. Le stade E correspond à l'exuviation de l'animal avec rejet de l'ancienne cuticule, étape qui se produit à n'importe quel moment de la journée chez *P. adspersus* contrairement à *Penaeus kerathurus* dont l'exuviation se produit uniquement la nuit (Morsli, 2016).

La méthode de datation utilisée dans notre travail a été empruntée à Robertson *et al.* (1987). Cette datation simple, rapide et efficace est basée sur la morphogenèse des soies au niveau des appendices fins. L'organe de référence prélevé est l'extrémité de l'uropode qui a été observé sous microscope entre lame et lamelle, dans de l'eau d'élevage. Les caractéristiques des différents stades de mue sont représentées dans le tableau 1 et la figure 5 :

**Tableau 1.** Les différents stades de mue et leurs caractéristiques.

Stades de mue		Durée	Caractéristiques
Postmue	A	2-3 jours	L'animal est mou, les soies sont sans rigidité et la matrice cellulaire est remplie de granules. Les barbules portées par les soies adhèrent entre-elles (elles sont entremêlées).
	B		Le corps commence à se consolider, la pigmentation s'accroît d'avantage. Le matériel cellulaire commence à se rétracter des soies.
Intermue	C	5 jours	L'exosquelette est formé et acquiert sa consistance, pigmentation achevée, les soies sont transparentes sauf à la base où subsistent encore quelques cellules.
Prémue	D	10 jours	Elle comporte 3 sous stades: -stade D0-D1: début de la phase active du processus de mue. Décollement de l'épiderme de l'ancienne cuticule, délimitant un espace exuvial, ainsi on observe un début de formation des nouvelles soies. -stade D2: la nouvelle cuticule est visible et les soies sont entièrement formées; absence des barbules. -stade D3: les nouvelles barbules et les nouvelles soies sont formées et bien organisées, laissant apparaître leur apex ce qui donne l'impression d'un « peigne », terme que cite Cognie (1970).
Exuviation	E	10 secondes	Se produit la nuit, l'animal se débarrasse de son ancienne cuticule.



**Figure 5.** Différents stades du cycle de mue d'après (Schiaivone, 2003).

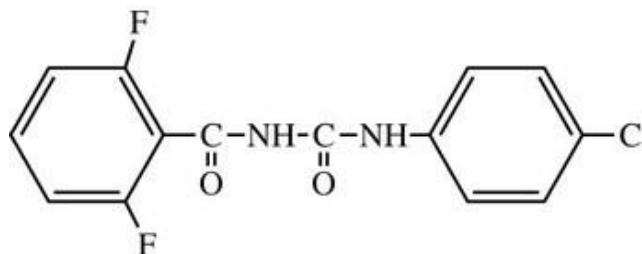
## 2.6. Présentation des xénobiotiques

Pour notre expérimentation, les trois produits nous ont été aimablement fournis par Pr. G. Smaghe (Ghent University, Belgium).

### 2.6.1. Diflubenzuron :

Le 1-(4-chlorophenyl) -3- (2, 6-difluorobenzoyl)-Urée, communément appelé diflubenzuron (DFB), est commercialisé sous l'appellation de dimilin 25% PM (poudre mouillable) (Van Daalen *et al.*, 1972; Grosscurt, 1978); sa formule chimique est  $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$ . Il a été mis dans le marché depuis 1970 (Chen & Meyer, 1985 ; Retnakaran *et al.*, 1985). Les propriétés insecticides de DFB ont été mises en évidence pour la première fois par Van Daalen *et al.* en

1972. Depuis sa découverte, il a fait l'objet d'une recherche intensive et plusieurs revues lui ont été consacrées (Grosscurt *et al.*, 1987 ; Retnakaran & Wright, 1987). Il représente une nouvelle classe d'insecticide de synthèse dont la formule chimique est la suivante:



**Figure 6.** Formule chimique du diflubenzuron.

C'est une substance cristalline blanche dont le poids moléculaire est de 310,7 g, peu soluble dans l'eau (0,2 mg/L), mais soluble dans les solvants organiques très polaires: 104 g/L dans la diméthylformamide et 24 g/L dans le dioxane à 25°C. Les solutions aqueuses sont stables en milieu acide ou faiblement basique (pH < 9).

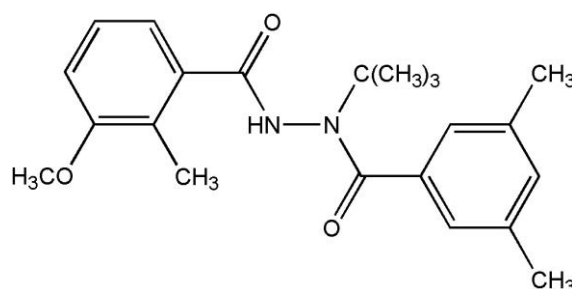
Le DFB inhibe la synthèse de la chitine (Mudler & Gijswijt, 1973 ; Post & Coll, 1973; Ishaaya & Casida, 1974 ; Post *et al.*, 1974 ; Cohen, 1993 ; Soltani *et al.*, 1993) et interfère avec la formation de la cuticule (Nakagawa *et al.*, 1993). La cuticule des insectes est principalement composée d'un mélange de chitine et de protéines. La cible de l'insecticide la plus intéressante est la chitine qui est un polymère linéaire de la N-acétylglucosamine. Il a été montré que le DFB modifie le métabolisme des hormones de mue (Yu & Terrière, 1977 ; Sotani *et al.*, 1984), ce qui se répercute sur la mise en place de la cuticule. La cuticule formée chez les individus traités n'est pas suffisamment résistante pour s'opposer aux tensions musculaires de la mue, et sa rupture prématurée entraîne la mort des larves.

### 2.6.2. Méthoxyfénozide :

Le méthoxyfénozide ou RH-2485 est le nom commun du N-tert-Bentyl-N'-(3- méthoxy-o-tolwoyl)-3.5-xylohydrazide. Sa formule empirique est : C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> et son poids moléculaire est de 368,5 g. Il appartient à la catégorie des insecticides du groupe des bisacylhydrazines qui sont des agonistes de deuxième génération de l'ecdysone. Il est commercialisé sous les noms de Runner et Intrepid (240 SC : solution concentrée) et agit principalement par ingestion chez les larves de lépidoptères. Son effet a été observé *in vivo* sur le développement et la reproduction; il perturbe également la croissance des ovocytes et la production

d'ecdystéroïdes (Dhadialla *et al.*, 2005 ; Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012).

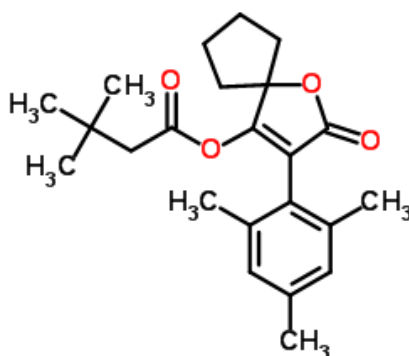
La molécule est classée par l'Agence Américaine de la Protection de l'Environnement (US EPA) comme insecticide à faible risque (Khater, 2011). Elle est spécifique aux Lépidoptères (Dhadialla *et al.*, 2010 ; Smaghe *et al.*, 2012) et toxiques après ingestion ou application topique à des doses élevées (Hsu, 1991). L'effet commence par une inhibition de l'alimentation pendant 3 à 14 h (Retnakaran *et al.*, 1997), ce qui est très important pour prévenir des dommages aux cultures.



**Figure 7.** Formule chimique du méthoxyfénozide.

### 2.6.3. Spiromesifen:

Le spiromesifen commercialisé sous le nom d'Oberon® (240 SC : solution concentrée) est le nom commun du 3,3- diméthylbutyrate de 3-mésityl-2-oxo-1-oxaspiro[4.4] non-3-en-4-yle, sa formule brute est  $C_{23}H_{30}O_4$  et sa masse moléculaire est de 370,48g (Fig. 8). C'est un nouvel insecticide systémique dérivé des acides tétroniques spirocyliques, doté d'un mode d'action unique, l'inhibition de la synthèse des lipides en empêchant la biosynthèse des acides gras.



**Figure 8.** Formule de structure du spiromesifen.

## 2.7. Dose et mode de traitement

Les formulations commerciales des différents insecticides ont été testées. Le traitement a été effectué chez la Crevette sexe confondu. On n'a pas pris en considération le dimorphisme sexuel car la perturbation de la mue chez les crustacés par les contaminants environnementaux n'est pas spécifique au sexe; ou d'autres termes, un produit chimique est capable de perturber la mue des mâles et également des femelles (Meng & Zou, 2009). Pour le dimilin et le RH-2485 on a procédé à deux modes de traitement :

**Traitement de 24h :** après exuviation les Crevettes sont plongées dans de l'eau de mer traitée pendant 24h, puis elles sont transférées dans de l'eau de mer propre non contaminée jusqu'à l'intermue (Stade C).

**Traitement continu :** les Crevettes sont exposées à l'eau de mer contaminée après l'exuviation (Stade A) jusqu'à l'intermue (Stade C) (où la cuticule postexuviale est complètement mise en place).

Le diflubenzuron et le methoxyfenozone ont été additionnés à l'eau d'élevage dans les aquariums. Les doses sont exprimées en unité de poids de la matière active (m.a.) considéré. Le DFB a été utilisé à la dose de 1 µg/L, concentration testées sur plusieurs espèces de Crevettes (Morsli & Soltani, 2003, Soltani *et al.*, 2009) et 16 ng/L (=CL<sub>50</sub> à l'égard de *Culex pipiens*, Rehim, 2004). Pour le RH-2485, la dose est de 24,54 µg/L (= DL<sub>50</sub> à l'égard de *Culex pipiens*, Tine-Djebbar, 2009). Pour le spiromesifen des essais ont été effectués afin de définir les paramètres de létalité de la molécule à l'égard des Crevettes nouvellement exuviées. Le produit a été ajouté à l'eau de mer des Crevettes nouvellement exuviées à raison de 24 µg de matière active/L. Plusieurs concentrations ont été testées (6, 12 et 24 µg/L). La mortalité est enregistrée à 24h, 48h, 72h, 96h. La mortalité des individus est enregistrée et le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925). Les pourcentages de mortalités corrigées subissent une transformation angulaire selon Bliss (1938), cité par Fisher & Yates (1957). Les mortalités corrigées obtenues permettent d'établir une courbe des probits en fonction des logarithmes décimaux des doses. Les pourcentages sont convertis en leurs probits (Fisher & Yates, 1957).

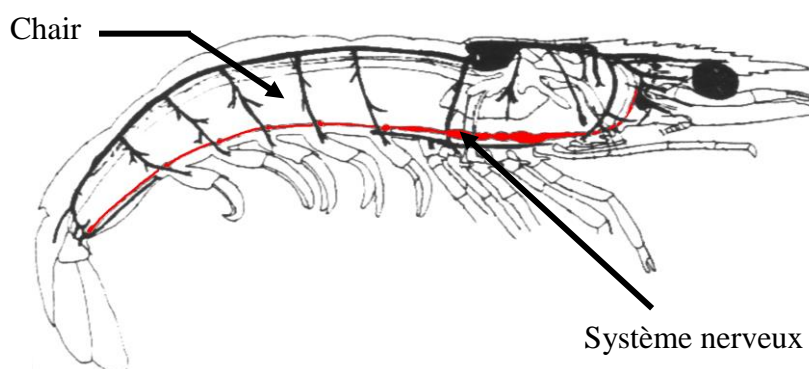
Le logarithme décimal des concentrations de létalité (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) sont déterminés à partir des droites de régression selon le procédé mathématique de Finney (1971). Les intervalles de confiances sont ensuite calculés selon la méthode de Swaroop *et al.* (1966) avec

une probabilité de 95%. La régression non linéaire exprimant le pourcentage de létalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration a permis également d'estimer les concentrations létales ainsi que les concentrations sublétales utilisées dans cette étude ( $CL_{10}$  et  $CL_{25}$ ). Les calculs sont effectués à l'aide du logiciel GraphPad prism version 6.01 (GraphPad software, La Jolla California, U.S.A.).

## 2.8. Prélèvement des organes

La dissection est réalisée sous loupe binoculaire à l'aide de microciseaux, l'incision se fait tout le long de l'abdomen de l'animal en soulevant la membrane collée à la carapace. Une fois le tégument dégagé, le système nerveux apparaît traversant l'abdomen (Fig. 9). A l'aide d'une pince fine, le système nerveux est prélevé puis conservé dans le tampon Tris 0,1M jusqu'au dosage de l'acétylcholinestérase (AChE).

Chez les mêmes individus un fragment de chair (0,200g) est prélevé à l'aide d'une pince fine et conservé pour réaliser les différents dosages ; dans l'EDTA 0,02 M pour le dosage du glutathion (GSH), dans du tampon phosphate (0,1 M, pH 6) pour le dosage du glutathion S-transférase (GST), dans du tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) pour le dosage du malondialdéhyde (MDA) et du TCA 20% pour le dosage lipides totaux.



**Figure 9.** Organes prélevés pour les dosages.

## 2.9. Croissance pondérale

Les Crevettes sont pesées à l'aide d'une balance de précision (Sartorius AG Gottinger, Germany), avec une précision de  $\pm 0,1$  mg, pour déterminer leurs poids corporel. Les séries

témoins des Crevettes sont pesées aux différents stades de mue (A, B, C et D). Le poids des Crevettes traitées par le dimlin et le RH-2485 a été mesuré au stade C pour les deux modes de traitement.

### 2.10. Détermination de la composition biochimique de la cuticule

La cuticule des Crevettes est constituée de plusieurs composants biochimique: protéines, chitine et sels calciques (Dall, 1965a, b, c; Huner *et al.*, 1979; Vigh & Dendinger, 1982). La composition biochimique de la cuticule pour les séries témoins des Crevettes a été déterminée aux différents stades de mue (A, B, C et D). Pour les Crevettes traitées par le dimlin et le RH-2485, elle a été réalisé a la fin du l'intermue pour les deux modes de traitement.

La technique utilisée pour la détermination des composants de la cuticule est celle de Wilinder (1974). Une moitié de céphalothorax est rincée à l'eau distillée, séchée à 60°C et pesée (P0), décalcifiée par l'acide trichloracétique (TCA 10%) jusqu'à il n'y est plus de formation de bulles. Le résidu est rincé brièvement par l'eau distillée, séché à 60°C et pesé (P1). La différence entre (P0) et (P1) nous donne le poids des sels calciques.

La composition en protéine est déterminée après traitement de la cuticule décalcifiée par la soude NaOH 2N à 110 °C pendant 3 à 4 h. On obtient un résidu décoloré qui correspond à la chitine qu'on va rincer abondamment avec de l'eau distillée, puis séché à 60°C et pesé (P2). La différence entre P1 et P2 est le poids des protéines.

Les poids des constituants chimiques sont exprimés en mg, qu'on va représenter en %. Pour cela on suit les calculs suivants:

Contenu en sels calciques (Degré de calcification)	Contenu en protéines	Contenu en chitine
$\% \text{ Sels calciques} = \frac{P0 - P1}{P0} \times 100$	$\% \text{ Protéines} = \frac{P1 - P2}{P1} \times 100$	$\% \text{ Chitine} = \frac{P2}{P1} \times 100$

**P0**: poids du départ, **P1**: poids décalcifié, **P2**: poids de la chitine.

## 2.11. Dosage des biomarqueurs

Le dosage des biomarqueurs le glutathion (GSH), du glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE) est effectué au niveau des différents tissus et organes (chair, système nerveux). L'activité spécifique des biomarqueurs est exprimée par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon Bradford (1976).

### 2.11.1. Dosage du glutathion:

Le glutathion est dosé selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) qui repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2nitrobenzoïque (Réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion. La chair de *P. kerathurus* est homogénéisée pendant 30 secondes dans 1 ml d'une solution EDTA (Acide Ethylène Diamine Tetra Acétique) à 0,02 M (7,4448 g EDTA et 1000 ml d'eau distillée) à l'aide d'un ultrason (Sonifer B-30). Afin de protéger les groupements thiol du glutathion l'homogénéat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique 0,25% (0,25 g d'acide sulfosalicylique, 100 ml d'eau distillée); 0,8 ml de l'homogénéat sont additionnés à 0,2 ml d'acide sulfosalicylique. Le mélange est vortexé et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, puis centrifugé (1000 tours/min pendant 5 min). Le surnageant est utilisé pour la mesure de la concentration du glutathion selon les étapes suivantes:

Le taux du GSH est déterminé comme suit: 500 µl du surnageant sont additionnés à 1 ml de 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 (5-5' dithio-bis-2-nitrobenzoïque) (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. Le mélange est laissé pendant 5 min à température ambiante, la lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent d'eau distillée (500 µl). Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante:

$$\text{Taux du GSH} \quad (\mu\text{M/mg de protéines}) = \frac{\text{Do} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times \text{mg de protéines}}$$

**Do**: densité optique., **1**: le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat), **1,525**: le volume total des solutions utilisées dans du GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA), **13100**: coefficient d'absorbance (concernant le groupement -SH à 412 nm), **0,8**: le volume de l'homogénat utilisé en ml, **0,5**: le volume du surnageant utilisé en ml, **mg de protéines**: les protéines en mg.

### 2.11.2. 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 catalysée 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 421 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 10 mM) à l'aide d'un homogénéiseur à ULTRASONS (sonifer B-30) puis centrifugés à 9000 tours/min pendant 5 min, le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE.

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée comme suit: 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (0,1 M; pH 8) (39,6 mg de DTNB, 15 mg CO<sub>3</sub> Na, dans 10 ml nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du 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 où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (50 µl). L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante:

$$\text{Taux de l'AChE} \quad (\text{nM/min/mg de protéines}) = \frac{\Delta \text{Do} \times \text{Vt}}{1,36 \times \text{Vs} \times \text{mg de protéines}}$$

**Δ Do**: densité optique, **Vt**: volume total des solutions (0,1 ml du surnageant + 0,1 ml de tris + 0,1 ml de substrat ASCh), **Vs**: volume du surnageant (0,1 ml), **1,36**: coefficient d'extinction (concernant le DTNB à 412 nm), **Prot**: les protéines en mg.

### 2.11.3. Dosage de la glutathion S-transférase:

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH). Les échantillons (chair) sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est réalisée dans un spectrophomètre visible /UV (WPA). Elle est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante:

$$\text{GST} \left( \frac{\mu\text{M}}{\text{mn/mg de protéines}} \right) = \frac{\Delta\text{DO}}{e} \times \frac{V_s}{V_t} \text{ / mg de protéines}$$

**Δ Do:** pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps, **e:** 9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM-1 cm -1), **Vt:** volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH], **Vs:** volume du surnageant dans la cuve: 0,2 ml, **mg de protéines:** quantité de protéines exprimée en mg.

### 2.11.4. Extraction et dosage du malondialdéhyde :

Le MDA est dosé selon la méthode de Draper & Hadley (1990). La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre ATB avec le MDA, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl).

La chair est broyée à l'ultrason dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde

(MDA). Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant, additionné de 2,5 ml de TCA (100 g TCA et compléter à 1000 ml avec de d'eau distillée). Après chauffage au bain marie à 100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, une deuxième centrifugation est effectuée à 10000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100 °C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) / MDA est récupéré. La détermination du taux de MDA nécessite le dosage des protéines réalisé selon la méthode décrite précédemment. Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{MDA (mM/mg de protéines)} = \frac{[(\text{DO}/156) \times (\text{Vt}/\text{Vs})]}{\text{mg de protéines}}$$

**DO**: La densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm, **156**: Coefficient d'extinction molaire de l'ATB (mM-1 cm-1), **Vt** : Volume total de la cuve (1ml), **Vs** : Volume du surnageant utilisé (0,5 ml), **mg de protéines** : Quantité de protéines exprimée en mg.

## 2.12. Extraction et dosage des lipides totaux

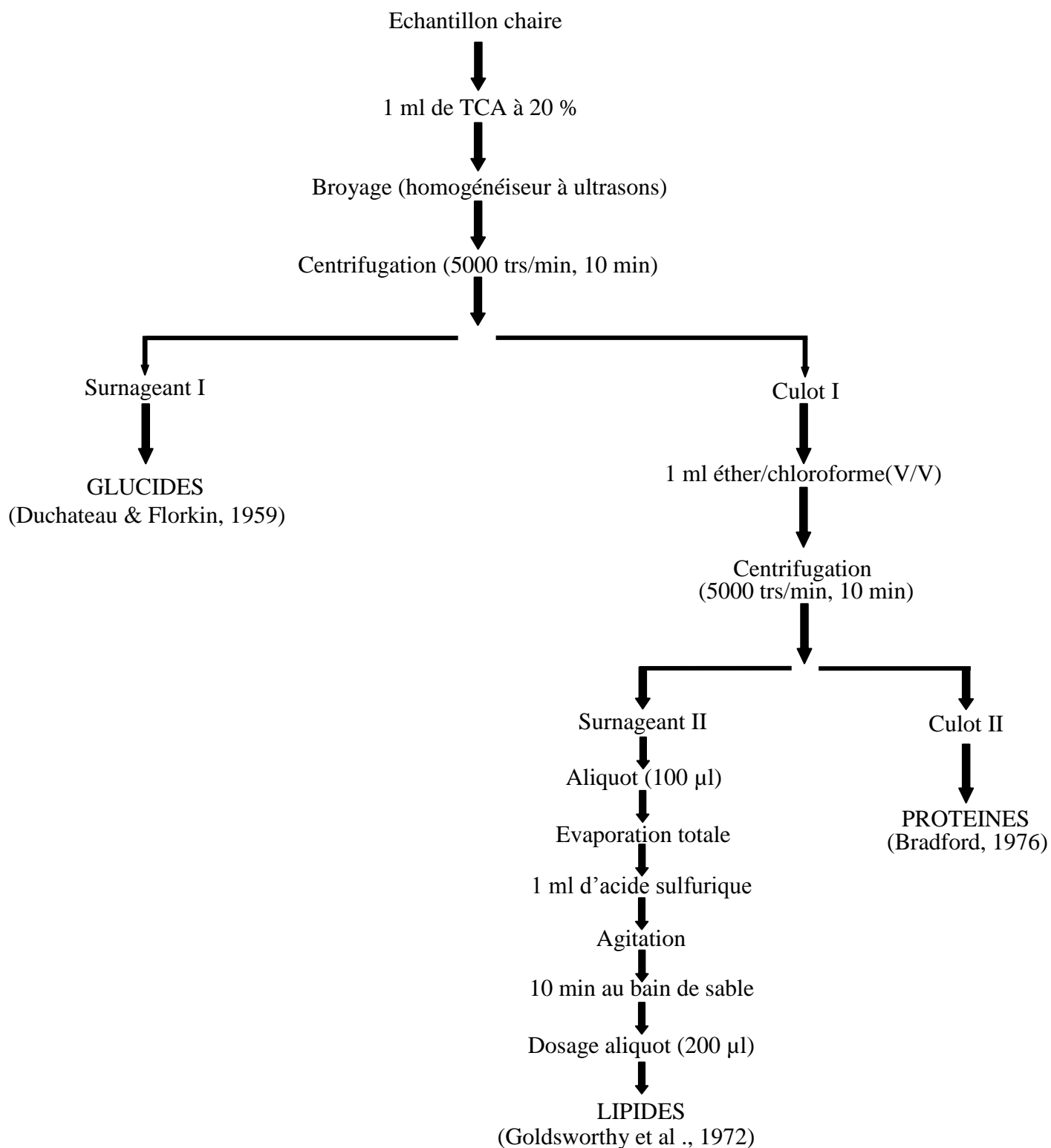
La chair est conservée dans 1 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) (Fig. 4). Après une homogénéisation aux ultra-sons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Le culot I est ensuite récupéré dans 1 ml d'un mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min), on obtient le surnageant II qui sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) tandis que le culot II dissout dans la soude (0,1 N), servira pour la quantification des protéines selon Bradford (1976).

Le contenu en lipides totaux est déterminé selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfophosphovanillinique (0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée, 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%) et une solution mère de lipides à 25 mg/ml (25 mg

d'huile de table, 1 ml éther/chloroforme (v/v)) comme standard. Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl du surnagent II dans un bain à sec à 40 °C pendant environ 20 mn, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96 %); les tubes fermés sont agités puis chauffés dans un bain à sec à 100 °C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube eppendorf qu'on met dans des tubes à essai auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. La quantité de lipides est estimée à partir de la droite de régression obtenue après une gamme d'étalonnage (Tab. 3) effectuée à partir d'une solution étalon de lipides (prendre 2,5 mg d'huile de tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et ajouter 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

**Tableau 2 :** Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution étalon de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5



**Figure 10.** Extraction des lipides totaux selon Shibko *et al.*, (1966).

### 2.13. Extraction et dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC) (G 250, Merk) comme réactif (50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et complété à 500 ml avec l'eau distillée) et l'albumine sérum de bœuf (Sigma, France) comme standard. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm, et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de bœuf (1 mg/ml) selon les indications ci-dessous:

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

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

### 2.14. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés statistiquement par la moyenne plus ou moins l'écart type ( $m \pm SD$ ) établie sur un nombre de répétitions précisées dans les tableaux et figures. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MINITAB (Version 16, PA State College, USA). Les résultats obtenus ont subi une analyse de la variance à un ou deux et trois critères de classification.

La régression non linéaire exprimant le pourcentage de létalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration a permis d'estimer les concentrations létales. Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel GraphPad prism version 6.01 (GraphPad software, La Jolla California, U.S.A.).

# **RESULTATS**

### 3. RESULTATS

#### 3. 1. Effets des régulateurs de croissance sur *Palaemon adspersus*

##### 3. 1.1. Effet sur le poids

Les crevettes témoins sont pesées aux différents stades du cycle de mue. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 4 et représentés graphiquement dans la Figure 11. Le poids le plus bas est enregistré au stade A ( $0,53 \pm 0,12$  g) il augmente progressivement pour atteindre un taux de  $0,73 \pm 0,04$  g au stade C, puis on observe une petite diminution au stade D ( $0,61 \pm 0,09$  g) à la veille de l'exuviation. Une analyse de la variance à un critère de classification des données, révèle qu'il y a une différence significative ( $P = 0,029$ ) entre les quatre stades (A, B, C, D) (Tab. 5). Le test de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade B, par contre il y a une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre le stade A et le stade C, entre le stade A et le stade D et aussi entre le stade B et le stade C et entre le stade B et le stade D, respectivement. Il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade C et le stade D (Tab. 4).

Pour les séries traitées exposées au DFB (16 ng/L et 1 $\mu$ g/L) et au méthoxyphénol (RH-2485) (24,54  $\mu$ g/L) le poids est déterminé pour les deux modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 6 et Fig. 12). On note un poids le plus bas pour le mode de traitement de 24H chez les crevettes traitées par le DFB à 1 $\mu$ g/L ( $0,63 \pm 0,04$  g) (Tab. 6). Les résultats chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent une diminution hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les témoins et les 3 traitements (témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485). Une différence significative ( $P = 0,013$ ) a été enregistrée entre les traités par le DFB (16 ng/L) et DFB (1 $\mu$ g/L), il n'y a pas de différence significative ( $P = 0,340$ ) entre DFB (16 ng/L) et le RH-2485. Enfin, il y a une diminution hautement significative ( $P = 0,002$ ) entre les traités par le DFB (1 $\mu$ g/L) et le RH-2485 (Tab. 6).

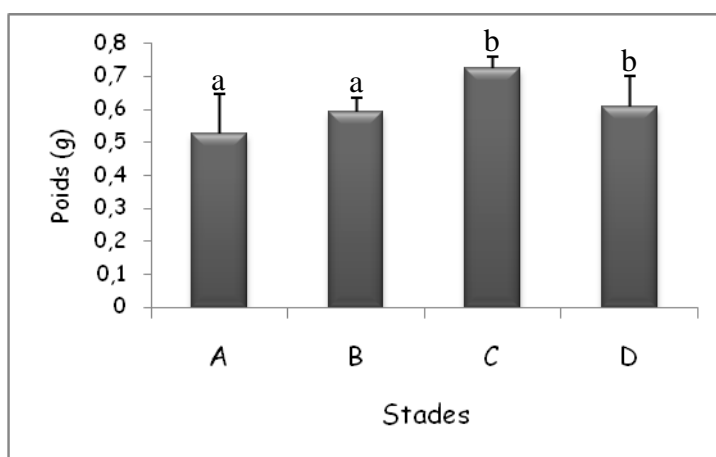
Pour le traitement continu, on observe que la valeur minimale ( $0,55 \pm 0,03$  g) est notée chez les traités par le DFB à la dose de 1 $\mu$ g/L (Tab. 6). Les données obtenues chez les crevettes traitées par le mode continu indiquent qu'il y a une diminution hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) du poids avec les 3 traitements en comparaison avec la série témoin (témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485). Il y a une

différence hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les traités par le DFB (16 ng /L) et par le DFB (1  $\mu\text{g/L}$ ), une différence significative ( $P = 0,003$ ) entre les traités par le DFB (16 ng /L) et le RH-2485. On note également une diminution significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les traités par le (DFB 1 $\mu\text{g/L}$ ) et les traités par le RH-2485 (Tab. 6).

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle des effets mode de traitement ( $F_{1,24} = 124,16$  ;  $P < 0,001$ ), type d'insecticides ( $F_{3,24} = 776,28$  ;  $P < 0,001$ ) et effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 18,95$  ;  $P < 0,001$ ) respectivement significatifs (Tab. 7).

**Tableau 4:** Poids (g) de *P. adspersus* témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	Poids (g)
A	$0,53 \pm 0,12$ a
B	$0,59 \pm 0,04$ a
C	$0,73 \pm 0,04$ b
D	$0,61 \pm 0,09$ b



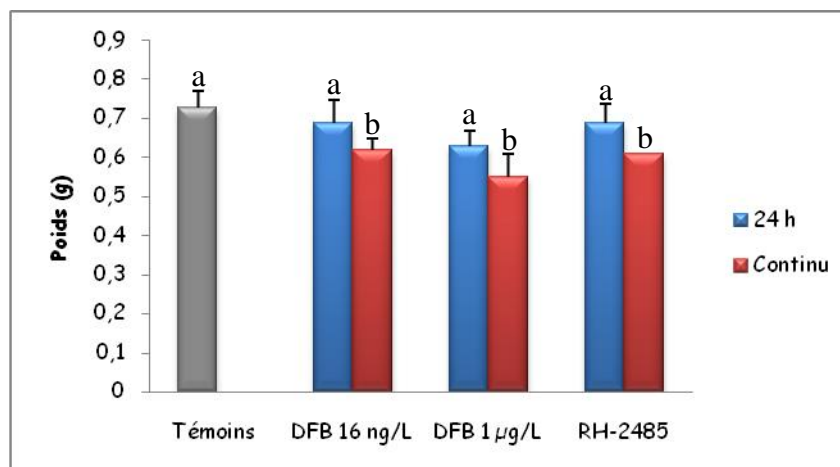
**Figure 11.** Poids (g) des témoins *P. adspersus* ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ) aux différents stades de mue (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 5:** Poids (g) de *P. adspersus* témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	0,08046	0,02682	4,23	0,029
Erreur résiduelle	12	0,07599	0,00633	-	-
Totale	15	0,15645	-	-	-

**Tableau 6:** Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoin	DFB (16 ng/L)	DFB (1 $\mu$ g/L)	RH-2485
24 H	0,73 $\pm$ 0,04 a A	0,69 $\pm$ 0,06 b A	0,63 $\pm$ 0,04 c A	0,69 $\pm$ 0,05 b A
Continue	0,73 $\pm$ 0,04 a A	0,62 $\pm$ 0,07 b B	0,55 $\pm$ 0,03 c B	0,61 $\pm$ 0,06 b B



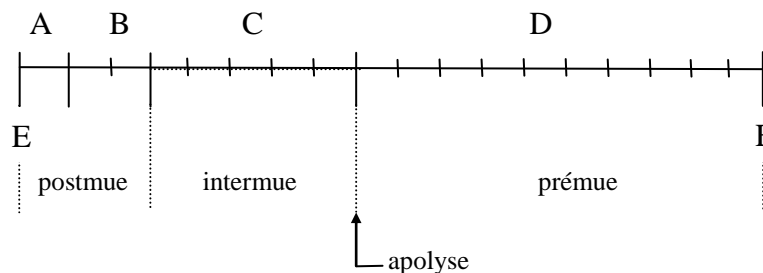
**Figure 12.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 7:** Effet du DFB et du RH-2485 sur le poids (g) de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	0,014921	0,014921	124,16	<0,001
Insecticides	3	0,279872	0,093291	776,28	<0,001
Insecticides X mode de traitement	3	0,006834	0,002278	18,95	<0,001
Erreur résiduelle	24	0,002884	0,000120	-	-
Totale	31	0,304511	-	-	-

### 3. 1. 2. Effet sur la composition biochimique de la cuticule

La composition biochimique des principaux constituants a été déterminée au niveau du céphalothorax des séries témoins et traitées durant les différents stades du cycle de mue. Elle a été réalisée selon la méthode de Wilinder (1974). Le traitement est effectué au début du cycle de mue (stade A) et qui va durer 8 à 9 jours (jusqu'au stade C) pour les 2 modes de traitements.



**Figure 13.** Durée relative (en jours) des différents stades du cycle de mue de *P. adspersus* dans nos conditions d'élevage (┃ = un jour).

### 3.1.2.1. Effet sur le taux de la chitine cuticulaire

Les résultats de l'évolution du taux de la chitine cuticulaire au cours d'un cycle de mue chez les animaux témoins sont rassemblés dans le Tableau 8 et représentés graphiquement dans la figure 14. Le taux de chitine cuticulaire augmente au cours de la période allant du stade A ( $34,17 \pm 12,29$  %) jusqu'au stade C, pour atteindre une valeur de ( $58,46 \pm 13,41$  %). Au stade D on observe une légère diminution du taux de la chitine ( $46,99 \pm 6,40$  %). Une analyse de la variance à un critère de classification sur les données sur la chitine cuticulaire au cours du cycle de mue chez les crevettes témoins, révèle une différence hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les quatre stades (A, B, C, D) (Tab. 9). Le test de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade B. On note une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre le stade A et le stade C et entre le stade A et le stade D. il y a une différence entre le stade le stade B et le stade C, entre le stade B et le stade D et aussi entre le stade C et le stade D (Tab. 8).

Pour les séries traitées exposées au DFB (16 ng/L et 1 $\mu$ g/L) et RH-2485 (24,54  $\mu$ g/L) le taux de la chitine cuticulaire est déterminé pour les 2 modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 10 et Fig. 15).

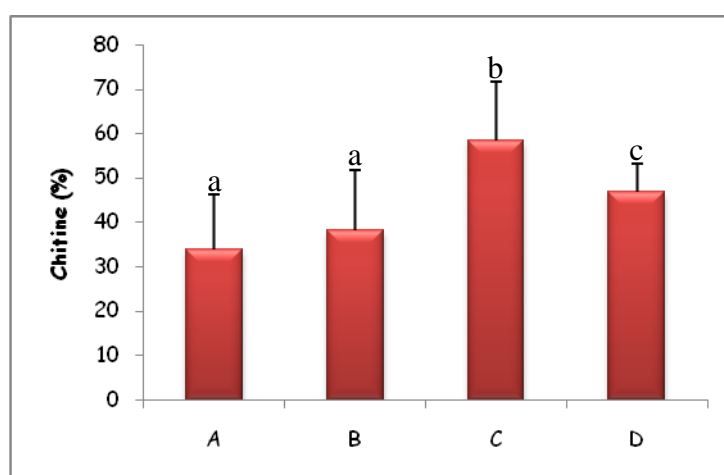
On note que le taux le plus bas pour le mode de traitement de 24H est enregistré chez les crevettes traitées par le DFB à 1 $\mu$ g/L ( $39,53 \pm 13,21$ %). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent une diminution hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les témoins et les 3 traitements ; témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485. Une différence hautement significative a été notée entre les traités par le DFB (16 ng/L) et DFB (1 $\mu$ g/L) ( $P \leq 0,001$ ), entre les traitements DFB (16 ng/L) et le RH-2485 ( $P \leq 0,001$ ) et aussi entre les traitements DFB (1 $\mu$ g/L) et le RH-2485 ( $P \leq 0,001$ ) (Tab. 10).

Au niveau du mode de traitement continu on observe que la valeur minimale ( $30,64 \pm 10,51\%$ ) est également notée chez les traités par le DFB à une dose de  $1\mu\text{g/L}$  (tab.11). Les résultats obtenue chez les crevettes traitées par le mode continu, indiquent qu'il y a une diminution hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les témoins et les 3 traitements ; témoins vs DFB ( $16 \text{ ng/L}$ ), témoins vs DFB ( $1\mu\text{g/L}$ ), témoins vs RH-2485. Il y a une différence hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les traités par le DFB ( $16 \text{ ng /L}$ ) et DFB ( $1 \mu\text{g/L}$ ), entre les traités par le DFB ( $16 \text{ ng /L}$ ) et le RH-2485 et également entre les traités par le (DFB  $1\mu\text{g/L}$ ) et les traités par le RH-2485 (Tab. 10).

L'analyse de la variance a deux critères de classification révèle des effets mode de traitement ( $F_{1,24} = 127,22$  ;  $P \leq 0,001$ ), effet insecticides ( $F_{3,24} = 826,62$  ;  $P \leq 0,001$ ) et effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 41,37$  ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab. 11).

**Tableau 8.** Taux (%) de la chitine dans la cuticule au cours des différents stades de mue chez *P. adspersus* témoins. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	Chitine (%)
A	$34,17 \pm 12,29$ a
B	$39,24 \pm 13,63$ a
C	$58,46 \pm 13,41$ b
D	$46,99 \pm 6,40$ c



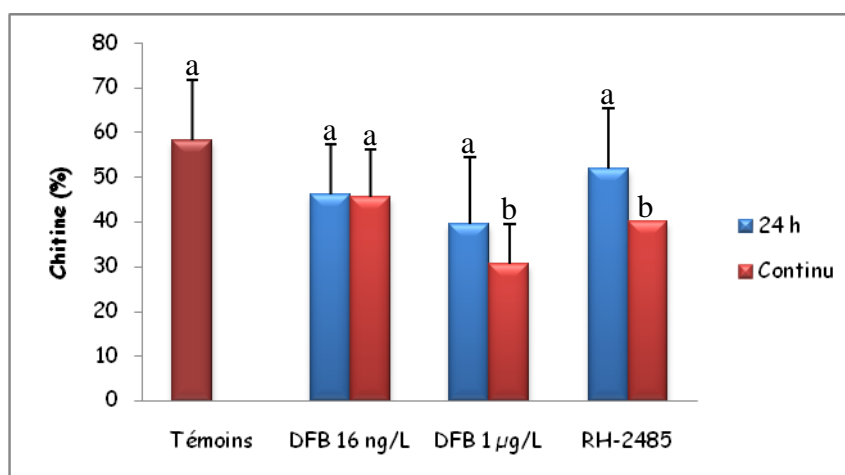
**Figure 14.** Taux (%) de la chitine de la cuticule à différents stades du cycle de mue chez *P. adspersus* témoins ( $m \pm s$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 9:** Taux (%) de chitine de la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	0,7850	0,2617	13,36	<0,001
Erreur résiduelle	12	0,2350	0,0196	-	-
Totale	15	1,0200	-	-	-

**Tableau 10.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) de la chitine dans la cuticule à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm s$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoin	DFB (16 ng/L)	DFB 1 $\mu$ g/L	RH-2485
24 H	58,46 $\pm$ 13,41a A	46,36 $\pm$ 10,13 b A	39,53 $\pm$ 13,21 c A	52,14 $\pm$ 13,21 d A
Continue	58,46 $\pm$ 13,41a A	44,76 $\pm$ 8,32 b A	30,64 $\pm$ 10,51 c B	40,24 $\pm$ 8,53 b B



**Figure 15.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux de chitine cuticulaire (%) chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 11.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux de chitine cuticulaire (%) dans la cuticule à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	114,31	114,31	127,22	<0,001
Insecticides	3	2228,18	742,73	826,62	<0,001
Insecticides X mode de traitement	3	111,52	37,17	41,37	<0,001
Erreur résiduelle	24	21,56	0,90	-	-
Totale	31	2475,57	-	-	-

### 3.1.2.2. Effet sur le taux des protéines cuticulaires

Les résultats de l'évolution du taux des protéines cuticulaires au cours d'un cycle de mue chez les animaux témoins sont rassemblés dans le tableau 12 et représentés dans la figure 16. Le taux des protéines cuticulaires diminuent au cours de la période allant du stade A ( $65,84 \pm 12,29$  %) jusqu'au stade C, pour atteindre une valeur de  $41,54 \pm 13,41$  %. Au stade D, on observe une légère augmentation du taux des protéines ( $43,26 \pm 14,60$  %). Une analyse de la variance à un critère de classification sur les données sur les protéines cuticulaires au cours du cycle de mue chez les crevettes témoins révèle une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les quatre stades (A, B, C, D) (Tableau 13). Le test de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade B, il y a une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre le stade A et le stade C et entre le stade A et le stade D, une différence entre le stade B et le stade C, le stade B et le stade D et aussi entre le stade C et le stade D (Tab. 12).

Pour les séries traitées exposées au DFB (16 ng/L et 1 $\mu$ g/L) et RH-2485 (24,54  $\mu$ g/L), le taux des protéines cuticulaires est déterminé pour les 2 modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 14 et Fig. 17).

On constate que le taux le plus élevé pour le mode de traitement de 24H est enregistré chez les crevettes traitées par le RH-2485 ( $67,11 \pm 10,33$  %). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent une augmentation hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les témoins et les 3 traitements ; témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485. Une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) a été notée entre les séries traitées par DFB (16 ng/L) et par les DFB (1 $\mu$ g/L) et entre ceux avec le DFB (1 $\mu$ g/L) et par le RH-2485, également entre les traitements par DFB (16 ng/L) et par le RH-2485 ( $P = 0,018$ ) (Tab. 14).

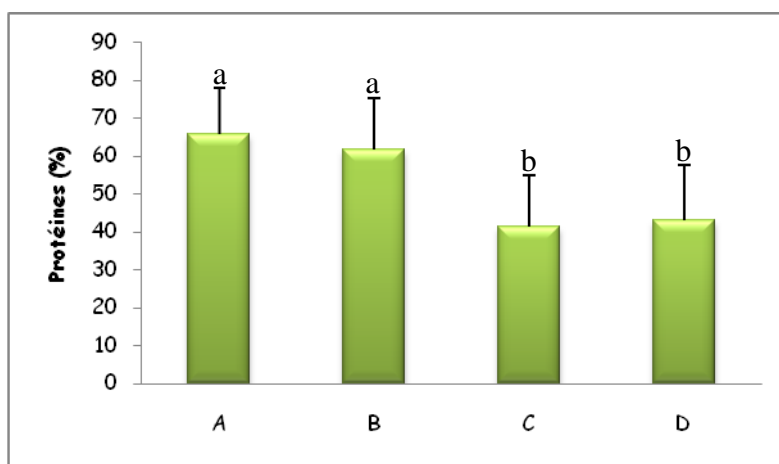
Au niveau du mode de traitement continu, on observe que la valeur maximale ( $73,76 \pm 8,94$  %) est également notée chez les traités par le RH-2485 (Tab. 14). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode continu, indiquent qu'il y a une augmentation hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les témoins et les 3 traitements : témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485. Pas de différence significative ( $P = 0,825$ ) entre les traités par le DFB (16 ng/L) et par le DFB (1  $\mu$ g/L). On note une hausse

hautement significative entre les traités par le DFB (16 ng /L) et les traités par le RH-2485 et aussi entre les traités par le (DFB 1µg/L) et les traités par le RH-2485 ( $P < 0,001$ ) (Tab. 14).

Enfin l'analyse de la variance a deux critères de calcification révèle des effets mode de traitement ( $F_{1,24} = 306,08$  ;  $P < 0,001$ ), effet insecticides ( $F_{3,24} = 1973,88$  ;  $P < 0,001$ ) et effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 46,31$  ;  $P < 0,001$ ) (Tab. 15).

**Tableau 12.** Taux (%) des protéines cuticulaires au cours des différents stades de mue chez *P. adspersus* témoins. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	Protéines (%)
A	65,84 ± 12,29 a
B	61,76 ± 13,63 a
C	41,54 ± 13,41 b
D	43,26 ± 14,60 b



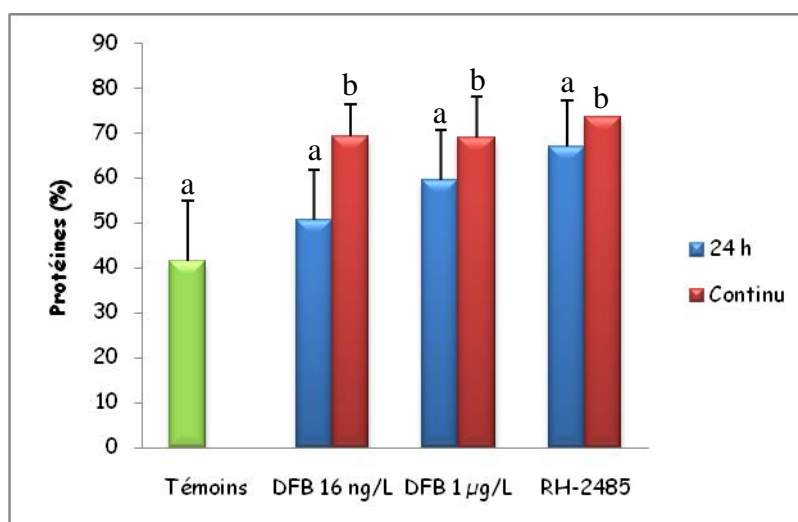
**Figure 16.** Taux (%) des protéines cuticulaires à différents stades du cycle de mue chez *P. adspersus* témoins ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 13.** Taux (%) de la chitine cuticulaires au cours des différents stades d'un cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	1,5850	0,5283	18,93	< 0,001
Erreur résiduelle	12	0,3350	0,0279	-	-
Totale	18	1,9200	-	-	-

**Tableau 14.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des protéines cuticulaires à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoin	DFB (16 ng/L)	DFB 1 $\mu\text{g/L}$	RH-2485
24 H	41,54 $\pm$ 13,41a A	50,84 $\pm$ 11,23 b A	59,52 $\pm$ 11,17 c A	67,11 $\pm$ 10,33 d A
Continue	41,54 $\pm$ 13,41a A	69,21 $\pm$ 10,45 b B	69,23 $\pm$ 7,24 b B	73,76 $\pm$ 8,94 c B



**Figure 17.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux des protéines cuticulaires (%) chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 15.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des protéines cuticulaires à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	213,06	213,06	306,08	< 0,001
Insecticides	3	4121,92	1373,97	1973,88	< 0,001
Insecticides X mode de traitement	3	96,71	32,24	46,31	< 0,001
Erreur résiduelle	24	16,71	0,70	-	-
Totale	31	4448,39	-	-	-

### 3.1.2.3. Effet sur le taux des sels calciques cuticulaire

L'évolution du taux des sels calciques au cours d'un cycle de mue chez les animaux témoins est rassemblée dans le Tableau 16 et représentés graphiquement dans la figure 18.

Le taux des sels calciques augment au cours de la période allant du stade A ( $30,26 \pm 3,43$  %) jusqu'au stade C, pour atteindre une valeur maximal de  $42,26 \pm 6,21$ %. Au stade D on observe une légère diminution du taux ( $40,02 \pm 5,44$  %). Une analyse de la variance à un critère de classification sur les données sur les sels calciques de la cuticule au cours du cycle de mue chez les crevettes témoins, révèle une différence hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre les quatre stades (A, B, C, D) (Tab. 17). Le test de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade B, une différence significative est enregistré ( $P < 0,05$ ) entre le stade A et le stade C et entre le stade A et le stade D. Il y a une augmentation significative entre le stade le stade B et le stade C, entre le stade B et le stade D, par contre on note une diminution non significative entre le stade C et le stade D ( $P > 0,05$ ) (Tab. 16).

Pour les séries traitées exposées au DFB (16 ng/L et 1 $\mu$ g/L) et RH-2485 (24,54  $\mu$ g/L) le taux des sels calciques est déterminé pour les 2 modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 18 et Fig. 19).

On observe que le taux le plus haut pour le mode de traitement de 24H est enregistré chez les crevettes traitées par le RH-2485 ( $44,11 \pm 11,33$ %). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent une augmentation non significative entre les témoins et les traitées par le DFB (16 ng/L), par le DFB (1 $\mu$ g/L) et par le RH-2485. On enregistre des variations non significatives entre les différents traitements (Tab. 18).

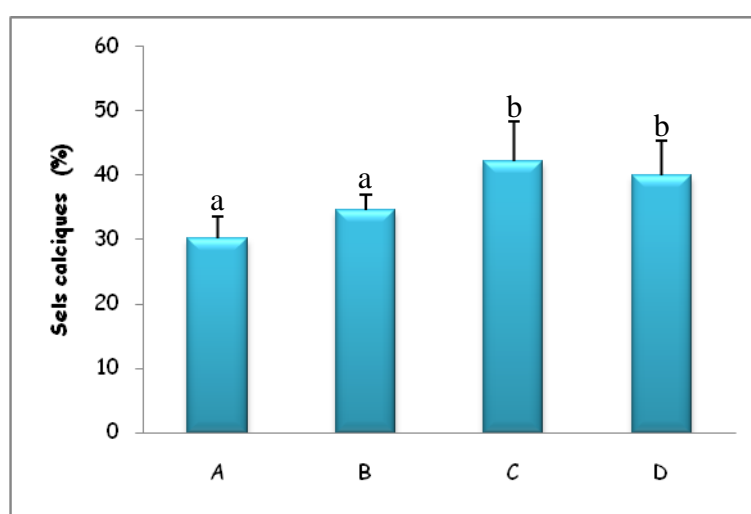
Au niveau du mode de traitement continu on observe que la valeur maximal ( $52,10 \pm 7,07$ %) est notée chez les traités par le RH-2485 et la valeur la plus basse est noté chez les traitées par le DFB (1 $\mu$ g/L) ( $30,83 \pm 7,26$  %). Les résultats obtenue chez les crevettes traitées par le mode continu, indiquent qu'il n'y a pas une différence significative ( $P > 0,05$ ) entre témoins et traités par le DFB (16 ng/L) mais il y a une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre témoins et traités par le DFB (1 $\mu$ g/L) et entre témoins et traitées par le RH-248. Il y a une différence significative ( $P < 0,05$ ), entre les traités par le DFB (16 ng/L) et par le DFB (1  $\mu$ g/L), entre les traités par le DFB (16 ng /L) et le RH-2485 et également entre les traités par le (DFB 1 $\mu$ g/L) et les traités par le RH-2485. (Tab. 18).

L'analyse de la variance a deux critères de calcification révèle qu'il n'y a pas d'effet mode de traitement ( $F_{1,24} = 0.80$  ;  $P = 0.381$ ); par contre, on enregistre un effet insecticides

( $F_{3,24} = 315.21$  ;  $P \leq 0,001$ ) et un effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 234.16$  ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab. 19).

**Tableau 16.** Taux (%) des sels calciques dans la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	Sels calciques (%)
A	30,26 ± 3,43 a
B	34,65 ± 2,34 a
C	42,26 ± 6,21 b
D	40,02 ± 5,44 b



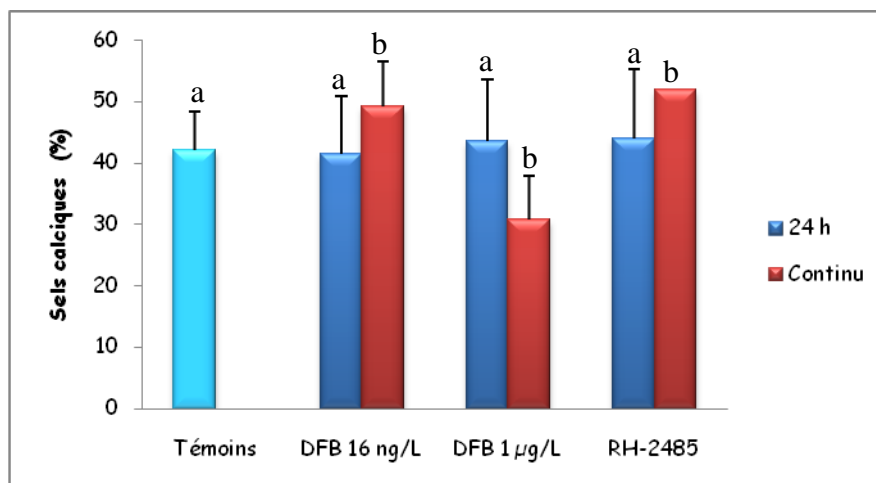
**Figure 18.** Taux (%) des sels calciques de la cuticule à différents stades du cycle de mue chez *P. adspersus* témoins ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 17.** Taux (%) des sels calciques de la cuticule au cours des différents stades d'un cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	0,9725	0,3242	12,75	< 0,001
Erreur résiduelle	12	0,3050	0,0254	-	-
Totale	15	1,2775	-	-	-

**Tableau 18.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux (%) des sels calciques dans la cuticule à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoins	DFB (16 ng/L)	DFB 1 µg/L	RH-2485
24 H	42,26 ± 6,21a A	41,64 ± 9,32 a A	43,62 ± 10,10 a A	44,11 ± 11,33 a A
Continue	42,26 ± 6,21a A	49,41 ± 12,04 a B	30,81 ± 7,21 b B	52,10 ± 7,07 c B



**Figure 19.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux des sels calciques (%) chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

**Tableau 19.** Effet du DFB et du MEF sur le taux (%) des sels calciques dans la cuticule à l'intermue chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	0,53	0,53	0,80	0,042
Insecticides	3	632,20	210,73	315,21	0,028
Insecticides X mode de traitement	3	469,64	156,55	234,16	< 0,001
Erreur résiduelle	24	16,05	0,67	-	-
Totale	31	1118,41	-	-	-

### 3.1.3. Effet sur les biomarqueurs

#### 3.1.3.1. Effet sur le taux du glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) a été dosé au niveau de la chair des individus témoins et traités. Il est déterminé selon la méthode de Weckberker & Cory (1988) à la fin du traitement (stade C). Il est exprimé en µM/mg de protéines. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 20 et la figure 20.

Le taux du GSH est de  $0,157 \pm 0,002 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines au stade A; il diminue progressivement jusqu'à attendre une valeur de  $0,138 \pm 0,024 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines au stade C puis il augmente au stade D  $0,164 \pm 0,043 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines. L'analyse de la variance à un critère de classification, indique une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les différents stades de mue (Tab. 21). Le test de Tukey indique qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade. Une différence significative ( $P < 0,05$ ) est enregistrée entre le stade B et le stade C, entre le stade B et le stade D et aussi entre le stade C et le stade D (Tab. 20).

Pour les séries traitées exposées au DFB  $16 \text{ ng}/\text{L}$  et  $1 \mu\text{g}/\text{L}$  et RH-2485 ( $24,54 \mu\text{g}/\text{L}$ ) le taux de GSH est déterminé pour les 2 modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 22 et Fig. 21).

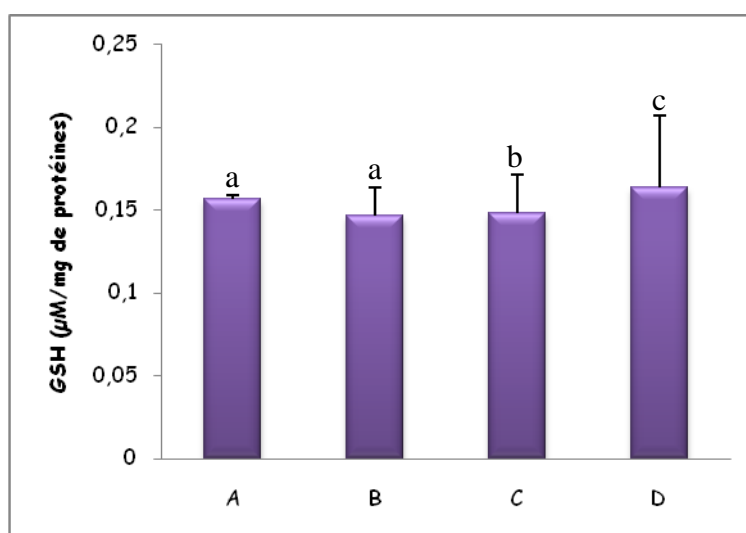
On note que le taux le plus bas pour le mode de traitement de 24H est enregistré chez les crevettes traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) ( $0,119 \pm 0,03 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les témoins et les traitées par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ), une diminution significative ( $P < 0,05$ ) entre témoins et les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et entre les témoins et les traitées par le RH-2485. Une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) entre les traitées par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ) et les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et entre les traitées par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ) et les traitées par le RH-2485. Une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) est enregistré entre les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et les traitées par le RH-2485 (Tab. 22).

Au niveau du mode de traitement continu on observe que la valeur la plus basse est noté chez les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) ( $0,094 \pm 0,04 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines). Les résultats obtenue chez les crevettes traitées par le mode continu, indiquent qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les témoins et les traités par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ), une diminution hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) est enregistré entre les témoins et les traitées par DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et entre les témoins et les traités par le RH-2485. On note une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre les traitées par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ) et les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et entre les traitées par le DFB ( $16 \text{ ng}/\text{L}$ ) et les traitées par le RH-2485 et aussi entre les traitées par le DFB ( $1 \mu\text{g}/\text{L}$ ) et les traitées par le RH-2485.

L'analyse de la variance a deux critères de classification révèle un effet mode de traitement ( $F_{1,24} = 63.82$  ;  $P \leq 0,001$ ), effet insecticides ( $F_{3,24} = 30.39$  ;  $P \leq 0,001$ ) et un effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 9.13$ ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab. 23).

**Tableau 20.** Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair au cours le cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	GSH
A	$0,157 \pm 0,002$ a
B	$0,147 \pm 0,017$ a
C	$0,138 \pm 0,024$ b
D	$0,164 \pm 0,043$ c



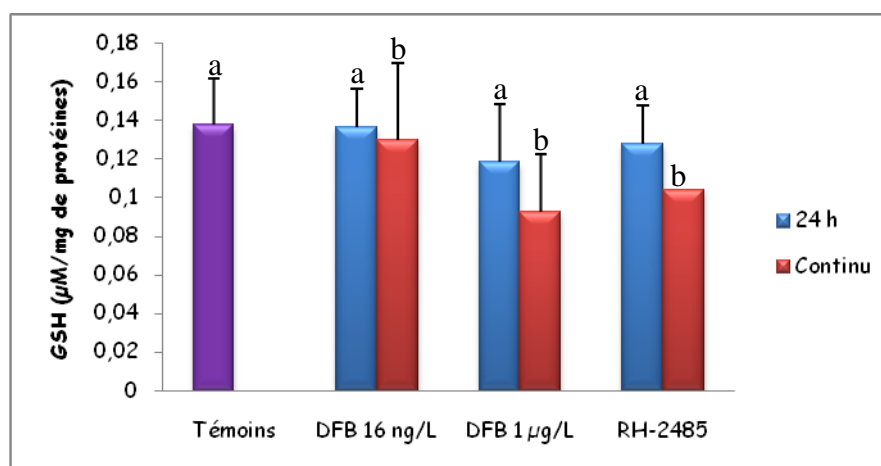
**Figure 20.** Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair au cours des stades d'un cycle de mue chez *P. adspersus* témoin ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 21.** Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair au cours du cycle de mue chez *P. adspersus* témoin. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	0,027827	0,009276	13,67	0,002
Erreur résiduelle	12	0,005430	0,000679	-	-
Totale	15	0,033258	-	-	-

**Tableau 22.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoins	DFB (16 ng/L)	DFB 1 µg/L	RH-2485
24 H	0,138 ± 0,02 a A	0,137 ± 0,02 a A	0,119 ± 0,03 b A	0,128 ± 0,02c A
Continue	0,138 ± 0,02 a A	0,131 ± 0,01a B	0,094 ± 0,04 b B	0,104 ± 0,03 c B



**Figure 21.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux GSH chez *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

**Tableau 23.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair de *P. adspersus* témoins et traités ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	0,0045840	0,0045840	63,82	< 0,001
Insecticides	3	0,0065486	0,0021829	30,39	< 0,001
Insecticides X mode de traitement	3	0,0019676	0,0006559	9,13	< 0,001
Erreur résiduelle	24	0,0017237	0,0000718	-	-
Totale	31	0,0148240	-	-	-

### 3.1.3.2. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) a été déterminée au niveau de la chaîne nerveuse des individus témoins et traités, elle est déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) à la fin du traitement qui a duré près de 10 jours (du stade A jusqu'au stade C dans des conditions de laboratoires). Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 24 et la figure 22.

Au cours du cycle de mue on remarque qu'il n'y a pas de variation significative de cette activité du stade A jusqu'au stade B. Au stade C, on enregistre une augmentation du taux

de l'AChE ( $0,035 \pm 0,003$  nM/min/mg de protéines), puis une diminution du taux l'AChE est enregistré au stade D. L'analyse de la variance à un critère de classification révèle qu'il a une différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les différents stades (Tab. 25). Le test de Tukey montre qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre le stade A et le stade B et entre le stade A et le stade D. Une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) est noté entre le stade A et le stade C et entre le stade B et le stade C. Il n'y a pas de différence entre le stade B et le stade D ( $P > 0,05$ ) et enfin une diminution significative est enregistrée entre le stade C et le stade D (Tab. 24).

Pour les séries traitées exposées au DFB (16 ng/L et 1 $\mu$ g/L) et RH-2485 (24,54  $\mu$ g/L) le taux de GSH est déterminé pour les 2 modes de traitements (24H et continu) à l'intermue (Tab. 26 et fig. 23).

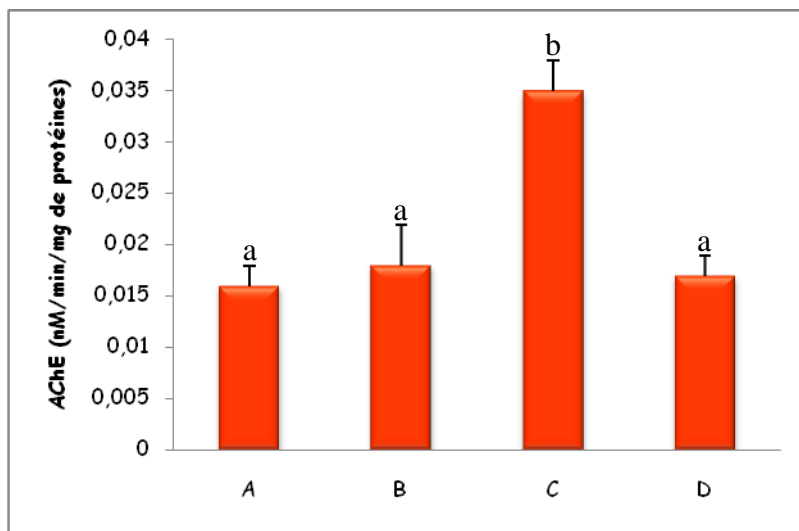
On note que le taux le plus bas pour le mode de traitement de 24H est enregistré chez les crevettes traitées par le DFB (1 $\mu$ g/L) ( $0,031 \pm 0,014$  nM/min/mg de protéines). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode 24H, révèlent qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les témoins et les 3 traitements (témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485). On note aussi qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les traitées par le DFB (16 ng/L) et les traitées par le DFB (1 $\mu$ g/L), entre les traitées par le DFB (16 ng/L) et les traitées par le RH-2485, entre les traitées par le DFB (1 $\mu$ g/L) et traitées par le RH-2485 (Tab. 26).

Au niveau du mode de traitement continu on observe que la valeur la plus basse est noté chez les traitées par le DFB (1 $\mu$ g/L) ( $0,027 \pm 0,013$  nM/min/mg de protéines) (Tab. 26). Les résultats obtenus chez les crevettes traitées par le mode continu, indiquent qu'il n'y a pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les témoins et les 3 traitements (témoins vs DFB (16 ng/L), témoins vs DFB (1 $\mu$ g/L), témoins vs RH-2485). Pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) entre les traitées par le DFB (16 ng /L) et les traitées par DFB (1  $\mu$ g/L), les traitées par le DFB (16 ng /L) et les traitées par le RH-2485, entre les traités par le DFB (1  $\mu$ g/L) et les traitées par le RH-2485.

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle qu'il n'a pas un effet mode de traitement ( $F_{1,24} = 6.58$  ;  $P = 0.077$ ) pas d'effet d'insecticides ( $F_{3,24} = 2.23$  ;  $P = 0.111$ ) et pas d'effet interaction mode de traitement/insecticides ( $F_{3,24} = 1.91$  ;  $P = 0.155$ ) (Tableau 27).

**Tableau 24.** Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez *P. adspersus* témoin au cours du cycle de mue ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à un critère de classification suivie du Test de Tukey: les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Stades	AChE (nM/min/mg de protéines)
A	0,016 $\pm$ 0,002 a
B	0,018 $\pm$ 0,004 a
C	0,025 $\pm$ 0,003 b
D	0,017 $\pm$ 0,002 a



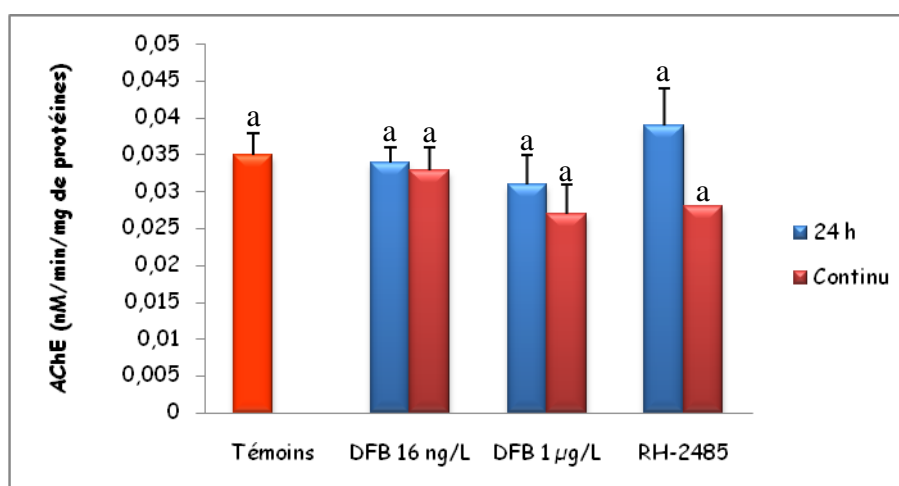
**Figure 22.** Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez *P. adspersus* témoin au cours du cycle de mue ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 25.** Activité spécifique (nM/min/mg de protéines) de l'acétylcholinestérase au niveau de la chaîne nerveuse chez *P. adspersus* témoin au cours du cycle de mue. Analyse de la variance à un critère de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Stades	3	0,0025390	0,0008463	35,48	0,012
Erreur résiduelle	8	0,0001908	0,0000239	-	-
Totale	11	0,0027298	-	-	-

**Tableau 26.** Effet du DFB et du RH-2485 sur le taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) dans la chair de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Mode de traitement	Témoin	DFB (16 ng/L)	DFB 1 $\mu\text{g}/\text{L}$	RH-2485
24 H	0,035 $\pm$ 0,003 a A	0,034 $\pm$ 0,002 a A	0,031 $\pm$ 0,004 a A	0,039 $\pm$ 0,005 a A
Continue	0,035 $\pm$ 0,003 a A	0,033 $\pm$ 0,007 a A	0,027 $\pm$ 0,003 a A	0,028 $\pm$ 0,004 a A



**Figure 23.** Effet du DFB et du MEF sur le taux AChE chez *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm SD$ ,  $n = 3-4$ ). (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 27.** Effet du DFB et du MEF sur le taux du glutathion ( $\mu M/mg$  de protéines) dans la chair de *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm s$ ,  $n = 3-4$ ). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Modes de traitement	1	0,0001950	0,0001950	6,58	0,017
Insecticides	3	0,0001983	0,0000661	2,23	0,111
Insecticides X mode de traitement	3	0,0001701	0,0000567	1,91	0,155
Erreur résiduelle	24	0,0007117	0,0000297	-	-
Totale	31	0,0012752	-	-	-

### 3.2. Effet du spiromesifen sur *Palaemon adspersus*

#### 3.2.1. Essai insecticide

Les tests de toxicité sont réalisés chez *P. adspersus* nouvellement exuviées avec différentes concentrations du spiromesifen (6, 12, 24,  $\mu g/L$ ). Le produit a été additionné à l'eau de mer d'élevage. La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 28 avec des taux variant de 15 % pour la dose 6  $\mu g/L$  à plus de 52 % pour la dose 24  $\mu g/L$  avec une relation dose-réponse. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle (tab. 29). Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tab. 30). Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tab. 31) qui révèle un effet dose significatif ( $P = 0,008$ ).

**Tableau 28:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées, sur le taux de mortalité observée ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 20 individus).

Répétitions	Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )			
	Témoins	6	12	24
1	5	15	25	60
2	10	10	40	40
3	10	20	35	55
$m \pm \text{SD}$	$8,33 \pm 2,89$	$15 \pm 5$	$33,33 \pm 7,64$	$51,67 \pm 10,41$

Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tab. 32).

**Tableau 29:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées, sur le taux de mortalité corrigée ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 20 individus).

Répétitions	Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )		
	6	12	24
1	14,74	25,26	62,11
2	8,89	42,22	42,22
3	20,00	36,67	58,89
$m \pm \text{SD}$	$14,54 \pm 5,56$	$34,72 \pm 8,65$	$54,41 \pm 10,68$

**Tableau 30:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 20 individus).

Répétitions	Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )		
	6	12	24
1	22,79	30	50,77
2	15,43	39,93	39,93
3	26,57	36,27	47,87
$m \pm \text{SD}$	$21,59 \pm 5,67$	$35,4 \pm 5,02$	$46,19 \pm 5,61$

**Tableau 31:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné a l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées. Analyse de la variance à un critère de classification des données transformées. ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n= 3$  répétitions comportant chacune 20 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	2	1088	543,9	11,89	0,008
Résiduelle	6	274,4	45,73	-	
Totale	8	1362,4			

Les concentrations létales ( $\text{CL}_{50}$  et  $\text{CL}_{90}$ ) sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression (Fig. 24) qui exprime le probit du pourcentage de la mortalité corrigée en

fonction du logarithme décimal des concentrations du spiromesifen (Tab. 33 et 34). Le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,995$ ) révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme des concentrations testées. Les  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  déterminées sont respectivement 19,13  $\mu\text{g/L}$  (intervalle de confiance : 9,197 -39,77) et 38,536  $\mu\text{g/L}$  (intervalle de confiance : 13,475 – 45,32), avec un slope de 0,1541 (Tab. 35).

**Tableau 32:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné à l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées. Transformation en probits des mortalités corrigées. ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 30 individus).

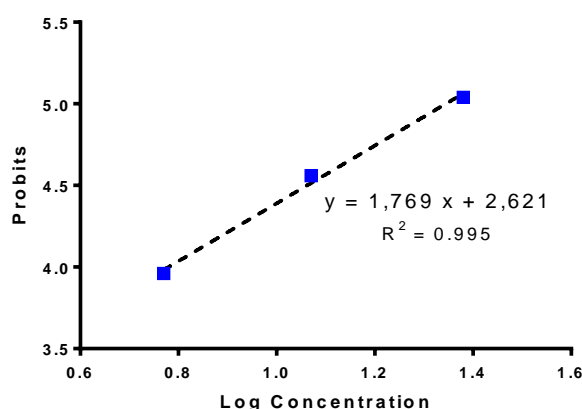
Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ )	6	12	24
mortalités corrigées	15	33,33	51,67
Probit	3,96	4,56	5,04

**Tableau 33:** Effet du spiromesifen ( $\mu\text{g/L}$ ) additionné à l'eau de mer chez *P. adspersus* nouvellement éluviées sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) en logarithmes décimaux. ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 30 individus).

Concentrations ( $\mu\text{g/L}$ )	6	12	24
Log concentrations	0,77	1,07	1,38

**Tableau 34:** Efficacité du spiromesifen additionné à l'eau de mer sur *P. adspersus* nouvellement éluviées, analyse des probits (IC: intervalle de confiance).

Droite de régression	$R^2$	Slope	$CL_{50}$ (IC)	$CL_{90}$ (IC)
$Y = 1,769 X + 2,621$	0,995	0,1541	19,13 9,197 -39,77	38,536 13,475 –45,32



**Figure 24.** Droite de régression exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tableau 35:** Toxicité du spiromesifen additionné à l'eau d'élevage de *P. adspersus* nouvellement éxuviées: détermination des concentrations létales et sublétales et létales (Logiciel GraphPad Prism).

CL (µg/L)	Valeur	Intervalle de confiance
CL <sub>10</sub>	4,21	0,66 - 26,61
CL <sub>25</sub>	8,98	3,43 - 23,47
CL <sub>50</sub>	19,13	9,19 - 39,77
CL <sub>90</sub>	38,54	13,47 - 45,32

### 3.2.2. Effets du spiromesifen sur la glutathion S-transférase

Le dosage de la GST a été réalisé au niveau de la chair de *P. adspersus* nouvellement éxuviée a 0, 4, 8 et 12 jours pour les séries témoins et traitées (CL<sub>10</sub> et CL<sub>25</sub>). Les résultats concernant l'évolution de l'activité de la GST sont représentés dans le Tableau 36 et la figure 25.

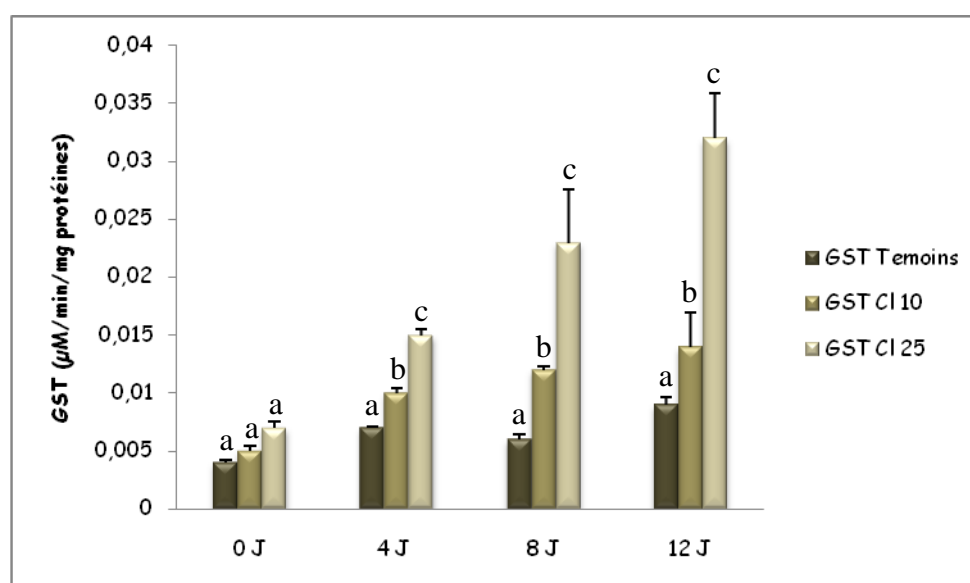
Dans les conditions normales (témoins), enregistre de variation non significative ( $P > 0,05$ ) au niveau de l'activité de la GST. La valeur la plus faible est enregistrée a 0 jours tandis que la valeur la plus élevée est enregistrée a 12 jours ( $0,009 \pm 0,007 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  de protéines).

Le traitement par le spiromesifen à la CL<sub>10</sub> a provoqué une augmentation significative ( $P \leq 0,05$ ) à 4, 8 jours de traitement. L'activité de la GST à 12 jours pour la CL<sub>10</sub> est de l'ordre de ( $0,009 \pm 0,007 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  de protéines) chez les témoins et atteint ( $0,014 \pm 0,0005 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  de protéines). Chez les séries traitées par le spiromesifen à la CL<sub>25</sub> l'activité de la GST augmente de manière hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) à 4, 8 et 12 jours de traitement également pour atteindre une valeur maximal de ( $0,032 \pm 0,004 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$  de protéines).

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet Jours ( $F_{3,48} = 48,96$ ;  $P < 0,001$ ), un effet Concentrations ( $F_{2,48} = 35,08$ ;  $P \leq 0,001$ ) et un effet interaction temps x concentrations ( $F_{6,48} = 11,54$ ;  $P < 0,001$ ) (Tab. 37).

**Tableau 36:** Effet du spiromesifen (CL<sub>10</sub>= 4,21 µg /L et CL<sub>25</sub>= 8,98 µg /L) sur l'activité de la GST (µM/min/mg protéines) aux différents jours de traitement chez *P. adspersus* témoins et traitées ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 4$ ). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Concentrations	Temps			
	0	4	8	12
Témoins	0,004 ± 0,0002 a A	0,007 ± 0,0001 a A	0,006 ± 0,0006 a A	0,009 ± 0,0007 a A
CL <sub>10</sub>	0,005 ± 0,0004 a A	0,010 ± 0,0004 b B	0,012 ± 0,0003 b B	0,014 ± 0,0005b B
CL <sub>25</sub>	0,007 ± 0,0006 a A	0,015 ± 0,0005 b C	0,023 ± 0,004 c C	0,032 ± 0,004 d C



**Figure 25.** Effet du spiromesifen sur l'activité du GST ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  protéines) chez *Palaemon adspersus*. (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 37.** Effet du spiromesifen sur l'activité du GST ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  protéines) chez *Palaemon adspersus*. Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	3	0,0010835	0,0003612	48,96	< 0,001
Concentrations	2	0,0005175	0,0002588	35,08	< 0,001
Temps X Concentrations	6	0,0005106	0,0000851	11,54	< 0,001
Erreur résiduelle	48	0,0003541	0,0000074	-	-
Totale	59	0,0024656	-	-	-

### 3.2.3. Effets du spiromesifen sur l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'AChE est réalisé au niveau de chaîne nerveuse ventrale de *P. adspersus* nouvellement éxuvée à 0, 4, 8 et 12 jours pour les séries témoins et traitées (CL<sub>10</sub>

et CL<sub>25</sub>). Les résultats concernant l'évolution de l'activité de l'AChE sont représentés dans le tableau 38 et la figure 26.

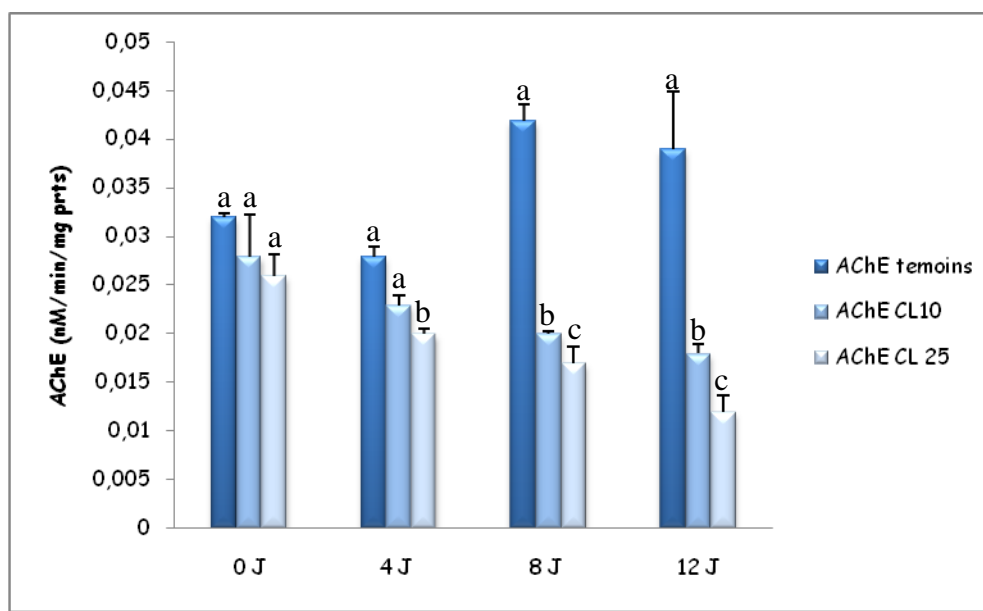
Les résultats obtenus chez les crevettes témoins indiquent qu'il y a une variation significative ( $P < 0,05$ ) au niveau de l'activité de l'AChE. La valeur la plus faible est enregistrée à 4 jours ( $0,028 \pm 0,001$  nM/min/mg protéines).

L'application du spiromesifen se traduit par une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) de l'activité de l'AChE. Les valeurs obtenue à 12 jours de traitement ont diminué jusqu'à ( $0,018 \pm 0,009$  nM/min/mg protéines de protéines) à la CL<sub>10</sub> et ( $0,012 \pm 0,0016$  nM/min/mg protéines) a la CL<sub>25</sub> par rapport a la série témoin ( $0,039 \pm 0,006$  nM/min/mg protéines). A 8 jours on note également une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) de l'activité de l'AChE, ( $0,020 \pm 0,003$   $\mu$ M/mn/mg de protéines) a la CL<sub>10</sub> et ( $0,017 \pm 0,001$  nM/min/mg protéines) a la CL<sub>25</sub> comparativement aux témoins ( $0,042 \pm 0,002$  nM/min/mg protéines). Tandis qu'il n'y a pas de différence entre témoins et traitées aux deux concentrations a 0. A 4 jours aucune différence est enregistrée entre témoins et traitées à la CL<sub>10</sub> par contre on noté une différence significative entre les témoins et les traitées a la CL<sub>25</sub> et entre les traitées aux deux concentrations.

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet Jours ( $F_{3,48} = 10,24$ ;  $< 0,001$ ), un effet Concentrations ( $F_{2,48} = 7,70$ ;  $P = 0,001$ ) et un effet temps x concentrations ( $F_{6,48} = 3,71$  ;  $P = 0,004$ ) (Tab. 39).

**Tableau 38:** Effet du spiromesifen (CL<sub>10</sub>= 4,21 $\mu$ g /L et CL<sub>25</sub>= 8,98  $\mu$ g /L) sur l'activité de l'AChE (nM/min/mg protéines) aux différents jours de traitement chez *P. adspersus* témoins et traitées (m  $\pm$  SD, n = 4). Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Concentrations	Temps			
	0	4	8	12
Témoin	0,032 $\pm$ 0,001 a A	0,028 $\pm$ 0,001 a A	0,042 $\pm$ 0,002 b A	0,039 $\pm$ 0,006 b A
CL <sub>10</sub>	0,028 $\pm$ 0,004 a A	0,023 $\pm$ 0,001 b A	0,020 $\pm$ 0,003 b B	0,018 $\pm$ 0,009 c B
CL <sub>25</sub>	0,026 $\pm$ 0,002 a A	0,020 $\pm$ 0,006 b B	0,017 $\pm$ 0,001 c C	0,012 $\pm$ 0,0016 d C



**Figure 26.** Effet du spiromesifen sur l'activité de l'AChE (nM/min/mg protéines) chez *Palaemon adspersus*. (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 39.** Effet du spiromesifen sur l'activité de l'AChE (nM/min/mg protéines) chez *Palaemon adspersus*. Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	3	0,0010031	0,0003344	10,24	< 0,001
Concentrations	2	0,0005026	0,0002513	7,70	< 0,001
Temps X concentrations	6	0,0007273	0,0001212	3,71	0,004
Erreur résiduelle	48	0,0015668	0,0000326	-	-
Totale	59	0,0037998	-	-	-

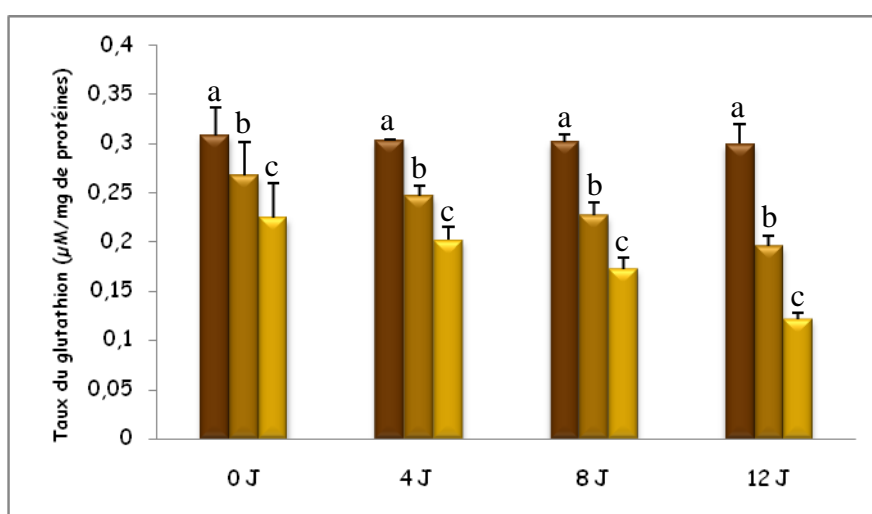
### 3.2.4. Effets du spiromesifen sur le taux du glutathion

Le taux de GSH chez les individus témoins indique qu'il y a une diminution non significative ( $P > 0,05$ ) du jour 0 au jour 12. On note une diminution significative ( $P < 0,05$ ) du taux de GSH à 0 jour de traitement à la CL<sub>10</sub> et CL<sub>25</sub>. Le taux de GSH continu de diminué significativement ( $P < 0,05$ ) jusqu'à atteindre les valeurs les plus basse a 12 jours de traitement à la CL<sub>10</sub> ( $0,1963 \pm 0,011 \mu\text{M/mg}$  de protéines) comme à la CL<sub>25</sub> ( $0,122 \pm 0,007 \mu\text{M/mg}$  de protéines) (Tab. 40 et Fig. 27).

L'analyse de la variance révèle des effets Jours ( $F_{3,48} = 65,35$  ;  $P \leq 0,001$ ), un effet Concentrations ( $F_{2,48} = 136,49$  ;  $P \leq 0,001$ ) ainsi qu'un effet interaction temps x concentrations ( $F_{6,48} = 14,34$  ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab. 41).

**Tableau 40.** Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *P. adspersus*. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Concentrations	Temps			
	0	4	8	12
Témoins	$0,309 \pm 0,028$ a A	$0,303 \pm 0,001$ a A	$0,302 \pm 0,008$ a A	$0,300 \pm 0,020$ a A
CL <sub>10</sub>	$0,268 \pm 0,034$ a B	$0,247 \pm 0,011$ b B	$0,227 \pm 0,014$ c B	$0,196 \pm 0,011$ d B
CL <sub>25</sub>	$0,225 \pm 0,035$ a C	$0,202 \pm 0,013$ b C	$0,173 \pm 0,012$ c C	$0,122 \pm 0,007$ d C



**Figure 27.** Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *Palaemon adspersus*. (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 41.** Effet du spiromesifen sur le taux du GSH ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *Palaemon adspersus*. Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	3	0,150859	0,050286	65,35	< 0,001
Concentrations	2	0,048153	0,024076	136,49	< 0,001
Temps x concentrations	6	0,031705	0,005284	14,34	< 0,001
Erreur résiduelle	48	0,008842	0,000368		
Totale	59	0,239559			

### 3.2.5. Effets du spiromesifen sur les taux de lipides totaux corporels

Le dosage du taux des lipides chez la crevette a été réalisé au niveau de la chair. La teneur en lipides totaux corporels a été estimée chez les séries témoins et traitées (CL<sub>10</sub> et

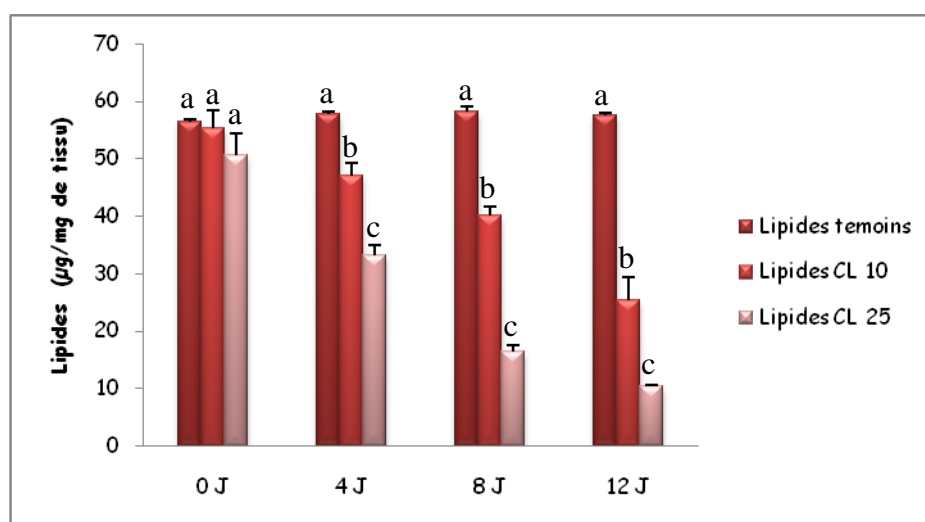
CL<sub>25</sub>) à différents jours de traitement (Tab. 42 et Fig. 28). Les résultats enregistrés chez crevettes témoins indiquent une variation non significative du taux de lipides corporels de 0 à 12 jours.

Pour les séries traitées, le spiromesifen réduit de manière significative la teneur en lipides totaux des crevettes au cours de traitement (0, 4, 8 et 12 jours). Le taux le plus bas est enregistré chez les traités à la CL<sub>25</sub> à 12 jours ( $10,50 \pm 0,23 \mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu).

L'analyse de la variance révèle des effets hautement significatifs jours ( $F_{3,48} = 22,83$  ;  $P \leq 0,001$ ), concentrations ( $F_{2,48} = 1064,64$  ;  $P \leq 0,001$ ) et interaction temps x concentrations ( $F_{6,48} = 157,58$  ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab. 43).

**Tableau 42.** Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez *Palaemon adspersus*. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Concentrations	Temps			
	0	4	8	12
Témoins	$56,57 \pm 0,36$ a A	$57,95 \pm 0,47$ a A	$58,28 \pm 0,86$ a A	$57,60 \pm 0,47$ a A
CL <sub>10</sub>	$55,44 \pm 3,06$ a A	$47,10 \pm 2,20$ b B	$40,25 \pm 1,63$ c B	$25,43 \pm 4,11$ d B
CL <sub>25</sub>	$50,80 \pm 3,72$ a A	$33,278 \pm 1,78$ b C	$16,61 \pm 1,09$ c C	$10,50 \pm 0,23$ d C



**Figure 28.** Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez *Palaemon adspersus*. (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 43.** Effet du spiromesifen sur le taux des lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de tissu) chez *Palaemon adspersus*. Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	3	7888,7	2629,6	592,35	< 0,001
Concentrations	2	9452,4	4726,2	1064,64	< 0,001
Temps x concentrations	6	4197,2	699,5	157,58	< 0,001
Erreur résiduelle	48	213,1	4,4	-	-
Totale	59	21751,4	-	-	-

### 3.2.6. Effets du spiromesifen sur le taux de malondialdéhyde

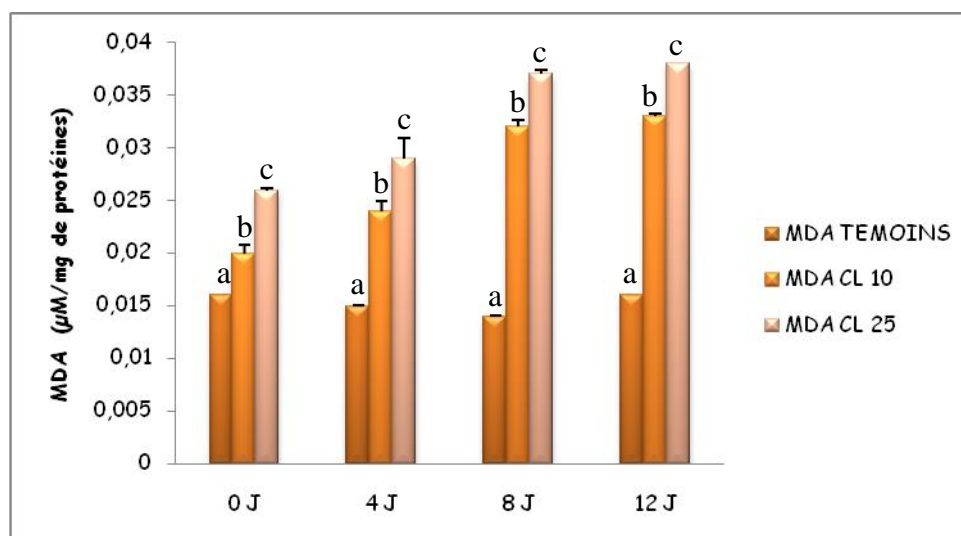
Les taux de malondialdéhyde (MDA) ont été déterminés au niveau de la chair chez les séries témoins et traitées selon la méthode de Draper & Hadley (1990). Les résultats sont représentés dans le Tableau 44 et la figure 29.

Chez les témoins, le taux de MDA ne varie pas significativement ( $p > 0,05$ ) au cours du temps. Tandis que les résultats obtenus chez les séries traitées à la  $CL_{10}$  et  $CL_{25}$  montrent une augmentation significative immédiate à 0 jour (quelques heures seulement après traitement) ( $p < 0,05$ ). A 4 et 8 jours les taux continuent à augmenter d'une manière très significative ( $p < 0,01$ ) avec la  $CL_{10}$  et la  $CL_{25}$ . Finalement à 12 jours le taux de MDA se stabilise chez les traitées par les deux concentrations.

L'analyse de la variance montre un effet Jours hautement significatif ( $F_{3,48} = 275,07$ ;  $P \leq 0,001$ ); les résultats indique également un effet concentration ( $F_{2,48} = 384,87$ ;  $P \leq 0,001$ ) et un effet interaction temps x concentrations ( $F_{6,48} = 90,37$ ;  $P \leq 0,001$ ) (Tab.45).

**Tableau 44.** Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *Palaemon adspersus*. Les moyennes affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $P > 0,05$ ).

Concentrations	Temps			
	0	4	8	12
Témoins	0,016 $\pm$ 0,008 a A	0,015 $\pm$ 0,004 a A	0,014 $\pm$ 0,008 a A	0,016 $\pm$ 0,005 a A
$CL_{10}$	0,020 $\pm$ 0,001 a B	0,024 $\pm$ 0,001 b B	0,032 $\pm$ 0,001 c B	0,033 $\pm$ 0,0003 c B
$CL_{25}$	0,026 $\pm$ 0,0002 a C	0,029 $\pm$ 0,002 b C	0,037 $\pm$ 0,0005 c C	0,038 $\pm$ 0,009 c C



**Figure 29.** Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *Palaemon adspersus*. (Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes,  $P > 0,05$ ).

**Tableau 45.** Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) chez *Palaemon adspersus*. Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, concentrations).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	3	0,0004487	0,0001496	275,07	< 0,001
Concentrations	2	0,0004185	0,0002093	384,87	< 0,001
Temps x concentrations	6	0,0002948	0,0000491	90,37	< 0,001
Erreur résiduelle	48	0,0000261	0,0000005	-	-
Totale	59	0,0011881	-	-	-

# **DISCUSSION**

#### 4- Discussion

Suite au lessivage des terres agricoles par les pluies, les pesticides et les produits phytosanitaires se répandent dans les milieux aquatiques (Freitas *et al.*, 2012 ; Fang *et al.*, 2013) contaminant ainsi les organismes marins non visés. Il été intéressant d'étudier les effets secondaires de certains insecticides sélectifs sur les Arthropodes aquatiques non ciblés. les Arthropodes sont des constituants écologiques essentiels des milieux marins et jouent un rôle crucial dans la chaîne trophique intermédiaire (Janas & Bruska, 2010 ; Seitz *et al.*, 2013 ; Solari *et al.*, 2017).

Les Arthropodes présentent une grande variété d'espèces, adaptées à la survie dans presque n'importe quel habitat, couvrant la terre, la mer, l'eau douce et l'air (Fabritius *et al.*, 2009 ; Fabritius *et al.*, 2011 ; Kunkel *et al.*, 2012). Les Crustacés appartiennent à ce phylum qui possède un exosquelette rigide jouant le rôle d'une barrière sélective entre le milieu intérieur et l'environnement (Hartnoll, 1982 ; Prabu & Natarajan, 2012 ; Nagasawa, 2012). Cet exosquelette est multifonctionnel : il empêche la déshydratation et la perte des ions (Roer, 2015), soutient le corps, assure la défense contre les prédateurs, protège l'animal des maladies infectieuses, assure la locomotion, permet la réception de stimuli externes tels que les produits chimiques et la température (Neville, 1975 ; Sanchez, 2005 ; Nagasawa, 2012).

Chez les Crustacés, comme chez tous les Arthropodes, l'exosquelette est rejeté périodiquement et reconstruit selon un processus biologique d'importance vitale tout au long de leur vie, qui est régulée par un système complexe multi-hormonal (Meng & Zou, 2009 ; Kuballa, 2011 ; Lv, 2017) et influencé par plusieurs facteurs environnementaux (Weis, 2014). Ce processus est connu sous le nom de mue ou exuviation, permettant ainsi la croissance, la régénération des tissus et le développement des gonades (Skinner, 1985 ; Chang, 1995). Ce phénomène est accompagné d'une série de modifications tissulaires et comportementales (Wang *et al.*, 2003).

Un haut degré de similitude en ce qui concerne l'histologie, l'ultrastructure, la fonction et la composition de la cuticule a été démontré entre les insectes et les crustacés tels que les pancrustacés (Mrak *et al.*, 2014 ; Roer, *et al.*, 2015). D'autres travaux ont démontré après l'isolement de l'hormone de mue chez l'homard, *Jasus lalandei*, que cette hormone est

similaire à l'hormone de mue des insectes (20-hydroxyecdysone) (Hampshire & Horn, 1966). Ainsi, l'hormone de mue est commune entre les insectes et les Crustacés (Nagasawa, 2012).

La présente recherche a été envisagée afin de tester chez un organisme non visé *P. adspersus* les effets secondaires de trois molécules avec des modes d'actions différents. Le dimilin et le méthoxyfénoside des IGRs (Staal, 1982) qui présentent une haute spécificité et une faible toxicité à l'égard des auxiliaires et des Vertébrés (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010 ; Pener & Dhadialla, 2012 ; Tiwari *et al.*, 2012). Ils ont fait l'objet d'une étude qui évolue leur impact sur le poids corporel des crevettes, la composition biochimique de la cuticule et sur la réponse de deux biomarqueurs: du stress environnemental, le glutathion (GSH), et de neurotoxicité l'acétylcholinestérase (AChE). Le spiromesifen un insecticide sélectif moins toxique et plus spécifique, capables d'interférer spécifiquement sur le développement des insectes (Dhadialla *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009). On a examiné sa toxicité et son impact sur la biochimie et sur l'activité des biomarqueurs.

Le diflubenzuron est le premier représentant commercialisé de la classe de benzoylphenyl urée (BPU). C'est un inhibiteur de la synthèse de la chitine (Soltani *et al.*, 1993 ; Soltani *et al.*, 2009 ; Merzendorfer, 2013) qui se caractérise par son mode d'action qui perturbe la formation de la chitine (Ishaaya & Casida, 1974 ; Ishaaya, 1990 ; Chebira *et al.*, 2006) et produit des modifications dans la structure cuticulaire (Morsli & Soltani, 2003 ; Weis, 2014 ; Taylor, 2015) et trouble aussi l'activité normale du système endocrine, affectant ainsi, la reproduction et la métamorphose des insectes ciblés (Dhadialla *et al.*, 1998, 2005). Il en résulte que les insectes affectés meurent lors de la mue suivante. Benzoylphénylurée sont considérés comme hautement nocifs pour les stades larvaires de quelque insectes, car ils sont rapidement absorbés par leur cuticules (Medina *et al.*, 2003a ; Schneider *et al.*, 2004). Des résultats similaires indiquent aussi que le DFB à faibles doses n'affecte que les larves de crustacés (Antia *et al.*, 1985 ; Cunningham, 1986 ; Fischer & Hall, 1992). Sanchez-Fortun *et al.* (1995) confirme que les stades larvaires des crustacés sont plus sensibles à une variété d'insecticides par rapport aux adultes. Des travaux faits sur la crevette grise *Palaemonetes pugio*, affirme que la CL<sub>50</sub> du DFB chez les larves été de 1,44 mg/L, alors que chez les adulte la CL<sub>50</sub> été de l'ordre de 200 mg/L (Wilson & Costlow 1987). Macken *et al.* (2015), ont enregistré un taux élevés de mortalité d'un copépode marin exposé a une faible dose de 32 ng/L de DFB. La toxicité du DFB a été étudiée chez les larves de crabe (Christiansen *et al.*, 1978) et de nombreux crustacés (Eisler, 1992). Dans une expérience en eau douce, un déclin

immédiat des populations de crustacés a été enregistré lorsque le DFB a été appliqué à la surface du lac (Ali & Mulla, 1978). Au niveau du Laboratoire de Biologie Animal Appliquée, des études montrent que le DFB peut avoir des effets néfastes sur les organismes aquatiques (Morsli, 2003 ; Sotani *et al.*, 2009 ; Zaidi & Soltani, 2011 ; Zaidi & Soltani, 2013 ; Zaidi *et al.*, 2013 ; Morsli, 2015).

Le méthoxyfénozide (RH-2485) est un PCI (= Perturbateur de Croissance des Insectes) appartient au groupe des agonistes et inhibiteurs de l'hormone de mue, il accélèrent le processus de mue des insectes (Tirello *et al.*, 2013) et interféré avec le récepteur de l'hormone mue, induisant une mue précoce et incomplètes (Dhadialla *et al.*, 2005 ; Hami *et al.*, 2005 ; Gelbic *et al.*, 2011 ; Smaghe *et al.*, 2013 ; Ono *et al.*, 2017). Il a été démontré que le méthoxyfénozide agissait de la même manière que la 20E endogène fixent aux récepteurs nucléaires EcR spécifiques de l'ecdysone des cellules épidermales (Riddiford *et al.*, 2000 ; Beckage *et al.*, 2004 ; Dhadialla *et al.*, 2005; Paul *et al.*, 2006 ; Henrich, 2011) empêchant l'expression des gènes normalement activés en l'absence de l'ecdysone endogène (l'action de l'hormone ecdysone naturelle est limitée dans le temps) (Wing *et al.*, 1988 ; Retnakaran *et al.*, 1995). Le méthoxyfénozide Spécifiques aux Lépidoptères (Dhadialla *et al.*, 2010 ; Smaghe *et al.*, 2012) et toxiques après ingestion ou application topique à des doses élevées (Hsu, 1991). L'effet commence par l'arrêt d'alimentation pendant 3 à 14 h (Retnakaran *et al.*, 1997), ce qui est très important pour prévenir des dommages aux cultures.

Le troisième insecticide est le spiromesifen qui est un dérivé des acides tétroniques, plus précisément un kétoenol; il a un mode d'action spécifique car agit il inhibe la biosynthèse des lipides (Bretschneider *et al.*, 2003) chez les insectes nuisibles (Nauen *et al.*, 2002 ; Liu 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005). Il est conseillé dans les programmes de gestion et de surveillance de la résistance aux insecticides (Guthrie *et al.*, 2003 ; Horowitz & Ishaaya, 2004 ; Nauen & Konanz, 2005 ; Ishaaya & Horowitz, 2007) tout en respectant l'environnement (Nicolaus *et al.*, 2005 ; Sharma *et al.*, 2007). Il se décompose rapidement dans le sol (Babczynski & Arthur, 2005) et dans l'eau (Vieira, 2009). Sa toxicité est évalué comme faible pour les Arthropodes non ciblés (Nicolaus *et al.*, 2005) comme les abeilles (Nauen *et al.*, 2002 ; Nicolaus *et al.*, 2005) et les bourdons (Bielza *et al.*, 2005).

#### **4.1. Effet du dimilin et du méthoxyfénozide sur *P. adspersus***

##### **4.1.1. Effet sur le poids corporel de *P. adspersus***

La croissance des individus est l'une des principales caractéristiques de la plupart des organismes. C'est un élément important qui nous informe sur les conditions physiques des individus et peut avoir un impact direct sur le succès des populations (Wo, 1999). La croissance a été utilisée comme indicateur du stress de pollution chez les vertébrés marins (Widdows, 1995), est peu varier suite a des modifications environnemental (la température, la disponibilité des aliments, salinité de l'eau) (weis, 2014). Chez les Arthropodes la croissance augmente principalement pendant les stades larvaires, une fois adultes les insectes arrête de croitre (Dennell, 1943, 1946 et 1947 ; Delachambre, 1970). La plupart des variations de croissance chez les crustacés sont liés au cycle de la mue, les petits individus (larves) doivent muer fréquemment pour atteint leur taille maximale (adultes) (Weis, 2014).

Dans notre travail le poids a été mesuré à chaque stade du cycle de mue chez les crevettes témoins. Tandis que le poids des individus traités par le DFB et RH-2485 a été mesuré au stade C. Les résultats obtenus chez les séries témoin montrent que le poids le plus bas a été enregistré a la postemue (stade A et B) augmente progressivement pour attendre une valeur maximale a l'intermue (stade C). Par la suit en remarque une réduction du poids des crevettes a la prémue (stade D).

Ziegler *et al.*, (2005) ont enregistré, tout au long du cycle de mue, des variations de croissance chez le crabe *P. trituberculatus*. La cuticule à la poste mue (stade A et B) n'est pas encore calcifiée; chez les Crustacés aquatiques la calcification ajoute du poids à l'organisme (Nagasawa, 2012). Cela explique que le poids le plus bas est noté aux stades A et B tandis que le plus élevé est enregistré au stade C.

La croissance est le résultat final d'un certain nombre de processus, y compris l'apport alimentaire et l'énergie du métabolisme. Dans notre expérience, nous avons remarqué que les Crevettes à la fin de la prémue (stade D) cessent de s'alimenter suite au stresse subit par l'exuviation. Ceci engendre la chute du poids. Après la mue, les crevettes reprennent l'alimentation jusqu'au prochain stade de prémue (Anger, 2001).

Allan *et al.* (1995) ont remarqué que la croissance est plus rapide lorsque les crevettes augmentent leur taux d'alimentation. Weis (2014) mentionne aussi qu'une baisse de croissance est souvent renvoyée à un apport alimentaire réduit. D'autres travaux indiquent l'augmentation du taux d'alimentation avait un effet négatif sur l'efficacité alimentaire; les

Crevettes ne pouvaient pas utiliser efficacement les nutriments excédentaires pour la croissance, un taux d'alimentation élevé entraînant une mauvaise qualité de l'eau et cela pourrait réduire la croissance des crevettes (Partridge & Jenkins, 2002). Le dimorphisme sexuel apporte aussi des variations de croissance, Gheid, (2015) a noté que le poids des femelles est plus important que celui enregistré chez les mâles de *P. kerathurus*. Des résultats similaires sont rapportés par Bezzazel (2001) et Ghorab (2002) sur la biométrie chez la même Crevette.

Lorsqu'un organisme est affecté par une pollution, il réduit son alimentation et doit dépenser ses réserves énergétiques pour se défendre contre ces contaminants en déclenchant le système de détoxification (Lucas & Beninger, 1985 ; Nicholson & Lam, 2005). C'est ce qui conduit à un abaissement de la croissance (weiss, 2014). En muant, les crustacés pourraient être en mesure de se débarrasser des contaminants qui sont présent dans leur exosquelette (Keteles & Fleeger 2001 ; Bergey & Weiss, 2007). Les IGRs utilisés actuellement sont très toxiques pour l'évolution de croissance des crustacés (Weiss, 2014). En plus du mode d'action du DFB qui interfère avec la synthèse de la chitine et engendre des perturbations dans la structure et la composition cuticulaire (Weiss, 2014), il a été prouvé que le DFB a des effets néfastes sur la croissance des crustacés (Macken *et al.*, 2012).

Nos résultats révèlent qu'au niveau des deux modes de traitements : 24h et continu, il y a une diminution du poids chez tous les individus traités par les différentes doses d'insecticides. Le poids le plus bas a été enregistré chez les crevettes exposées au DFB à une dose de 1µg/L. Le traitement par le mode continu affecte plus les poids corporels des crevettes comparativement au mode de 24h.

Des travaux sur un organisme aquatiques, affirme que le DFB affecte la croissance des juvéniles de *Gambusia affinis* (Drardja-Beldi & Soltani, 2003). Zaidi & Soltani, (2013), enregistrent que le traitement avec le DFB n'a pas d'effet significatif sur la croissance chez les femelles de la même espèce. Colwell & Schaeffer, (1983) ont rapporté que le traitement des étangs avec du SIR-8514 un IGR, n'avait aucun effet significatif sur la croissance des poissons adultes.

Hook *et al.*, (2018) observe que les Crevettes traitées par l'insecticide imidaclopride, arrêtent leur alimentation ce qui induit une baisse de croissance. Même résultats ont été

enregistré chez les amphipodes exposés au même insecticide, une fois transféré dans de l'eau non contaminé les amphipodes reprennent leurs alimentation (Agatz *et al.*, 2014 ; Nyman *et al.*, 2013). Le traitement de *P. kerathurus* par la DL<sub>90</sub> de l'halofénoside (un agoniste de l'hormone de mue) engendre une diminution hautement significative du coefficient de condition chez les femelles, les mâles présentent aussi une réduction significative à la même dose aux stades C et D. (Gheid, 2015).

Les Crustacés, dont l'affiliation phylogénique avec les insectes est forte, montrent une grande sensibilité aux insecticides (Coppage & Matthews, 1974 ; Bocquené *et al.*, 1997 ; Bocquené & Galgani, 1998), c'est ce qui nous a permis de comparer nos résultats avec des travaux sur des insectes.

Des travaux ont indiqué que le traitement des larves de *Spodoptera littoralis* (les papillons de nuit) avec du RH-2485 provoque une diminution de leurs poids (Pineda *et al.*, 2007). Gobbi *et al.* (2000) ont observé après un traitement de 48h avec le tébufénoside (mimétique de l'hormone de mue) entraîne une réduction de 55 et 74% du poids de *Mythimna unipuncta* et *S. littoralis* respectivement. Un traitement de 48h avec le RH-2485 réduit jusqu'à 60% du poids des larves de *Diatraea grandiosella* (Trisyono & Chippendale, 1998). Les larves de *S. littoralis* qui ingèrent du RH-2485, perdent 40% de leurs poids après 72h de traitement (Amin & Mohamady, 2009). Des résultats similaires ont été enregistrés chez les chenilles (Pineda *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus par (Bensafi-Gheraibia, 2015) après l'application topique de deux doses sublétales du spiromesifen (CL<sub>10</sub> et la CL<sub>25</sub>) sur les pupes nouvellement exuviées de *Drosophila melanogaster* révèlent une réduction du poids des pupes au cours du développement nymphal à la CL<sub>25</sub> à 1 jour seulement après traitement. L'impact du spiromesifen (DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub>) sur les différents stades de *C. longiareolata* et *C. pipiens* provoque une réduction sur divers paramètres biométriques comme la largeur du thorax des larves du 4ème stade, la largeur céphalothoracique des pupes, la longueur des ailes des adultes ainsi que le poids et le volume corporel (Bouabida, 2014 ; Bouabida *et al.*, 2017).

#### **4.1.2. Effet sur la composition biochimique de la cuticule**

La cuticule est principalement composée de microfibrilles cristallines : les microfibrilles chitino-protéiques (Blackwell & Weih, 1980 ; Lowenstam & Weiner, 1989 ;

Chandran, 2016) enrobées de manière étanche par une enveloppe protéinique forment la phase fibreuse (Hepburn, 1985 ; Erko, 2013). Les fibres forment des feuilles bidimensionnelles qui s'empilent pour former ce qu'on appelle la structure de Bouligand (Bouligand, 1972 ; Giraud-Guille, 1984). L'exosquelette est endurci par le dépôt de minéraux, principalement du carbonate de calcium sous forme cristalline ou amorphe (Dennell, 1947 ; Roer & Dillaman, 1984 ; Lowenstam & Weiner, 1989, Dillaman *et al.*, 2005 ; Hild *et al.*, 2008, 2009 ; Neues *et al.*, 2011 ; Seidl *et al.*, 2011 ; Luquet, 2012 ; Dillaman *et al.*, 2013 ; Erko, 2013 ; Glazer, 2013) qui procure une rigidité mécanique à l'animal (Chen, 2008). La calcification de la cuticule ne semble se produire que chez les Crustacés (Nagasawa, 2012). Les proportions relatives de ces trois composants varient en fonction de l'espèce et de l'emplacement sur le corps, même dans le corps du même animal (Cribb, 2009).

#### 4.1.2.1. Effet sur la chitine

La chitine est considéré comme le composant principal de la cuticule (Zou, 2004 ; Regier, 2010), C'est un polysaccharide contenant de l'azote généralement composé de monomères N-acétyl-d-glucosamine (GlcNAc, A) et d-glucosamine (GlcN, D) liés par des liaisons  $\beta$ -1,4 (Winkler *et al.*, 2017). Il s'associe aux protéines, formant une structure fibreuse, qui devient un échafaudage qui permet le dépôt de carbonate de calcium (Roer, 1984 ; Simkiss & Wilbur, 1989).

Les résultats obtenues indiquent que le taux de chitine cuticulaire au cours du cycle de mue chez *P. adspersus* témoin augmente du stade A (34,17 %) jusqu'au stade C (58,46 %) ; au stade D on enregistre une légère diminution (46,99 %). Nos données sont en accord avec les travaux de Wilinder (1974) et Olav (1991) qui ont trouvé que les teneurs en chitine varient entre 66 et 72% dans la cuticule déminéralisée de la crevette *Pandalus borealis*. Des taux de chitine cuticulaire élevés ont été enregistrés chez *Cancer pagurus* (71,4%), *Carcinus maenas* (62,5%) et chez *Nephrops norvegicus* (77%) (Lafon, 1941, 1948). D'après les travaux de Morsli (1994), le taux de la chitine cuticulaire au cours du cycle de mue varie entre 66 et 72% chez la Crevette *P. kerathurus*. Chez cette dernière espèce, le taux de chitine cuticulaire au cours du cycle de mue augmente environ du stade A (27,56%) jusqu'au stade D (69,99%) pour chuter à la veille de l'exuviation (Morsli *et al.*, 2015 ; Morsli, 2016). Des résultats similaires montrent que le taux de chitine augmentent au cours du cycle de mue de la période allant du stade A au stade C, avec une légère diminution Au stade D chez *P. adspersus*

(Benradia, 2016). Il faut noter que des travaux antérieurs ont signalé que la chitine chez les Crustacés est hydrolysée partiellement pendant la prémue (stade D), pour permettre la séparation de la vieille cuticule et la nouvelle cuticule (Koga, 1999 ; Nagasawa, 2012).

Concernant l'effet des insecticides, on remarque que le taux de chitine diminue suite aux deux traitements, mais les résultats révèlent que l'effet du DFB même à faible dose est plus significatif par rapport au RH-2485. On note aussi que les taux de chitine les plus bas sont enregistrés au niveau du traitement continu.

Soltani *et al.* (2009) ont également rapporté une diminution du taux de la chitine cuticulaire chez *P. kerathurus* exposé au diflubenzuron de l'exuviation jusqu'à l'intermue. Les travaux de Horst *et al.* (1995) sur le crabe bleu *Callinectes sapidus* révèlent que le dimilin a un effet inhibiteur sur l'incorporation de la N-acetylglucosamine tritiée dans la chitine cuticulaire. Chez les deux espèces de crustacés : *Daphnia pulex* et *Daphnia magna*, Duchet *et al.* (2011) démontrent que le diflubenzuron provoque une stimulation de la chitobiase une enzyme qui intervient dans la dégradation de l'exosquelette. Il a été mis en évidence une interférence du diflubenzuron et du teflubenzurone (deux insecticides inhibiteurs de la synthèse de la chitine) avec les enzymes impliquées dans la synthèse de la chitine chez des espèces Crustacés tel que le Copépode benthique *Tisbe battagliai* (Macken *et al.*, 2015).

Morsli. (2016) et Morsli *et al.* (2015) ont montré que le DFB réduit le taux de la chitine cuticulaires chez *P. kerathurus*. Un résultat similaire a été obtenu chez la Crevette *P. adspersus* traitée avec le novaluron un autre inhibiteur de la synthèse de la chitine (Berghiche *et al.*, 2016).

Nos résultats concorde parfaitement avec d'autres travaux qui affirment que les dérivées de la benzoylphenylurée interfèrent avec le processus de mue en perturbant la sécrétion cuticulaire, via la synthèse de la chitine (Cohen, 1987 ; Retnakaran & Wright, 1987 ; Ishaaya, 1990 ; Morsli & Soltani, 2003 ; Dhadialla *et al.*, 2005 ; Dhadialla *et al.*, 2010 ; Salokhe *et al.*, 2013).

#### **4.1.2.2. Effet sur les protéines**

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes (Mahler & Cordes, 1968 ; Fujisawa & Tamura, 2012). Elles jouent

également un rôle vital dans la formation des minéraux chez les invertébrés (Glazer & Sagi, 2012 ; Luquet, 2012 ; Tynyakov *et al.*, 2015). Il faut savoir, que la rigidité de la cuticule est obtenue aussi par sclérotisation des protéines, à savoir l'oxydation enzymatique des phénols ou des catéchols, qui se relie ensuite avec les protéines et la chitine et les durcissent (Giraud-Guille *et al.*, 2004 ; Kuballa & Elizur, 2008 ; Nagasawa, 2011 ; Glazer & Sagi, 2012 ; Mrak, 2014).

L'évolution du taux de protéines cuticulaires chez les crevettes témoins de *P. adspersus* durant la période du cycle de mue, montre une diminution significative qui va du stade A (65,84%) jusqu'au stade C (41,54 %) puis on enregistre une légère augmentation au stade D. Des résultats similaires sont enregistrés chez les Crevettes *P. kerathurus* (Morsli, 2016) et *P. adspersus* exposé au novaluron (Berghiche, *et al.*, 2016). Selon Sugmar *et al.* (2013), le taux des protéines cuticulaires augmente du stade A jusqu'au stade D durant le cycle de mue du crabe *Portunus pelagicus*. Wilinder, (1974) a constaté que la carapace de l'écrevisse *Astacus fluviatilis* est constituée de 30% de protéines cuticulaires et de 35.3% chez *Penaeus duorum*.

Les résultats relatifs à l'effet des insecticides sur les protéines cuticulaires révèlent une augmentation hautement significative chez les séries traitées comparativement aux séries témoins. Le taux le plus élevé a été enregistré chez les crevettes exposées au RH-2485 au niveau des deux modes de traitement. Morsli, (2016) enregistre les mêmes effets sur les protéines de la cuticule chez *P. kerathurus* traités par le DFB. Aussi, Soltani *et al.*, 2009 ont rapporté que le diflubenzuron, a augmenté le taux des protéines cuticulaires chez la même espèce. Le même effets a été remarqué chez *P. adspersus* traité par le novaluron (Berghiche, *et al.*, 2016).

#### **4.1.2.3. Effet sur les sels calciques**

Le durcissement de la cuticule chez les crustacés implique non seulement la sclérotisation des protéines, mais aussi la calcification par les carbonates de calcium (Lowenstam & Weiner, 1989 ; Giraud-Guille *et al.*, 2004 ; Luquet, 2012 ; Nagasawa, 2012). Les carbonates dans la cuticule aident à maintenir la dureté de l'exosquelette. Cependant, cette dureté peut interférer avec le processus de mue. Les crustacés réduisent donc la teneur en carbonate de calcium de la cuticule avant de muer pour augmenter leur flexibilité (Nagasawa, 2012). Les gastrolithes, organe au niveau de l'appareil digestive, servent de sites de stockage

temporaire pour les carbonates de calcium qui sont dissous juste avant l'exuviation (Luquet & Marin, 2004 ; Glazer *et al.*, 2010), puis après la mue ils reprennent leur place au niveau de la cuticule (Shechter *et al.*, 2008).

Nos résultats indiquent que le taux le plus bas des sels calciques est enregistré au stade A (30,26 %), il est au maximum au stade C (42,26 %) puis on remarque une légère baisse au stade D (40,02%). Nos résultats sont comparables à ceux de Benradia. (2016) chez *P. adspersus* et Morsli (2016) chez *P. kerathurus*. Nagasawa, (2012) a expliqué que les cellules épithéliales facilitent le transfert du carbonate de calcium de la cuticule à l'hémolymphe avant de muer et leur permet de reprendre place dans la cuticule après la mue.

Svend Olav. (1991) rapporte que le taux des sels calciques varie entre 50 et 60% du poids sec des cuticules chez *Pandalus borealis*. Ces valeurs correspondent à celles rapportées chez *Penaeus duorarum* 53,1% et *Leander adspersus* 55,8% (Wilinder, 1974). Lafon ,1943 note que le taux des sels calciques est de 87.2% chez *Cancer pagurus*, 72.2% chez *Nephrops norvegicus*. Drach & Lafon, 1942, enregistrent que le taux des sels calciques est de 84.3% dans la cuticule de *Carcinus maenas*. D'autres travaux indiquent que le taux des sels calciques le plus élevé est approximativement de 22% chez le Crabe bleu *Callinectes sapidus* (Vight & Dendinger, 1982). Ces valeurs sont en accord avec les résultats obtenues 18.8% chez l'écrevisse *Procambarus clarkii* (Huner & Avault, 1976), mais ils sont plus élevés que les taux des sels chez *Penaeus californiensis* (12.6%) et chez *Uca pugilator* (9.5%) (Kleinholz, 1941).

Des travaux plus récents indiquent que la minéralisation de la cuticule par le dépôt de cristaux de carbonates se fait après l'exuviation pendant la postmue (stade A et B) (Marlowe *et al.*, 1994 ; Shafer *et al.*, 1994 ; Roer *et al.*, 2001). Dillaman *et al.* (2005) observent les premières preuves de dépôt de calcium chez les Callinectes (crabe) n'apparaît que après 2h de l'exuviation.

Les résultats obtenus après le traitement par les PCIs en mode continu, indiquent une diminution significative du taux des sels calciques par le DFB à la dose de 1µg/L. Une augmentation significative du taux a été enregistrée lors du traitement au DFB à la dose de 16 ng/L et par le RH-2485. Pour le traitement de 24h on n'enregistre aucune différence significative entre les témoins et les traités. Le traitement au novaluron aux deux

concentrations (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) n'affecte pas le taux des sels calciques chez *P. adspersus* (Benradia, 2016). De même, les travaux de Soltani *et al.* (2009) et Morsli (2016) précise que sels calciques de *P. kerathurus* ne sont pas affectés après traitement par le dimilin

#### **4.1.3. Effets du dimilin et du méthoxyfenozone sur les biomarqueurs**

Au cours des dernières années, l'effet des produits chimiques toxiques sur le biote aquatique a suscité des préoccupations mondiales en raison de la recrudescence de la contamination des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds et les composés organiques tels que les hydrocarbures et les pesticides (Romero *et al.*, 2011 ; Chen, 2016). Les dangers écologiques associés à l'utilisation de composés organochlorés, organophosphorés et carbamates et les problèmes potentiels associés à l'utilisation des pesticides comprennent, la toxicité pour les animaux non ciblés, la santé et la sécurité humaine (Radosevich *et al.*, 2007), ont favorisés l'utilisation des biomarqueurs comme avertissement pour l'évaluation de la qualité de l'environnement (Peakal, 1992).

Les biomarqueurs sont des signaux «d'alerte précoce» mesurant l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental qui peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (WHO, 1993 ; Van de Oost *et al.*, 2003). Ce sont des substances clé pour détecter toute réponse physiologique ou comportementale liée aux polluants (Jones *et al.*, 1991 ; Kirby *et al.*, 2000). Au cours des dernières décennies, l'utilisation des biomarqueurs a augmenté dans le cadre de la biosurveillance de l'environnement et en laboratoire par les tests de toxicité (Güngördü & Ozmen, 2012). Il existe quelques travaux sur le dosage des biomarqueurs chez les invertébrés aquatiques en tant qu'indicateurs de la pollution de l'eau (Xuereb *et al.*, 2009 a,b ; Richardson *et al.*, 2010). Les effets de deux PCI sur des biomarqueurs sensibles aux effets toxiques de pollution de l'eau : l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) et le taux du glutathion (GSH) ont été examinés.

##### **4.1.3.1. Effet sur le taux du glutathion**

Les organismes aquatiques présentent un mécanisme de défense antioxydant pour atténuer le stress oxydatif provoqué par une grande variété de facteurs de stress environnementaux et anthropiques (Van der Oost *et al.*, 2003 ; Vijayavel *et al.*, 2012 ; Pavlović *et al.*, 2013 ; Chainy *et al.*, 2016). Le stress oxydatif est le terme utilisé pour décrire un déséquilibre favorisant les pro-oxydants et/ou les antioxydants défavorables, pouvant entraîner des dommages (Dinu, 2010). Les antioxydants sont les premières lignes des

mécanismes de défense cellulaire agissant pour ralentir ou prévenir le stress oxydatif (Winston & Di Giulio, 1991).

La Crevette possède un système antioxydant intégré, contenant des antioxydants enzymatiques et non enzymatiques pour maintenir un statut normal contre les facteurs de stress naturels ou induits (Castex *et al.*, 2010 ; Parrilla-Taylor & Zenteno-Savin, 2011). Généralement, la capacité antioxydante d'un organisme dans certaines conditions reflète son état de santé (Xu & Pan, 2013).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide composé d'acide glutamique, de cystéine et de glycine. C'est l'antioxydant non enzymatique majeur dans les cellules animales. Il est très sensible et dépend de nombreux facteurs externes et internes qui déterminent ses concentrations dans différents tissus de l'organisme, dans différents milieux de vie et différentes périodes de l'année (Mika *et al.*, 2012). Le GSH agit comme antioxydant efficace chez les animaux marins et comme réactif en conjugaison avec des substances électrophiles (Ren *et al.*, 2015). Ainsi, les changements dans les niveaux de GSH sont des indicateurs utiles de la capacité de détoxification des animaux marins (Hannam *et al.*, 2009). Chez les Crustacés, la synthèse du GSH se produit dans l'hépatopancréas et les branchies (Mika *et al.*, 2012) et la synthèse de GSH est meilleure avec une intensité lumineuse plus élevée (Maciel *et al.*, 2004).

Nos résultats déterminés au cours du cycle de mue des crevettes témoins révèlent que le taux du GSH le plus faible est noté au stade B, puis le GSH augmente pour atteindre le taux maximal au stade D. Dans une étude antérieure nous avons déterminé le taux du GSH au cours du cycle de mue de *P. kerathurus*, les résultats obtenus révèlent que le taux du GSH est au maximum au stade A et le plus faible taux est noté au stade B, on a remarqué que le taux du GSH augmente au stade C et au stade D (Lechekhab, 2009). Il faut savoir que la teneur en GSH dépend de la structure et de la fonction des cellules, de la capacité d'oxydation, des conditions externes (photoradiation) et de l'influence d'autres tissus (Ji & Leeuwenburgh, 1995). De plus, la production de GSH dans les tissus n'est pas constante, elle est régulée par plusieurs enzymes et dépend de l'activité de la glutathion réductase (Kovačević *et al.*, 2008). Des concentrations élevées de GSH peuvent être causées par une augmentation des volumes de cystéine ou de glutamine dans les cellules (Humbert *et al.*, 2007).

Ces variations peuvent s'expliquer par des facteurs environnementaux (Pacheco & Santos, 2003), ce qui contribue à la complexité lors de l'interprétation des résultats (Hellou *et al.*, 2012). Downs *et al.* (2001) notent que le taux du GSH augmente en réponse au stress thermique. Le stress oxydatif peut résulter des changements de température, d'oxygène ou de salinité de l'eau (Hellou *et al.*, 2012). Les Crustacés sont exposés aux fluctuations quotidiennes et saisonnières de la température et de la concentration d'oxygène dissous (Filho, 1996, Power & Sheehan, 1996). Ils doivent constamment s'adapter aux conditions de l'habitat (Mika *et al.*, 2012). Da Rocha *et al.* (2009) constatent que le taux du GSH est influencé par les variations saisonnières. Les différences les plus importantes du taux du GSH dans les tissus des organismes marins ont été observées durant l'automne (Mika *et al.*, 2012). Anto *et al.* (2009) ont observé que les plus faibles concentrations de GSH ont été notées au printemps et en automne, dans les muscles de *C. crangon*. Rangunathan. (2017) a enregistré aussi une diminution du taux du GSH due au changement météorologiques chez le crabe *Scylla serrata*.

Des études démontrent que des changements du taux du GSH sont liés à l'âge des individus (Canesi & Viarengo, 1997). La capacité de défense contre les dommages oxydatifs a été réduite chez les individus plus âgés par rapport aux individus plus jeunes; par conséquent, le vieillissement était associé à un stress oxydatif plus élevé chez les moules (Hellou *et al.*, 2012). Les variations du taux de GSH sont également provoquées par le cycle de reproduction et le sexe des individus (Förlin & Haux, 1990 ; Hellou *et al.*, 2012) et l'alimentation (Grasman *et al.*, 2000).

Chez les séries traitées, nos résultats révèlent que les insecticides administrés dans l'eau d'élevage des Crevettes, causent des variations significatives du taux du GSH au niveau de la chair à l'intermue pour les deux modes de traitement. On remarque que les insecticides peuvent provoquer des diminutions significatives du taux du GSH pour les deux modes de traitement. Cependant, cette diminution est plus marquée avec le traitement continu.

Cheung *et al.* (2001) ont suggéré qu'il y a une relation étroite entre les variations des biomarqueurs et les concentrations des contaminants dans l'environnement, quand la pollution est élevée les variations sont importantes. Oost *et al.* (2003) ont exprimé le même point de vue sur la norme d'évaluation des biomarqueurs. Les substances toxiques augmentent initialement la concentration de GSH en tant que réponse immunitaire de l'organisme (Li *et al.*, 2010), mais finalement la teneur en GSH diminue (Kovačević *et al.*, 2008). Peña-Llopis *et al.* (2002)

ont également noté que le taux du GSH dans le foie et les muscles diminue avec le temps d'exposition aux substances toxiques.

De même Drardja-Beldi & Soltani. (2003) notent une diminution du taux du GSH dans le corps entier des femelles de *G. affinis* traitées avec du DFB. Ren *et al.* (2015) enregistrent une inhibition du taux du GSH chez les juvéniles de la Crevette *Litopenaeus vannamei* exposées au benzo[a]pyrene. Ceci est similaire à une étude réalisée sur *Macrobrachium borellii* (Crustacea: palaemonidae) rapportée par Lavarías *et al.* (2011). Plusieurs études ont montré que l'exposition à l'arsenic (As) augmente les taux du GSH (Schuliga *et al.*, 2002 ; Costa *et al.*, 2012 ; Lobato *et al.*, 2013). Le même effet a été observé au niveau des branchies de *Litopenaeus vannamei* exposées à l'As (Cordeiro *et al.*, 2015), un résultat semblable a été enregistré au niveau des branchies du poisson *Danio rerio* après une exposition de 48h à l'AS (Ventura-Lima *et al.*, 2009a). Dinu *et al.* (2010) enregistrent une augmentation du taux du GSH au niveau de l'hépatopancréas et une diminution du taux du GSH intestinal chez les poissons *Carassius auratus* traités par la deltaméthrine. Des augmentations similaires d'environ 150%, ont également été rapportées au niveau du foie du poisson *Channa punctatus Bloch* après une exposition à la deltaméthrine (Sayeed *et al.*, 2003 ; Atif *et al.*, 2005). L'augmentation du taux du GSH a été décrite comme l'un des mécanismes protecteurs que les poissons adoptent dans les phases initiales d'exposition aux polluants aquatiques (Hasspielar *et al.*, 1994 ; Stephensen *et al.*, 2002 ; Ansari *et al.*, 2009).

Aucune variation du taux du GSH n'a été enregistré chez les adultes de la Crevette *Palaemonetes pugio* après exposition au à la perméthrine; par contre, chez les larves exposées au même produit, les taux de GSH étaient variables (Key *et al.*, 2011). De Lorenzo *et al.* (2006) rapportent que les Crevettes adultes de *Palaemonetes pugio* exposées à la perméthrine pendant 96h, présentent des augmentations significatives du taux du GSH. Chez la même espèce des crevettes adultes exposées à la bifenthrine pendant 96h ne présentent aucune différence significative dans le taux du GSH (Harper *et al.*, 2008).

Les changements dans les niveaux de GSH sont des indicateurs utiles de la capacité de détoxification des animaux marins (Hannam *et al.*, 2009). Une trop grande capacité antioxydante peut entraîner une oxydation massive du GSH conduisant à l'excrétion du disulfure de glutathion oxydé (GSSG) de la cellule entraînant une réduction de la concentration intracellulaire de glutathion total (Hannam *et al.*, 2010). Ren *et al.* (2015)

rappellent que les rapports GSH / GSSG ont été inhibés chez les juveniles de *Litopenaeus vannamei* exposées à la chrysène (constituant naturel du goudron).

#### 4.1.3.2. Effet sur l'activité de l'acétylcholinestérase

L'AChE est une enzyme d'importance cruciale impliquée dans la transmission de l'influx nerveux (Peakal 1992). Elle est responsable de l'hydrolyse du neurotransmetteur l'acétylcholine (ACh) en choline et acide acétique à la jonction neuromusculaire (Frasco *et al.*, 2005 ; Matozzo *et al.*, 2005). L'inhibition de l'activité de l'AChE indique l'effet de substances neurotoxiques (Talesa *et al.*, 1992) qui empêche l'hydrolyse de l'ACh et conduit à son accumulation en excès dans les synapses cholinergiques (Tu *et al.*, 2010). Ceci provoque une transmission permanente de l'influx nerveux, conduisant ainsi à une stimulation excessive du nerf cholinergiques entraînant des tremblements et des convulsions puis la mort (Fernandez-Vega, 2002 ; Garric *et al.*, 2008).

L'AChE est sensible aux pesticides organophosphorés et carbamates bien connus comme inhibiteurs puissants de l'AChE (Van der Oost *et al.*, 2003 ; Oliveira *et al.*, 2007 ; Kamel *et al.*, 2012). Plusieurs études ont indiqué qu'elle est également sensible à d'autres types de contaminants environnementaux, tels que les métaux lourds, les détergents et les insecticides (Guilhermino *et al.*, 2000 ; Fulton & Key 2001 ; Key *et al.*, 2003 ; Badiou & Belzunces, 2008 ; Tim-Tim *et al.*, 2009 ; Richardson *et al.*, 2010).

L'AChE a été mesuré chez les poissons (Kumar & Chapman, 1998 ; Kirby *et al.*, 2000), les invertébrés aquatiques (Abdullah *et al.*, 1994 ; Olima *et al.*, 1997 ; Forget *et al.*, 1999 ; Den Besten *et al.* 2001 ; Key & Fulton, 2006). La plupart des études sur l'activité de l'AChE chez les organismes aquatiques ont été réalisées dans des tissus tels que les muscles, le cerveau, les branchies et les yeux (García-de la Parra *et al.*, 2006).

Le taux de l'AChE déterminé dans notre étude au cours du cycle de mue révèle qu'il y a une légère variation entre les quatre stades du cycle de mue et le taux le plus élevé est enregistré au stade C. Dans un travail antérieur (Lechekhab, 2009) sur l'évaluation du taux de l'AChE au cours du cycle de mue de *P. keratulus*, nous avons trouvé qu'il n'y avait aucune variation entre les quatre stades du cycle de mue. Bocquéne *et al.* (1990) suggère que le niveau d'activité est inversement proportionnel à l'âge de l'organisme, les activités les plus fortes sont mesurées chez les plus jeunes individus. La relation entre l'activité de l'AChE et la mue n'est pas bien comprise, mais une corrélation positive entre l'AChE et la 20-

hydroxyecdysone (20HE) a été déterminée dans chez la Crevette, *Artemia franciscana* (Key & Fulton, 2006), à mesure que la 20HE augmentait, l'activité neurologique augmentait également (Gagne & Blaise, 2004).

Les Crustacés marins sont influencés par de nombreux facteurs environnementaux tels que les changements naturels de l'environnement selon les rythmes quotidiens ou saisonniers et les changements physico-chimiques (Tu *et al.*, 2012). Ce qui fait que quelques paramètres tels que les variables abiotiques, comme la température, la salinité de l'eau affectent l'activité de l'AChE (Leinio & Lehtonen, 2005 ; Menezes *et al.*, 2006 ; Cailleaud *et al.*, 2007). Quelques travaux indiquent que l'activité AChE augmente à des températures élevées de l'eau chez la moule (Escartin & Porte 1997 ; Pfeifer *et al.*, 2005) et chez les poissons (Quintaneiro *et al.*, 2008). Güngördü & Ozmen. (2012) ont également noté une variation de l'activité de l'AChE chez les poissons *Cyprinus carpio* qui sont récolté dans les sites a une température d'eau de 10°C et chez les poissons au laboratoire dont l'eau d'élevage été de 15°C. Des travaux antérieurs ont montrés que la température et la salinité influencent l'activité AChE chez certaines espèces telles que les poissons *Lepomis macrochirus*, *Rutilus rutilus L.* et *Oryzias latipes* (Hogan, 1970 ; Chuiko *et al.*, 1997 ; El-Alfy & Schlenk, 1998). Il est également possible que d'autres facteurs, tels que le jeûne et / ou la manipulation, affectent le taux des biomarqueurs (Tu *et al.*, 2012).

Concernant les effets secondaires des PCIs sur les Crevettes, on note qu'il n'y a aucune différence significative entre les séries traitées par différents insecticides et les séries témoins. Il n'y a pas également de différence entre les deux modes de traitement.

Le DFB est l'un des insecticides les plus employés dans la pisciculture brésilienne (Mabilia & Souza, 2006) en raison de son efficacité dans la lutte contre les ectoparasites tels que les crustacés *Lernaea cyprinacea* (Martins, 2004) et *Dolops carvalhoi* (Schalch *et al.*, 2005). L'exposition des poissons *Prochilodus lineatus* au DFB pendant 6, 24 et 96h à une dose de 25 mg/L provoque la diminution de l'AChE au niveau musculaire (Martinez & Maduenho, 2008). Le DFB à 16 et 78 ng/L n'a présenté aucun effet significatif sur l'activité de l'AChE chez *G. affinis*; par contre, *G. affinis* exposée au flucycloxuron présente une inhibition de cette activité (Zaidi & Soltani, 2013). Chez la même espèce, l'activité de l'AChE diminue de 79% au niveau du cerveau après une exposition au monochrotofique (Kavitha & Venkaswara, 2007). Le DFB à 25 mg/L induit une diminution significative de l'activité de

l'AChE musculaire chez *P. lineatus* (Pereira Maduenho & Martinez, 2008). Venkateswara Rao *et al.* (2005) ont rapporté que le chlorpyrifos à 60 µg/L réduit significativement l'activité cérébrale de l'AChE chez *G. affinis*. L'activité spécifique de l'AChE dans l'œil de *Litopenaeus vannamei* est restée relativement constante malgré l'exposition à des concentrations très élevées du méthamidophos (García-de la Parra, 2006). Cette absence d'inhibition a également été observée chez les Crustacés *Artemia salina* et *Artemia parthenogenetica* exposées à la même molécule (Varò *et al.*, 2002).

Les embryons de la crevette *Palaemonetes pugio* exposés pendant 24h au chlorpyrifos et au malathion présentent une forte inhibition de l'AChE (Lund *et al.*, 2000). Ce résultat était similaire à celui sur la carpe *Cyprinus carpio L.* qui a montré l'effet inhibiteur du chlorpyrifos sur l'activité de l'AChE dans les branchies, le foie et les reins (Xing *et al.*, 2013a). La Crevette d'eau douce, *Paratya australiensis* exposé au carbaryl, profenofos et au chlorpyrifos pendant 96h présentaient une inhibition significative de l'AChE (Kumar *et al.*, 2010). Les Crevettes *Litopenaeus vannamei* ont été exposées au methyl parathion par voie orale (alimentation) présentent une inhibition de 53% de l'activité de l'AChE (Roque *et al.*, 2005). Une diminution significative de l'activité de l'AChE a été enregistrée chez les Crustacés *Daphnia magna* exposées pendant 48h à quatre concentrations de carbaryl, cette inhibition a augmenté avec l'augmentation de la concentration du produit (Toumi, 2016). L'activité de l'AChE était inhibée dans les muscles de la crevette *Penaeus monodon* de 30% après une exposition de 4 jours à 0,9 mg/L à l'endosulfan (Tu *et al.*, 2009). De même, Saravana & Geraldine (2000). ont rapporté que les juvéniles de *Macrobrachium malcolmsonii* exposés à 32 ng/L d'endosulfan pendant 21 jours avaient une activité d'AChE musculaire inhibée de 27%.

Selon Barata *et al.*, (2004) une inhibition significative de l'activité de l'AChE a été enregistrée chez *D. magna* après exposition au carbofuran. Les mêmes résultats ont également été démontrés par Jeon *et al.* (2013) chez la même espèce après exposition au carbaryl. L'AChE dans les muscles de *Penaeus monodon* était fortement inhibée par la deltaméthrine (Tu *et al.*, 2012). Le chlorpyrifos entraîne une forte inhibition de l'AChE chez *G. pulex* (Xuereb *et al.*, 2007). L'activité de l'AChE dans le cerveau d'*Oryzias latipes* n'a pas été affectée par l'exposition au chrome « Cr » dissous (Chen *et al.*, 2016). Une étude récente a démontré une diminution de 39% de l'activité de l'AChE chez le poisson de roche *Sebastes schlegelii* exposé au Cr pendant 2 semaines (Kim & Kang, 2016).

## 4.2. Effet du spiromesifen sur *Palaemon adspersus*

L'utilisation intensive de pesticides en agriculture a entraîné la contamination des différents milieux de l'écosystème. Seulement 0,1% des pesticides utilisés atteignent les ravageurs ciblés et les 99,9% restants contaminent les différents éléments de l'environnement (Tripathi & Shasmal, 2011). Les écosystèmes aquatiques sont menacés par le ruissellement des eaux de surface contenant des pesticides provenant des zones agricoles (Scholz *et al.* 2012 ; Velisek *et al.* 2015). Ces substances peuvent affecter les organismes non-ciblés qui jouent des rôles fonctionnels importants dans l'écosystème (Schulz, 2001). Les signes de toxicité et les conséquences néfastes de l'usage massif des pesticides conventionnels sur les organismes non visés ont poussé l'industrie phytosanitaire à déployer des efforts considérables dans la recherche et le développement de nouvelles molécules plus sélectives à faibles risques écotoxicologiques et de grande stabilité métabolique et environnementale (Grafton-Cadwell *et al.*, 2005 ; Dhadialla *et al.*, 2010; Hui *et al.*, 2013).

Le spiromesifen est un nouvel insecticide / acaricide dérivé des acides tétroniques spirocycliques. C'est un inhibiteur de lipogenèse (Bretschneider *et al.*, 2003 ; Dekeyser, 2005) via l'inhibition d'acetyl CoA carboxylase (Nauen *et al.*, 2002), enzyme qui catalyse la biosynthèse des acides gras (Svensson *et al.*, 2016), causant ainsi une baisse de lipides chez les insectes traités (Nauen *et al.*, 2002 ; Liu 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005). Des travaux ont démontré sa faible toxicité à l'égard des espèces d'Arthropodes non ciblées, notamment les abeilles (Nicolaus *et al.*, 2005). Dans notre étude il nous a paru intéressant d'évaluer les effets du spiromesifen à l'égard d'un Arthropode aquatique non visé *P. adspersus* en mesurant différents biomarqueurs ainsi que le taux des lipides totaux.

### 4.2.1. Toxicité à l'égard de *P. adspersus*

La toxicité du spiromesifen a été réalisée sur des Crevettes de *P. adspersus* nouvellement exuviées. Les paramètres de létalité ont été déterminés ainsi que les différentes concentrations létales ( $\mu\text{g/L}$ ). La molécule manifeste une activité insecticide à l'égard des Crevettes nouvellement exuviées avec une relation dose-réponse significative. Ces résultats sont similaires aux travaux antérieurs portant sur la toxicité du spiromesifen chez *D. melanogaster* (Bensafi-Gheraibi, 2016). L'effet toxique du spiromesifen a été évalué récemment sur d'autres espèces de Diptères comme les larves du 4<sup>ème</sup> stade nouvellement

exuviées de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* et les résultats indiquent une toxicité avec une relation dose-réponse significative (Bouabida, 2014). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés chez *B. tabaci* en appliquant le produit sur les feuilles de coton en laboratoire ( $DL_{50}=500$  et  $DL_{90}=1400$  µg/L) (Kontsedalov *et al.*, 2008b). Par ailleurs, le spiromesifen est extrêmement efficace contre *B. tabaci* biotype Q résistantes au pyriproxifen et aux insecticides néonicotinoïdes (Horowitz *et al.*, 2004 ; Nauen & Konanz, 2005 ; Roditakis *et al.*, 2009 ; Luo *et al.*, 2010), mais aussi chez *B. tabaci* biotype B (Schuster *et al.*, 2010). Chez *B. tabaci* biotype B également, le spiromesifen présente un effet plus marqué sur les œufs et les stades larvaires, tandis que son effet est modéré sur les adultes et les stades nymphaux (Nauen *et al.*, 2003 ; Nauen & Konanz, 2005).

#### **4.2.2. Impact sur les biomarqueurs**

Au cours de ces dernières années, l'utilisation des biomarqueurs comme indicateur de la pollution par des xénobiotiques a augmenté tant dans les programmes de biosurveillance que dans les bioessais de toxicité en laboratoire (Xuereb *et al.*, 2009 a ; Güngördü & Ozmen, 2012). Il semble que les résultats obtenus par le dosage d'un seul biomarqueur ne peuvent pas donner un diagnostic complet sur l'impact de la pollution (Lagadic *et al.*, 2000). C'est pour cela que dans notre étude plusieurs biomarqueurs ont été déterminés pour bien démontrer les éventuels effets secondaires causés par le spiromesifen.

##### **4.2.2.1. Effets sur l'activité de la glutathion S-transférase**

La GST est une enzyme qui joue un rôle important dans la protection des organismes contre le stress oxydatif. C'est un outil prometteur dans la biosurveillance des systèmes aquatiques (Hasselberg *et al.*, 2004 ; Ozcan, 2010). Les organismes aquatiques ont développé plusieurs voies de défense cellulaire qui dans des conditions métaboliques normales, régulent le niveau des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et protègent contre les effets nocifs des radicaux libres (Dinu, 2010). La GST est considérée comme un biomarqueur sensible à l'exposition à une large gamme de contaminants dont les pesticides (Jinlin *et al.*, 2011 ; Stéfani *et al.*, 2011 ; Simonato *et al.*, 2011). En effet, la GST joue un rôle primordial dans le mécanisme de détoxification des ROS (Hayes & Pulford, 1995 ; Solé *et al.*, 2004) lors d'une toxicité par les pesticides (Regoli *et al.*, 2003 ; Van der Oost *et al.*, 2003), la régulation de l'équilibre redox (Konings & Penninga, 1985 ; Siritantikorn *et al.*, 2007 ; Lushchak 2011). Elle intervient également dans la destruction des peroxydes et des époxydes provenant de

l'oxydation non enzymatique des acides gras (Valko *et al.*, 2006 ; Mansour & Mossa, 2009), cette enzyme catalyse la réaction d'addition entre ces composés et le groupement thiol (–SH) du glutathion générant ainsi des composés plus hydrosolubles par neutralisation des sites électrophiles des xénobiotiques pour protéger les différents composés de la cellule (Enayati *et al.*, 2005), facilitant ainsi leur expulsion hors de la cellule par les pompes membranaires (Salinas & Wong, 1999 ; Hayes *et al.*, 2005).

Le présent travail montre que le spiromesifen provoque une augmentation significative de l'activité de la GST chez *P. adspersus* à partir du 4<sup>ème</sup> jour du traitement. Cette augmentation continue pendant toute la durée du traitement pour atteindre son maximum au 12<sup>ème</sup> jour de traitement avec une relation dose-réponse. Zaidi & Soltani. (2010) suggèrent que l'activité GST est un bon biomarqueur du stress oxydatif induit par les insecticides. Une augmentation significative de l'activité de la GST a été enregistré chez *P. adspersus* après 96h d'exposition aux concentrations sublétales (CL<sub>10</sub> et CL<sub>25</sub>) du thiaméthoxam (Berghiche *et al.*, 2018).

Zaidi & Soltani. (2011) ont enregistré chez *G. affinis* des variations dans l'activité de la GST suite à l'exposition aux dimilin et à l'andalin. L'activité de la GST a augmenté chez *G. affinis* exposés au dimilin à la LC<sub>50</sub> et LC<sub>90</sub> et chez les larves de *Culex pipiens* (Zaidi & Soltani, 2013). L'activité de la GST de *G. affinis* a augmenté significativement suite au traitement par du monocrotophos (Kavitha & Venkaswara, 2007). Une augmentation de l'activité de la GST (10 fois plus que chez les témoins) a été notée chez *Oryzias latipes* après une exposition aux concentrations sublétales CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et CL<sub>95</sub> du chlorpyrifos pendant 96h (Hwang *et al.*, 2016). Wang *et al.* (2011) ont constatés que l'activités de la GST a augmenté significativement chez la palourde *Ruditapes philippinarum* exposée au benzo[a]pyrene. Chez *Carassius gibelio* exposés à la deltaméthrine, l'activité de la GST dans le foie augmente significativement notamment au cours des trois premiers jours de traitement (Dinu *et al.*, 2010).

En revanche, la GST a diminué chez *G. affinis* après une exposition au chlorpyrifos (Kavitha & Venkateswara Rao, 2008) et chez *Oreochromis mossambicus* après une exposition sublétale au profenofos (Kavitha & Venkaswara, 2009). Lidova *et al.* (2016) ont noté une diminution significative de l'activité de la GST après l'exposition à la cyperméthrine. Rychterova *et al.* (2015) ont également observé une diminution significative de l'activité de la

GST chez les larves de *Cyprinus carpio* après 35 jours d'exposition au Cyperkill 25 EC. Une diminution de l'activité de la GST hépatique a été notée chez *Anguilla Anguilla* exposée à la bêta-naphtoflavone (Ahmad *et al.*, 2005), chez *Carassius auratus* lors d'une exposition chronique au 2,4 dichlorophénol (Zhang *et al.*, 2004) et chez *Jenynsia multidentata* exposée aux 1,2 et 1,4- dichlorobenzène (Monferran *et al.*, 2007). Une diminution significative a été observée chez les poissons *Chanos chanos* exposé pendant 96h à la CL<sub>50</sub> de chlorpyrifos et la CL<sub>50</sub> de carbendazime (Palanikumar *et al.*, 2014).

#### 4.2.2.2. Effets sur l'activité de l'acétylcholinestérase

L'analyse de l'activité de l'AChE dans les différents tissus des organismes aquatiques est considérée comme un biomarqueur de la contamination des milieux aquatiques par les pesticides anticholinestérasiques (Zinkl *et al.*, 1991 ; Fernandez-Vega *et al.*, 1999 ; Dutta & Arends, 2002). L'AChE constitue la cible de certains insecticides comme les organophosphorés ou les carbamates (Kamel *et al.*, 2012 ; Lavarias *et al.*, 2013 ; Lavarias *et al.*, 2015), les herbicides et d'autres molécules neurotoxiques telque les métaux lourds et les hydrocarbure (Amiard-Triquet *et al.*, 1998 ; Tim-Tim *et al.*, 2009 ; Tu *et al.*, 2009).

Nos résultats montrent que le spiromesifen inhibe l'activité de l'AChE dès le début du traitement, cette inhibition augmente avec le temps et la dose du traitement. De nombreuses études ont rapporté que l'inhibition de l'activité AChE est proportionnelle à une augmentation d'exposition aux substances toxiques (Mensah *et al.*, 2012). Une inhibition de 50 à 80% de l'activité de l'AChE a été enregistrée chez le poisson *Oryzias latipes* après une exposition au chlorpyrifos pendant 96h aux concentrations sublétales CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et CL<sub>95</sub> (Hwang-Ju *et al.*, 2016). Des résultats semblables ont été rapportés concernant l'AChE au niveau des branchies, du foie et des reins chez la carpe commune *Cyprinus carpio L.* exposée au chlorpyrifos (Xing *et al.*, 2013a). Le chlorpyrifos a la CI<sub>50</sub> entraîne une forte inhibition de l'activité de l'AChE (94%) chez un Crustacé *Gammarus pulex* après une exposition de 96h (Xuereb *et al.*, 2007).

Récemment, une inhibition a été notée chez *P. adspersus* suite à une exposition de 96h au thiaméthoxam aux concentrations sublétales (CL<sub>10</sub> et CL<sub>25</sub>) avec un effet dose/réponse (Berghiche *et al.*, 2018). Toumi *et al.* (2015) ont enregistré une inhibition de l'activité de l'AChE chez *Daphnia magna* suite à une exposition de 48h à la CI<sub>50</sub> de la deltaméthrine. Chez *Palaemonetes pugio* et *Americamysis bahia*, Key *et al.* (2013) ont enregistré une inhibition de

l'activité de l'AChE suite à l'exposition à la CL<sub>50</sub> du chlorpyrifos. Bolton-Warberg *et al.* (2007) ont démontré que le dichlorvos à la CL<sub>50</sub> provoque une inhibition de l'activité de l'AChE chez *Palaemonetes pugio*. Les poissons *Chanos chanos* exposés pendant 96h à la CL<sub>50</sub> du chlorpyrifos et du carbendazime présentent une diminution significative de l'activité de l'AChE (Palanikumar *et al.*, 2014).

#### **4.2.2.3. Effets sur le taux du glutathion**

Le glutathion est l'antioxydant non enzymatique majeur dans les cellules animales, c'est le thiol cellulaire le plus abondant, impliqué dans la protection des cellules contre les effets toxiques des composés endogènes (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005 ; Lam, 2009) et exogènes (Fanjul-Moles *et al.*, 2009); il est le cofacteur de nombreux enzymes qui catalysent la détoxification et l'excrétion de plusieurs composés toxiques (Regoli & Principato, 1995). Un déficit en GSH provoque un risque de stress oxydatif pour la cellule, qui se traduit par des troubles pathologiques tels que le cancer et les désordres neuro-dégénératifs (Townsend *et al.*, 2003). Selon les auteurs, la diminution du taux de GSH est liée à l'augmentation de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif (Power & Sheehan 1996 ; Valavanidis *et al.*, 2006).

Une diminution significative du taux de la GSH a été enregistré dès le 1<sup>er</sup> jour de traitement et cette diminution continue jusqu'à la fin du traitement. Les taux les plus bas sont observés chez les Crevettes exposées à la CL<sub>25</sub>. Des résultats similaires ont démontrés que le Dimilin et le FCX à la CL<sub>50</sub> et à la CL<sub>90</sub> pour les larves de *Culex pipiens* ont causés une diminution du taux du GSH hépatique chez *G. affinis* (Zaidi, 2011). Des réductions du taux du GSH ont été observées chez les larves de truites arc-en-ciel après une exposition de 96h au cyperméthrin (Sakin *et al.*, 2011). Dans les travaux de Lidova *et al.* (2016) il a été noté que l'exposition pendant 96h au Cyperkill 25 EC des écrevisses marbrées (*Procambarus fallax f. Virginalis*) provoquait une augmentation significative du taux du GSH.

#### **4.2.2.4. Effets sur le taux des lipides corporels**

Les lipides sont les principales sources d'énergie, d'acides gras, de phospholipide et de glycolipide essentiels pour les animaux aquatiques (Watanabe, 1982 ; NRC, 2011). Ils agissent également comme les transporteurs de vitamines liposolubles (He *et al.*, 1992). Les lipides représentent le taux le plus important parmi les trois principaux composants

nutritionnels (protéines, glucides et lipides) (Okuzumi & Fujii, 2000 ; Chen *et al.*, 2017) et jouant un rôle de précurseurs des eicosanoïdes, des hormones et des cofacteurs enzymatiques chez les Crustacés (Watanabe, 1982 ; Higgs et Dong, 2000). Les variations des teneurs en lipides dépendent de plusieurs facteurs tels que l'espèce étudiée, la croissance et la taille de l'animal, le sexe, le stade de reproduction, la température, les saisons et l'abondance des aliments (Nagabhushanam & Farooqii, 1982 ; Akbar *et al.*, 1988 ; Nair & Suseela, 2000 ; Soundarapandian & Ananthan, 2008 ; Kumara *et al.*, 2018). Chez les Crustacés, l'hépatopancréas est considéré comme l'organe majeur de stockage des lipides (Muriana-Francisco *et al.*, 1993). En outre, les lipides sont également des substrats importants dans les processus d'osmorégulation chez plusieurs espèces aquatiques telles que le crabe *Chasmagnathus granulata*, le saumon atlantique *Salmo salar L.* et *Salvelinus alpinus* (Nordgarden *et al.*, 2002 ; Luvizotto-santos & Bianchini, 2003 ; Bystriansky *et al.*, 2007).

Chez *P. adspersus* exposée au spiromesifen, le taux des lipides diminue significativement à 4 jours de traitement. Cette diminution est accentuée jusqu'à la fin du traitement à 12 jours avec une relation dose-réponse, confirmant ainsi son mécanisme d'action primaire sur la synthèse des lipides *via* l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase, une enzyme catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA, qui est une des premières étapes de la biosynthèse des acides gras (Bretschneider *et al.*, 2003 ; Nauen *et al.*, 2005).

L'exposition à un certain nombre d'agents toxiques provoque des perturbations dans les teneurs en lipides dans différents organes du corps des animaux vertébrés et invertébrés (Canavoso *et al.*, 2001 ; Rodriguez-Ortega *et al.*, 2003). La perturbation de la synthèse des lipides entraîne une perturbation de la physiologie affectant par conséquent des fonctions vitales telles que la reproduction la croissance la locomotion (Tanani *et al.*, 2017).

Chez le moustique *C. pipiens* nouvellement exuvié exposé au spiromesifen, les analyses biochimiques ont révélé une diminution des taux des lipides dans les extraits du corps entier (Bouabida *et al.*, 2017). Une diminution rapide et significative des taux des lipides totaux sont notés chez *D. melanogaster* traité par le spiromesifen à la CL<sub>10</sub> et à la CL<sub>25</sub> est observée au cours du développement nymphal et ceci avec une relation dose-réponse de (Bensafi-Gheraibia *et al.*, 2013). Bairi *et al.* (2018) ont enregistré une diminution significative avec une relation dose-réponse du taux des lipides chez l'escargot *Helix aspersa* exposé pendant 96h aux deux concentrations létales (CL<sub>50</sub>) de 5 et 10 µg/ml du spiromesifen.

#### 4.2.2.5. Effets sur le taux du malonedialdéhyde

Les conséquences de la pollution ou l'exposition à certains pesticides se manifestent en premier lieu par une peroxydation des lipides membranaires avec le malonedialdéhyde (MDA) comme produit final (Zielinski & Pörtner, 2000) et dont la teneur est en relation étroite avec les dégradations de la membrane cellulaire. C'est donc un indicateur précoce d'une agression toxique et par conséquent il peut être utilisé comme biomarqueur du stress oxydatif lié au dommages oxydatifs des lipides (Funes *et al.*, 2005 ; Box *et al.*, 2007 ; Ladhar-Chaabouni *et al.*, 2009 ; Lavarías *et al.*, 2011 ; ParrillaTaylor *et al.*, 2013). Les radicaux libres oxygénés sont à l'origine d'une dégradation des lipides à travers la  $\beta$  oxydation (Aurousseau, 2002).

La peroxydation lipidique est suivie d'un changement au niveau de la structure des membranes biologiques (Bebianno *et al.*, 2005) ou d'autres éléments contenant des lipides (Al-Mutairi *et al.*, 2007). Il en résulte une perte de la perméabilité, et une inactivation des récepteurs et des enzymes membranaires (Pampanin *et al.*, 2005). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules. Ainsi, la peroxydation lipidique est une source endogène des dommages de l'ADN (Marnett, 2002).

La présente expérimentation montre que le spiromesifen appliqué chez les Crevettes nouvellement exuviées augmente rapidement le taux de MDA par rapport aux témoins après quelques heures de traitement. L'augmentation du taux de MDA observée dans cette étude suggère des dommages oxydatifs provoqués par le spiromesifen. Le niveau élevé de MDA indique que le système antioxydant n'a pas pu éliminer complètement l'anion superoxyde  $O_2^-$  (Tao *et al.*, 2013).

Ren *et al.* (2015) enregistre une diminution significative du taux de MDA chez les juvéniles de Crevette *Litopenaeus vannamei* exposées au benzo[a]pyrene. Le taux de la peroxydation lipidique (LPO) a diminué significativement chez l'écrevisse *Procambarus fallax forma virginalis* traités par cyperméthrine (Lidova *et al.*, 2016). Par contre, une augmentation significative de la LPO a été observée dans les hépatopancréas (Wei & Yang, 2015a) et dans les branchies (Wei & Yang, 2015b) de l'écrevisse rouge *Procambarus clarkii* après 96h d'exposition à la bêta-cyperméthrine à des concentrations allant de 0,005 à 0,04  $\mu\text{g/L}$ . Chez le poisson *Oryzias latipes* exposé au chrome « Cr » dissous, Chen *et al.* (2016) ont

noté une augmentation du taux de MDA de 2,4 fois par rapport aux témoins et une diminution significative au niveau des branchies du poisson.

Bouabida *et al.* (2017) notent une augmentation significative du taux de MDA enregistré suite à une déficience du système de défense antioxydant à été rapportée chez *Culex pipiens* exposés au spiromesifen (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>). Ces résultats sont similaires a ceux rapporté chez *D. melanogaster* exposée au même insecticide (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) (Bensafi-Gheraibia *et al.*, 2013) et *C. longiareolata* et *C. pipiens* (Bouabida, 2014 ; Bouabida *et al.*, 2017). Enfin, Bairi *et al.* (2018) ont enregistré une augmentation significative a relation dose-réponse du taux de MDA chez l'escargot *Helix aspersa* exposé pendant 96h au deux concentration létales (CL<sub>50</sub>) de 5 et 10 µg/ml du spiromesifen.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les Crevettes ont fait l'objet de plusieurs études au niveau du laboratoire de Biologie Animale et Appliquée. Le présent travail vise à évaluer l'impact de trois insecticides sélectifs chez la Crevette *P. adspersus* (Decapoda, Palaemonidae). Les résultats obtenus sont subdivisés en deux parties:

**Dans une première partie** nous avons déterminé les effets secondaires de deux perturbateurs de croissance des insectes (PCIs): le dimilin (DFB), inhibiteur de la synthèse de la chitine et le méthoxyfénozide (RH-2485), analogue de l'hormone de mue sur le poids corporel de la Crevette, la composition biochimique de la cuticule (chitine, protéines et sels calciques) ainsi que sur le taux de GSH au niveau de la chair et l'activité enzymatique de l'AChE au niveau de la chaîne nerveuse. Les insecticides sont additionnés à l'eau d'élevage aux doses de 16 ng/L et 1 µg/L pour le DFB et 24,54 µg/L pour le RH-2485. On a procédé à deux modes de traitement : **traitement de 24h** et **traitement continu** (traitement de l'exuviation jusqu'à l'intermue).

L'application des insecticides se traduit par une diminution du taux de chitine, le DFB à la dose de 1 µg/L à un effet plus prononcé par rapport au RH-2485 pour les deux modes de traitement, ce qui confirme son mode d'action primaire. Concernant le taux des protéines cuticulaires, on remarque une augmentation significative du taux des protéines chez les Crevettes traitées par les deux modes, le RH-2485 à un effet plus marqué sur le taux de protéines que le DFB. Pour les sels calciques, le traitement par les PCIs durant 24 h est sans effet significatif sur les taux. En revanche, le traitement continu, affecte les taux des sels calciques chez les séries traitées par le DFB et RH-2485. Le traitement par les deux PCIs provoque une induction du système de détoxification se traduisant par une diminution du taux du GSH pour les deux types de traitement. Pour l'activité de l'AChE on constate que le DFB et le RH-2485 sont sans effet.

**Dans la seconde partie de notre étude**, des essais insecticides nous a permis de préciser les doses sublétales du spiromesifen chez la Crevette *P. adspersus*, un inhibiteur de la biosynthèse des lipides ( $CL_{10} = 4,21$  et  $CL_{25} = 8,98$  µg/L). Cet insecticide a été additionné à l'eau d'élevage des crevettes nouvellement exuviées et plusieurs paramètres biochimiques ont été évalués à 0, 4, 8 et 12 jours de traitement.

L'activité enzymatique de la GST a été réduite chez les Crevettes exposées au spiromsifen. On note une inhibition immédiate de l'activité de l'ACHé chez les Crevettes exposées au spiromsifen, cet insecticide à un effet neurotoxique à l'égard de *P. adspersus* aux doses sublétales. Le spiromsifen provoque l'induction du système de détoxification qui se traduit par une diminution au cours du traitement du taux de la GSH avec un effet dose-réponse. Les analyses biochimiques révèlent que le spiromsifen réduit de manière significative la teneur en lipides chez les Crevettes au cours du traitement et ceci avec une relation dose-réponse significative. On enregistre également une induction du taux de malondialdéhyde un biomarqueur de la peroxydation lipidique chez les séries traitées comparativement aux témoins.

L'ensemble des résultats acquis confirme le mécanisme d'action primaire du dimilin sur la synthèse de la chitine cuticulaire: le méthoxyfénozide perturbe le développement de la crevette. De plus, le spiromsifen affecte la synthèse des lipides et induit le MDA confirmant son action sur la biosynthèse des lipides. Compte tenu du rôle des ecdystéroïdes dans le développement et la reproduction des Arthropodes en général, il serait intéressant de compléter ce travail par l'évaluation des effets du méthoxyfénozide, un agoniste des ecdystéroïdes, sur le profil de l'hormone de mue et la reproduction (vitellogénèse) de cette espèce de Crevette.

# **RESUMES**

## 6. RESUMES

### 6.1. Résumé

Cette étude conduite dans les conditions de laboratoire, porte dans une première partie sur l'effet de deux perturbateurs de croissance des insectes (PCIs): le dimilin (DFB), inhibiteur de la synthèse de la chitine et le méthoxyfénozide (RH-2485), agoniste de l'hormone de mue sur le poids corporel, la composition biochimique de la cuticule, sur le taux du glutathion (GSH) et l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) chez la Crevette *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Crustacea, Decapoda). Le GSH et l'AChE sont des biomarqueurs du stress environnemental et de neurotoxicité, respectivement. La deuxième partie consiste à évaluer l'impact des doses sublétales d'un insecticide sélectif, inhibiteur de la synthèse des lipides, le spiromesifen, sur l'activité de la glutathion S-transférase (GST) et l'AChE, le taux du GSH, la teneur des lipides et, enfin, sur les taux de malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de la peroxydation lipidique.

Les PCIs sont additionnés à l'eau d'élevage des Crevettes aux doses de 16 ng/L et 1 µg/L pour le DFB et 24,54 µg/L pour le RH-2485. Les crevettes nouvellement exuviées sont exposées aux insecticides selon deux modes de traitement : **traitement de 24h** ; les crevettes sont plongées dans de l'eau de mer traitée pendant 24h, puis elles sont transférées dans de l'eau de mer non contaminé jusqu'à l'intermue (Stade C), **traitement continu** ; Les crevettes sont exposées aux insecticides du stade A jusqu'au stade C (intermue) où la minéralisation et le dépôt des couches cuticulaires sont achevés.

L'évolution du poids corporel des crevettes dans les conditions normales révèle que le poids le plus bas est enregistré au stade A puis il augmente progressivement pour atteindre son maximum au stade C; on a noté également une légère baisse du poids corporel au stade D. Après l'exposition aux insecticides, le poids du corps des crevettes diminue significativement, cette diminution est plus importante chez les crevettes traitées au mode continu.

La composition biochimique de la cuticule chez les séries témoins montre que le taux de la chitine cuticulaire augmente au cours de la période allant du stade A jusqu'au stade C, une légère diminution est noté au stade D. Pour les taux de protéines on enregistre les taux les plus bas à la post-mue (stade A et stade B) et à l'intermue (stade C). Les variations des taux des sels calciques indiquent que le taux le plus faible est observé au stade A, ces taux augmentent significativement par la suite pour atteindre un maximum au stade C. Suite à

l'application des insecticides on enregistre une diminution du taux de la chitine; le DFB à la dose de 1 µg/L provoque une diminution plus marquée comparativement à la dose 16 ng/L tandis que le RH-2485 réduit ces taux avec les deux modes de traitement. Ces effets confirment le mode d'action primaire du dimilin. Le taux des protéines chez les Crevettes traitées par les insecticides aux deux modes de traitement augmente significativement: le RH-2485 affecte plus le taux de protéines par rapport au DFB. Les deux PCIs administrés pendant 24 h sont sans effet sur le taux des sels calciques. Par contre, le traitement continu provoque une variation significative du taux des sels calciques chez les Crevettes traitées par DFB et le RH-2485.

La mesure du taux du GSH au cours du cycle de mue des animaux témoins révèle que le taux le plus élevé est noté au stade A, et le taux le plus bas est marqué au stade C. Il augmente significativement au stade D. Le taux du GSH au niveau des séries traitées par rapport aux séries témoins indique une induction du système de détoxification. Enfin, l'analyse de l'activité spécifique de l'AChE durant le cycle de mue montre une légère augmentation de l'activité au stade C. La détermination de l'effet des PCIs sur l'activité de l'AChE révèle que les insecticides sont sans effet neurotoxique.

Le traitement par le spiromesifen a été réalisé chez des Crevettes nouvellement exuviées et plusieurs concentrations (6, 12 et 24 g/L) ont été testées. Les doses sublétales ( $CL_{10} = 4,21$  et  $CL_{25} = 8,98$  µg/L) ont été déterminées et évaluées en fonction du temps sur plusieurs paramètres biochimiques. Le spiromesifen augmente d'une manière significative et rapide l'activité de la GST avec une relation dose-réponse. En outre, il provoque une inhibition immédiate de l'activité de l'AChE chez les Crevettes traitées. Il induit également une diminution rapide et continue au cours du traitement du taux du GSH avec une relation dose-réponse. Le traitement réduit également significativement et rapidement les teneurs en lipides chez les Crevettes au cours du traitement et ceci avec une relation dose-réponse. En parallèle on enregistre une induction immédiate du taux de MDA chez les Crevettes traitées comparativement aux témoins.

**Mots clés :** Crustacés, *Palaemon adspersus*, Cycle de mue, Cuticule, Chitine, Dimilin, Méthoxyfénoside, Spiromesifen, Toxicité, Acétylcholinestérase, Glutathion, Glutathion S-transférase, Lipides, Malondialdéhyde.

## 6.2. Abstract

This study carried under laboratory conditions deals in a first part with the effect of two insect Insect Growth Disruptors (IGDs): dimilin (DFB), a chitin synthesis inhibitor (CSI) and methoxyfenozide (RH-2485), a molting hormone agonist on body weight, the biochemical composition of the cuticle, on glutathione (GSH) levels, and the specific activity of acetylcholinesterase (AChE) in shrimp *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Crustacea, Decapoda). GSH and AChE are biomarkers of environmental stress and neurotoxicity, respectively. The second part consists in evaluating the impact of sublethal doses of a selective insecticide, inhibitor of lipid synthesis, spiromesifen, on the activity of glutathion S-transferase (GST) and AChE, the rate of GSH, lipid content and, finally, on malondialdehyde (MDA) levels, a biomarker of lipid peroxidation.

IGDs are added to rearing water of shrimps at a 16 ng/L and 1 µg/L for DFB and 24.54 µg/L for RH-2485. Newly molted shrimps were exposed to insecticides in two treatment types: 24h treatment (shrimps were exposed for 24 hours), and continuous treatment (shrimps were exposed from stage A to stage C corresponding to intermolt where mineralization and deposition of the cuticular layers are completed). The evolution of a body weight of shrimps under normal conditions indicate that the lowest weight is recorded to stage A then it increases progressively to reach its maximum in stage C; there was also a slight decrease in body weight in stage D. After exposure to insecticides, shrimps' body weight decreased significantly, this decrease was greater in shrimp treated in continuous way. The biochemical composition of the cuticle in the control series shows that the cuticular chitin level increases during the period from stage A to stage C, a slight decrease is noted in stage D. Protein levels were lowest at post-molt (stage A and stage B) and intermolt (stage C). Variations in calcium salt levels indicate that the lowest rate is observed at stage A. These rates increase significantly thereafter to reach a maximum at stage C. Following the application of insecticides there is a decrease in the rate of chitin; the DFB at a dose of 1 µg/L causes a marked decrease compared to the 16 ng/L dose while the RH-2485 reduces these rates with the two treatment types. These effects confirm the primary mode of action of dimilin on chitin synthesis. Protein levels in shrimp treated with insecticides in both treatment ways were significantly increased s: RH-2485 affects protein levels more than DFB. The two IGDs administered for 24 hours have no effect on the calcium salt levels. On the other hand,

the continuous treatment causes a significant variation in the calcium salt level in the shrimps treated with DFB and RH-2485.

Measurement of GSH level during the molt cycle of the control shrimps reveals that the highest rate is noted at stage A, and the lowest rate is marked at stage C. It increases significantly at stage D. The GSH level in the treated series indicates an induction of the detoxification system as compared to the controls. Finally, analysis of the specific activity of AChE during the molt cycle shows a slight increase at stage C. The tested IGDs on AChE activity reveal that these insecticides have no neurotoxic effect.

Treatment with spiromesifen was performed in newly molted shrimps and several concentrations (6, 12 and 24 g / L) were tested. Sublethal doses ( $CL_{10} = 4.21$  and  $CL_{25} = 8.98$   $\mu\text{g/L}$ ) were determined and evaluated as a function of time on several biochemical parameters. Spiromesifen increases significantly and rapidly the activity of GST with a dose-response relationship. In addition, it causes an inhibition of AChE activity in treated shrimps. It also induces a rapid and continuous decrease during the treatment of the GSH level with a dose-response relationship. The treatment also reduces significantly and rapidly the lipid levels from shrimp during treatment and this with a dose-response relationship. In parallel, there is an immediate induction of MDA level in treated shrimp compared to controls.

**Key words:** Crustacean, *Palaemon adspersus*, Molt cycle, Cuticle, Chitin, Dimilin, Methoxyfenozide, Spiromesifen, Toxicity, Acetylcholinesterase, Glutathione, Glutathione S-transferase, Lipids, Malondialdehyde.

### 3.6. ملخص

في شروط مخبرية تنقسم هذه الدراسة إلى جزئين: الجزء الأول يتعلق بتأثير نوعان من مسببا إضطراب النمو للحشرات (PCIs) : dimilin (DFB) مثبط لتكوين الكيتين و méthoxyfénozide (RH-2485) مقلد لهرمون الإنسلاخ، على وزن الجسم، تكوين بيوكيميائي للقشرة، مستوى الجلوتاتيون (GSH) و نشاط إنزيم استيلكوليناستراز (AChE) عند الجمبري (Rathke, 1837) *P. alaemonadspersus* (قشريات ، عشريات الأرجل). (GSH) و (AChE) عبارة عن مؤشرات حيويان للإختلال البيئي و التسمم العصبي على التوالي. في الجزء الثاني من الدراسة نتطرق إلى تقييم تأثير الجرعات شبه مميتة لمبيد حشري إنتقائي مثبط لتكوين الدهون spiromesifen على نشاط إنزيم الجلوتاتيون-S - ترانسفيراز (GST) و (AChE)، نسبة (GSH)، محتوى الدهون و التأثير على مستوى (MDA)amalondialdéhyde مؤثر حيوي لبيروكسيدسيون الدهون.

تضاف الـ (PCIs) إلى مياه حوض التربية للجمبري بالجرعات التالية : 16 نانوغرام/لتر و 1 ميكروغرام/لتر لـ (DFB) و 24,54 ميكروغرام / لتر لـ (RH-2485). يتعرض الجمبري المنسلخ حديثا للمبيدات الحشرية حسب حالتي علاج : علاج على مدار 24 ساعة ينغمس الجمبري في مياه البحر المعالجة لمدة 24 ساعة ثم ينقل إلى مياه البحر غير ملوثة حتى غاية الطور C (بين سلختين) و العلاج المستمر حيث يتعرض الجمبري لمبيدات الحشرات من الطور A حتى الطور C أين يكون التمعدن و توضع الطبقات القشرية قد إنتهى.

التغيرات في وزن جسم الجمبري في الظروف العادية تشير إلى أن أقل وزن سجل في الطور A ويزداد تدريجيا إلى أن يصل إلى ذروته في الطور C، أين لوحظ أيضا إنخفاض طفيف في وزن الجسم في الطور D. بعد التعرض للمبيدات الحشرية سجل إنخفاض في وزن الجسم بشكل ملحوظ، هذا الإنخفاض مسجل بنسبة أكبر عند الجمبري المعرض للعلاج المستمر.

يوضح التركيب البيوكيميائي للقشرة عند الفئة الشاهدة أن مستوى الكيتين القشري يزداد خلال الفترة من الطور A الى الطور C ثم نلاحظ إنخفاض طفيف في الطور D. بالنسبة للبروتين نسجل أدنى مستوى خلال الفترة ما بعد مرحلة الإنسلاخ (طور A و B) و مرحلة بين سلختين (الطور C). تشير الإختلافات في نسبة الأملاح الكلسية إلى أن أدنى مستوى سجل في الطور A و تزداد هذه النسبة بشكل كبير إلى أن تصل ذروتها الأقصى في الطور C. بعد تطبيق مبيدات الحشرات نلاحظ أن هناك إنخفاض في نسبة الكيتين حيث أن الـ (DFB) بجرعة 1 ميكروغرام / لتر يسبب إنخفاضا أكثر وضوحا مقارنة بالجرعة 16 نانوغرام / لتر

في حين أن (RH-2485) يسبب إنخفاض في هذه النسبة في كلتا حالتى العلاج. هذه التأثيرات تؤكد العمل الاساسى لـ (DFB).نسبة البروتينات ترتفع بنسبة كبيرة عند الجمبرى المعالج بالمبيدات الحشرية في كلا حالتى العلاج حيث أن (RH-2485) يؤثر على نسبة البروتين بصفة أكبر من (DFB).في حالة العلاج 24 ساعة الـ (PCIs) لا يؤثران على مستوى الأملاح الكلسية من ناحية أخرى العلاج المستمر يسبب زيادة كبيرة في نسبة الأملاح الكلسية عند الجمبرى المعالج بـ (DFB) و (RH-2485).

يوضح قياس نسبة (GSH) أثناء مختلف أطوار الإنسلاخ أن أعلى معدل تم تسجيله في الطور A و أقل معدل مسجل في الطور C و يزداد بشكل ملحوظ في الطور D. وقد دل تغيير نسبة (GSH) عند الفئات المعالجة مقارنة بالفئات الشاهدة تحريضا لنظام ضد التسمم. وأخيرا يظهر تحليل النشاط الإنزيمي (AChE) أثناء مختلف أطوار الإنسلاخ زيادة طفيفة في الطور C. إن تأثير (PCIs) على النشاط الإنزيمي (AChE) يكشف على أن المبيدات بدون تأثير فيما يخص التسمم العصبي.

أجري علاج Spiromesefen على الجمبرى حديث الإنسلاخ، عدة تركيزات (12.6، 24 غرام /التر ) تم إختبارها. كما تم تحديدالتركيزات الشبه قاتلة،(ميكروغرام / لتر CL<sub>10</sub>=4,21 و CL<sub>25</sub>=8,98) وتقييمها على عدة مؤشرات بيوكيميائية وفقا للوقت. يزيد Spiromesefen من نشاط (GST) بشكل كبير وسريع مع علاقة جرعة إستجابة. بالإضافة الى أنه يسبب تثبيط فوري لنشاط الإنزيم (AChE) عند الجمبرى المعالج.كما أنه يؤدي إلى إنخفاض سريع ومستمر لنسبة (GSH) خلال العلاج مع علاقة جرعة إستجابة.كما أن العلاج يؤدي إلى إنخفاض سريع و بشكل كبير لنسبة الدهون عند الجمبرى أيضا مع علاقة جرعة إستجابة. أخيرا نسجل أنه هناك إرتفاع فوري لنسبة (MDA) عند فئات الجمبرى المعالج مقارنة مع فئات الشاهدة.

#### الكلمات المفتاحية :

قشريات -*P. alaemonadspersus* -دورة الإسلاخ-قشرة -كيتين-Dimilin-Spiromesifen-  
-Méthoxyfénozideتسمم-استيلكوليناستراز- الجلوتاتيون-S - ترانسفيراز-الجلوتاتيون- دهون.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## 7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W. B. (1925).** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol*; 18: 265-267.
- Abdullah, A., Kumar, A. & Chapman, J. (1994).** Inhibition of acetylcholinesterase in the Australian freshwater shrimp (*Paratya australiensis*) by profenofos. *Environ Tox Chem*; 13: 1861-1866.
- Adriana, M., Skorkowski, E. & Stepnowski, P. (2012).** The Use of Different MS Techniques to Determine Glutathione Levels in Marine Tissues. *Food Anal. Methods*. 6: 789-802.
- Agatz, A., Ashauer, R. & Brown, C.D. (2014).** Imidacloprid perturbs feeding of *Gammarus pulex* at environmentally relevant concentrations. *Environ. Toxicol. Chem*; 33: 648-653.
- Agüero, M.A.F., Neves, P.M.O.J. & Cremonez, P.S.G. (2014).** Efeito do piriproxifeme diflubenzurom na reprodução de *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Inv. Agr*; 16: 99-106.
- Ahmad, I., Olivia, M., Pachico, M. & Santos, M.A. (2005).** *Anguilla anguilla* L. Oxidative Stress as Biomarker Responses to Copper Exposure with or Without Beta- naphthaloflavone Pre-exposure. *Chemosphere*; 61(2): 265-275.
- Akbar, Z., Qasim, R. (1998).** Siddiqui PJA. Seasonal variations in biochemical composition of edible crab (*Portunus pelagicus Linnaeus*), *Jour. of Islamic Acad. of Sci*; 1(2): 127-133.
- Ali, A. & Mulla, M. (1978).** Impact of the insect growth regulator diflubenzuron on invertebrates in a residentialrecreational lake. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*; 7: 483-491.
- Allan, G.L., Moriarty, D.J.W. & Maguire, G.B. (1995).** Effects of pond preparation and feeding rate on production of *Penaeus monodon* Fabricius, water quality, bacteria and benthos in model farming ponds. *Aquaculture*; 130:329-349.

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

**Altieri, M.A. & Nicholls, C.I. (2004).** Biodiversity and pest management in agroecosystems. New York: Food Products Press; (2).

**Amiard-Triquet, C., Altamann, S., Amiard J.C., Ballan-Dufrancais, C., Baumard, P., Budzinski, H., Crouzet, C., Guarrigue, J.P., His, E., Jeantet, A.Y., Menarsia, R., Mora P., Mouneyrac, C., Narbonne J.F. & Pavillon J.F., (1998).** Fate and effects of micropollutants in the Girond estuary, France: a multidisciplinary approach. *Hydrobiologia*; 373-374: 259-279.

**Amin, T.R. & Mohamady, A.H. (2009).** Physiological symptoms induced by ecdysone agonist methoxyfenozide on the cotton leafworm *SPODOPTERA LITTORALIS* (BOISD) Arab Univ. J. Agric. Sci.

**Amira, K., Boudjelida, H. & Farine, J.P. (2013).** Effect of an Insect Growth Regulator (Halofenozide) on the Cuticular Hydrocarbons of *Culex pipiens* Larvae. *Afr Entomol*; 21(2): 343-348.

**Anger, K. (2001).** The Biology of Decapod Crustacean Larvae. Balkema, Lisse; 417.

**Ansari, R., Kaur, M., Ahmad, F., Rahman, S., Rashid, H., Islam, F. & Raissudin, S. (2009).** Genotoxic and oxidative stress-inducing effects of deltamethrin in the erythrocytes of a freshwater biomarker fish species, *Channa punctata* Bloch. *Environ Toxicol*; 24: 429-436.

**Antia, N.J., Harrison, P.J.D.S., Sullivan, D.S. & Bisalputra, T. (1985).** Influence of the insecticide diflubenzuron (Dimilin) on the growth of marine diatoms and a harpacticoid copepod in culture. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*; 42: 1272-1277.

**Anto, M., Arnau, S., Buti, E., Cortijo, V., Gutiérrez, E. & Solé, M. (2009).** Characterisation of integrated stress biomarkers in two deep-sea crustaceans, *Aristeus antennatus* and *Nephrops norvegicus*, from the NW fishing grounds of the Mediterranean sea. *Ecotoxicol Environ Saf*; 72: 1455-1462.

**Aribi, N., Quennedy, A., Soltani, N. & Delbecque, J.P. (1999).** L'initiation de la métamorphose chez *Zophobas atratus* (Coléoptera : Tenebrionidae) : effets des ligatures et des régulateurs de croissance. *Ann Soc Entomol Fr*; 35: 59-64.

**Aribi, N., Smagghe, G., Lakbar S., Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N. (2006).** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pest Biochem Physiol*; 84 (1): 55-62.

**ARLA, Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire. (2007).** Rapport d'évaluation Spiromesifen. [www.pmra-arla.gc.ca](http://www.pmra-arla.gc.ca).

**Atif, F., Parvez, S., Pandey, S., Ali, M., Kaur, M., Rehman, H., Khan, H.A. Raisuddin, S. (2005).** Modulatory effect of cadmium exposure on deltamethrin-induced oxidative stress in *Channa punctata* Bloch. *Arch Environ Contam Toxicol*; 49: 371-377.

**Aurousseau, B. (2002).** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux: Conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim*; 15(1): 67-82.

**Babczinski, P. & Arthur, E.L. (2005).** Environmental fate of spiromesifen (Oberon). *Planzenschutz-Nachrichten Bayer*; 58:371-390.

**Badiou, A. & Belzunces, L.P. (2008).** Is acetylcholinesterase a pertinent biomarker to detect exposure of pyrethroids? A study case with deltamethrin. *Chem.-Biol. Interact*; 175: 406-409.

**Bairi, Y., SIFI, k. & Soltani, N. (2018).** Impact d'un pesticide l'oberon (spiromesifen) sur les taux des lipides et du malonaldehyde chez une espèce bioindicatrice de la pollution des sols l'escargot *Helix aspersa*. Premier séminaire national sur l'eau, l'environnement et santé. 98 p.

**Barata, C., Solayen, A. & Porte, C. (2004).** Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna*. *Aquat.Toxicol*; 66: 125-139.

**Barrett, B.A. (2008).** Assessment of methoxyfenozide exposure on the sexual attractiveness and responsiveness of adult codling moth, *Cydia pomonella* L., in small orchard blocks. *Entomology Program Area*; 64 (9): 916-922.

- Bebianno, M.J., Company, R., Serafim, A., Cosson, R.P. & Fiala-Medoni, A. (2005).** Antioxidant systems and lipid peroxidation in Bathy-modiolusazoricus from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields. *Aquat. Toxicol*; 75: 354-373.
- Beckage, N.E., Marion, K.M, Walton, W.E, Wirth, M.C. & Tan, F.F. (2004).** Comparative larvicidal toxicities of three ecdysone agonists on the mosquitoes *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, and *Anopheles gambiae*. *Arch. Insect Biochem. Physiol*; 57:111-122.
- Belasque Jr, .J., Bassanezi, R.B., Yamamoto, P.T., Ayres, A.J., Tachibana, A., Violante, A.R., Tank-Junior, A., Di Giorgi, F., Tersi, F.E.A., Menezes, G.M., Dragone, J., Jank-Junior, R.H. & Bove, J.M. (2010).** Lessons from huanglongbing management in São Paulo state. *Braz. J. Plant Pathol*; 92: 285-302.
- Benradia, H. (2016).** Impact d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine, le novaluron, sur le développement et la croissance d'un crustacé: *Palaemon adspersus*. Thèse de doctorat. Université d'Annaba; 87 p.
- Bensafi-Gheraibia, H. (2015).** Evaluation du spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophila melanogaster*: aspects toxicologique, biochimique et comportemental. Doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 92 p.
- Bensafi-Gheraibia, H., Menail, A.H. & Soltani, N. (2013).** Activité d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) chez *Drosophila melanogaster*: taux et peroxydation lipidiques et effet sur la descendance. *Bull. Soc. zool. Fr*; 138(1-4): 189-199.
- Bergey, L. & Weis, J.S. (2007).** Molting as a mechanism of depuration of metals in the fiddler crab, *Uca pugnax*. *Mar Environ Res*; 64: 556-562.
- Berghiche, H., Benradia, H. & Soltani, N. (2016).** Impact of insect growth disruptor, novaluron, on biochemical composition of cuticle from the shrimp *Palaemon adspersus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 4(2): 147-151.
- Berghiche, H., Touati, K., Chouahda, S. & Soltani, N. (2018).** Impact of the Neonicotinoid Insecticide, Actara®, on the Shrimp *Palaemon adspersus*: Biomarkers Measurement. *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions*; 533-534.

**Bezzazel, N. (2001).** Contribution a la physiologie de la crevette *Penaeus kerathurus* : sécrétion cuticulaire, corrélation métabolique et hormonales. Mémoire de magister en science de la mer. Université d'Annaba. 75p.

**Bianchi, F.J., Booij, C.J. & Tschardtke, T. (2006).** Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. Proceedings. Biological sciences. The Royal Society; 273: 1715-1727.

**Bielza, P., Contreras, J., Quinto, V., Izquierdo, J., Mansanet, V. & Elbert, A. (2005).** Effects of Oberon 240 SC on bumblebees pollinating greenhouse tomatoes. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer; 58: 469-484.

**Bjorling-Poulsen, M., Andersen, H.R. & Grandjean, P. (2008).** Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. Environ Health; 7: 50.

**Blackwell, J. & Weih, M.A. (1980).** Structure of chitin-protein complexes - ovipositor of the 419 ichneumon fly *Megarhyssa*. J. Mol. Biol; 137: 49-60.

**Bliss, (1938).** The determination of the dosage mortality from small numbers. *Q J Phram*; 2: 192-216.

**Bocquené, G. & Galgani, F. (1998).** Cholinesterase inhibition by organophosphorus and carbamate compounds. Techniques in Marine Environmental Science; 22-13.

**Bocquené, G., Galgani, F. & Truquet, P. (1990).** Characterisation and assay conditions for the use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. *Marine Environmental Research*; 30: 75-89.

**Bocquené, G., Roig, A. & Fournier, D. (1997).** Cholinesterases from the common oyster (*Crassostrea gigas*). FEBS Letters; 14: 1-6.

**Bolton-Warberg, M., Coen, L.D. & Weinstein, J.E. (2007).** Acute toxicity and acetylcholinesterase inhibition in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and oysters (*Crassostrea virginica*) exposed to the organophosphate dichlorvos: laboratory and field studies. Arch Environ Contam Toxicol; 52(2): 207-216.

**Bonde, J.P., Toft, G., Rylander, L., Rignell-Hydbom, A., Giwercman, A., Spano, M., Manicardi, G.C., Bizzaro, D., Ludwicki, J.K., Zvezday, V., Bonfeld-Jorgensen, E.C., Pedersen, H.S., Jonsson, B.A. & Thulstrup, A.M. (2008).** Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ Health Perspect*; 116: 269-277.

**Bouabida, H. (2014).** Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifen sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*: aspects écologique et biochimique. Doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie.

**Bouabida, H., Tine-Djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N. (2017).** Activity of spiromesifen on growth and development of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae): Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *J. Entomol. Zool. Stud*; 5(1): 572-577.

**Bouabida, H., Tine-djebbar, F., Tine, S. & Soltani, N. (2017).** Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae); 7(12): 1120-1124.

**Bouligand, Y. (1972).** Twisted fibrous arrangements in biological-materials and cholesteric mesophases. *Tissue Cell*; 4: 189.

**Bouzeraa, H. & Soltani-Mazouni, N. (2012).** Effets du méthoxyfénozide et du tébufénozide sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. zool. Fr*; 137(1-4): 157-167.

**Box, A., Sureda, A., Galgani, F., Pons, A. & Deudero, S. (2007).** Assessment of environmental pollution at Balearic Islands applying oxidative stress biomarkers in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol*; 146: 531-539.

**Boyer, S. (2006).** Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides: Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Laboratoire d'Ecologie Alpine. 78 p.

**Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*; 72: 254-278.

**Bretschneider, T., Benet-Buchholz, J., Fischer, R. & Nauen, R. (2003).** Spirodiclofen and Spiromesifen-novel acaricidal and insecticidal tetrionic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia International Journal for Chemistry*; 57(11): 697-701.

**Brévault, L., Couston, A., Bertrand, M., Thézé, S., Nibouche, M. & Vaissayre. (2009).** Sequential pegboard to support small farmers in cotton pest control decision making in Cameroon. *Crop protection*; 28: 968-973.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie -Phytochimie, plantes médicinales, 4<sup>e</sup> éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc-Éditions médicales internationales ISBN: 978-2-7430-1188-8. 1288p.

**Bull, D.L. & Patterson, R.S. (1993).** Characterization of pyrethroid resistance in a strain of the German cockroach (Dictyoptera – Blattellidae). *J. Econ. Entomol*; 86: 20-25.

**Bystriansky, J., Frick, N., Richards, J., Schulte, P. & Ballantyne, J. (2007).** Wild Arctic char (*Salvelinus alpinus*) upregulate gill Na<sup>+</sup> /K<sup>+</sup> -ATPase during freshwater migration. *Physiological and Biochemical Zoology*; 80: 270-282.

**Cailleaud, K., Maillet, G., Budzinski, H., Souissi, S. & Forget-Leray, J., (2007).** Effects of salinity and temperature on the expression of enzymatic biomarkers in *Eurytemora affinis* (Calanoida, Copepoda). *Comp. Biochem. Physiol*; 147(A): 841- 849.

**Calvet, R., Barriuso, E., Bedos, C., Benoit, P., Charay, M.P. & Coquet, Y. (2005).** Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole, 637 p.

**Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J., Pennington, J.E. & Wells, M.A. (2001).** Fat metabolism in insects. *Annu. Rev. Nutr*; 21: 23-46.

**Canesi, L. & Viarengo, A. (1997).** Age-related differences in glutathione metabolism in mussel tissues (*Mytilus edulis* L). *Comp Biochem Physiol*; 116(B): 217-221.

**Carlson, G.R. Dhadialla, T.S., Thompson, C., Ramsay, R., Tiragnam, M., James, W. & Slawechi, R. (1994).** Insect toxicity, metabolism and receptor binding characteristics of the nonsteroidal ecdysone agonist, RH-5992. Prox XI th. Ecdysone workshop.

**Cassida, J. & Quistad, B. (1998).** Golden age of insecticide research: past present or future? *Annu Rev. Entomol*; 43: 1-16.

**Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N. & Chim, L. (2010).** Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defence and oxidant stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio Nigripulchritudo* challenge. *Fish Shellfish immunol*; 28: 622-631.

**Cauley, Mc., De Graeve, D.J. & Linton, T.K. (2000).** Sediment quality guidelines and assessment: overview and research needs. *Environmental Science & Policy*; 3: 133-144.

**Cemagref (2005).** Pesticides, agriculture et environnement-Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective. Synthèse du rapport d'expertise réalisé par l'INRA et le Cemagref à la demande du Ministère de l'agriculture et de la pêche (MAP) et du Ministère de l'écologie et du développement durable (MEDD). 68 p.

**Chainy, G.B., Paital, B. & Dandapat, J. (2016).** An overview of seasonal changes in oxidative stress and antioxidant defense parameters in some invertebrate and vertebrate species. *Scientifica*. 8p.

**Chambost-Manciet, Y. (2002).** Ampleur et effets biologiques de la contamination métallique (Cd, Cu, Fe, Pb et Zn) des sédiments en Mer du Nord. Utilisation de l'étoile de mer *Asterias rubens* (L.) comme bioindicateur et biomarqueur. Thèse de Doctorat Université Libre de Bruxelles.

**Chandran, R., Williams, L., Hung, A., Nowlin, K. & La-Jeunesse, D. (2016).** SEM characterization of anatomical variation in chitin organization in insect and arthropod cuticles. *Micron*; 82:74-85.

**Chang, E.S. (1995).** Physiological and biochemical changes during the molt cycle in decapods crustaceans: an overview. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*; 193(1-2):1-14.

**Chebira, S., Soltani, N., Muylle, S. & Smagghe, G. (2006).** Uptake distribution of three insect growth regulators diflubenzuron, flucyclohexuron and halofenozide in pupae and adults of *Tenebrio molitor*. *Phytoparasitica*; 34(2): 187-196.

**Chen, A.C. & Meyer, R.T. (1985).** Insecticides: effects on the cuticle. In: *Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology* (Edited by Kerkut, G.A. & Gilbert, L.I.). Pergamon Press, Oxford; 12: 57-74.

**Chen, H., Mu, L., Cao, J., Mu, J., Klerks, P.L., Luo, Y., Guo, Z. & Xie, L. (2016).** Accumulation and effects of Cr (VI) in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) during chronic dissolved and dietary exposures. *Aquatic Toxicology*; 176: 208-216.

**Chen, P.Y., Lin, A.Y.M., Mc Kittrick, J. & Meyers, M.A. (2008).** Structure and mechanical properties of crab exoskeletons. *Acta Biomater*; 4: 587-596.

**Chen, J.G., Qin, K. Chen, X., Wang, S., Wang, Y., Liu, E., Li, C. & Xu, C. (2017).** Effect of dietary lipid level on growth, lipid metabolism and health status of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two salinities L. *Aquaculture Nutrition*; 1-11.

**Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. & Lam, P.K.S. (2001).** Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydro-carbons and antioxidative responses of marine mussels *Perna viridis*. *Aquat. Toxicol*; 52(3-4): 189-203.

**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*; 29(C): 9-14.

**Christiansen, M., Costlow, J. & Monroe, R. (1978).** Effects of the insect growth regulator Dimilin® (TH 6040) on larval development of two estuarine crabs. *Mar. Biol*; 50:29-36.

**Chuiko, G.M., Zhehin, Y. & Pod'gornaya, V.A. (1997).** Seasonal fluctuation in brain AChE activity and soluble protein content in roach (*Rutilus rutilus L.*): a freshwater fish from northwest Russia. *Comp. Biochem. Physiol*; 117(C): 251-257.

**Cognie, D. (1970).** Contribution à l'étude de la biologie de *Penaeus kerathurus* (Crustacés, Décapode) en fonction du cycle d'intermue. *Thèse Doctorat de spécialité. Université, Aix Marseille II*. 83p.

**Cohen, E. (1987).** Interference with biosynthesis in insects. In : J. E. Wright, and A. Retnakaran, eds., Chitin and benzoylphenyl ureas. Dr. W. Junk publishers, Dordrecht, the Netherlands; 43-74.

**Cohen, E. (1993).** Chitin synthesis and degradation as targets for pesticide action. *Arch. Insect. Biochem*; 22: 245-261.

**Colborn, T. (2006).** A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. *Environ. Health. Perspect*; 114: 10-17.

**Collins, D.A. (2006).** A review of alternatives to organophosphorus compounds for the control of storage mites, *J. Stor.Prod. Res*; 42: 395-426.

**Colwell, A.E. & Schaeffer, C.H. (1983).** Effects of an insect growth regulator on plankton And *Gambusia affinis*. *Aquatic Toxicology*; 4: 247-269.

**Coppage, D.L. & Matthews, E. (1974).** Short-term effects of organophosphate insecticides on cholinesterases of estuarine fishes and pink shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*; 2(5): 438- 488.

**Cordeiro, L., Müller, L., Gelesky, M.A., Wasielesky, W., Fattorin, D., Regoli, F., Maria, M. J. & Ventura-Lima, J. (2015).** Evaluation of coexposure to inorganic arsenic and titanium dioxide nanoparticles in the marine shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Environ Sci Pollut Res*; 23: 1214-1223.

**Costa, C.L.A., Chaves, I.S., Ventura-Lima, J., Ferreira, J.L.R., Ferraz, L., Carvalho, L.M. & Monserrat, J.M. (2012).** In vitro evaluation of co-exposure of arsenium and organical nanomaterial (fullerene; 60) in zebrafish hepatocyte. *Comp Biochem Phys*; 155(C): 206-212.

**Costa, L.G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T. & Soldin, O.P. (2004).** Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; 44: 87-110.

**Cribb, B.W., Rathmell, A., Charters, R., Rasch, R., Huang, H. & Tibbetts, I.R. (2009).** Structure, composition and properties of naturally occurring non-calcified crustacean cuticle. *Arthropod Struct Develop*; 38: 173-178.

**Cunningham, P.A. (1986).** A review of toxicity testing and degradation studies used to predict the effects of diflubenzuron (Dimilin) on estuarine crustaceans. *Environmental Pollution*; 40: 63-86.

**Da Rocha, A.M., Salomao de Freitas, D.P., Burns, M., Vieira, J.P., De la Torre, F.R., & Monserrat, J.M. (2009).** Seasonal and organ variations in antioxidant capacity, detoxifying competence and oxidative damage in freshwater and estuarine fishes from Southern Brazil. *Comp Biochem Physiol*; 150(C): 512-520.

**Daas-Maamcha, O., Houd-Chaker, K., Maryam, S., Dass, T. & Scaps, P. (2013).** Effects of an ecdysteroid analog (RH-0345) on the ovarian and testicular components of *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda : Chilopoda). *Jordan J Biol Sci*; 6(2): 91-98.

**Dall, W. (1965a).** Studies on the physiology of a shrimp, *Metapenaeus* sp. (Crustacea: Decapoda: Penaeidea). III. Composition and structure of the tegument *Austr. J. mar. Freshwat. Res*; 1: 13-23.

**Dall, W. (1965b).** Studies on the physiology of a shrimp, *Metapenaeus* sp. (Crustacea: Decapoda: Penaeidea). V. Calcium metabolism. *Austr. J. mar. Freshwat. Res*; 16: 181-203.

**Dall, W. (1965c).** Studies on the physiology of a shrimp, *Metapenaeus* sp. (Crustacea: Decapoda: Penaeidea). IV. Carbohydrate metabolism. *Austr. J. mar. Freshwat. Res*; 16: 163-180.

**Dallaire, R., Labrecque, A., Marcotte, M., Bauce, B. & Delisle, J. (2004).** The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Ent. Exp. Appl*; 112 (3): 169-181.

**Dekeyser, M.A. (2005).** Acaricide mode of action. *Pest Manag. Sci*; 61: 103-110.

**Delachambre, J. (1970).** Etude sur l'épicuticule des insectes. I. Développement de l'épicuticule chez les adultes de *Tenebrio molitor* L. *Zeit. Zellforsch.*, 108: 380-396.

**DeLorenzo, M.E., Serrano, L., Chung, K.W., Hoguet, J. & Key, P.B. (2006).** Effects of the insecticide permethrin on three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Ecotox. Environ. Saf*; 64: 122-127.

**Delorme, R., Lerroux, P. & Gaillardon, P. (2002).** Évolution des produits phytosanitaires à usage agricole : Les insecticides-acaricides. *Phytoma, La défense des végétaux*; 548: 7-13.

**Den Besten, P.J., Valk, S., Weerlee, E., Nolting, R., Postma, J. & Everaarts, J. (2001).** Bioaccumulation and biomarkers in the sea star *Asterias rubens* (Echinodermata: Asteroidea): A North Sea field study. *Mar Environ Res*; 51: 365-387.

**Den Hond, E. & Schoeters, G. (2006).** Endocrine disrupters and human puberty. *Int J Androl*; 29: 264-271.

**Dennell, R. (1943).** Pore canals of the insect cuticule. *Nature (London)*; 152: 50-51.

**Dennell, R. (1946).** A study of an insect cuticule: the larval cuticule of *Sarcophaga falculata*. *Pand. (Diptera)*. *Proc. R. Soc. London*; 133(B): 348-373.

**Dennell, R. (1947).** A study of an insect cuticule: the formation of the puparium of *Sarcophaga falculata*. *Pand. (Diptera)*. *Ibid*; 134: 79-110.

**Dennell, R. (1947).** The occurrence and significance of phenolic hardening in the newly formed cuticle of Crustacea Decapoda. *Proc. R. Soc.*, 134(B): 485-503.

**Denys, C. & Tsscharntke, T. (2002).** Plant-insect communities and predator-prey ratios in field margin strips, adjacent crop fields and fallows. *Oecologia*; 130: 315-324.

**Derbal, F. & Soltani, N. (2008).** Cycle cuticulaire et variations de la protéinémie et de la lipémie chez la crevette royale *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) des côtes Est algériennes. *Science & Technologie C*; 28: 80-86.

**Derbal, F., Chaoui, L., Draredja, B., Kara, M.H. & Faure, E. (2005).** Composition et variations du régime alimentaire de la sole du Sénégal *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) dans la lagune du Mellah (Algérie Est). VIème Congrès Maghrébin des Sciences de la Mer, Mounastir (Tunisie) :17-21 décembre 2005.

**Derbal, F., Chaoui, L., Kara, M.H. & Quignard, J.P. (2005).** Alimentation et embonpoint de la daurade *Sparus aurata* dans la lagune du Mellah. Cah. Biol.Mar; 46 : 221-225.

**Dhadialla, T.S. & Ross, R. (2007).** Bisacylhydrazines: novel chemistry for insect control. In: Modern crop Protection Compounds.W. Kramer & U. Schirmer (eds), Wiley-VCH, Weinheim; 773-796.

**Dhadialla, T.S., Carlson, G.R. & Le, D.P. (1998).** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu Revi. Entomol*; 43: 545-569.

**Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. (2005).** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Kostas, I. and Gill, S. (eds.) Comprehensive Insect Molecular Science. Vol. 6. Pergamon Press, New York, NY; 6: 55-116.

**Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. (2010).** Insect growth and development disturbing insecticides. In: Gilbert, L.I., Gill, S.S. (Eds). Insect Control. : Elsevier; 121-184.

**Dillaman, R., Hequembourg, S. & Gay, M. (2005).** Early pattern of calcification in the dorsal carapace of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *J. Morphol*; 263: 356-374.

**Dillaman, R., Roer, R., Shafer, T. & Modla, S. (2013).** The crustacean integument: Structure and function. In: Watling L, Thiel M, editors. The natural history of the Crustacea, Vol. 1. Functional morphology and diversity. Oxford (UK): Oxford University Press.

**Dinu, D., Marinescu, D., Munteanu, M.C., Staicu, A.C., Costache, M. & Dinischiotu, A. (2010).** Modulatory effects of deltamethrin on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in *Carassius auratus* gibelio liver and intestine. *Arch Environ Contam Toxicol*; 58(3):757-764.

**Downs, C.A., Fauth, J.E. & Cheryl, M. (2001).** Assessing the Health of Grass Shrimp (*Palaeomonetes pugio*) Exposed to Natural and Anthropogenic Stressors: A Molecular Biomarker System. *Woodley Mar. Biotechnol*; 3: 380-397.

**Drach, P. & Tchernigovtzeff, C. (1967).** Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés. *Vie et Milieu*; 18: 595-609.

**Drach, P. (1939).** Mue et cycle de mue chez les Crustacés décapodes. Ann. Inst. Oceanogr. Paris; 19: 103-392.

**Drach, P. (1944).** Etude préliminaire sur le cycle de mue et son conditionnement hormonal chez *Leander serratus* (pennant). Bull. Biol. Fr. Bel; 78: 40-61.

**Draper, H.H. & Hadley, M. (1990).** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation Meth. Enzymol; 186: 241-431.

**Drardja-Beldi, H. & Soltani, N. (2003).** Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non target species. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University; 68 (4a): 299-305.

**Draredja, B., Melouah, K., Beldi, H. & Benmarce S. (2012).** Diversité De La Macrofaune Benthique De La Lagune Mellah (Parc National D'El-Kala, Algérie Nord-Est). Bull. Soc. Zool. Fr; 137(1-4): 73-86.

**Duchateau, G. & Florkin, M. (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. Arch. Insect. Physiol. Biochem; 67: 306-314.

**Duchet, C., Inafuku, M.M., Caquet, T., Larroque, M., Franquet, E., Lagneau, C., & Lagadic, L. (2011).** Chitobiase activity as an indicator of altered survival, growth and reproduction in *Daphnia pulex* and *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) exposed to spinosad and diflubenzuron. Ecotoxicology and environmental safety; 74(4): 800-810.

**Dutcher, J.D. (2007).** A review of resurgence and replacement causing pest outbreaks in IPM. In: Ciancio, A., Mukerji, K.G. (Eds.), General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Springer, Amsterdam; 27-43.

**Dutta, H.M. & Arends, D.A. (2002).** Brain acetylcholinesterase activity and optomotor behaviour in bluegills, *Lepomis macrochirus*, exposed to five different concentration of diazinon. Arch. Inter. Physiol. Biochem. Biophys; 100: 331-334.

**Eisler, R. (1992).** Diflubenzuron hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. In Technical report series, U.S. Fish and wildlife service, ed. P. A. Opler. Washington, DC: University of California Libraries.

**Ekström, G. & Ekbom, B. (2011).** Pest Control in Agro-ecosystems: An Ecological Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences*; 30: 74-94.

**El-Alfy, A. & Schlenk, D. (1998).** Potential mechanisms of the enhancement of aldicarb toxicity to *Japanese medaka*, *Oryzias latipes*, at high salinity. *Toxicol. Appl. Pharmacol*; 152: 175-183.

**Elbert, A., Brück, E., Melgarejo, J., Schnorbach, H. J. & Sone, S. (2005).** Field development of Oberon® for whitefly and mite control in vegetables, cotton, corn, strawberries, ornamentals and tea. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*; 58(3): 441-468.

**Ellman, G.L., Courtney, K.D., Abdres, V. & Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol. Physiol*; 38: 84-90.

**El-Sayed, K.A., Dunbar, D.C., Perry, T.L., Wilkins, S.P. & Hamann, M.T. (1997).** Marine natural products as phototype insecticidal agents. *J. Agri. Food chem.*; 45: 2735-2739.

**Enayati, A.A., Ranson, H. & Hemingway, J. (2005).** Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol. Biol*; 14: 3-8.

**Eriksson, P., Ahlbom, J. & Fredriksson, A. (1992).** Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice. *Brain Res*; 582: 277-281.

**Erko, M., Hartmann, M.A., Zlotnikov, I., Valverde-Serrano, C., Fratzl, P., Politi, Y. (2013).** Structural and mechanical properties of the arthropod cuticle: comparison between the fang of the spider *Cupiennius salei* and the carapace of American lobster *Homarus americanus*; 183(2): 172-179.

**Escartin, E. & Porte, C. (1997).** The use of cholinesterase and carboxylesterase activities from *Mytilus galloprovincialis* in pollution monitoring. *Environ Toxicol Chem*; 16: 2090-2095.

**Fabritius, H., Sachs, C., Raabe, D., Nikolov, S., Friak, M. & Neugebauer, J. (2011).** Chitin in the exoskeletons of arthropoda: From ancient design to novel materials science, (Eds: N. S. Gupta), Springer, Dordrecht.

**Fabritius, H.O., Sachs, C., Romano-Triguero, P. & Raabe, D. (2009).** Influence of Structural Principles on the Mechanics of a Biological Fiber-Based Composite Material with Hierarchical Organization: The Exoskeleton of the Lobster *Homarus americanus*. *Adv. Mater*; 21(4): 391-400.

**Fang, H., Li, W. & Myneni, R.B. (2013).** The Impact of Potential Land Cover Misclassification on MODIS Leaf Area Index (LAI) Estimation:A Statistical Perspective. *Remote Sens*; 5: 830-844.

**Fanjul-Moles, M.L., Prieto-Sagredo, J., Lopez, D.S., Bartolo-Orozco, R. & Cruz-Rosas, H. (2009).** Crayfish *Procambarus clarkii* Retina and Nervous System Exhibit Antioxidant Circadian Rhythms Coupled with Metabolic and Luminous Daily Cycles. *Photochem Photobiol*; 85:78-87.

**Fernandez-Vega, C., Sancho, E., Ferrando, M.D. & Andreu-Moliner, E. (1999).** Thiobencarb toxicity and plasma AChE inhibition the european eel. *J. Environ. Sci. Health*; 34(B): 64.

**Fernandez-Vega, C., Sancho, E., Ferrando, M.D. & Andreu, E. (2002).** Thiobencarb Induced Changes Acetylcholinesterase Activity of the Fish *Anguilla Anguilla*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*; 72: 55-6.

**Filho, D.W. (1996).** Fish antioxidant defenses--a comparative approach. *Braz J Med Biol Res*; 29: 1735-1742.

**Finney, D.J. (1971).** Probit Analysis, Cambridge Univ. Press, UK. 333p.

**Fischer, S.A. & Hall, L.W. (1992).** Environmental concentration and aquatic toxicity data on diflubenzuron (Dimilin). *Critical Reviews in Toxicology*; 22: 45-79.

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

**Forget, J., Pavillon, J.F., Beliaeff, B. & Bocquene, G. (1999).** Joint action of pollutant combinations (pesticides and metals) on survival (LC<sub>50</sub> values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Environ. Toxicol. Chem*; 18: 912-918.

**Förlin, L. & Haux, C. (1990).** Sex differences in hepatic cytochrome P-450 monooxygenase activities in rainbow trout during an annual reproductive cycle. *Journal of Endocrinology*; 124: 207-213.

**Frasco, M., Fournier, D., Carvalho, F. & Guilhermino, L. (2005).** Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers*; 10: 360-375.

**Freitas, R., Ramos-Pinto, L., Sampaio, M.A., Silva, M., Rodrigues, A.M., Quintino, V. & Figueira, E. (2012).** Effects of depuration on the element concentration in bivalves: Comparison between sympatric *Ruditapes decussates* and *Ruditapes philippinarum*. *Estuarine, Coastal and Shelf science*. 110: 43-53.

**Fujisawa, R. & Tamura, M. (2012).** Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front. Biosci*; 17: 1891-1903.

**Fulton, M.H. & Key, P.B. (2001).** Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ Toxicol Chem*; 20(1): 37-45.

**Funes, V., Alhama, J., Navas, J.I., López-Barea, J. & Peinado, J. (2005).** Ecotoxicological effects of metal pollution in two mollusc species from the Spanish South Atlantic littoral. *Environmental Pollution*; 139(2): 214-223.

**Gagné, F. & Blaise, C. (2004).** Shell protein characteristics and vitellogeninlike proteins in brine shrimp *Artemia franciscana* exposed to municipal effluent and 20-hydroxyecdysone. *Comp. Biochem. Physiol.* 138 (C): 515-522.

**Gagné, F., André, C. & Blaise, C. (2008).** The Dual Nature of Metallothioneins in the Metabolism of Heavy Metals and Reactive Oxygen Species in Aquatic Organisms:

Implications of Use as a Biomarker of Heavy-Metal Effects in Field Investigations. *Biochemistry Insights*;1: 23–33.

**García-de la Parra, L.M., Bautista-Covarrubias, J.C., Rivera-de la Rosa, N., Betancourt-Lozano, M. & Guilhermino, L. (2006).** Effects of methamidophos on acetylcholinesterase activity, behavior, and feeding rate of the white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Ecotoxicol Environ Saf*; 65(3): 372-380.

**Garric, J., Gagnaire, B., Geffard, O., Xuereb, B. & Margoum, C. (2008).** Cholinesterase activities as potential biomarkers: characterization in two freshwater snails, *Potamopyrgus antipodarum* (Mollusca, Hydrobiidae, Smith 1889) and *Valvata piscinalis* (Mollusca, Valvatidae, Muller 1774). *Chemosphere*; 71(3):553-560.

**Gatignol, C. & Étienne, J.C. (2010).** Pesticides et santé. OFFICE PARLEMENTAIRE D'ÉVALUATION DES CHOIX SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES.

**Gelbic, I., Adel, M.M. & Hussein, H.M. (2011).** Effects of nonsteroidal ecdysone agonist RH-5992 and chitin biosynthesis inhibitor lufenuron on *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833). *Central European Journal of Biology*; 6-5.

**Gheid, S. (2015).** Apport nutritionnel de *Penaeus kerathurus* (Crustacé, Décapode). Effet de quelques facteurs polluants. Thèse de doctorat. Université d'Annaba. 185 p.

**Gheid, S., NADJI, S. & KHEBBEB, M.E.H. (2011).** Taux des lipides et des protéines et composition en acides gras du tissu comestible des crustacés et des mollusques pêchés en Algérie : effet du halofenozide (RH-0345) sur la composition en acides gras de *Penaeus kerathurus* (Crustacé, Décapode). *Revue Synthèse*; 22 : 41-47.

**Ghorab, I. (2002).** Etude comparative de trois crevettes *Penaeus kerathurus*, *Aristeus antennatus*, *Parapenaeus longirostris*; Aspects biométrique et biochimique. Mémoire de magister. Université d'Annaba. 75 p.

**Gilbert, L.I. & Gill, S.S. (2010).** *Insect Control: Biological and Synthetic Agents*. Academic Press.

**Giraud-Guille, M.M. (1984).** Fine-structure of the chitin protein system in the crab cuticle. *Tissue Cell*; 16: 75-92.

**Giraud-Guille, M.M., Belamie, E. & Mosser, G. (2004).** Organic and mineral networks in carapaces, bones and biomimetic materials. *Comptes rendus Palevol*; 3(6-7): 503-513.

**Glazer, L. & Sagi, A. (2012).** On the involvement of proteins in the assembly of the crayfish gastrolith extracellular matrix. *Invertebr. Reprod. Dev*; 56: 57-65.

**Glazer, L., Shechter, A., Tom, M., Yudkovski, Y., Weil, S., Aflalo, E.D., Pamuru, R.R., Khalaila, I., Bentov, S., Berman, A. & Sagi, A. (2010).** A protein involved in the assembly of an extracellular calcium storage matrix. *J Biol Chem*; 285(17): 12831.

**Glazer, L., Tom, M., Weil, S., Roth, Z., Khalaila, I., Mittelman, B. & Sagi, A. (2013).** Hemocyanin with phenoloxidase activity in the chitin matrix of the crayfish gastrolith. *J Exp Biol*; 216(10): 1898-904.

**Gobbi, A., Budia, F., Schneider, M., Del Estal, P., Pineda, S. & Viñuela, E. (2000).** Acción del tebufenocida sobre *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *Mythimna unipuncta* (Haworth) *Spodoptera exigua* (Hübner). *Bol. San. Veg. Plagas*; 26: 119-127.

**Gold, C. (2002).** Etude des effets de la pollution métallique (Cd/Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphtyques des cours d'eau, Approches expérimentales in situ et en laboratoire. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux I.

**Goldsworthy, A.C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol*; 18: 306-314.

**González-Ortegón, E., Sargent, P., Pohle, G. & Martínez-Lage, A. (2015).** The Baltic prawn *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda, Caridea, Palaemonidae): first record, possible establishment, and illustrated key of the subfamily Palaemoninae in northwest Atlantic waters. *Aquat. Invasions*; 10: 299-312.

**Grafton-Cardwell, E.E., Godfrey, L.D., Chaney, W.E. & Bentley, W.J. (2005).** Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. *Calif. Agric*; 59: 29-34.

**Grandjean, P. & Landrigan, P.J. (2006).** Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet.*, 368: 2167-2178.

**Grasman, K.A., Scanlon, P.F. & Fox, G.A. (2000).** Geographic variation in hematological variables in adult and pre fledgling herring gulls (*Larus argentatus*) and possible associations with organochlorine exposure. *Arch. Environ. Contamin. Toxicol*; 38: 244-253.

**Grosscurt, A.C. (1978).** Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and evaluation of its practical possibilities. *Pestic. Sci*; 9: 373-386.

**Grosscurt, A.C., Ter-Haar, M., Jongsma, B. & Stocker, A. (1987).** PH-70-32: A new acaricide and insecticide interfering with chitin deposition *Pestic. Sci*; 22: 51-59.

**Guedes, R.N.C. & Cutler, G.C., (2014).** Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. *Pest Manag. Sci*; 70: 690-697.

**Guedes, R.N.C., Smagghe, G., Stark, J.D. & Desneux, N., (2016).** Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Ann. Rev. Entomol*; 61(3): 43-62.

**Guerao, G. & Ribera, C. (1996).** Locomotor activity patterns and feeding habits in the prawn *Palaemon serratus* (Pennant, 1777) (Decapoda, Palaemonidae) in the Alfacs Bay, Ebro Delta, Spain. *Crustaceana*, 69: 101-112.

**Guerao, G. (1994).** Feeding habits of the prawns *Processa edulis* and *Palaemon adspersus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) in the Alfacs Bay, Ebro Delta (NW Mediterranean). *Misc. Zool*; 17: 115-122.

**Guilhermino, L. (2009).** Cholinesterase and Glutathione S-transferase Activities of Three Mollusk Species from the NW Portuguese Coast in Relation to the Prestige Oil Spill. *Chemosphere*; 77: 1465-1472.

**Guilhermino, L., Lacerda, M.N., Nogueira, A.J.A. & Soares, A.M.V.M. (2000).** In vitro and in vivo inhibition of *Daphnia magna* acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring. *Sci. Total Environ*; 247: 137-141.

**Güngördü, A. & Ozmen, M. (2012).** Water quality evaluation of two interconnected dam lakes with field-captured and laboratory-acclimated fish, *Cyprinus carpio*. *Environ Monit Assess*; 184: 763-776.

**Guthrie, F., Devine, G., Denholm, I. & Nauen, R. (2003).** Biological evaluation of spiromesifen against *Bemisia tabaci* and an assessment of resistance risks. In: Proceedings of the BCPC Conference; 2:795-800.

**Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jacobi, W.B. (1974).** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem*; 249: 7130-7139.

**Hami, M., Taibi, F., Smaghe, G. & Soltani-Mazouni, N. (2005).** Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Agric. Appl. Biol. Sci*; 70(4): 767-773.

**Hampshire, F. & Horn, D.H.S. (1966).** Structure of crustecdysone, a crustacean moulting hormone. *Chem Commun*; 37-38.

**Hannam, M.L., Bamber, S.D., John Moody, A., Galloway, T.S. & Jones, M.B. (2010).** Immunotoxicity and oxidative stress in the Arctic scallop *Chlamys islandica*: effects of acute oil exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf*; 73(6): 1440-1448.

**Hannam, M.L., Bamber, S.D., Sundt, R.C. & Galloway, T.S. (2009).** Immune modulation in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to North Sea produced water. *Environ. Pollut*; 157: 1939-1944.

**Harper, H., Pennington, P., Hoguet, J. & Fulton, M. (2008).** Lethal and sublethal effects of the pyrethroid, bifenthrin, on grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) and sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *J. Environ. Sci. Health*; 43(B): 476-483.

**Hartnoll, R.G. (1982).** Growth. In *The Biology of Crustacea*, vol 2, Embryology, morphology, and genetics. Ed: L.G. Abele, Academic Press, New York; 206-290.

**Hasselberg, L., Meier, S. & Svoldal, A. (2004).** Effects of alkylphenols on redox status in first spawning Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquatic Toxicology*; 69: 95-105.

**Hasspielar, B.M., Behar, J.V. & DiGiulio, R.T. (1994).** Glutathione dependent defense in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*). *Ecotoxicol Environ Saf*; 28: 82-90.

**Hayes, J.D. & Pulford, D.J. (1995).** The Glutathione-S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemo protection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol*; 30: 445-600.

**Hayes, J.D., Flanagan, J.U. & Jowsey, I.R. (2005).** Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*; 45: 51-88.

**Hayward, P.J. & Ryland, J.S. (1996).** Some British Phidoloporidae (Bryozoa: Cheilostomatida). *Zoological Journal of the Linnean Society*; 117(1): 103-112.

**He, H., Lawrence, A. L. & Liu, R. (1992).** Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E and K for penaeid shrimp (*Penaeus vannamei*). *Aquaculture*; 103: 177-185.

**Hellou, J., Ross, N.W. & Moon, T.W. (2012).** Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. *Environ Sci Pollut Res*; 19: 2007-2023.

**Hemingway, J., Field, L. & Vontas, J. (2002).** An overview of insecticide resistance. *Science*. 298(5591) : 96-97.

**Hemingway, J., Small, G.J., & Monro, A.G. (1993).** Possible mechanisms of organophosphorus and carbamates insecticide in German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) from different geographical areas. *J. Econ. Entomol*; 30: 1009-1630.

**Henrich, V. C. (2011).** 5-The Ecdysteroid Receptor. *Insect endocrinology*.

**Hepburn, H.R. (1985).** Structure of the integument. In *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. Eds. G.A. Kerkut & L.I. Gilbert, Pergamon Press (Oxford); 3: 1-58.

**Higgs, D.A. & Dong, F.M. (2000).** Lipids and fatty acids, in: Stickney, R.R. (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture*. Wiley, New York; 476-496.

**Hild, S., Marti, O. & Ziegler, A. (2008).** Spatial distribution of calcite and amorphous calcium carbonate in the cuticle of the terrestrial crustaceans *Porcellio scaber* and *Armadillidium vulgare*. *J. Struct. Biol*; 163: 100-108.

**Hild, S., Neues, F., Znidarsic, N., Strus, J., Epple, M., Marti, O. & Ziegler, A. (2009).** Ultrastructure and mineral distribution in the tergal cuticle of the terrestrial isopod *Titanethes albus*. Adaptations to a karst cave biotope. *J. Struct. Biol*; 168: 426-436.

**Hoelscher, J.A. & Barrett, B.A. (2003).** Effects of Methoxyfenozide-treated surfaces on the Attractiveness and Responsiveness of adult codling moth (Lepidoptera: Tprticidae), *Cydia pomonella*. *Journal of Economic Entomology*; 96(3):623-628.

**Hogan, J.M. (1970).** Water temperature as a source of variation in specific activity of brain acetylcholinesterase of bluegills. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*; 5: 347-353.

**Holthuis, L.B. (1980).** FAO Species Catalogue, Vol. 1, Shrimps and Prawns of the World: an Annotated Catalogue of Species of Interest to Fisheries. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome

**Hook, S.E., Doan, H., Gonzago, D., Musson, D., Du, J., Kookana, R., Melony, J.S. & Kumar, A. (2018).** The impacts of modern-use pesticides on shrimp aquaculture: An assessment for north eastern Australia. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 148: 770-780.

**Horowitz, A.R. & Ishaaya I. (2004).** Biorational insecticides—mechanisms, selectivity and importance in pest management programs. *Insect Pest Management*, Springer, Berlin; 1-28.

**Horst, M.N. & Walker, A.N. (1995).** Biochemical effects of diflubenzuron on chitin synthesis in the postmolt blue crab *Callinectes sapidus*. *Journal of crustacean biology*; 15: 401-408.

**Hsu, A.C.T. (1991).** 1,2-Diacyl-1-alkyl-hydrazines; a novel class of insect growth regulators. In: *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals*, D.R. Baker, J.G. Fenyes, & W.K. Moberg, Eds. II. ACS Symposium Series, American Chem. Soc; 443: 478-490.

**Hui, J.H.L., Benena , W.G. & Tobe, S.S. (2013).** Future perspectives for research on the biosynthesis of juvenile hormones and related sesquiterpenoids in Arthropod endocrinology and ecotoxicology. In: J. Devilliers (Ed.), *Juvenile hormone and juvenoids. Modeling biological effects and environmental fate.* CRC Press Taylor & Francis Group, New York; 15-30.

**Humbert, B., Nguyen, P., Martin, L., Dumon, H., Vallette, G., Maugère, P. & Darmaun, D. (2007).** Effect of glutamine on glutathione kinetics in vivo in dogs. *J Nutr Biochem*; 18: 10-16.

**Huner, J.V., Colvin, B. & Reid, B.L. (1979).** Postmolt mineralization of the exoskeleton of juvenile California shrimp *Penaeus californiensis* (Decapoda: Penaeidae). *Comp. Biochem. Physiol*; 62(A): 889-893.

**Hwang J.J., Yong, H.L., Hyoung, H.M., Myoung, J.K., Mohammad, I. A.I.W., Yongeun, K., Kijong, C., Tae, W.K., Yong, S.O. & Sung, E.L. (2016).** Chlorpyrifos-induced biomarkers in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) *Environ Sci Pollut Res*; 23: 1071-1080.

**Ishaaya, I. & Cacida, J.E. (1974).** Dietary TH 6070 alters composition and enzyme activity of housefly larval cuticle. *Pestic. Biochem. Physiol*; 4: 484.

**Ishaaya, I. & Horowitz, A.R. (2007).** In focus: IPM using novel insecticides and other approaches. *Pest. Manag. Sci*; 63:729.

**Ishaaya, I. (1990).** Benzoylphenyl-ureas and other selective control agent, mechanism and application In: J.E. Cassida (eds.) *Pesticides and alternatives.* Elsevier Sciences. Amsterdam; 365-376.

**Ishaaya, I., Kontsedalov, S. & Horowitz, A.R. (2005).** Biorational insecticides: mechanism and cross-resistance. *Arch. Insect Biochem. Physiol*; 58: 192-199.

**Jaeger. C., Voronska. E., Fraoucene, N. & Cherin, H. (2012).** Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation *Médecine & Longévité*; 4: 75-92.

**Janas, U. & Bruska, O. (2010).** Energy values and energy resources of two prawns in Baltic coastal waters: the indigenous *Palaemon adspersus* and the non-indigenous *Palaemon elegans*. *Oceanologia*; 52: 281-297.

**Jayachandran, K.V. (2001).** Palaemonid Prawns: Biodiversity, Taxonomy, Biology and Management. Science Publishers, New York.

**Jeon, J., Kretschmann, A., Escher, B.I. & Hollender, J. (2013).** Characterization of acetylcholinesterase inhibition and energy allocation in *Daphnia magna* exposed to carbaryl. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 98: 28-35.

**Ji, L.L. & Leeuwenburgh, C. (1995).** Glutathione and exercise. In: Somani S (ed) *Pharmacology in exercise and sports*. CRC, Boca Raton; 97-124.

**Jinlin, J., Xueyuan, G., Rui, S., Qian, Z., Jinju, G., Xiaorong, W. & Liuyan, Y. (2011).** Time-Dependent Oxidative Stress and Histopathological Changes in *Cyprinus carpio L.* Exposed to Microcystin-LR. *Ecotoxicology*; 20: 1000-1009.

**Jones, M., Folt, C. & Guarda, S. (1991).** Characterizing individual, population and community effects of sublethal levels of aquatic toxicants: an experimental case study using *Daphnia*. *Freshwater Biol*; 26: 35-44.

**Kaakeh, W., Scharf, M.E. & Bennett, G.W. (1997).** Comparative contact activity and residual life of juvenile hormone analogs used for German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) control. *J Econ Entomol*; 90(5): 1247-1253.

**Kamel, N., Jebali, J., M., Benkhedher, S., Chouba, L. & Boussetta, H. (2012).** Biochemical response and metals levels in *Ruditapes decussatus* after exposure to treated municipal effluents. *Ecotoxicol. Environ. Saf*; 82: 40-46

**Kavitha, P. & Venkaswara, R. (2007).** Oxidative Stress and Locomotor Behavior Response as Biomarkers for Assessing Recovery Status of Mosquitofish, *Gambusia affinis* after Lethal Effect of an Organophosphate Pesticide Monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*; 87: 182-188.

**Kavitha, P. & Venkaswara, R. (2009).** Sub-lethal Effects of Profenofos on Tissue-Specific Antioxidative Responses in a Euryhaline Fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 72: 1727-1733.

**Kavitha, P. & Venkateswara, R.J. (2008).** Toxic Effects of Chlorpyrifos on Antioxidant Enzymes and Target Enzyme Acetylcholinesterase Interaction in Mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; 26: 192-198.

**Kegley, S., Neumeister, L., Martin, T. & Network, P.A. (1999).** Disrupting the balance. Ecological impacts of pesticides in California. Pesticide Action Network. 99 p.

**Keteles, K.A. & Fleegeer, J.W. (2001).** The contribution of ecdysis to the fate of copper, zinc, and cadmium in grass shrimp, *Palaemonetes pugio* Holthuis. *Mar Pollut Bull*; 42:1397-1402.

**Key, P.B. & Fulton, M.H. (2006).** Correlation between 96-h mortality and 24-h acetylcholinesterase inhibition in three grass shrimp larval life stages. *Ecotoxicol Environ Saf*; 63(3): 389-392.

**Key, P.B., Fulton, M.H., Harman-Fetcho, J.A. & McConnell, L.L. (2003).** Acetylcholinesterase activity in grass shrimp and aqueous pesticide levels from South Florida drainage canals. *Arch Environ Contam Toxicol*; 45(3): 371-377.

**Key, P.B., Chung, K.W., Hoguet, J., Sapozhnikova, Y. & Delorenzo, M.E. (2011).** Toxicity of the mosquito control insecticide phenothrin to three life stages of the grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *J. Environ Sci Health B*; 46(5): 426-431.

**Key, P.B., Simonik, E., Kish, N., Chung, K.W. & Fulton, M.H. (2013).** Differences in response of two model estuarine crustaceans after lethal and sublethal exposures to chlorpyrifos. *J Environ Sci Health B*; 48(11): 967-973.

**Khater, H.F. (2011).** Biorational Insecticides for integrated pest management. *Benha Veterinary Medical Journal*, In press.

**Kilani-Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J.P., Smagghe, G. & Soltani, N. (2009).** Halofenozide affects sexual behavior, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female

German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). Belg. J. Zool; 139(2):147-155.

**Kilani-Morakchi, S., Badi, A., Aribi, N., Farine, J.P. & Soltani, N. (2014).** Toxicity of Tebufenozide, an Ecdysteroid Agonist, to *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae). Afr Entomol; 22(2): 337-342.

**Kim, J.H. & Kang, J.C. (2016).** Oxidative stress, neurotoxicity, and metallothionein (MT) gene expression in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* under the different levels of dietary chromium (Cr 6+) exposure. Ecotoxicol. Environ. Saf; 125: 78-84.

**Kirby, M., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S., Neall, P., Tylor, T. & Fagg, A. (2000).** The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK. Mar. Pollut. Bull; 40: 780-791.

**Kissoum, N. & Soltani, N. (2016).** Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. Journal of Entomology and Zoology Studies; 4(1): 452-456.

**Kissoum, N. (2017).** Activité du Spiromesifen en application topique sur la reproduction de *Drosophila melanogaster* (Diptera): effet stade et sexe. Thèse de doctorat. 106p.

**Koga, D., Mitsutomi, M., Kono, M. & Matsumiya, M. (1999).** Biochemistry of chitinases. In Chitin and Chitinases. Eds: P. Jolles & R. A. A. Muzzarelli, Burkhauser, Basel; 111-123.

**Konings, A.W. & Penninga, P. (1985).** On the importance of the level of glutathione and the reactivity of the pentose phosphate pathway in heat sensitivity and thermo tolerance. *Chem. Med*; 48: 409-422.

**Kontsedalov, S., Gottlieb, Y., Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, R. & Ghanim, M. (2008b).** Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. Pest Manag Sci; 65(1): 5-13.

**Kovačević, T.B., Borković, S.S., Pavlović, S.Z., Despotović, S.G. & Saičić, Z.S. (2008).** Glutathione as a suitable biomarker in hepatopancreas, gills and muscle of three freshwater crayfish species. Arch Biol Sci Belgrade; 60: 59-66.

**Kuballa, A., Holton, T., Paterson, B. & Elizur, A. (2011).** Moulting cycle specific differential gene expression profiling of the crab *Portunus pelagicus*. *BMC Genomics*; 12(1):147.

**Kuballa, A.V. & Elizur, A. (2008).** Differential expression profiling of components associated with exoskeletal hardening in crustaceans. *BMC Genomics*; 9:575-89.

**Kumar, A. & Chapman, J.C. (1998).** Profenofos toxicity to the eastern rainbowfish (*Melanotaenia duboulayi*). *Environ. Toxicol. Chem*; 17: 1799-1806.

**Kumar, A., Doan, H., Mary, B., Chapman, J.C. & Kookana, R.S. (2010).** Response and recovery of acetylcholinesterase activity in freshwater shrimp, *Paratya australiensis* (Decapoda: Atyidae) exposed to selected anti-cholinesterase insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 73: 1503-1510.

**Kumara, V., Sinhab, A.K., Romanob, N., Allenc, K.M., Bowmanc, B.A., Thompsonc, K.R. & Tidwellc, J.H.(2018).** Metabolism and Nutritive Role of Cholesterol in the Growth, Gonadal Development, and Reproduction of Crustaceans. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*; 254-273.

**Kunkel, J.G., Nagel, W. & Jercinovic, M. J. (2012).** Mineral Fine Structure of the American Lobster Cuticle. *J. Shellfish Res*; 31(2):515-526.

**Kuprijanov, I., Kotta, J., Lauringson, V. & Herkül, K. (2015).** Trophic interactions between native and alien palaemonid prawns and an alien gammarid in a brackish water ecosystem. *Proc. Est. Acad. Sci*; 64: 518-524.

**Ladhar-Chaabouni, R., Smaoui-Damak, W. & Hamza-Chaffai, A. (2009).** In vivo variation of some biomarkers with time and cadmium concentration in the cockle *Cerastoderma glaucum*. *Marine biology research*; 5(5): 478-486.

**Lafon, M. (1941).** Sur la composition tégumentaire des crustacés. *C.r. Seanc. Soc. Biol*; 135: 1003-1006.

**Lafon, M. (1948).** Nouvelles recherches biochimiques sur le squelette tégumentaire des crustacés. *Bull. Inst. Oceanogr., Monaco*; 45: 1-28.

**Lagadic, L., Amiard, J.C. & Caquet, T. (2000).** Biomarkers and evaluation of the ecotoxicological impact of pollutants. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F.A.A. (Eds.), *Use of Biomarkers for Environmental Quality Assessment*. Balkema, Rotterdam; 303–311.

**Lam, P.K.S. (2009).** Use of biomarkers in environmental monitoring. *Ocean and Coastal Management*; 52: 348-354.

**Lapińska, E. & Szaniawska, A. (2006).** Environmental preferences of *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758), *Palaemon adspersus* Rathke, 1837, and *Palaemon elegans* Rathke, 1837 in the littoral zone of the Gulf of Gdańsk. *Crustaceana*; 79: 649-662.

**Lavariás, S. & García, C.F. (2015).** Acute toxicity of organophosphate fenitrothion on biomarkers in prawn *Palaemonetes argentines* (Crustacea: Palaemonidae). *Environ Monit Assess*; 187: 65.

**Lavariás, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N. & Heras, H. (2013).** Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf*; 96: 10-16.

**Lavariás, S., Heras, H., Pedrini, N., Tournier, H. & Ansaldo, M. (2011).** Antioxidant response and oxidative stress levels in *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to the water-soluble fraction of petroleum. *Comp. Biochem. Physiol*; 153(C): 415-421.

**Lawler, S.P. (2017).** Environmental safety review of methoprene and bacterially-derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. *Ecotoxicology and Environmental Safety-Elsevier*. 139: 335-343.

**Lechekhab, H. (2009).** Effets secondaires d'un insecticides sélectif (DIMILIN ®) sur un organisme non ciblé, *Penaeus kerathurus* (Crustacea, Decapoda): Composition biochimique de la cuticule et mesure de deux biomarqueres. Mémoire de magistère. 80p.

**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.

**Leinio, S. & Lehtonen, K.K. (2005).** Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea. *Comp. Biochem. Physiol*; 140(C): 408-421.

**Li, X., Schuler, M.A. & Berenbaum, M.R., (2007).** Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotic. *Ann. Rev. Entomol*; 52, 231-253.

**Li, Z.H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P. & Randak, T. (2010).** Modulation of glutathione related antioxidant defense system of fish chronically treated by the fungicide propiconazole. *Comp Biochem Physiol*; 152(C):392-398.

**Lidova, J., Stara, A., Kouba, A. & Velisek, J. (2016).** The effects of cypermethrin on oxidative stress and antioxidant biomarkers in marbled crayfish (*Procambarus fallax f. virginalis*). *NeuroEndocrinol. Lett*; 1: 53-59.

**Liu, T.X. & Chen, T.Y. (2000).** Effects of a chitin inhibitor buprofezin on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Econ. Entomol*; 93: 234-239.

**Liu, T.X. (2004).** Toxicity and efficacy of spiromesifen, a tetronic acid insecticide, against sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on melons and collards. *Crop Protection*; 23: 505-513.

**Lobato, R.O., Manske, S.N., Wasielesky, W., Fattorini, D., Regoli, F., Monserrat, J.M. & Ventura-Lima, J. (2013).** The role of lipoic acid against of metallic pollutant effect in the shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea; Decapoda). *Comp Biochem Phys A*; 491-497.

**Long, E.R. (2000).** Degraded sediment quality in US estuaries : A review of magnitude and ecological implications. *Ecol. Appl*; 10(2): 338-350.

**Lorenzon, S., Francese, M., Smith, V.J. & Ferrero, E.A. (2001).** Heavy metals affect the circulating haemocyte number in the shrimp *Palaemon elegans*. *Fish & shellfish immunology*; 11: 459-472.

**Lowenstam, H.A. & Weiner, S. (1989).** Arthropoda. In *On Biomineralization*. Eds: H. A. Lowenstam and S. Weiner, Oxford University Press; 111-122.

- Lucas, A. & Beninger, P.G. (1985).** The use of physiological condition indexes in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*; 44: 187-200.
- Lund, S.A, Fulton, M.H. & Key, P.B. (2000).** The sensitivity of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, embryos to organophosphate pesticide-induced acetylcholinesterase inhibition. *Aquat Toxicol*; 48(2-3):127-134.
- Luo, C., Jones, C.M., Devine, G., Zhang, F., Denholm, I. & Gorman, K. (2010).** Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Prot*; 29: 429-434.
- Luquet, G. & Marin, F. (2004).** Biomineralizations in crustaceans: storage strategies. *C R Palevol*; 3: 515-534.
- Luquet, G. (2012).** Biomineralization: insights and prospects from crustaceans. *Zookeys*; 176: 103-121.
- Lushchak, V.I. (2011).** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat Toxicol*; 101: 13-30.
- Luvizotto-santos, R. & Bianchini, A. (2003).** Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea: Grapsidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*; 295: 200-205.
- Lv, J., Zhang, L., Liu, P. & Li, J. (2017).** Transcriptomic variation of eyestalk reveals the genes and biological processes associated with molting in *Portunus trituberculatus*. *PLOS One*.
- Mabilia, R.G. & Souza, S.M.G. (2006).** Effect of the treatment with diflubenzuron in the hematology of *jundiás* *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) infected by *Lernaea cyprinacea* (Copepoda) in 24-hour immersion baths. *Acta Sci*; 28: 159-163.
- Maciel, F.E., Rosa, C.E., Santos, E.A., Monserrat, J.M. & Nery, L.E.M. (2004).** Daily variations in oxygen consumption, antioxidant defenses, and lipid peroxidation in the gills and hepatopancreas of an estuarine crab. *Can J Zool*; 82: 1871-1877.

**Macken, A., Lillicrap, A. & Langford, K. (2015).** Benzoylurea pesticides used as veterinary medicines in aquaculture: Risks and developmental effects on non target crustaceans. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 34(7): 1533-1542.

**Macken, A., Lillicrap, A. & Langford, K.H. (2014).** Veterinary medicines in aquaculture: Risks and developmental effects on non-target crustaceans. Manuscript in preparation. IN : Katherine H. Langford\*, Sigurd Øxnevad, Merete Schøyen, and Kevin V. Thomas 2014. Do Antiparasitic Medicines Used in Aquaculture Pose a Risk to the Norwegian Aquatic Environment?. *Environ. Sci. Technol*; 48(14): 7774-7780.

**Mahler, H.R. & Cordes, E.H. (1968).** Basic biological chemistry.

**Manent, P. & Abella-Gutiérrez, J. (2006).** Population biology of *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda, Caridea) in Fornells Bay, Balearic Islands, Western Mediterranean. *Crustaceana*; 79: 1297-1308.

**Mansour, S.A. & Mossa, A.H. (2009).** Lipid peroxidation and oxidative stress in rat erythrocytes induced by chlorpyrifos and the protective effect of zinc. *Pestic. Biochem. Physiol*; 93: 34-39.

**Marčić, D., Ogurlić, I., Mutavdžić, S. & Pantelija, P. (2010).** The effects of spiromesifen on life history traits and population growth of two- spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol*; 50: 255-267.

**Marlowe, R.L., Dillaman, R.M. & Roer, R.D. (1994).** Lectin binding by crustacean cuticle: the cuticle of *Callinectes sapidus* throughout the molt cycle, and the intermolt cuticle of *Procambarus clarkii* and *Ocypode quadrata*. *J. Crustacean Biol*; 14: 231-246.

**Marnett, L.J. (2002).** Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*; 181-182: 219-222.

**Martinez, C.B.R. & Maduenho, L.P. (2008).** Acute effects of diflubenzuron on the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 148: 265-272.

- Martinez-alvarez, R.M., Morales, A.E. & Sanz, A. (2005).** Antioxidant defences in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish biology and Fisheries*; 15: 75-88.
- Martins, M.L. (2004).** Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. In: Ranzani-Paiva, M.J.T., Takemoto, R.M., Lizama, M.A.P. (Eds.), *Sanidade de Organismos aquáticos. Editora Livraria Varela, São Paulo*; 357-370.
- Matozzo, V., Tomei, A. & Marin, M.G. (2005).** Acetylcholinesterase as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds in the clam *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Mar. Pollut. Bull*; 50: 1686-1693.
- Medina, P., Smagghe, G., Budia, F., Tirry, L. & Vinuela, E. (2003a).** Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxyfen, and tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol*; 32: 196-203.
- Menezes, S., Soares, A.M.V.M., Guilhermino, L. & Peck, M.R. (2006).** Biomarker responses of the estuarine brown shrimp *Crangon crangon L.* to non-toxic stressors: temperature, salinity and handling stress effects. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*; 335: 114-122.
- Meng, Y. & Zou, E. (2009).** A Molecular Biomarker for Disruption of Crustacean Molting: The N-acetyl-b-glucosaminidase mRNA in the Epidermis of the Fiddler Crab. *Bull Environ Contam Toxicol*; 82:554-558.
- Mensah, P.K., Muller, W.J. & Palmer, C.G. (2012).** Acetylcholinesterase activity in the freshwater shrimp *Caridina nilotica* as a biomarker of Roundup(®) herbicide pollution of freshwater systems in South Africa. *Water Sci Technol*; 66(2): 402-408.
- Merzendorfer, H. (2013).** Chitin synthesis inhibitors: old molecules and new developments. *Insect Science*; 20: 121-138.
- Messerer, Y. (1999).** Etude morphométrique et morphologique du complexe lacustre d'El Kala (cas du lac Mellah et du lac Oubéïra).

**Mokbel, H., ElMoll, A., Liaud, C. & Millet, M. (2015).** Développement de méthodes d'analyses pour évaluer les niveaux de contamination atmosphérique d'OCP, PCB ET HAP. *Lebanese Science Journal*. 16(2): 47-64.

**Monferran, M.V., Pesce, S.F., Cazenave, J. & Wunderlin, D.A. (2007).** Detoxification and Antioxidant Responses in Diverse Organs of *Enysia Multidentata* Experimentally Exposed to 1,2- and 1,4-dichlorobenzene. *Environmental Toxicology*; 23(2): 184-192.

**Morsli, M. S. & Soltani, N. (2003).** Effets d'un insecticide inhibiteur de la synthèse de la chitine, le diflubenzuron, sur la cuticule de la crevette *Penaeus kerathurus*. *J. Rech. Oceanogr*; 28(1-2): 85-88.

**Morsli, M.S. (1994).** Effet d'un dérivé de la benzoylphenylurée, le dimilin sur la physiologie de *Penaeus kerathurus* (Crustacea, Decapoda): Etude structural et biologique. Thèse de Magister. Université de Annaba; 90 p.

**Morsli, M.S. (2016).** Etude des effets secondaires d'un insecticide sélectif, le Dimilin sur la physiologie de la Crevette, *Penaeus kerathurus* (Crustacé, Décapode). Etude ultra structurale et composition biochimique de la cuticule. Thèse de doctorat. Université d'Annaba. 95p.

**Morsli, S.M., Merad, I., Khebbeb M.E.H. & Soltani N. (2015).** Potential hazards of a chitin synthesis inhibitor diflubenzuron in the shrimp *Penaeus kerathurus*: biochemical composition of the hemolymph and muscle during the molt cycle. *Advances in Environmental Biology*; 9(3): 518-525.

**Mrak, P., Znidaršič, N., Zagar, K., Ceh, M. & Strus, J. (2014).** Exoskeletal cuticle differentiation during intramarsupial development of *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). *Arthropod Struct Dev*; 43(5):423-39.

**Mulder, R. & Gijswijt, M.J. (1973).** The laboratory evolution of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition pest. *Sci*; 4:737-745.

**Muriana-Francisco, J.G., Ruiz-gutierrez, V., Gallardo-guerrero, M. (1993).** A study of the Lipids and Cartenoprotein in the Prawn, *Penaeus japonicus*. *Japanese Biochemical Society*; 114(2): 223-229.

**Muthukrishna, S., Merzendorfer, H., Arakan, Y. & Kramer, K.J. (2012).** Chitin metabolism in insects. *Comprehensive Molecular Insect Science* (ed. L.I. Gilberts), Academic Press, London; 193-235.

**Nagabhushanam, R. & Farooqii, V.M. (1982).** Mobilization of protein, glycogen and lipid during ovarian maturation in marine crab *Scylla serrata* (Forsk.). *Indian J Mar. Sci*; 11: 184-189.

**Nagasawa, H. (2011).** Structure and function of matrix proteins and peptides in the biomineral formation in crustaceans. *Prog. Mol. Subcell. Biol*; 52: 315-329.

**Nagasawa, H. (2012).** The crustacean cuticle: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience E4*: 711-720.

**Nair, V.P.G. & Suseela, M. (2000).** Biochemical composition of fish and shellfish, CIFT technology advisory series, CIFT, Cochin.

**Nakagawa, Y. (2005).** Nonsteroidal ecdysone agonists. *Vitam Horm*; 73: 131-173.

**Nakagwa, Y., Matsunura, F. & Hashino, Y. (1993).** Effect of DFB on incorporation of [H3]-N-acetyl glucosamine ([H3] NAGA) into chitin in the intact integument from the newly molted American cockroach *periplaneta Americana*. *Comp. Biochem. Phys*; 106: 711-715.

**National Research Council (NRC). (2011).** Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington D.C

**Nauen, R. & Bretschneider, T. (2002).** New modes of action of insecticides. *Pesticide Outlook*; 13(6): 241-245.

**Nauen, R. & Konanz, S. (2005).** Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*; 58: 485-502.

**Nauen, R. & Schnorbach, H. J. (2005).** The biological profile of spiromesifen (Oberon) a new tetronic acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*; 58: 417-440.

**Nauen, R., Bretschneider, T., Bruck, E. & Elbert, A. (2002).** BSN 2060 a novel compound for whitefly and spider mite control, Proc. BCPC-Conf: Pest and Diseases, Brighton; 39-44.

**Nauen, R., Bretschneider, T., Bruck, E., Elbert, A., Reckmann, U., Wqchendorff, U. & Tiemann, R. (2002).** BSN 2060-a novel compound for whitefly and spider mite control, Proc. BCPC -Conf.: Pest and Diseases, Brighton, UK;18(21): 39-44.

**Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R. & Tieman, R. (2003).** - Spirodiclofen and spiromesifen. Pestic. Outlook; 14: 243-246.

**Nauen, R., Schnorbach, H.J. & Elbert, A. (2005).** The biological profile of spiromesifen (Oberon) –a new tetronic acid insecticide/acaricide. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer; 58: 417-440.

**Neues, F., Hild, S., Epple, M., Marti, O. & Ziegler, A. (2011).** Amorphous and crystalline calcium carbonate distribution in the tergite cuticle of moulting *Porcellio scaber* (Isopoda, Crustacea). J. Struct. Biol; 175: 10-20.

**Neville, A.C. (1975).** Biology of the arthropod cuticle. New York: SpringerVerlag.

**Nicholson, S. & Lam, P.K.S. (2005).** Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environ. Int*; 31: 121-132.

**Nicolaus, B., Romijn, C. & Bowers L. (2005).** Ecotoxicological profile of the insecticide Oberon. Pflanzenschutz - Nachrichten Bayer; 58: 353-370.

**Nordgarden, U., Hemre, G. I. & Hansen, T. (2002).** Growth and body composition of Atlantic salmo (*Salmo salar L.*) parr and smolt fed diets varying in protein and lipid contents. Aquaculture; 207: 65-78.

**Nyman, A.M., Hintermeister, A., Schirmer, K. & Ashauer, R. (2013).** The insecticide imidacloprid causes mortality of the freshwater amphipod *Gammarus pulex* by interfering with feeding behavior. PloS One; 8.

**Oberlander, H. & Silhacek, D.L. (1998).** New perspectives on the mode of action of benzoylphenyl urea insecticides. In: Ishaaya, I. & Degheele, D. (Ed). Insecticides with Novel modes of action: Mechanism and Application. Springer; 92-105.

**Okuzumi, M. & Fujii, T. (2000).** Nutritional and functional properties of squid and cuttle fish. 35<sup>th</sup> Anniversary of commemorative publication; 223p.

**Olima, C., Pablo, F. & Lim, R.P., (1997).** Comparative tolerance of three populations of the freshwater shrimp (*Paratya australiensis*) to the organophosphate pesticide, chlorpyrifos. Bull. Environ. Contam. Toxicol; 59: 321-328.

**Oliveira, M.M., Silva Filho, M.V., Fernandes, F.C. & Cunha Bastos, J. (2007).** Brain Acetylcholinesterase as a Marine Pesticide Biomarker using Brazilian Fishes. Marine Environmental Research; 63: 303-309.

**Ono, E.K., Zanardi, O.Z., Santos, K.F.A. & Yamamoto, P.T. (2017).** Susceptibility of *Ceraeochrysa cubana* larvae and adults to six insect growth-regulator insecticides. Chemosphere; 168: 49-57.

**Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol; 13(2): 57-149.

**Ozcan, O.E. (2010).** Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos. Pest Biochem Physiol, 96: 160-166.

**Palanikumar, A., Kumaraguru, K., Ramakritinan, C.M. & Anand, M. (2014).** Toxicity, biochemical and clastogenic response of chlorpyrifos and carbendazim in milkfish *Chanos chanos L.* Int. J. Environ. Sci. Technol; 11(3): 765-774.

**Pampanin, D.M., Camus, L., Gomiero, A., Marangon, I., Volpato, E. & Nasci, C. (2005).** Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice Lagoon (Italy). Mar. Pollut. Bull; 50: 1548-1557.

**Parrilla-Taylor, D.P. & Zenteno-Savín, T. (2011).** Antioxidant enzyme activities in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to environmental hypoxia and reoxygenation. *Aquaculture*; 318: 379-383.

**Parrilla-Taylor, D.P., Zenteno-Savín, T. & Magallón-Barajas, F.J. (2013).** Antioxidant enzyme activity in pacific white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to infection with white spot syndrome virus. *Aquaculture*; 380: 41-46.

**Partridge, G.J. & Jenkins, G.I. (2002).** The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*). *Aquaculture*; 210:219-230.

**Pasteur, N. & Reymond, M. (1996).** Insecticide resistance genes in mosquitoes: their mutations, migration and selection in field population. *Journal of Heredity*; 87: 444-449.

**Paul, A., Harrington, L.C. & Scott, J.G. (2006).** Evaluation of novel insecticides for control dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J Med. Entomol*; 43: 55-60.

**Pavlović, S., Borković-Mitić, S., Gavrilović, B., Despotović, S.G., Gavrić, J.P. & Saičić, Z.S. (2013).** Seasonal changes of oxidative stress biomarkers in white muscle of *Longfin gurnard* (*Chelidonichthys obscurus*) from the Adriatic Sea. *Water Resour. Manag*; 3(2): 19-25.

**Peakal, D.B. (1992).** Animal biomarkers as pollution indicators. Chapman & Hall, London.

**Peña-Llopis, S., Ferrando, M.D. & Peña, J.B. (2002).** Impaired glutathione redox status is associated with decreased survival in two organophosphate-poisoned marine bivalves. *Chemosphere*; 47: 485-497.

**Pener, M.P. & Dhadialla, T.S. (2012).** An Overview of Insect Growth Disruptors; Applied Aspect. *Adv Insect Physiol*; 43.

**Pereira Maduenho, L. & Martinez, C.B. (2008).** Acute Effects of Diflubenzuron on the Freshwater Fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 148(3): 265-272.

**Perveen, F. (2011).** Effects of Sublethal Doses of Chlorfluazuron on Ovarioles in the Common Cutworm, *Spodoptera Litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Life Sci*; 5, 609- 613.

**Pfeifer, S., Schiedek, D. & Dippner J. W. (2005).** Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus* sp. from the southwestern Baltic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*; 320: 93-103.

**Pineda, S., Martinez, A. M., Figueroa, J.I., Schneider, M.I., Del Estal, P., Vinuela, E., Gomez, B., Smagghe, G. & Budia, F. (2009).** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol*; 102 (4): 1490-1496.

**Pineda, S., Martinez, A.M., Schneider, M.I., Figueroa, J.A. & Zaleta, O. (2011).** Los agonistas de la hormona de la muda de los insectos: Una nueva clase de reguladores del crecimiento de los insectos. *Folia Entomologica Mexicana* (in press). Dhadialla T. S., Carlson, G. R., Lee D. P. (1998). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol*; 43: 545-569.

**Pineda, S., Schneider, M.I., Smagghe, G., Martínez, A.M., Del Estal, P., Viñuela, E., Valle, J. & Budia, F. (2007).** Lethal and Sublethal Effects of Methoxyfenozide and Spinosad on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*; 100(3):773-780.

**Pineda, S., Smagghe, G., Schneider, M. I., Del Estal, P., Viñuela, E., Martínez, A.M. & Budia, F. (2006).** Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol*; 35: 856-864.

**Post, L.C. & Vincent, W.R. (1973).** A new insecticide inhibits chitin synthesis. *Naturwissenschaften*; 60: 431-432.

**Post, L.C., De Jong, B.J. & Vincent, W.R. (1974).** 1-(2,6-disubstituted benzoyl)-3-phenylurea insecticides: inhibitors of chitin synthesis. *Pestic. Biochem. Physiol*; 4, 473-483.

**Power, A. & Sheehan, D. (1996).** Seasonal variation in the antioxidant defence systems of gill and digestive gland of the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Comp Biochem Physiol C*; 114(2): 99-103.

**Prabhaker, N., Castle, S.J., Buckelew, L. & Toscano, N.C. (2008).** Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *J Econ. Entomology*, University of California; 101(1):174-81.

**Prabu, K. & Natarajan, E. (2012).** Bioprospecting of shells of crustaceans. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 4(4): 1-3.

**Quintaneiro, C., Querido, D., Monteiro, M., Guilhermino, L., Morgado, F. & Soares, A.M.V.M. (2008).** Transport and acclimation conditions for the use of an estuarine fish (*Pomatoschistus microps*) in ecotoxicity bioassays: Effects on enzymatic biomarkers. *Chemosphere*; 71: 1803-1808.

**Radosevich, S.R., Holt, J.S. & Ghera, C.M. (2007).** *Ecology of Weeds and Invasive Plants: Relationship to Agriculture and Natural Resource Management*. 3rd edition, Wiley-Interscience, New York; 472.

**Ragunathan, M.G. (2017).** Vicissitudes of oxidative stress biomarkers in the estuarine crab *Scylla serrata* with reference to dry and wet weather conditions in Ennore estuary. Tamil Nadu, India. *Mar Pollut Bull*; 116(1-2): 113-120.

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

**Regier, J.C., Shultz, J.W., Zwick, A., Hussey, A., Ball, B., Wetzer, R., Martin, J.W. & Cunningham, C.W. (2010).** Arthropod relationships revealed by phylogenomic analysis of nuclear protein-coding sequences. *Nature*; 463: 1079-1083.

**Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M. & Piva, F. (2006).** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental Health Perspectives*; 114: 63-69.

**Regoli, F., Winston, G.W., Gorbi, S., Frenzilli, G., Nigro, M., Gorsì, I. & Focardi, S. (2003).** Integrating Enzymatic Responses to Organic Chemical Exposure with Total Oxyradical Absorbing Capacity and DNA Damage in the European eel *Anguilla anguilla*. *Environmental Toxicology and Chemistry*; 22: 2120-2129.

**Rehimi, N. (2004).** Etude de la reproduction chez *Culex pipiens pipiens*. Aspects : morphologique, éthologique et physiologique. Effets de quelques inhibiteurs du développement sur quelques paramètres biologiques. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale. Université d'Annaba, Département de Biologie. 224 p

**Ren, X., Luqing, P. & Lin, W. (2015).** The detoxification process, bioaccumulation and damage effect in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to chrysene. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 114: 44-51.

**Retnakaran, A. & wright, J.E. (1987).** Control of insect Pest with benzoylphenyl ureas. In : wrigh, J.E., Retnakaran, A. (Eds), Chitin and Benzoylphenyl ureas Dr. W.junk Publishers, Dordrecht, Netherlands; 205-282.

**Retnakaran, A., Gelbic, I., Sundaram, M. & Tomkins, W.L. (2001).** Mode of action of the ecdysone agonist tébufenozide (RH-5992), and an exclusion mechanism to explain resistance to it. *Pest. MgtP Sci*; 57:951-957.

**Retnakaran, A., Hiruma, K., Palli, S.R. & Riddiford, L.M. (1995).** Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a lepidopteran-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Mol.Biol*; 25: 109-117.

**Retnakaran, A., Macdonald, A., Tomkins, W.L., Davis, C.N. & Brownright, A.J. (1997).** Ultrastructural effects of a non-steroidal agonist, RH-5992, on the sixth instar larvae of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J. Insect Physiol*; 43: 55-68.

**Richardson, N., Gordon, A.K., Muller, W.J., Pletschke, B.I. & Whitfield, A.K. (2010).** The use of liver histopathology, lipid peroxidation and acetylcholinesterase assays as biomarkers of contaminant induced stress in the Cape stumpnose, *Rhabdosargus holubi* (Teleostei: Sparidae), from selected South African estuaries. *Water SA*; 36(4): 407-415.

- Richterova, Z., Machova, J., Stara, A., Tumova, J., Velisek, J., Sevcikova, M. & Svobodova, Z. (2015).** Effects of a cypermethrin-based pesticide on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Vet Med Czech*; 60: 423-431.
- Riddiford, L.M., Cherbas, P. & Truman, J.W. (2000).** Ecdysone receptors and their biological actions. *Vitamins and Hormones-Advances in Research and Applications*; 60: 1-73.
- Robertson, N.L., Bray, W., Leung-Trujillo, J. & Lawrence, A. (1987).** Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. *I. World. Aqua. Soc*; 18(3): 180-185.
- Rocha, J., Garcia-Carreño, F.L., Muhlia-Almazán, A., Peregrino-Uriarte, A.B., Yépiz-Plascencia, G. & Córdova-Murueta, J.H. (2012).** Cuticular chitin synthase and chitinase mRNA of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* during the molting cycle. *Aquaculture*; 330-333(1) :111-115.
- Roditakis, E., Grispou, M., Morou, E., Kristoffersen, J.B., Roditakis, N., Nauen, R., Vontas, J. & Tsagkarakou, A. (2009).** Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete. *Pest Manag Sci*; 65: 313-322.
- Rodriguez, E.C.L., Pineda, S., Figueroa, J.I., Schneider, M.I. & Martinez, A.M. (2010).** Toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide on *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol*; 103 (3): 662-667.
- Rodriguez-Ortega, M.J., Grosvik, B.E., Rodriguez-Ariza, A., Goksoyr, A. & Lopez-Barea, J. (2003).** Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaelea gallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics*; 3(8): 1535-1543.
- Roer, R. & Dillaman, R. (1984).** The structure and calcification of the crustacean cuticle. *Am. Zool*; 24: 893-909.
- Roer, R., Abehsera, S. & Sagi, A. (2015).** Exoskeletons across the Pancrustacea: Comparative Morphology, Physiology, Biochemistry and Genetics. *Integr Comp Biol*; 55(5): 771-91.
- Roer, R.D. & Dillaman, R.M. (1984).** The structure and calcification of the crustacean cuticle. *Amer Zool*; 24: 893-909.

**Roer, R.D., Halbrook, K.E. & Shafer, T.H. (2001).** Glycosidase activity in the post-ecdysial cuticle of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Comp. Biochem. Physiol*; 128(B): 683-690.

**Romero, D.M., Molina, M.C.R. & Juarez, A.B. (2011).** Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 74: 741-747.

**Roque, A., Abad, S., Betancourt-Lozano, M., García-de la Parra, L.M, Baird, D. Guerra-Flores, A.L. & Gomez-Gil, B. (2005).** Evaluation of the susceptibility of the cultured shrimp *Litopenaeus vannamei* to vibriosis when orally exposed to the insecticide methyl parathion. *Chemosphere*; 60(1):126-34.

**Sáenz-de-Cabezón, I.F.J., Marco, V., Zalom, F.G. & Pérez-Moreno, I. (2005).** Effects of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. *Pest Management Science*; 61 (11): 1133-1137.

**Sakin, F., Ispir, U., Yonar, S.M., Yonar, M.E. & Taysi, M.R. (2011).** Effect of short-term cypermethrin exposure on oxidant-antioxidant balance in the whole body of rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresen Environ Bull*; 20: 2806-2809.

**Salinas, A.E. & Wong, M.G. (1999).** Glutathione S-transferases a review. *Curr. Med.Chem*; 4: 279-309.

**Salokhe, S.G., Deshpanded, S.G., Pakhle, K. & Maniyare, A.B. (2013).** Lufenuron, alters chitin and total soluble protein content of *Aedes aegypti* larvae during development of *Aedes aegypti*. *Curr, Sci*; 99(9): 1256-59.

**Sanchez, C., Arribart, H. & Giraud-Guille, M.M. (2005).** Biomimetism and bioinspiration as tools for the design of innovative materials and systems. *Nat Mat*; 4: 277-88.

**Sanchez-Fortun, S., Sanz-Barrera, F. & Barahona-Gomariz, M.V. (1995).** Acute toxicities of selected insecticides to the aquatic arthropod *Artemia salina*. *Bulletin of Environmental Toxicology*; 54: 76-82.

**Saravana, B.P. & Geraldine, P. (2000).** Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan. *Aquat. Toxicol*; 50: 331-339.

**Sayed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. & Raisuddin, S. (2003).** Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol Environ Saf*; 56: 295-301.

**Schalch, S.H.C., Belo, M.A.A., Soares, V.E., Moraes, J.R.E. & Moraes, F.R. (2005).** Diflubenzuron effectiveness in *Dolops carvalhoi* (Crustacea: Branchiura) control in juveniles pacus *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) naturally infected. *Acta Sci*; 27: 297-302.

**Schiavone, (2003).** Departement of Biogical and Environment Sciences and Technologies. University of Lecce via Provinciale Lecce\_ Monteroni 73.100 Marine Aquaculture and Fisheries Research Centre Frigole\_ Lecce Jtaly.

**Schneider, M.I., Smaghe, G., Pineda, S. & Vinuela, E. (2004).** Action of insect growth regulator insecticides and spinosad on life history parameters and absorption in third-instar larvae of the endoparasitoid *Hyposoter didymator*. *Biol. Control*; 31: 189-198.

**Schoeters, G. & Hoogenboom, R. (2006).** Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *Mol Nutr Food Res*; 50: 908-914.

**Scholz, N.L., Fleishman, E., Brown, L., Werner, I., Johnson, M.L., Brooks, M.L. & Schlenk, D. (2012).** A perspective on modern pesticides, pelagic fish declines, and unknown ecological resilience in highly managed ecosystems. *BioSci*; 62: 428-434.

**Schuliga, M., Chouchane, S. & Snow, E.T. (2002).** Upregulation of glutathionerelated genes and enzyme activities in cultured of human cells by sublethal concentrations of inorganic arsenic. *Toxicol Sci*; 70: 183-192.

**Schulz, R. (2001).** Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western Cape, South Africa: importance of a single event. *Water Res*; 35: 1869-1876.

**Schuster, D.J., Mann, R.S., Toapanta, M., Cordero, R., Thompson, S., Cyman, S., Shurtleff, A. & Morris, R.F. (2010).** Monitoring neonicotinoid resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Pest Manag Sci*; 66: 186-195.

**Scott, G.R. & Sloman, K.A. (2004).** The effects of environmental pollutants on complex fish behavior: integrating behavioural and physiological indicators on toxicity. *Aqua. Toxicol*; 68: 369-392.

**Seidl, B., Huemer, K., Neues, F., Hild, S., Epple, M. & Ziegler, A. (2011).** Ultrastructure and mineral distribution in the tergite cuticle of the beach isopod *Tylos europaeus Arcangeli*, 1938. *J. Struct. Biol*; 174: 512-526.

**Seitz, R. D., Wennhage, H., Bergström, U.R., Lipcius, N. & Ysebaert, T. (2013).** Ecological value of coastal habitats for commercially and ecologically important species. *ICES J. Mar. Sci*; 71: 648-665.

**Seth, R.K., Kaur, J.J., Rao, D.K. & Reynolds, S.E. (2004).** Effects of larval exposure to sublethal concentrations of the ecdysteroid agonists RH-5849 and tebufenozide (RH-5992) on male reproductive physiology in *Spodoptera litura*. *J. Insect Physiol*; 50, 505-517.

**Shafer, T.H., Roer, R.D., Miller, C.G. & Dillaman, R.M. (1994).** Postecdysial changes in the protein and glycoprotein composition of the cuticle of the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Crustacean Biol*; 14: 210-219.

**Shaoyong, K., Tingting, S., Zhigang, Z., Ya-Ni, Z., Ying L., Kaimei, W. & Ziwen, Y. (2010).** Spirodiclofen Analogues as Potential Lipid Biosynthesis Inhibitors: A Convenient Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationship. *Bull. Korean. Chem. Soc*; 31(8).

**Sharma, K.K., Rao, C.S., Dubey, J.K., Patyal, S.K., Parihar, N.S., Battu, R.S., Sharma, V., Gupta, P., Kumar, A., Kalpana, J.M., Singh, B., Sharma, I.D., Nath, A. & Gour, T.B. (2007).** Persistence and dissipation kinetics of spiromesifen in chili and cotton. *Environ. Monit. Assess* ; 132:25-31.

**Shechter, A., Berman, A., Singer, A., Freiman, A., Grinstein, M., Erez, J., Aflalo, E.D. & Sagi, A. (2008).** Reciprocal changes in calcification of the gastrolith and cuticle during the

molt cycle of the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Biol Bull (Woods Hole)*; 214: 122-134.

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

**Simkiss, K. & Wilbur, K.M. (1989).** Crustacea-the dynamics of epithelial movements. In *Biom mineralization: Cell Biology and Mineral Deposition*. Eds: K. Simkiss and K. M. Wilbur, Academic Press, San Diego; 205-229.

**Simonato, J. D., Fernandes, M.N. & Martinez, C.B.R. (2011).** Gasoline Effects on Biotransformation and Antioxidant Defenses of the Freshwater Fish *Prochilodus lineatus*. *Ecotoxicology*; 20: 1400-1410.

**Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P. & Morgenstern, R. (2007).** Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun*; 355: 592-596.

**Skinner, D.M. (1985).** 2–Molting and Regeneration. *Integument Pigments & Hormonal Processes*; 43-146.

**Smagghe, G., Gomez, L.E. & Dhadialla, T.S. (2012).** Bisacylhydrazine insecticides for selective pest control. *Advances in Insect Physiology*. Burlington: Academic Press; 43: 163-249.

**Smagghe, G., Gomez, L.E. & Dhadialla, T.S. (2013).** The bisacylhydrazine insecticides for selective pest control. *Adv. Insect Physiol*; 43: 163-251.

**Snedeker, S.M. (2001).** Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ. Health Perspect*; 109 (1): 35-47.

**Solari, P. Sollai, G. Masala, C. Loy, F. Sabatini, A. & Crnjar, R. (2017).** Antennular Morphology and Contribution of Aesthetascs in the Detection of Food-related Compounds in

the Shrimp *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Decapoda: Palaemonidae). Biol Bull; 232(2): 110-122.

**Solé, M., Potrykus, J., Fernandez-Dias, C. & Blasco, J. (2004).** Variations on stress defences and metallothionien levels in the Senegal sole, *Solea senegalensis*, during early larval stage. *Fish Physiol. Biochem*; 30: 57-66.

**Soltani, N. & Bezzazel, N. (2002).** Profile of ecdysteroids haemolymph and correlations with secretion cuticular during a cycle of molt shrimp *Penaeus kerathurus*. J de Recher Océano; 27 (34): 226-231.

**Soltani, N., Aribi, N., Berghiche, H., Lakbar, S. & Smagghe, G. (2002).** Activity of RH-0345 on integumental explants of mealworms: ecdysteroid production, cuticle deposition and protein analysis. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent; 65 (2a): 431-439.

**Soltani, N., Chebira, S., Delbecque, J.P. & Delachambre, J. (1993).** Biological activity of flucycloxuron, a novel benzoyphenyl urea derivative on *Tenebrio molitor* comparaison With diflubenzuron and triflumuron. *Experientia*; 49(12): 1088-1091.

**Soltani, N., Desson, M.T. & Delachambre, J. (1984).** Effects of diflubenzuron on pupal adult development of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera, Tenebrionidae) : growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density, and DNA synthesis. *Pestic. Biochem. Physiol*; 21: 256-264.

**Soltani, N., Lechekhab, H. & Smagghe, G. (2009).** Impact of insect growth regulator diflubenzuron on biochemical composition of cuticle of shrimp *Penaeus kerathurus*. *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*; 74(1): 137-141.

**Soltani, N., Rehim H., Beldi, H. & Bendali, F. (1999).** Activité du triflumron sur *Culex pipiens* (Diptera : Culcidae) et impact sur deux espèces larvivores non visées. *Ann. Soc. Entomal. Fr*; 35: 502-508.

**Soltani-Mazouni, N., Hami, M. & Gramdi, H. (2012).** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Inv. Rep. Dev*; 56(2): 157-163.

**Soundarapandian, P. & Ananthan, G. (2008).** Effect of unilateral eyestalk ablation on the biochemical composition of commercially important juveniles of *Macrobrachium malcolmsonii*. *Int. J Zool. Res*; 4(2): 106-112.

**Staal, G.B., (1982).** Insect control with growth regulators interfering with the endocrine system. *Entomol. Exp . App*; 31: 15-23.

**Stéfani, C.R., Manuela, D.S., Laercio, D.S.P., Ciro, A.O.R., Marta, M.C. & Helena, C.S.A. (2011).** Sublethal Effects of Waterborne Herbicides in Tropical Freshwater Fish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*; 877: 603-607.

**Stegeman, J.J. & Hahn, M.E. (1994).** Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: Current perspectives on forms, functions and regulation of cytochrome p450 in aquatic species. In: Malins, D.D. & Ostrander, G.K. (Eds). Lewis. Boca Raton.

**Stenvenson, J.R. (1985).** Dynamics of the integument. In the biology of Crustacean (Edited by Bliss P. E. and Mantel L. H.). Academic press, New York and London; 9: 1-42.

**Stephensen, E., Sturve, J. & Forlin, L. (2002).** Effects of redox cycling compounds on glutathione content and activity of glutathione related enzymes in rainbow trout liver. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*; 133:435-442.

**Sugumar, V., Vijayalakshmi, G. & Saranya, K. (2013).** Molt cycle related changes and effect of short term starvation on the biochemical constituents of the blue swimmer crab *Portunus pelagicus*. *Saudi journal of biological sciences*; 20(1): 93-103.

**Sun, C.N., Huang, S.Y., Hu, N.T. & Chungn, W.Y. (2001).** Glutathione S-transferase and insect resistance to insecticides. In: Isaac Isshaaya, editor. Biochemical sites of insecticide action and resistance. *Berlin, Heidelberg:Spring-Verlag*; 239-254.

**Sundaram, M., Palli, S.R., Smagghe, G., Ishaaya, I., Feng, Q.L., Primavera, M., Tomkin, S.P.J., Krell, W.L. & Retnakaran, A. (2002).** Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol*; 32: 225-231.

**Svensson, R.U., Parker, S.J., Eichner, L.J., Kolar, M.J., Wallace, M., Brun, S.N. & Gerken, L. (2016).** Inhibition of acetyl-CoA carboxylase suppresses fatty acid synthesis and

tumor growth of non -small-cell lung cancer in preclinical models. *Nature Medicine*; 22(10): 1108-1119.

**Swaroop, S., Gilroy, A.B. & Uemura, K. (1966).** Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.

**Taibi, F., Smaghe, G., Amrani, L. & Soltani-Mazouni, N. (2003).** Effect of ecdysone agonist RH-0345 on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. Biochem. Physiol*; 135(C): 257-267.

**Talesa, V., Contenti, S., Principato, G.B., Pascolini, R., Giovannini, E. & Rosi, G. (1992).** Cholinesterases from *Maia verrucosa* and *Palinurus vulgaris*: a comparative study. *Comp. Biochem. Physiol*; 101(C): 499-503.

**Tanani, M.A., Ghoneim, K., Hassan, H.A. & Bakr, N.A. (2017).** Perturbation of main body Metabolites in the Pink Bollworm *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) by the chitin synthesis inhibitors Novaluron and Diufenolan. *Bio Bulletin*; 3(2): 08-21.

**Tao, Y., Pan, L., Zhang, H. & Tian, S. (2013).** Assessment of the toxicity of organochlorine pesticide endosulfan in clams *Ruditapes philippinarum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*; 93: 22-30.

**Taylor, J.R., Gilleard, J.M., Allen, M.C. & Deheyn, D.D. (2015).** Effects of CO<sub>2</sub>- induced pH reduction on the exoskeleton structure and biophotonic properties of the shrimp *Lysmata californica*. *Sci Rep*; 5: 1-12.

**Taylor, M.Z. (2001).** Recent Developments in Ectoparasiticides, *The Veterinary Journal*; 161(3):253-268.

**Tim-Tim, A.L.S., Morgado, F., Moreira, S., Rangel, R., Nogueira, A.J.A.A., Soares, M. & Guilhermino, L. (2009).** Cholinesterase and Glutathione S-transferase Activities of Three Mollusk Species from the NW Portuguese Coast in Relation to the Prestige Oil Spill. *Chemosphere*; 77: 1465-1472.

**Tine-Djebbar, F. (2009).** Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et methoxyfenozide) à l'égard de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse de doctorat Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 168 p.

**Tirello, P., Pozzebon, A. & Duso, C. (2013).** The effect of insecticides on the non-target predatory mite *Kampimodromus aberrans*: laboratory studies. *Chemosphere*; 93: 1139-1144.

**Tiwari, S., Clayson, P.J., Kuhns, E.H. & Stelinski, L.L. (2012).** Effects of buprofezin and diflubenzuron on various developmental stages of *Asian citrus psyllid*, *Diaphorina citri*. *Pest Manag. Sci*; 68: 1405-1412.

**Toma, L., Menegon, M., Romi, R., De Matthaeis, E., Montanaria, M., Severini, C. (2011).** Status of insecticide resistance in *Culex pipiens* field populations from north-eastern areas of Italy before the withdrawal of OP compounds. *Pest Manag Sci*; 67: 100-106.

**Toumi, H., Bejaoui, M., Touaylia, S., Karen, F., Perez, B. & Ferard, J.F. (2016).** Effect of carbaryl (carbamate insecticide) on acetylcholinesterase activity of two strains of *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *Journal of Environmental Science and Health, B*; 51(11): 1-4.

**Toumi, H., Boumaiza, M., Millet, M., Radetski, C.M., Felten, V. & Ferard, J.F. (2015).** Is acetylcholinesterase a biomarker of susceptibility in *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) after deltamethrin exposure? Strain sensitivity differences. *Chemosphere*; 120: 351-356.

**Townsend, D.M., Tew, K.D. & Tapiero, H. (2003).** - The importance of glutathione in human disease. *Biomed. Pharmacother*; 57: 145-155.

**Tripathi, G. & Shasmal, J. (2011).** Concentration related responses of chlorpyrifos in antioxidant, anaerobic and protein synthesizing machinery of the freshwater fish, *Heteropneustes fossilis*. *Pest Biochem Physiol*; 99: 215-220.

**Trisyono, A. & Chippendale, M. (1998).** Effect of the ecdysone agonists, RH-2485 and tebufenozide, on the southwestern corn borer, *Diatraea grandiosella*. *Pestic. Sci*; 53: 177-185.

**Tu, H.T., Silvestre, F., Wang, N., Thome, J.P., Phuong, N.T. & Kestemont, P. (2010).** Chemosphere A multi-biomarker approach to assess the impact of farming systems on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Chemosphere; 81(10): 1204-1211.

**Tu, H.T., Silvestre, F., Meulder, B.D., Thome, J.P., Phuong, N.T. & Kestemont, P. (2012).** Combined effects of deltamethrin, temperature and salinity on oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Chemosphere; 86(1) :83-91.

**Tu, H.T., Silvestre, F., Scippo, M.L., Thome, J.P., Phuong, N.T. & Kestemont, P. (2009).** Acetylcholinesterase activity as a biomarker of exposure to antibiotics and pesticides in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Ecotoxicol Environ Saf; 72(5):1463-1470.

**Tunaz, H. & Uygun, N. (2004).** Insect growth regulators for insect pest control. Turk. J. Agric. For; 28 : 377-387.

**Tynyakov, J., Bentov, S., Abehsera, S., Yehezkel, G., Roth, Z., Khalaila, I., Weil, S., Berman, A., Plaschkes, I., Tom, M., Aflalo, E.D. & Sagi, A. (2015).** A crayfish molar tooth protein with putative mineralized exoskeletal chitinous matrix properties. J Exp Biol ; 218(21): 3487-3498.

**Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M. (2006).** Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. Ecotoxicol Environ Safe; 64: 178-189.

**Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*; 160: 1-40.

**Van Daalen, J.J., Meltzer, J., Mulder, R. & Wellinga, K. (1972).** A selective insecticide with a novel mode of action. *Naturwissenschaften*; 59: 312-313.

**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.

**Van Der, W.H.M.G. (1997).** Evaluer l'impact des pesticides sur l'environnement. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, Paris : Institut national de la recherche agronomique Délégation permanente à l'environnement; 31: 5-22.

**Varó, I., Navarro, J.C., Amat, F. & Guilhermino, L. (2002).** Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*; 48: 563-569.

**Velisek, J., Stara, A., Koutnik, D. & Zuskova, E. (2015).** Effects of terbuthylazine on early life stages of common carp. *Neuroendocrinol Lett*; 36 (1): 120-125.

**Venkateswara, R.J., Begum, G., Pallela, R., Usman, P.K. & Nagaswara, R. (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.

**Ventura-Lima, J., Fattorini, D., Regoli, F. & Monserrat, J.M. (2009a).** Effects of different inorganic arsenic species in *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) tissues after short-time exposure: bioaccumulation, biotransformation and biological responses. *Environ Poll*; 157: 3479-3484.

**Vieira, A. (2009).** Relatório final de atividades: floriculture waste management:best management practices to ethiopia. Thèse de doctorat. Université de Santa Catarina. 82p.

**Vight, D.A. & Dendinger, J.E. (1982).** Temporal relationships of postmolt deposition of calcium, magnesium, chitin and protein in the cuticle of the Atlantic blue crab, *Callinectes sapidus rathbun*, *Comp. Biochem. Physiol*; 72(A): 35-369.

**Vijayavel, K., Downs, C.A., Ostrander, G.K. & Richmond, R.H. (2012).** Oxidative DNA damage induced by iron chloride in the larvae of the lace coral *Pocillopora damicornis*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol*; 55 (2): 275-280.

**Wang, L., Pan, L.Q., Liu, N., Liu, D., Xu, C.Q. & Miao, J.J. (2011).** Biomarkers and bioaccumulation of clam *Ruditapes philippinarum* in response to combined cadmium and benzo[a]pyrene exposure. *Food Chem. Toxicol*; 49: 3407-3417.

**Wang, S.L., Chiou, J.M., Chen, C.J., Tseng, C.H., Chou, W.L., Wang, C.C. & Chang, L.W. (2003).** Prevalence of non-insulin-dependent diabetes mellitus and related vascular diseases in southwestern arseniasis-endemic and nonendemic areas in Taiwan *Environmental Health Perspectives*; 111(2): 155.

**Ware, G.W. & Whitacre, D.M. (2004).** *The Pesticide Book*, 6th Ed. P. 496. Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio.

**Watanabe, T. (1982).** Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*; 73(B): 3-15.

**Weber, E. (2005).** Behaviour of spiromesifen (Oberon) in plants and animals. *Planzenschutz-Nachrichten Bayer*; 58: 391-416.

**Weckberker, G. & Cory, G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells *in vitro*. *Cancer Letters*; 40: 257-264.

**Wei, K. & Yang, J. (2015a).** Oxidative damage of hepatopancreas induced by pollution depresses humoral immunity response in the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Fish Shellfish Immunol*; 43: 510-519.

**Wei, K. & Yang, J. (2015b).** Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Ecotoxicol Environ Safe*; 113: 446-453.

**Weis, J.S. (2014).** *Physiological, Developmental and Behavioral Effects of Marine Pollution*. Springer Science Business Media Dordrecht.

**Welinder, B.S. (1974).** The Crustacean cuticle. I. Studies on the composition of the cuticle. *Comp. Biochem*; 47(A): 779-787.

**WHO World Health Organization (1993).** Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. *Environmental Health Criteria*, vol 155, International Programme on Chemical Safety (IPCS), Geneva

**Widdows, J., Donkin, P., Brinsley, M.D., Evans, S.V., Salkeld, P.N., Franklin, A., Law, R.J. & Waldock, M.J. (1995).** Scope for Growth and Contaminant Levels in North Sea Mussels *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*; 127: 131-148.

**Wilinder, B.S. (1974).** The crustacean cuticle. Studies on the composition of the cuticle. *Comp. Biochem. Physiol.*, 47 (A), 779-787.

**Wilson, J.E.H. & Costlow, J.D. (1987).** Acute toxicity of diflubenzuron (DFB) to various life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Water, Air and Soil Pollution*; 33: 411-417.

**Wing, D.K., Slawechi, R.A. & Carlson, G.R. (1988).** RH 5849, a non steroidal ecdysone agonists: effects on larval Lepidoptera. *Sci*; 244: 470-472.

**Wing, K.D. (1988).** RH-5849, a non steroidal ecdysone agonist: effects on a *Drosophila* cell line. *Sciences*; 241: 464-469.

**Winkler, A.J., Dominguez-Nuñez, J.A., Aranaz, I., Poza-Carrión, C., Ramonell, K., Somerville, S. & Berrocal-Lobo, M. (2017).** Short-Chain Chitin Oligomers: Promoters of Plant Growth *Mar. Drugs*; 15(2): 40.

**Winston, G.W. & Di Giulio, R.T. (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat Toxicol*; 19: 137-161.

**Wo, K.T., Lam, P.K.S. & Wu, R.S.S. (1999).** A Comparison of Growth Biomarkers for Assessing Sub-Lethal Effects of Cadmium on a Marine Gastropod, *Nassarius festivus arius*. *Marine Pollution Bulltin*; 39: 165-173.

**Xing, H., Li, S., Wang, X., Gao, X., Xu, S. & Wang, X. (2013a).** Effects of atrazine and chlorpyrifos on the mRNA levels of HSP70 and HSC70 in the live, brain, kidney and gill of common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Chemosphere*; 90: 910-916.

**Xu, W.J. & Pan, L.Q. (2013).** Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. *Aquaculture*; 412: 117-124.

**Xuereb, B., Noury, P., Felten, V., Garric, J. & Geffard, O. (2007).** Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*; 236(3): 178-189.

**Xuereb, B., Chaumot, A., Mons, R., Garric, J. & Geffard, O. (2009a).** Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): intrinsic variability, reference levels, and a reliable tool for field surveys. *Aquatic Toxicology*; 93: 225-233.

**Xuereb, B., Lefèvre, E., Garric, J. & Geffard, O. (2009b).** Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): linking AChE inhibition and behavioural alteration. *Aquatic Toxicology*; 94: 114-122.

**Xuereb, B., Noury, P., Felten, V., Garric, J. & Geffard, O. (2007).** Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*; 236(3): 178-189.

**Yang, M.L., Zhang, J.Z., Zhu, K.Y., Xuan, T., Liu, X.J., Guo, Y.P. & Ma, E.B. (2009).** Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (meyen). *Arch. Insect Bioch. Physiol*; 71(1): 3-15.

**Yu, S.J. & Terrière, L.C. (1977).** Ecdysone metabolism by soluble enzyme from three species of Dipteran dits inhibition by the insect growth regulator TH-6040. *Pestic. Biochem. Physiol*; 7: 48-55.

**Zaidi, N. & Soltani, N. (2010).** Chronic Toxicity of Flucyclohexuron in the Mosquitofish, *Gambusia affinis*: Acetylcholinesterase and Catalase Activities and Pattern of Recovery. *Annals of Biological Research*; 1(4): 210-217.

**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: 106-113.

**Zaidi, N. & Soltani, N. (2013).** Laboratory evaluation of environmental risk assessment of pesticides for mosquito control: toxicity of dimilin on a larvivorous fish, *Gambusia affinis*. *Advances in Environmental Biology*; 7(4): 605-613.

**Zariquiey-Álvarez, R. (1968).** Crustaceos Decápodos Ibéricos, Investigación. Pesquera, Barcelona; 510 p.

**Zhang, J.F., Shen, H., Wang, X.R., Wu, J.C. & Xue, Y. (2004).** Effects of Chronic Exposure of 2,4-dichlorophenol on the Antioxidant System in Liver of Fresh Water Fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*; 55: 110-116.

**Ziegler, A., Fabritius, H. & Hagedorn, M. (2005).** Microscopical and functional aspects of calcium-transport and deposition in terrestrial isopods. *Micron*; 36: 137-153.

**Zielinski, S. & Pörtner, H.O. (2000).** Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age. *Comp. Biochem. Physiol*; 125(B): 147-160.

**Zinkl, J.G., Lockhart, W.L., Kenny, S.A. & Ward, F.J. (1991).** The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. In: *Chemicals in Agriculture (P. Mineau, Ed.)*; 2: 233-253.

**Zou, E. & Bonvillain, R. (2004).** Chitinase activity in the epidermis of the fiddler crab, *Uca pugilator*, as an in vivo screen for molt-interfering xenobiotics. *Comparative Biochemistry & Physiology Toxicology & Pharmacology*; 139(4): 225-230.

**ANNEXE**  
**PRODUCTIONS**  
**SCIENTIFIQUES**

## **ANNEX PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES**

### **Publication :**

**LECHEKHAB H & Soltani N., 2018.** Environmental risks of an insecticide (Dimilin ® 25 WP) on the shrimp *Palaemon adspersus*: biochemical composition of cuticule and oxidative stress. *Fresenius Environmental Bulletin*. 27(3): 1862-1867. [www.prt-parlar.de](http://www.prt-parlar.de)

### **Communications internationales :**

**LECHEKHAB H & SOLTANI N., 2018.** Evaluation de la toxicité d'un insecticide sélectif inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) sur deux biomarqueurs (GST, MDA) chez un organisme non visé la crevette *Palaemon adspersus*. 7ème Colloque International Sciences & Environnement: 20-22 Mars 2018, Bizerte, Tunisie. (Communication orale).

**LECHEKHAB H & SOLTANI N., 2018.** Etude comparative des effets secondaires de deux régulateurs de croissance sur un arthropode aquatique : *Palaemon adspersus*. VI congrès de biotechnologie & valorisation des bio-ressources : 20-23 Mars 2018, Tabarka, Tunisie. (Communication affichée).

### **Communication nationale :**

**LECHEKHAB H & SOLTANI N., 2018.** Effets secondaires d'un insecticide sélectif (DIMILIN®) sur un organisme non cible, *Palaemon adspersus* : Composition biochimique de la cuticule et activité enzymatique. 1<sup>er</sup> Séminaire National sur l'Eau, l'Environnement et la Santé, 6 et 7 mars 2018- El Tarf (communication affichée).

# ENVIRONMENTAL RISKS OF AN INSECTICIDE (DIMILIN® 25 WP) ON THE SHRIMP *PALAEMON ADSPERSUS*: BIOCHEMICAL COMPOSITION OF CUTICLE AND OXIDATIVE STRESS

Hanene Lechekhab<sup>1,2</sup>, Noureddine Soltani<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Sciences, Chadli Benjdid University, 36000-El Tarf, Algeria

<sup>2</sup>Laboratory of Applied Animal Biology, Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University, 23000-Annaba, Algeria

## ABSTRACT

The present study aimed to assess, under laboratory conditions, the side effects of a trade formulation of diflubenzuron (Dimilin® 25 WP), a chitin synthesis inhibitor (CSI), on the biochemical composition of the cuticle and on the level of the biomarker of environmental stress glutathione (GSH), in a non-target species *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) (Crustacea, Decapoda). The insecticide was added to the shrimps' rearing water at two concentrations: 16 ng of active ingredient/L and 1 µg/L. The shrimps were exposed to Dimilin from stage A (newly molted shrimp) to Stage C (Intermolt), where mineralization and deposition of the cuticular layers are completed. The results show a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in the amounts of chitin in the treated batches as compared to controls for both assays. Moreover, there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the cuticular proteins between treated and control individuals. However, the compound had no significant effect on the amounts of calcium salts. Regarding GSH level, there was a significant inhibition ( $p < 0.05$ ) in treated individuals as compared to controls. Our results show an induction of the detoxification system and confirm the mechanism of action of Dimilin on chitin biosynthesis, and indicate that this product can pose side-effects on non-target Arthropod organism like shrimps.

## KEYWORDS:

Crustacea, *Palaemon adspersus*, Insecticides, Diflubenzuron, Cuticle, Chitin, Calcium salts, Glutathione.

## INTRODUCTION

Human actions are one of the main factors affecting the quality of the environment and water [1]. Pollution of the aquatic ecosystem is due to human development and its side effects such as radioactive discharges, organic matter, heavy metals [2, 3], industrial and domestic discharges, and the intensive use of pesticides by farmers [4, 5]. Some pesticides

are applied directly to aquatic systems to reduce numbers of mosquito larvae (larvicides) and thereby reduce transmission of pathogens that mosquitoes vector to humans and wildlife [6]. Environmental imperatives [7] have pushed research towards the use of natural pesticides or biopesticides [8, 9, 10] and prompted the phytosanitary industry to develop more selective molecules with high metabolic and environmental stability [11, 12], acting on biochemical processes specific to the target organisms [13]. These new products are the insect growth disruptors (IGDs). These include the inhibitors of chitin synthesis which interferes in the formation of the cuticle [14, 15].

Dimilin (25% WP) is a trade formulation of diflubenzuron, a benzoylurea derivative and inhibitor of the synthesis of chitin [16, 17, 18, 19], one of the major compounds of the Arthropod cuticle. It is an approved insecticide in Algeria and is used on a large scale to fight forest defoliating insects. In addition, DFB was found a potent insecticide for controlling mosquito pullulations [20]. It was also Its leaching by rains contaminates the aquatic ecosystem including the sediments in which all stages of the life cycle of a crustacean take place. This prompted to study the degradation of the insecticide (DFB) in seawater [21].

In this study, we used the shrimp *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837), a very abundant shrimp in the Northeastern region of Algeria and is of a relatively important interest to the local fishing industry. This shrimp was used as a bioindicator species in order to assess the quality of the water from the Mellah lagoon (Northeast, Algeria) [22] and as well as a model organism to test the effects of Novaluron, another chitin synthesis inhibitor (CSI), on chitin and cuticular proteins [23]. The Crustaceans from the gulf of Annaba have been the subject of several studies on the physiological [22-25] and toxicological aspects [23, 26, 27, 28, 29]. Within this context, the current study is a continuation of the previous research conducted by [23] who determined the amount of chitin and cuticular proteins of the same species when exposed to another molecule (Novaluron). This research adds to the latter in that it shows

the amount of calcium salts content of the cuticle and also measures the level of glutathione (GSH), a biomarker that plays a central role in intracellular antioxidant defense processes.

## MATERIALS AND METHODS

**Shrimp collection.** *P. adspersus* (Decapoda, Palaemonidae) is a common shrimp in Norwegian coast and South of the Baltic Sea to the Mediterranean. This species is transparent, fairly uniform with yellow strips at the level of articulations and presents dark chromatophores on the ventral half of the rostrum. The shrimps (length: 8-10 cm; weight: 12-16 g) were collected from the lagoon of El Mellah (Northeast, Algeria) and transported to the laboratory. They were reared in aquariums (100 × 60 cm) filled with sea water under laboratory conditions (salinity 37 psu; temperature 24-27°C; photoperiod 14h light). They were daily fed with fresh mussels administered in the afternoon.

**Shrimp datation.** In crustaceans, the molt cycle, corresponding to the modifications that occur between two successive molts, is subdivided into five stages: A (early post-molt), B (late post-molt), C (intermolt) and D (pre-molt) and molting (E). Molt stages were determined according to [30] by microscopic examination of the uropod setae. Under these conditions, *P. adspersus* has a molt cycle of  $20 \pm 2$  days, and the relative duration of each stage is 9% for A+B, 36% for C, and 59% for D.

**Insecticide and treatment.** Dimilin® (Wettable powder, 25% active ingredient, a.i.), a trade formulation of diflubenzuron, is an insecticide belonging to the benzoylphenylurea derivatives. It was kindly provided by Pr. G. Smagghe (Ghent University, Belgium). Dimilin was added to the rearing seawater at a final concentration of 1 µg active ingredient/L according to concentrations tested on several shrimp species [27, 28] and 16 ng/L corresponding

to the  $LC_{50}$  determined against fourth instar larvae of the most abundant mosquito species *Culex pipiens* [20]. Newly molted adult shrimps (0-8 h old) were continuously exposed to treatment up to intermolt. Control shrimps were reared in seawater alone.

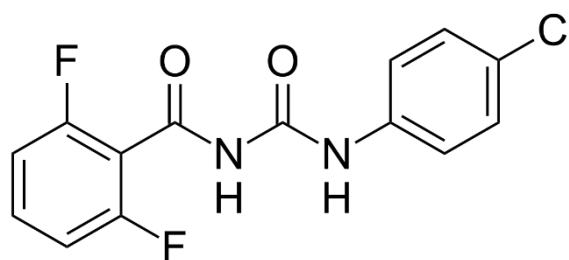
**Biochemical procedure.** Shrimps were sampled at the beginning of the inter-molt and killed by freezing. The entire carapace was removed and the cuticle was separated from adhering tissue, washed and dried at 60°C to constant weight and decalcified by means of 10% trichloroacetic (TCA) according to [29]. The decalcified cuticle was extracted in 2 N NaOH at 110°C for 3-4 h. The colorless residues were washed in distilled water and dried at 60°C to constant weight. The weight loss was supposed to be due to removal of proteins, and the residue to be chitin.

**Glutathione assay.** The glutathione was determined according to the method of [32] previously described [33]. The flesh of the shrimp was homogenized in 1 ml EDTA solution (0.02M; pH 6) and subjected to a deproteinisation with sulfosalicylic acid (SSA) at 0.025%. Then the homogenates were maintained for 15 min on ice and centrifuged (3000g, 15 min). The mixture was vortexed, left for 15 minutes in an ice bath and centrifuged (1000 rpm/min for 5 min). The supernatant (0.5 mL) was taken and then 1 mL of Tris-EDTA buffer (0.02 M, pH 9.6) and 0.025 mL of DTNB (0.01 M) were added. The mixture was then left for 5 min at room temperature. The optical density was measured at a wavelength of 412 nm after 5 min. GSH levels are expressed in µM /mg proteins.

**Protein assay.** The protein assay was prepared according to the method of [34] described previously [27]. This uses the Coomassie brilliant blue (BBC) G 250 as a reagent and a solution of bovine serum albumin (BSA) as a standard. The absorbance was read by the spectrophotometer at a wavelength of 595 nm.



**FIGURE 1**  
*Palaemon. adspersus* (Crustacea, Decapoda).



**FIGURE 2**  
Molecular structure of diflubenzuron.

**TABLE 1**  
Effect of Dimilin (1µg/L and 16ng/L) on cuticle chitin levels (%) of *P. adspersus* at intermolt stage in control and treated series (mean ± SD, n = 4-5).

Treatment	Control	DFB 16 ng/L	DFB 1 µg/L	p
Level (%)	58.46 ± 13.41 a	45.76 ± 8.47 b	30.68 ± 10.55 b	0.003

Values followed by a different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**TABLE 2**  
Effect of Dimilin (1µg/L and 16ng/L) on cuticle protein levels (%) of *P. adspersus* at intermolt stage in control and treated series (mean ± SD, n = 4-5).

Treatment	Control	DFB 16 ng/L	DFB 1 µg/L	p
Level (%)	41.54 ± 13.41 a	69.31 ± 10.55 b	69.17 ± 7.26 b	0.001

Values followed by a different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**TABLE 3**  
Effect of Dimilin (1µg/L and 16ng/L) on cuticle calcium salt levels (%) of *P. adspersus* at intermolt stage in control and treated series (mean ± SD, n = 4-5).

Treatment	Control	DFB 16 ng/L	DFB 1 µg/L	p
Level (%)	42.26 ± 6.21 a	49.40 ± 13.04 a	30.83 ± 7.26 a	0.065

Values followed by a different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**TABLE 4**  
Effect of Dimilin (1µg/L and 16ng/L) on GSH amounts (µM/mg protein) in the flesh of *P. adspersus* at intermolt stage in control and treated series (mean ± SD, n = 4-5).

Treatment	Control	DFB 16 ng/L	DFB 1 µg/L	P
Amounts	0.14 ± 0.02 a	0.13 ± 0.01a	0.09 ± 0.04 a	0.026

Values followed by a different letter are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Statistical analysis.** Data are expressed as mean ± standard deviation (m ± SD) and were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test. All statistical analyses were performed using Minitab software (version 16, PA, State College, USA). With  $p < 0.05$  considered as a statistically significant difference.

## RESULTS

**Effect on chitin levels.** The amount of cuticular chitin noted in the control series was 58.46 ± 13.41%. The treatment with Dimilin led to a significant decrease ( $p = 0.003$ ) in the chitin level (Table 1). The lowest level was observed in individuals exposed to a dose of 1 µg/L (30.68 ± 10.55%) compared with the dose of 16 ng/L (45.76 ± 8, 47%).

**Effect on protein levels.** Under normal conditions, the protein level at the intermolt is (41.54 ± 13.41%). In the treated series, there was a significant increase ( $p \leq 0.001$ ) in the level of proteins for both doses: 69.31 ± 10.55% for the dose of 16 ng/L, and 69.17 ± 7.26% for the dose of 1 µg/L (Table 2).

**Effect on calcium salt levels.** The result for the calcium salt level in controls was 42.26 ± 6.21%. As for the treated series, it was noted that the level of calcium salts did not vary significantly ( $p = 0.065$ ) compared to the levels in the control series (Table 3).

**Effect on glutathione amounts.** For the treated series, the GSH amounts recorded in stage C decreased significantly (0.13 ± 0.01 µM/mg proteins for the dose of 16 ng/L and 0.09 ± 0.04 for the dose of 1 µg/L) compared to the control series (0.14 ± 0.02 µM/mg proteins) (Table 4). The comparison of the mean values in the control and treated series shows that there was a significant difference in the GSH level ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSION

Crustaceans have an exoskeleton or cuticle which acts as a selective barrier between the internal and external environments [35, 36]. This non-extensible exoskeleton is periodically disposed of and replaced by a new cuticle during molting. The cuticle is a complex macromolecular structure. It is mainly composed of chitin fibers to which proteins bind.

These fibres are in turn associated to a protein matrix [37] and impregnated with limestone [38].

Regarding the effect of Dimilin on the amount of chitin at the intermolt, the compound was found to significantly reduce the level of chitin in the treated series as compared to controls. Our findings are consistent with those commonly reported and which assert that benzoylphenylurea derivatives interfere with the molting process by disrupting cuticular secretion via chitin synthesis [27, 39, 40, 41]. According to [42], diflubenzuron interferes with enzymes that contribute to the synthesis of chitin in crustacean species such as the benthic copepod *Tisbe battagliai*. Our results confirm previous studies using the same product on another shrimp species, *Penaeus kerathurus* [27]. It was also reported that Novaluron, another inhibitor of chitin synthesis, caused a decrease in the level of cuticular chitin of *P. adspersus* [23].

The proteins play a fundamental role within the organism of all living biological species [43]. Our results show a significant increase in their levels in the treated series compared to the control series. This is reflected in the composition of the cuticle, which consists of chitin which binds to proteins. Thus, there is a strong correlation between the two components [44]. Similar results have been reported by [26] and concluded that treatment with diflubenzuron causes an increase in the level of cuticular proteins in *P. kerathurus*. The same effect was observed in the treatment of *P. adspersus* with Novaluron [23].

Finally, regarding the effect of this xenobiotic on the calcium salt content, it is noted that Dimilin has no effect on the calcium salt levels. The same results were obtained in *P. kerathurus* following treatment with Dimilin [26]. Similarly, the work of [22] states that calcium salts in *P. adspersus* are not affected.

During the environmental stress caused by the presence of pollutants, biochemical responses are immediate in exposed organisms [45]. Little work has been done on the detoxification system in crustaceans. GSH is considered as one of the most important antioxidant agents involved in the protection of cell membranes against free radicals damage [46, 47, 48]. So in the treated series, our experiments show that Dimilin causes a decrease in GSH amounts measured at the intermolt (Stage C). In the work of [49], it was noted that the exposition of marbled crayfish (*Procambarus fallax f. virginalis*) to Cyperkill 25 EC (Pyrethroid insecticide) in concentration of 0.05 µg/L caused significant increase in GSH amounts ( $p < 0.05$ ). Other research [50] shows that in shrimp *Palaemonetes pugio* and after 96-h exposure to phenothrin at five concentrations, the sublethal biomarkers glutathione were examined and there were no statistically significant differences in these levels in adults or larvae compared to controls.

## CONCLUSION

Our experiments assessed the impacts of an inhibitor of chitin synthesis, Dimilin, on a non-target aquatic Arthropod *P. adspersus*. The obtained results confirm its mechanism of action on chitin biosynthesis. This compound can show secondary effects even at low doses on this edible shrimp species.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the National Fund for Scientific Research of Algeria (Laboratory of Applied Animal Biology) and the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria (CNEPRU project F01120140104 to Pr. N. Soltani).

## REFERENCES

- [1] Ippolito, J.A., Novak, J.M., Busscher, W.J., Ahmedna, M., Rehrah, D. and Watt, D.W. (2012) witeh grass biochar affects two Aridisols. *J. Environ. Qual.* 41, 1123–1130.
- [2] Onivogui, G., Balde, S., Bangoura, K. and Barry, M.K. (2015) Évaluation des risques de pollution en métaux lourds (Hg, Cd, Pb, Co, Ni, Zn) des eaux et des sédiments de l'estuaire du fleuve Konkouré (Rep. de Guinée). *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie.* 9(3), 36-44.
- [3] El Hassani, F., Boushaba, A., Raïs, N. and Benabidate, L. (2016) Etude de la Contamination par les Métaux Lourds des Eaux et Des Sédiments au Voisinage de la Mine De Tighza (Maroc Central Oriental). *European Scientific Journal.* 12(6), 176-184.
- [4] Delorme, R., Lerroux, P. and Gaillardon, P. (2002) Évolution des produits phytosanitaires à usage agricole: Les insecticides-acaricides. *Phytoma, La défense des Végétaux.* 548, 7- 13.
- [5] Mokbel, H., El Moll, A., Liaud, C. and Millet, M. (2015) Développement de méthodes d'analyses pour évaluer les niveaux de contamination atmosphérique d'OCP, PCB ET HAP. *Lebanese Science Journal.* 16(2), 47-64.
- [6] Lawler, S.P. (2017) Environmental safety review of methoprene and bacterially-derived pesticides commonly used for sustained mosquito control. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 139, 335-343.
- [7] Paoletti, M.G. and Pimentel, D. (2000) Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. *J. Agric. Environ. Ethics.* 12(3), 279-303.

- [8] Maiza, A., Aribi, N., Smagghe, G., Kilani-Morakchi, S., Bendjedid, M. and Soltani, N. (2013) Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bulletin. Insectol.* 66(1), 11-20.
- [9] Tomé, H.V.V., Martins, J.C., Corrêa, A.S., Galdino, T.V.S., Picanço, M.C. and Guedes, R.N.C. (2013) Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Crop Protection.* 46, 63-69.
- [10] Cepeda-Palacios, R., Servín, R., Ramírez-Orduña, J.M., Ascencio, F., Dorchie, P. and Angulo-Valadez, C.E. (2014) *In vitro and in vivo* effects of neem tree (*Azadirachta* Références bibliographiques 70 indica A. Juss) products on larvae of the sheep nose bot fly (*Oestrus ovis* L. Diptera: Oestridae). *Veterinary Parasitology.* 200, 225-228.
- [11] Dhadialla, T.S., Carlson, G.R. and Lee, D.P. (1998) New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* 43, 545-569.
- [12] Cassida, J. and Quistad, B. (1998) Golden age of insecticide research: past present or future? *Annu Rev. Entomol.* 43, 1-16.
- [13] El-Sayed, K.A., Dunbar, D.C., Perry, T.L., Wilkins, S.P. and Hamann, M.T. (1997) Marine natural products as phototype insecticidal agents. *J. Agri. Food chem.* 45, 2735-2739.
- [14] Tunaz, H. and Uygun, N. (2004) Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. *Turk J. Agric For.* 28, 377-387.
- [15] Sun, R., Liu, C., Zhang, H. and Wang, Q. (2015) Benzoylurea Chitin Synthesis Inhibitors. *Journal of agricultural and food chemistry.* 63(31), 6847-6865.
- [16] Soltani, N., Soltani-Mazouni, N., Quenedey, B. and Delachambre, J. (1996) Protein synthesis in developing ovaries of mealworm under *in vitro* condition: Effects of diflubenzuron. *J. Stored Prod Res.* 32(3), 205-212.
- [17] Gade, G., Hoffmann, R.H. and Spring, J.H. (1997) Hormonal regulation in insects: facts, gaps and future direction. *Physiological reviews.* 77(4), 963-1032.
- [18] Oberlander, H. and Silhacek, D.L. (1998) New perspectives on the mode of action of benzoylphenylurée insecticides. In: Ishaaya, I. and Degheele, D. (eds.) *Insecticides with novel modes of action.* Springer-Verlag, Berlin, Germany, 92-105.
- [19] Soltani, N., Rehim, H., Beldi, H. and Bendal, I.F. (1999) Activité du triflumron sur *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) et impact sur deux espèces larvaires non visées. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 35, 502-508.
- [20] Rehim, N. (2004) Etude de la reproduction chez *Culex pipiens pipiens*. Aspects: morphologique, éthologique et physiologique. Effets de quelques inhibiteurs du développement sur quelques paramètres biologiques. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale. Badji Mokhtar University of Annaba, Algeria. PhD Thesis, 195p.
- [21] Soltani, N. and Morsli, S.M. (2003) Quantification du Dimilin par Chromatographie Liquide à Haute Performance: Etude de sa Dégradation dans L'eau de Mer. *Journal de Recherche Océanographique.* 28, 118-120.
- [22] Benradia, H., Berghiche, H. and Soltani, N. (2016) Measure of environmental stress biomarkers in the shrimp *Palaemon adspersus* from the mellah lagoon (Algeria): Spatial and temporal variations. *Fresen. Environ. Bull.* 25, 2563-2566.
- [23] Berghiche, H., Benradia, H. and Soltani, N. (2016) Impact of insect growth disruptor, novaluron, on biochemical composition of cuticle from the shrimp *Palaemon adspersus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies.* 4(2), 147-151.
- [24] Soltani, N. and 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.* 27(3-4), 226-231.
- [25] Derbal, F. and Soltani, N. (2008) Cycle cuticulaire et variations de la protéinémie et de la lipémie chez la crevette royale *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775) des côtes Est algériennes. *Science & Technologie.* 28, 80- 86.
- [26] Morsli, M.S., Soltani N. (2003) Effets d'un insecticide inhibiteur de la synthèse de la chitine, le diflubenzuron, sur la cuticule de la crevette *Penaeus kerathurus*. *J. Rech. Océanogr.* 28(12), 85-88.
- [27] Soltani, N., Lechekhab, H. and Smagghe, G. (2009) Impact of the insect growth regulator diflubenzuron on biochemical composition of cuticle of the shrimp *Penaeus kerathurus*. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences.* 74(1), 137-141.
- [28] Morsli, S.M., Merad, I., Khebbab, M.E.H. and Soltani, N. (2015) Potential hazards of a chitin synthesis inhibitor diflubenzuron in the shrimp *Penaeus kerathurus*: biochemical composition of the hemolymph and muscle during the molt cycle. *Advances in Environmental Biology.* 9(3), 518-525.
- [29] Gheid, S., Nadji, S. and Khebbab, M.E.H. (2011) Taux des lipides et des protéines et composition en acides gras du tissu comestible des crustacés et des mollusques pêchés en Algérie: effet du halofenozide (RH-0345) sur la composition en acides gras de *Penaeus kerathurus* (Crustacé, Décapode). *Synthèse.* 22, 41-47.

- [30] Robertson, L., Bray, W., Leung-Trujillo, J. and Lawrence, A. (1987) Practical molt staging of *Penaeus setiferus* and *Penaeus stylirostris*. L. Journal of the World Aquaculture. Society. 18(3), 180-185.
- [31] Welinder, B.S. (1974) The Crustacean cuticle. I. Studies on the composition of the cuticle. Comp. Biochem. 47(A), 779-787.
- [32] Weckberker, G. and Cory, G. (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia 1210 cells *in vitro*. Cancer Letters. 40, 257-264.
- [33] Zaidi, N. and 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, 106–113.
- [34] Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 254-278.
- [35] Nagasawa, H. (2012) The crustacean cuticle: structure, composition and mineralization. Front Biosci (Elite Ed). 4, 71-200.
- [36] Prabu, K. and Natarajan, E. (2012) Bioprospecting of shells of crustaceans. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 4(4), 1-3.
- [37] Hepburn, H.R. (1985) Structure of the integument. In: Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I. (Eds.) Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Pergamon Press, Oxford. 3, 1-58.
- [38] Dennell, R. (1947) The occurrence and significance of phenolic hardening in the newly formed cuticle of Crustacea Decapoda. Proc. R. Soc. 134(B), 485-503.
- [39] Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. and Smagghe, G. (2005) Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Kostas, I. and Gill, S. (eds.) Comprehensive Insect Molecular Science. Vol. 6. Pergamon Press, New York, NY, 55-116.
- [40] Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. and Smagghe, G. (2010) Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Gill, S.S. (Eds.) Insect Control: Elsevier. 121-184.
- [41] Salokhe, S.G., Deshpande, S.G., Pakhle, K. and Maniyare, A.B. (2013) IGR, Lufenuron, alters chitin and total soluble protein content of *Aedes aegypti* larvae during development of *Aedes aegypti*. Curr Sci. 99(9), 1256-59.
- [42] Macken, A., Lillcrap, A. and Langford, K. (2015) Benzoylurea pesticides used as veterinary medicines in aquaculture: Risks and developmental effects on non-target crustaceans. Environmental Toxicology and Chemistry. 34(7), 1533-1542.
- [43] Mahler, H. and Cordes, E. (1968) Biological chemistry, Harper and Row. In: Maïza, A., Kilani, S., Farine, J.P., Smagghe, G., Aribi, N. and Soltani, N. (2004) Reproductive effects in German cockroaches by ecdysteroid agonist (RH-0345), juvenile hormone analog (methoprène and carbamate benfuracab). Comm. Appl. Biol. Gent University. 69(3), 257-266.
- [44] Lechekheb, H. and 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.
- [45] David, E., Tanguy, A., Riso, R., Quiniou, L., Laroche, L. and Morago, D. (2012) Responses of Pacific oyster *Crassostrea gigas* populations to abiotic stress environmentally contrasted estuaries along the Atlantic coast of France. Aquatic Toxicology. 109, 70-79.
- [46] Sies, H. and Akerboom, T.P.M. (1984) Glutathione disulfide (GSSG) efflux, from cells and tissues. Methods in Enzymology. 105, 445–451.
- [47] Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A.E. and Sanz, A. (2005) Antioxidant defences in fish: biotic and abiotic factors. Reviews in Fish biology and Fisheries. 15, 75–88.
- [48] Lam, P.K.S. (2009) Use of biomarkers in environmental monitoring. Ocean and Coastal Management. 52, 348–354.
- [49] Lidova, J., Stara, A., Kouba, A. and Velisek, J. (2016) The effects of cypermethrin on oxidative stress and antioxidant biomarkers in marbled crayfish (*Procambarus fallax f. virginialis*). NeuroEndocrinol. Lett. 1, 53-59.
- [50] Key, P.B., Chung, K.W., Hoguet, J., Sapozhnikova, Y. and Delorenzo, M.E. (2011) Toxicity of the mosquito control insecticide phenothrin to three life stages of the grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). J. Environ Sci Health B. 46(5), 426-31.

---

**Received:** 18.10.2017

**Accepted:** 30.12.2017

---

#### CORRESPONDING AUTHOR

**Noureddine Soltani**

Laboratory of Applied Animal Biology,  
Department of Biology,  
Faculty of Sciences,  
University Badji Mokhtar of Annaba,  
23000 Annaba – Algeria

e-mail: noureddine.soltani@univ-annba.org