



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية.

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé

**Effet du thiaméthoxam un insecticide néonicotinoïde sur
l'activité de deux biomarqueurs chez le crustacé *Palaemon
adspersus***

Présenté par :- BOUGHAZI Rebiha
-CHEDDAD Garmia

Soutenu le : Juillet 2019 ;

Devant le jury :

Président :	M ^r MEKHALFI Hamoudi	MAA
Encadreur:	M ^{me} BENRADIA Hamida	MCB
Examineur :	M ^r DIAFET Abdelouhab	MCA

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Au Bon Dieu, le tout puissant, pour nous avoir assuré la vie jusqu'à ce jour et permis de poursuivre nos études et réaliser ce modeste travail.

Qu'Allah, le clément et le miséricordieux, puisse continuer à nous aider jusqu'à la fin de nos jours, tout en nous assurant une bonne santé physique et morale

Nous tenons à remercier tout particulièrement :

Mr Mekhalfi Hamoudi Maître-assistant à l'Université de Bordj Bou Arerridj, de nous avoir fait l'honneur en acceptant de présider le jury.

Madame BENRADIA Hamida, Maître de conférences B à l'Université de Bordj Bou Arerridj et encadreur de ce mémoire, pour son encadrement scientifique, son soutien, sa disponibilité et notamment la confiance qu'elle nous a accordée au cours de la réalisation de cette étude.

Mr DIFAT Abdelouheb Maître de conférences A à l'Université de Bordj Bou Arerridj, pour nous avoir fait honneur et plaisir en acceptant d'examiner ce travail.

Nous remercierons également l'équipe de biologie animale de l'université d'Annaba précisément M^{me} Berghiche Hinda pour la réalisation de la partie expérimentale de ce travail

Nous exprimons également nos remerciements aux membres de la faculté des sciences de la nature et de la vie et de science de la terre et l'univers, ainsi qu'à tous les enseignants qui ont contribué à nous donner une formation solide tout au long de nos années d'études.

Et enfin, nous disons « M E R C I » à tous ceux qui nous ont apporté de près ou de loin leur aide.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, fruit de longues années d'étude à Mes chers parents qui ont consacré toute leur vie pour la réussite de leurs enfants.

A ma sœurs et mon frère : Naïla & Karim

*A tous mes amis particulièrement: Khadidja, Meriem,
et Abd El Baki*

Sans oublier toute la famille

Et surtout Mon binôme et ma co-équipière Garmia

*Aussi mes dédicaces à tous ceux qui m'ont aidé de près
ou de loin à réaliser ce travail.*

Rebiha

Dedication

A word thank you is not enough to express my happiness and gratitude to all those who contributed to get to the most important day of my life

*Start with my dear **mother** who always tired with me and was the best support, to my **father** who watches my developments from afar, to my sister **Meryem** who encourages me in everything, to my brothers **Ismail**, **Mohammed**, **Moussa**, and **Anter***

*To my partner in work & my second sister **Rebiha** our friend **Khadija** and our third sister*

To all who contributed to enriching my informations

*To all my teachers who have been taught by them since the beginning of my career and finally to my teacher supervisor **H. Benradia** she is my best teacher ever.*

Dedicate this humble work to all of you

Thank you all !

Garmia

SOMMAIRE

1. Introduction.....	01
2. Matériel et méthodes.....	05
2.1. Présentation de l'espèce: <i>Palaemon adspersus</i>.....	05
2.1.1. Morphologie et anatomie.....	06
2.1.2. Cycle de vie d'une crevette.....	07
2.2. Présentation du site d'échantillonnage.....	07
2.3. Stratégie d'échantillonnage et élevage.....	09
2.4. Présentation d'insecticide et traitement.....	10
2.5. Dosage des biomarqueurs.....	11
2.5.1. Dosage de la glutathion S-transférase.....	11
2.5.2. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	12
2.5.3. Dosage des protéines.....	13
2.6. Analyse statistique.....	14
3. Résultats.....	15
3.1. Résultats de l'activité spécifique de la glutathion S- transférase GST.....	15
3.2. Résultats de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase AChE.....	17
4. Discussion.....	20
4.1. Discussion du résultat de la glutathion S- transférase GST.....	20
4.2. Discussion du résultat de l'acétylcholinestérase AChE.....	22
5. Conclusion et perspectives.....	24
6. Résumés.....	25
6.1. Résumé.....	25
6.2. Abstract.....	25
6.3. ملخص.....	25
7. Références bibliographiques.....	26

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Photographie de la crevette <i>P. adspersus</i> (Rathke, 1837) (Sazianaki,2017).	06
02	Morphologie d'une crevette (Poupin & Juncker, 2010).	06
03	Cycle biologique des palaemonidae en milieu naturel (Aurousseau, 1984).	07
04	Localisation géographique de la zone d'échantillonnage: la lagune El-Mellah, El-Kala (Algérie Nord-Est). (www.Google Earth.com)	08
05	Schéma du filet la senne (hauteur des ailes: 1,5m ; la poche: 1,6m ; maille: 4 mm). (Benradia, 2016)	09
06	Les différentes étapes de la technique de pêche de <i>P. adspersus</i> (A : tractage, B : triage, C : transport des crevettes D : élevage au laboratoire). (Benradia, 2016)	10
07	Structure chimique du Thiaméthoxam. (Soumis, 2018)	11
08	Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisée par une GST. (Crisóstomo,2013)	21
09	Mécanisme d'action d'une substance neurotoxique sur la transmission de l'influx nerveux. (Corbel et coll., 2006)	22

Liste des tableaux

N°		Page
01	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.	13
02	Effet du thiaméthoxam aux deux concentrations ($CL_{10} = 0,38$; $CL_{25} = 0,74$ mg/l) sur l'activité de la glutathion S transférase GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ protéines) chez les adultes <i>P.adspersus</i> du cours de 96h (n=5, m \pm SD).	16
03	Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet du thiaméthoxam aux deux concentrations ($CL_{10} = 0,38$; $CL_{25} = 0,74$ mg/l) sur l'activité de la glutathion S transférase GST ($\mu\text{M}/\text{mn}$ / mg protéines) chez les adultes <i>P.adspersus</i> du cours de 96h (n=5, m \pm SD)	17
04	Effet du thiaméthoxam sur l'activité l'acétylcholinestérase AChE à l'égard de <i>P.adspersus</i> aux deux concentrations ($CL_{10} = 0,38$, $CL_{25} = 0,74$ mg/l) du cours de 96h (n=5, m \pm SD)	18
05	Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet du thiaméthoxam aux deux concentrations ($CL_{10} = 0,38$; $CL_{25} = 0,74$ mg/l) sur l'activité de l'acétylcholinestérase AChE ($\mu\text{M}/\text{mn}$ / mg protéines) chez les adultes <i>P.adspersus</i> du cours de 96h (n=5, m \pm SD).	19

Introduction

Avec le développement rapide de l'industrie chimique depuis le début du 20^{ème} siècle, l'environnement s'est trouvé contaminé par des quantités croissantes des substances toxiques (Siblet *et al.*, 2008).

Par ailleurs, Les milieux aquatiques sont depuis toujours le réceptacle des contaminants issus de l'activité anthropique. Au cours des siècles, la diversité de la nature de la contamination des milieux aquatiques n'a cessé de croître et d'évoluer au grès de l'évolution démographique de la population humaine et de ses activités (Lévêque, 1996). La dégradation organique des eaux du XIXe siècle est suivie de l'apparition des polluants métalliques issue du développement industriel du début du XXe siècle (Onivogui *et al.*, 2015; El Hassani *et al.*, 2016).

L'augmentation de l'urbanisation, de l'industrialisation et l'intensification de l'agriculture a provoqué l'accroissement des rejets ménagers agricoles et industriels. Ainsi au fil du temps et particulièrement depuis les années 1950, les niveaux de pollution chimique des eaux sont préoccupants et de nouveaux types se sont ajoutés ou ont remplacé ceux précédemment évoqués.

Au XXe siècle la pollution des eaux de surface a été marquée par l'apparition des engrais chimiques, des pesticides, des rejets radioactifs, des polluants organiques (PolyChloroBiphényles (PCB) (Kanzari *et al.*, 2014; Jayed *et al.*, 2015), Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) (Simon, 2012; Souyei, 2015) , ou encore les pesticides (Delorme *et al.*, 2002; Mokbel *et al.*, 2015). Cependant, Souvent en raison de l'activité agricole, les produits phytosanitaires, les engrais minéraux azotés et phosphatés ou encore des effluents d'élevage se retrouvent dans le

milieu aquatique par lessivage provoquant une dégradation de la qualité des eaux (Ippolito *et al.*, 2012) et une contamination des organismes vivants (An *et al.*, 2012; Ben Ameer *et al.*, 2012).

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), 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). Voire aussi 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).

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 (Dhadialla *et al.*, 2010, Berghiche *et al.*, 2018)

D'autre part, depuis leur commercialisation au début des années 90, les néonicotinoïdes ont acquis une part importante du marché des insecticides car ils représentent la classe la plus vendue au monde. Ce sont des dérivés d'une molécule naturelle: la nicotine, l'alcaloïde du tabac. utilisée pour lutter contre les insectes piqueurs-suceurs, certains Coléoptères et Lépidoptères (Elbert *et al.*, 2008).

De par leur activité systémique, ils offrent une protection prolongée, efficaces et à faibles doses (Regnault-Roger *et al.*, 2005). Les néonicotinoïdes sont agonistes de l'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques nicotiques postsynaptiques spécifiques des insectes par à rapport des Mammifères (Tomizawa & Casida 2003) présentant le facteur de sélectivité Mammifères/Insectes le plus fort (Tomizawa & Casida, 2005). Les principaux représentants du groupe des néonicotinoïdes sont l'imidaclopride, la clothianidine, le nitempyram, le thiaméthoxam et l'acetamipride. Le thiaméthoxam sous forme de préparation commerciale, Actara® (25 g de thiaméthoxam dans 100 g d'insecticide) est un insecticide néonicotinoïde utilisé à large spectre dans la région Nord-Est algérienne contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, des arbres fruitiers et des cultures maraîchères (DSA).

Bien que, le thiaméthoxam a été conçu pour agir spécifiquement contre les insectes en affectant leur système nerveux, des articles scientifiques mettent en évidence des effets relativement toxiques pour les organismes aquatiques (Sánchez-Bayo & Goka, 2006 ; Chouahda *et al.*, 2018 ; Demerci *et al.*, 2018).

En effet, cette étude écotoxicologique vise à déterminer l'impact toxique du Thiaméthoxam sur un organisme non visé, la crevette *Palaemon adspersus* (Décapode, Palaemonidae) par le dosage de deux biomarqueurs la glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE). Afin de réaliser ce travail la partie

expérimentale a été effectuée au niveau du laboratoire de la Biologie Animale Appliquée d'Annaba : traitement et dosage.

Par la suite, les différentes données nous ont été communiquées à l'université de Bordj Bou Arreridj pour déterminer l'activité des deux biomarqueurs (GST) et (AChE).

Matériel & méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation de l'espèce

Le modèle biologique utilisé dans ce travail, est une crevette *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837) connue par "le bouquet Balte", est très épanche le long des côtes norvégien, de la mer du Nord, de la mer Baltique, de la Méditerranée mer et la mer Noire (Bilgin *et al.*, 2008). Ce crustacé est relativement gros et peut atteindre 80 mm de long, elle est transparente, assez uniforme avec des bandes jaunes au niveau des articulations et présente des chromatophores sombres sur la moitié ventrale du rostre.

Sa position systématique, selon l'inventaire nationale du patrimoine naturel (INPN, 2010) est la suivante :

Règne : Animalia

Embranchement (Phylum): Arthropoda

Sous Embranchement (Sous-Phylum): 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: *Palaemon adspersus* (Rathke, 1837).



Figure 1. Photographie de la crevette *P. adspersus* (Rathke, 1837) (Sazianaki, 2017).

2.1.1. Morphologie et anatomie

Les crustacés appartiennent au phylum des arthropodes et sont reconnaissables par leur squelette externe et à leurs membres articulés. (Poupin & Juncker, 2010). Le squelette externe (exosquelette) des crustacés est constitué d'une carapace chitineuse imprégnée de sels minéraux. Le corps, symétrie bilatérale, est segmenté en métamères. Chaque métamère porte une paire d'appendices. Le corps est constitué de trois régions (ou tagmes) : la tête (céphalon), le thorax (péréion) et l'abdomen (pléon). Chacun de ces tagmes portes des appendices qui assurent des fonctions précises. La tête porte cinq paires d'appendices, impliqués dans les fonctions sensorielles et la nutrition. Le thorax porte huit paires d'appendices, assurant des fonctions de nutrition et de locomotion. L'abdomen porte six paires d'appendices, impliqués dans la respiration, la reproduction et la nage. Les appendices sont très divers dans leur morphologie et leur fonction.

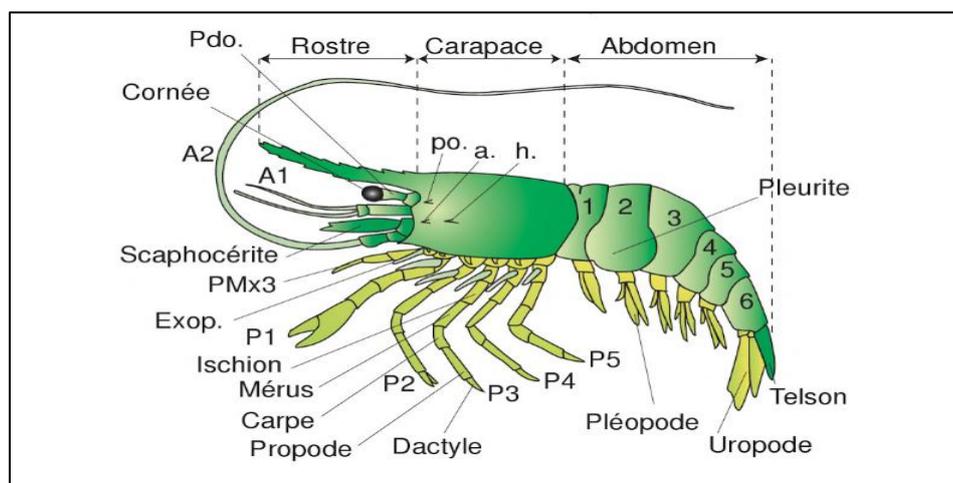


Figure 2. Morphologie d'une crevette (Poupin & Juncker, 2010).

2.1.2 Cycle de vie

P. adspersus effectue des migrations saisonnières dues aux régimes hydrologiques et à la reproduction. La population évolue dans le bas estuaire en période de crue [Décembre - Avril], puis dès l'amorce de l'étiage [Mai - Juin], elle se déplace vers le haut estuaire. Pendant la période de la reproduction, les femelles effectuent une migration vers l'aval. Ces dernières portent leurs œufs attachés en grappe entre leurs pléopodes où ils incubent durant plusieurs semaines. Les larves naissent directement au stade dit Zoé1, suivi de cinq à sept stades Zoé (Fincham & Figueras, 1986), puis un stade post-larve au vingtième jour (Fincham & Williamson, 1978). Enfin, les juvéniles issus de ces pontes investissent en été et en automne la zone moyenne de l'estuaire (Fig. 3).

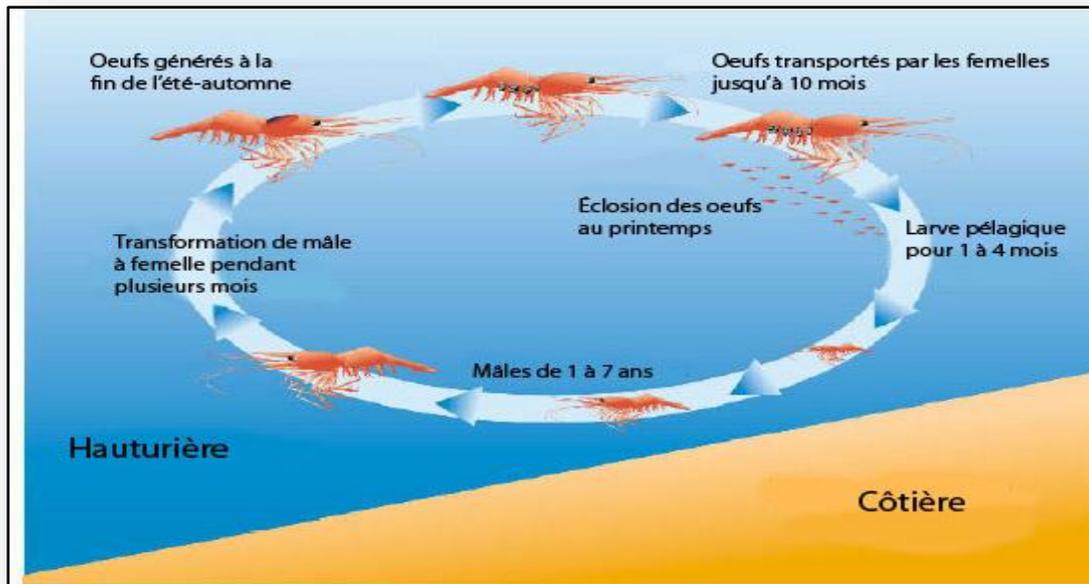


Figure 3. Cycle biologique des palaemonidés en milieu naturel (Arousseau, 1984).

2.2. Présentation du site d'échantillonnage

Les crevettes ont été échantillonnées au niveau de la lagune El-Mellah. Ce site appartient au complexe des zones humides du Parc National d'El-Kala (PNEK) (Nord-Est Algérien), avec les lacs Oubéira et Tonga. Créé en 1983, ce parc est classé comme réserve de la biosphère en 1990 et comme catégorie II (parc national) selon la classification de l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature). Elle

est considérée comme l'unique lagune du pays et est classée en 5^{ème} position par rapport aux 14 lagunes Nord-Africaines (Baba-Ahmed, 2008). 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 (Fig. 4). De forme ovalaire, elle s'étend du Nord au Sud sur 4 km et d'Est en Ouest sur 2 km (Messerer *et al.*, 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 psu, respectivement (Draredja *et al.*, 2012).

La lagune du Mellah est un écosystème d'une richesse considérable, car il dispose de 199 espèces de phytoplancton (Rétima, 1999) et 47 espèces du zooplancton (Haridi, 1999). Les Crustacés Copépodes sont les mieux représentés avec 28 espèces appartenant à 14 genres. La macrofaune benthique est composée de 44 espèces (Polychètes, Mollusques, Crustacés et poissons) (Draredja et Kara, 2004 ; Melouah *et al.*, 2014; Mebarki *et al.*, 2015). De plus, 38 espèces de Poissons Téléostéens sont recensées, dont 71% sont des migrateurs marins. Les espèces sédentaires représentent 23,7% de la richesse ichtyologique totale du milieu (Chaoui *et al.*, 2005; Chaoui *et al.*, 2006; Derbal *et al.*, 2005; Laouira *et al.*, 2010, Hamdi, 2011).



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

2.3. Stratégie d'échantillonnage et élevage

Les crevettes sont pêchées dans la lagune El-Mellah par une méthode de tractage à l'aide d'un filet appelé la senne ou (seine), dont les mailles sont régulières et de forme rectangulaire (la maille de 4 mm et la longueur environ 8 m). La bordure supérieure est garnie de flotteurs tandis que la partie inférieure est lestée et plombée. Le filet possède des anneaux dans lesquels passe un filin de chaque côté, et une poche de 1,60 m (Fig. 5). Son orientation est conduite par deux personnes à une profondeur qui varie de 0,5 à 1 m puis traîné afin de tirer les crevettes.

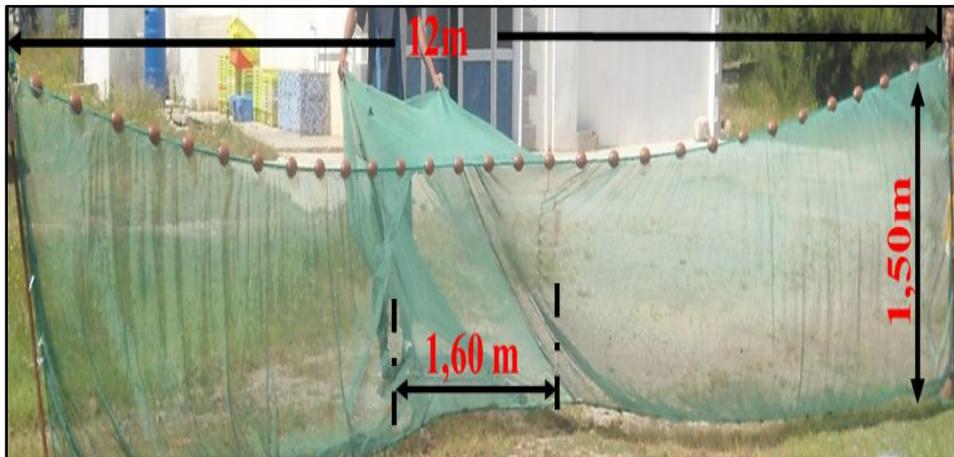


Figure 5. Schéma du filet la senne (hauteur des ailes: 1,5m ; la poche: 1,6m ; maille: 4 mm) (Benradia, 2016).

Pour la réalisation de l'élevage au laboratoire: les crevettes sont pêchées au niveau du site le moins pollué (le chenal), puis elles sont transportées dans un bac en plastique d'une contenance de 25 L d'eau de mer. L'aération des échantillons est assurée par une pompe à air (BOYU® D-200) jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Les crevettes capturées sont transférées dans des aquariums d'une capacité de 80 litres, constitués d'une fine couche de sable fin de 4 cm d'épaisseur. Le milieu d'élevage est éclairé de lumière artificielle blanche (1000 lux) avec une photophase 14h/10h (lumière/obscurité). 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). La filtration est assurée par des filtres à eau ayant un débit de 180 l/h (Rena 225) (Fig. 6 D).

Les animaux en captivité 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.



Figure 6. Les différentes étapes de la technique de pêche de *P. adspersus* (A: tractage, B: triage, C: transport des crevettes D: élevage au laboratoire) (Benradia, 2016).

2.4. Présentation de l'insecticide et traitement

Actara® 25 WG est un insecticide découvert par Ciba Syngenta en 1998 (Senn *et al.*, 1998). Son ingrédient actif est le thiaméthoxame appartenant à la famille des néonicotinoïdes des analogues synthétiques de la nicotine dotés de propriétés insecticides. (Singh & Mandal, 2013). Le nom commun est : 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-méthyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4-imine (fig.5), et sa formule de structure est : $C_8H_{10}ClN_5O_3S$ avec un poids moléculaire de 291.7147 g. Il a été présenté à la conférence de Brighton en 1998 (Senn *et al.*, 1998).

Ce néonicotinoïde de deuxième génération se distingue de ceux qui existent sur le marché par sa structure chimique : il possède un hétérocycle chlorothiazole et un anneau oxadiazinane qui insère le groupe nitroguanidine. Cette particularité structurale lui confère des caractéristiques physico-chimiques, toxicologiques et biologiques propres, différentes de celles des autres substances de son groupe, comme par exemple la photostabilité, le coefficient de partition, la solubilité dans l'eau et de 4,1g/litre-1 à 20°C, le spectre d'activité et les doses d'utilisation .

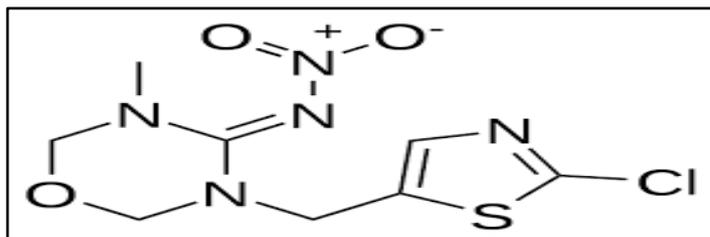


Figure 7. Structure chimique du Thiaméthoxam. (Soumis, 2018)

Actara® est ajouté à l'eau de mer d'élevage. Il est utilisé aux deux concentrations (0,38 et 0,74 mg / L) correspondant respectivement aux CL₁₀ et CL₂₅ obtenues après 96 heures d'exposition. Le prélèvement des échantillons (tête et chair) est effectué chez les individus de *P. adspersus* chaque 24h pendant 96h : (24, 48, 72, 96 h) chez les séries témoins et traité par l'actara® aux deux concentrations testées, et seront utilisés après pour le dosage enzymatique de l'acétylcholinestérase AChE et le dosage de glutathion S-transférase GST, respectivement.

2.5. Dosage des biomarqueurs

2.5.1. 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 au froid (4°C) 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 UV/ visible (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:

Activité de la GST

$$\text{As GST } (\mu\text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta Do/mn}{e} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M/mn/mg de protéines}$).
Δ Do: pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.
e: 9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).
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.

2.5.2. Dosage de l'acétylcholinestérase

Le dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) est réalisé selon la méthode d'Ellman *et al.*, (1961) qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh) dont l'hydrolyse libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La thiocholine en présence de DTNB (acide 5, 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm. Les échantillons (têtes) sont homogénéisés dans 1 ml de solution détergente (solution D) [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)], puis centrifugés (5000 trs/mn, 5 mn). Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO₃HNa (bicarbonate de sodium), 10 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances (spectrophomètre WPA) s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 mn à une

longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 µl de la solution détergente remplace les 100 µl du surnageant.

Activité de l'AChE

$$\text{As AChE } (\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta Do/mn}{e} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

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

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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.5.3. Dosage des protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la technique de [Bardford et al., \(1976\)](#) 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 1: 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

2.6. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne arithmétique plus ou moins l'écart type ($m \pm s$). L'étude statistique est réalisée à l'aide du logiciel graphpad prism d'analyse et de traitement statistique des données version 7 pour Windows.

Les données sont traitées par l'analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification suivis du test HSD (test de la différence franchement significative) de Tukey. De plus, la normalité des données est vérifiée par le test de Bartlett avant l'utilisation de l'ANOVA.

Résultats

3. Résultats

3.1. Résultats de l'activité spécifique de la glutathion-S-transférase GST

Le dosage de la GST a été réalisé au niveau de la chair des adultes *P. adspersus* pour les séries témoins et traitées (CL₁₀ et CL₂₅) au cours de 96h. Les résultats concernant l'évolution de l'activité de la GST sont représentés dans le Tableau 2 et la figure 8.

Dans les conditions normales (témoins), l'activité de GST ne révèle aucun effet significatif, les valeurs enregistrées sont de l'ordre de (0,08 ± 0,015 µM/mn/mg de protéines) à 0h, et de (0,13 ± 0,009 µM/mn/mg de protéines) à 96h.

Le traitement par le thiaméthoxam à la CL₁₀ a provoqué une augmentation significative ($p \leq 0,05$) uniquement au cours de 72h et 96h. En effet, l'activité de la GST est de l'ordre de (0,29 ± 0,060 µM/mn/mg de protéines au cours 72h et atteint la valeur de 0,32 ± 0,035 µM/mn/mg de protéines au cours de 96h par rapport aux témoins ou l'activité enregistrée est de l'ordre de (0,15 ± 0,005 et 0,13 ± 0,009 µM/mn/mg de protéines).

Chez la série traitée par la CL₂₅, l'activité de la GST augmente d'une manière significative après les premiers 24h et atteint son maximum au cours de 96h, les valeurs enregistrées sont de l'ordre de (0,22 ± 0,009 , 0,50 ± 0,003 , 0,56 ± 0,002 , 0,65 ± 0,010 ,µM/mn/mg de protéines) pour les temps 24h, 48h, 72h, et 96h respectivement.

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet temps ($F_{(4,39)} = 113,8$; $P < 0,001$), un effet Concentrations ($F_{(2,39)} = 321,2$; $P \leq 0,001$) et un effet interaction temps x concentrations ($F_{(8,39)} = 40,89$; $P < 0,001$) (Tab. 3)

Tableau 2 : Effet du thiaméthoxam aux deux concentrations ($CL_{10}=0,38$; $CL_{25}=0,74$ mg/l) sur l'activité de la glutathion S transférase GST ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ protéines) chez les adultes *P.adspersus* du cours de 96h (n =5, $m \pm \text{SD}$).

Temps (h)	Lots		
	Témoins	$CL_{10} = 0,38$ mg/l	$CL_{25} = 0,74$ mg/l
0 h	0,08 \pm 0,015 a A	0,11 \pm 0,039 a A	0,10 \pm 0,011 a A
24 h	0,14 \pm 0,008 a A	0,20 \pm 0,018 ab B	0,22 \pm 0,009 b A
48 h	0,16 \pm 0,002 a A	0,23 \pm 0,003 a B	0,50 \pm 0,003 b B
72 h	0,15 \pm 0,005 a A	0,29 \pm 0,060 b B	0,56 \pm 0,002 c B
96 h	0,13 \pm 0,009 a A	0,32 \pm 0,035 b B	0,65 \pm 0,010 c C

*Les lettres en minuscule comparent les moyennes entre les traitements au sein d'un même temps. Les lettres en majuscule comparent les valeurs des différents temps au sein d'un même traitement. (Comparaison : test HSD de Tukey, 5%).

Tableau 3 : Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet du thiaméthoxam aux deux concentrations ($CL_{10}=0,38$; $CL_{25}=0,74$ mg/l) sur l'activité de la glutathion S transférase GST ($\mu\text{M}/\text{mn}$ / mg protéines) chez les adultes *P.adspersus* du cours de 96h (n=5, $m \pm \text{SD}$)

ANOVA	SCE	DDL	MC	F (Fobs)	P valeur
Interaction	0,349	8	0,04363	40,89	P<0,0001
Temps	0,4857	4	0,1214	113,8	P<0,0001
Traitement	0,6854	2	0,3427	321,2	p<0,0001
Résiduel	0,04161	39	0,001067		

3.2. Résultat de l'activité de l'acétylcholinestérase l'AChE

La détermination de l'activité spécifique AChE est réalisée au niveau de la tête des adultes *P.adspersus* pour les séries témoins et traitées aux deux concentrations (CL_{10} et CL_{25}) au cours de 96h. Les résultats concernant l'évolution de l'activité de l'AChE sont représentés dans le tableau 4 et la figure 9.

Dans les conditions normales (témoins), l'activité de AChE ne révèle aucun effet significatif, les valeurs enregistrées sont de l'ordre de ($1,13 \pm 0,09 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) à 0h, et de ($1,09 \pm 0,15 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) à 96h.

Le traitement par le thiaméthoxam à la CL_{10} n'a enregistré aucun effet significatif ($p > 0,05$) au cours des premières 24h. L'activité de l'AChE commence à diminuer au cours des 48, 72, et 96 h, elle est de l'ordre de ($0,20 \pm 0,00$, $0,17 \pm 0,01$, $0,14 \pm 0,01$, $\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) respectivement par rapport aux témoins ou elle est de valeur ($1,09 \pm 0,09$, $1,08 \pm 0,09$, $1,08 \pm 0,15 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).

Chez la série traitée par la CL_{25} , l'activité de l'AChE diminue d'une manière significative et atteint son minimum au cours de 96h, les valeurs obtenues sont de l'ordre de ($0,25 \pm 0,03$, $0,2 \pm 0,00$, $0,16 \pm 0,03$, $0,11 \pm 0,011 \mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines) pour les temps 24h, 48h, 72h, et 96h respectivement.

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet temps ($F_{(4,34)} = 66,6$; $P < 0,0001$), un effet Concentrations ($F_{(2,43)} = 321,7$; $P \leq 0,0001$) et un effet interaction temps x concentrations ($F_{(8,43)} = 31$; $P < 0,0001$). (Tab 5)

Tableau 4 : Effet du thiaméthoxam sur l'activité l'acétylcholinestérase AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ protéines) à l'égard de *P.adsspersus* aux les deux concentrations ($\text{CL}_{10}=0,38$; $\text{CL}_{25}=0,74$ mg/l) du cours de 96h ($n=5$, $m \pm \text{SD}$).

Temps (h)	Lots		
	Témoins	$\text{CL}_{10} = 0,38 \text{ mg/l}$	$\text{CL}_{25} = 0,74 \text{ mg/l}$
0 h	$1,13 \pm 0,09$ a A	$0,88 \pm 0,00$ a A	$0,93 \pm 0,11$ a A
24 h	$1,11 \pm 0,09$ a A	$0,98 \pm 0,29$ ab B	$0,25 \pm 0,03$ a A
48 h	$1,09 \pm 0,09$ a A	$0,20 \pm 0,00$ ab B	$0,2 \pm 0,00$ b B
72 h	$1,08 \pm 0,09$ a A	$0,17 \pm 0,01$ ab B	$0,16 \pm 0,03$ b B
96 h	$1,08 \pm 0,15$ a A	$0,14 \pm 0,01$ ab B	$0,11 \pm 0,011$ b B

* Les lettres en minuscule comparent les moyennes entre les traitements au sein d'un même temps. Les lettres en majuscule comparent les valeurs des différents temps au sein d'un même traitement. (Comparaison : test HSD de Tukey, 5%).

Tableau 5: Analyse de la variance à deux critères de classification de l'effet du thiaméthoxame aux deux concentrations ($CL_{10}=0,38$; $CL_{25}=0,74$ mg/l) sur l'activité de l'acétylcholinestérase AChE ($\mu\text{M}/\text{mn} / \text{mg}$ protéines) chez les adultes *P. adspersus* du cours de 96h (n=5, m \pm SD).

ANOVA	SCE	DDL	MC	F (Fobs)	P
Interaction	2,168	8	0,271	31	P<0,0001
Temps	2,329	4	0,5821	66,6	P<0,0001
Traitement	5,625	2	2,812	321,7	P<0,0001
Résiduel	0,3759	43	0,008741		

Discussion

4. Discussion

Les néonicotinoïdes sont des neurotoxines, synthétiquement proches de la nicotine. Ils sont largement appliqués sur de nombreuses cultures arables, horticoles et ornementales, et se retrouvent également dans des produits vétérinaires tels que les traitements antipuces pour chiens et chats (Goulson ,2017).

De plus, certains de leurs métabolites, possèdent une signature moléculaire similaire à un neurotransmetteur naturel très important du système nerveux : l'acétylcholine (ACh). Cette similitude leur permet d'agir à titre d'agonistes, c'est -à-dire qu'ils possèdent la capacité à se substituer au neurotransmetteur et à le remplacer dans l'organisme. Les néonicotinoïdes agissent ainsi de manière sélective sur les récepteurs post-synaptiques nicotiques de l'acétylcholine (nAChERs) à l'intérieur du système nerveux central des insectes (Tomizawa 2013, Jeschke et al.2013).

Cependant, les marqueurs biologiques ont été classés en biomarqueurs d'exposition, d'effet et de susceptibilité, les auteurs soulignent que les marqueurs biologiques peuvent être utilisés à la fois pour la surveillance biologique de la santé. (McCarthy et Shugart ,1990), les marqueurs biologiques sont des mesures aux niveaux moléculaire, biochimique ou cellulaire réalisées soit sur des populations sauvages provenant d'habitats contaminés ou sur des organismes exposés expérimentalement aux polluants qui indiquent que l'organisme a été exposé à des toxiques chimiques .La définition a été généralisée (Depledge & Fossi ,1993) :un biomarqueur est « un changement biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui peut être mesuré dans des tissus ou des fluides corporels ou au niveau de l'organisme entier qui met en évidence l'exposition à/ou les effets sub-létaux biochimiques dus à l'exposition individuelle aux xénobiotiques.

4.1. Discussion des résultats de la glutathion S-transférase (GST)

Les GST sont les enzymes dont l'activité est la plus utilisée comme biomarqueur des substances organiques, surtout chez les mollusques (Cajarville *et al.*, 2000). Elles représentent une importante famille enzymatique dont la fonction est de conjuguer le glutathion réduit (GSH) a des compose électrophiles pas formation d'un pont thioéther (Fouremant,1989). Les produits sont ensuite métabolisés en

mercapturates puis excrètes dans la bile ou l'urine. Différents travaux ont montré que l'activité des glutathion S-transférases augmentait dans les organismes en fonction de la concentration en xénobiotiques dans le milieu. (Van veld & lee, 1988). Cependant des auteurs montrent que les glutathion S-transférases sont impliquées dans la détoxification de nombreux polluants chimiques : hydrocarbures, insecticides organochlorés et PCB (Monod *et al.*, 1988 ; George, 1994). Chez les mollusques l'activité de la GST est utilisée avec plus de succès que chez les poissons comme biomarqueur d'exposition à ces substances pour le milieu marin (fitzpatrick *et al.*, 1997 ; Hoarau *et al.*, 2001) et pour l'eau douce (Boryslawski *et al.*, 1988 ; Robillard *et al.*, 2003). Les GST jouent un rôle additionnel dans la détoxification en servant des molécules transporteuses qui augmentent la biodisponibilité des toxiques.

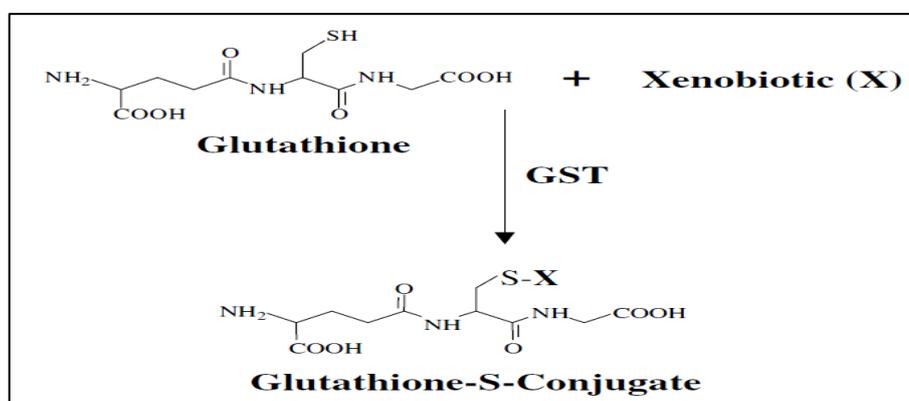


Figure 8: Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisée par une GST (Crisóstomo, 2013).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent une induction de la GST chez les individus traités avec la thiaméthoxam aux deux concentrations (CL₁₀, CL₂₅) comparativement aux témoins avec un effet dose- temps. Cette augmentation de l'activité de la GST nous permet de suggérer que le processus de détoxification contre les forces de pro oxydation est déclenché par cette enzyme (induite). Nos résultats sont similaires aux travaux de Hamdi-Ourfella *et al.*, (2014) une induction de la GST a été signalée chez l'espèce *Helix aspersa* exposé à l'insecticide imidaclopride. Une induction de l'activité de la GST a également été observée chez plusieurs espèces de crustacés tels que *Palaemon esargentinus* exposés au fénitrothion (Lavarías & García, 2015), chez *Macrobrachium borelli* traités avec un insecticide organophosphoré (Lavarías & García, 2013). D'autres études ont été réalisées sur l'imidaclopride par

Jemec *et al.*, (2007) ont également montré un effet significatif sur l'activité de la GST après une exposition de 21 jours.

Autres études similaires sur des crevettes *Litopenaeus vannamei* exposées à différents pH du milieu (basique et acide) et des métaux lourds (cadmium et zinc) (Furtado *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2016) et *Marsupenaeus japonicus* chez des crevettes exposées à la dessiccation (Duan *et al.*, 2016).

4.2. Discussion du résultat de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'inhibition de l'acétylcholinestérase AChE peut être considérée comme un des premiers biomarqueurs proposés en surveillance puisque son développement en médecine humaine en tant qu'indice d'exposition aux neurotoxiques, notamment aux organophosphates des gaz de combat, remonte à plusieurs décennies. Pour de nombreux auteurs, la mesure de l'activité acétylcholinestérase la meilleur indice de contamination par les pesticides organophosphorés et carbamates (Holland *et al.*, 1967). L'acétylcholinestérase c'est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des esters de la choline.

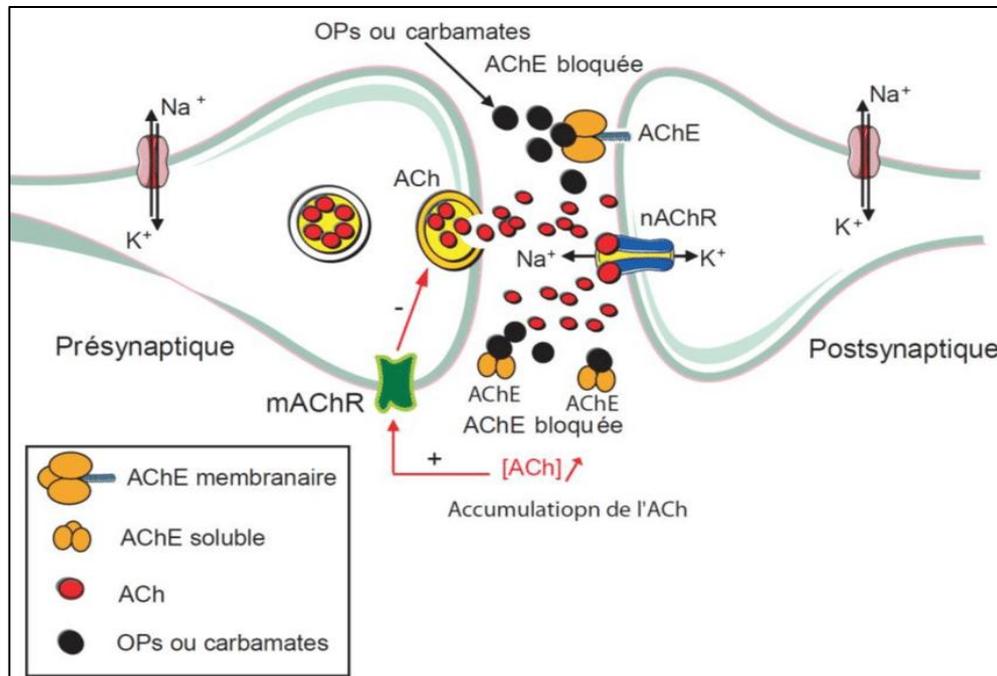


Figure 9 : Mécanisme d'action d'une substance neurotoxique sur la transmission de l'influx nerveux. (Corbel *et coll.*, 2006)

Les résultats obtenus dans cette étude montrent une inhibition de l'AChE chez les individus traitée (CL₁₀, CL₂₅) comparativement aux témoins avec un effet dose- temps . Nos résultats sont similaires aux travaux de Hamdi-Ourfella *et al* .,(2014) qui montrent une inhibition de l'activité AChE chez *H.aperta* traités par le thiaméthoxam par rapport au témoins. Il a été démontré que l'exposition des souris à des concentrations allant jusqu'à 3 000 ppm de thiaméthoxam pendant 50 jours induisait des tumeurs du foie (Green et al., 2005) et provoquait une diminution de l'AChE et de capture de choline nécessaire à la synthèse de l'acétylcholine chez les rats à des doses allant de 50 à 100 mg / kg (Rodrigues *et al.*, 2009).

De nombreuses études ont montré une inhibition de l'activité de l'AChE de *P. argentinus*, une crevette d'eau douce exposée à un organophosphate de fénitrothion (Rodrigues *et al.*, 2013). Il existe également une inhibition de l'activité de l'acétylcholinestérase chez le crabe *Carcinus maenas*, exposé au fluoranthène (Rodrigues *et al.*, 2013) et à la crevette *M Borelli* contaminée à un organophosphate.

Ceci confirme son mécanisme d'action primaire sur le système nerveux, puisque la matière active, le thiaméthoxame, est un agoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine.

*Conclusion &
perspectives*

5. Conclusion et perspectives

La présente étude s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée d'Annaba (2018- 2022). Elle a pour but l'évaluation de la toxicité du thiaméthoxam un insecticide néonicotinoïde sous sa forme commercialisée (Actara 25% WG) sur les taux des biomarqueurs glutathion S-transférase (GST) et acétylcholinestérase (AChE) à l'égard d'une espèce non visée *P.adspersus* (Décapode, Paleamonidés).

Pour cela la partie expérimentale a été effectuée au niveau de laboratoire de biologie animale d'Annaba : traitement et dosage, et l'échantillonnage de cette espèce à été effectué au niveau de la lagune El-Mellah, d'El kala. Par la suite, les différentes données nous ont été communiquées à l'université de Bordj Bou Arreridj afin de déterminer l'activité des deux. La partie expérimentale comprenait un traitement des adultes de crevettes *P.adspersus* aux deux concentrations (CL₁₀, CL₂₅) du thiaméthoxam qui sont de l'ordre de 0,38 et 0,74 mg/l respectivement mené par un lot témoin en parallèle au cours de 96h d'exposition et un prélèvement des échantillons (tête et chair) pour le dosage de l' AChE et GST respectivement.

La somme des résultats obtenus montre une induction de l'activité de la GST une inhibition de l'activité de l'AChE aux deux concentrations CL₁₀ et CL₂₅ au cours 96h des lots testé par rapport au témoin et ce après les première 24h au cours 96h d'exposition par rapport aux témoins.

Ainsi, le tiaméthoxam perturbe les activités des deux biomarqueurs GST, AChE Chez l'espèce non-visé *P.adspersus*. Ce qui est due au mode d'action de la molécule qui appartient à la famille des néonicotinoïdes qui agissent sur le système nerveux central des insectes en se fixant au récepteur de l'acétylcholine de type nicotinique (nAChR).

Au futur il sera intéressant d'évaluer l'impact du thiaméthoxam sur l'axe neuro reproducteur de l'espèce et de faire une analyse des résidus dans les tissus de *P.adspersus*.

Résumer

6. Résumés

6.1. Résumé

La présente étude s'inscrit dans le cadre d'un projet de recherche du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée d'Annaba (2018- 2022). Elle porte sur l'évaluation de la toxicité du thiaméthoxam (Actara 25% WG) sur l'activité des deux biomarqueurs la glutathion S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE) sur espèce non- visés *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 (Crustacea, Decapoda).

A cet effet, L'insecticide thiaméthoxam (Actara 25% WG) a été additionné à l'eau d'élevage des adultes de *P. adspersus* deux concentrations CL₁₀ et CL₂₅ déterminés à l'égard d'une exposition de 96h. Les prélèvements des échantillons (la tête et la chair) ont été effectués chaque 24h au cours d'une exposition de 96h afin de déterminer l'activité spécifiques de la GST et l'AChE.

La somme des résultats obtenus montre que l'actara induit une augmentation de l'activité de la GST et une diminution de l'AChE chez l'espèce non visé *P. adspersus*.

Mots clés : Insecticides, Thiamothéxam, *P.adspersus* , biomarqueurs, GST , AChE.

6.2. Abstract

This study is part of the research project of Annaba's Laboratory of Applied Animal Biology (2018-2022). For this purpose, a neonicotinoid insecticide thiaméthoxam, commercialized product Actara (25% AM) it used against a shrimp *Palaemon adspersus* Rathke (1837) (Decapoda, Palaemonidae) in order to evaluate its toxicity on tow biomarkers activity the glutathionS-transferase (GST) and the acetylcholinesterase (AChE).

For this purpose, thimethoxam insecticide (Actara 25% WG) has been added to the water breeding *P.adspersus* adults on tow concentration CL₁₀ and CL₂₅ determined with respecting exposition of 96h. Samples taken (head and flesh) have been implementing each 24h during 96h exposition to determinate the specific activity of GST and AChE.

The results showed a significant induction in GST and also a significant inhibition in AChE activities in individuals at the non-target species *P.adspersus*.

Key words: Insecticides, Thiamothexam , *P.adspersus* , biomarkers , GST, AChE

3.6 الملخص

هذه الدراسة تعتبر جزء من مشروع بحث علمي يجري في مختبر علم الأحياء الحيوانية التطبيقية (2018-2022)، وتتعلق بتقييم سمية الثياميثوكسام (Actara 25% WG) على النشاط الأنزيمي الجلوتاتيون s ترانسفير (GST) واستيلكولينستراز (AChE) على الحيوان غير المستهدف *Palaemon adspersus* Rathke 1837 (قشريات، عشرينيات الأرجل).

لهذا الغرض تمت إضافة الثياميثوكسام (Actara 25% WG) إلى ماء تربية لـ *P. adspersus* بتركيزات CL₁₀ و CL₂₅ والتي تم تحديدهما مسبقا بتعريض *P. adspersus* إلى المبيد لمدة 96 ساعة. وتم أخذ عينات (الرأس واللحم) كل 24 ساعة خلال التعرض لمدة 96 ساعة لتحديد النشاط المحدد للأنزيمين GST و AChE.

وتظهر مجموع النتائج التي تم الحصول عليها أن actara يحدث زيادة في نشاط GST وانخفاض في AChE في الأنواع غير المستهدفة *P. adspersus*.

الكلمات الرئيسية: المبيد الحشري، GST ، AChE ، *P. adspersus* ، مؤشر حيوي، تسمم.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Agüero, J. M., & Bharadwaj, P. (2014).** Do the more educated know more about health? Evidence from schooling and HIV knowledge in Zimbabwe. *Economic Development and Cultural Change*, 62(3), 489-517.
- An, L.H., Zheng, B.H., Wang, L.J., Zhang, Y.Q., Chen, H., Zhao, X.R., Zhang, L., & Lei.K. (2012).** Biomarker responses and genotoxicity in the mud snail (*Bullacta exarata*). *Mar. Pollut. Bull.* **64** (2): 303-9.
- Arthur, W., Glaze, R. M., Villado, A. J., & Taylor, J. E. (2009).** Unproctored Internet-based tests of cognitive ability and personality: Magnitude of cheating and response distortion. *Industrial and Organizational Psychology*, 2(1), 39-45.
- Aurousseau, J. M. (1984).** *Eléments d'écologie de la crevette blanche, Palaemon longirostris, dans l'estuaire de la Gironde. Dynamique de la population et production* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Biologie Animale mention Ecologie, Université Paris VI, Paris, France).

B

- BABA-AHMED R. (2008).** Identification des sources d'effluents domestiques et voies de contamination d'une zone humide : cas du lac Mellah, mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister, Juin.
- Ben Ameer, W., Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., Serret, J., Ramos-Lopez, D., Gonzalez-Linares, J., Driss, M.R. & Borrás, B. (2012).** Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte lagoon (Tunisia)., *Mar. Pollut. Bull.* **64**: 241-251.
- Berghiche, H., Benradia, H., & Soltani, N. (2018).** Evaluation of the Potential Side-Effects of Novaluron on the Shrimp *Palaemon adspersus*: Moulting Hormone Profile, Cuticle Secretion and Chitin Contents. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*, 6(4), 116.
- Bianchi, F. J., Booij, C. J. H., & Tscharrntke, T. (2006).** Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 1715-1727.

- Bilgin,S., Samsun,O ., & Ozen, O .(2008) .** Seasonal growth and reproduction biology of the Baltic prawn,*Palaemon adspersus* (Decapoda: Palaemonidae), in the southern Black Sea , 509–519.
- Bjørling-Poulsen, M., Andersen, H. R., & Grandjean, P. (2008).** Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environmental Health*, 7(1), 50.
- Boryslawskij, M ., Garood ,A., Pearson, J., Wooshead,D.(1988).**Elevation of glutathione S-transferase activity as a stress reponse to organochlorine compounds,in the freshwater mussel, *Sphaerium corneum*.**24**:101-104.

C

- Cajaraville, M., Bebianno ,M,J .,Blasco,J .,Porte,C ., Sarasquete,C .,Viarengo,A.(2000).**The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coasta environments of the Iberian Peninsula:a practical approach.*Sci Total Environ*, 247:295-311.
- Cassida, J. & Quistad, B. (1998).** Golden age of insecticide research: past present or future? *Annu Rev. Entomol*; 43: 1-16.
- 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.
- Chaoui, L. Derbal, F., Kara, M.H., & Quignard, J.P. (2005).** Alimentation et condition de la dorade *Sparus aurata* (Teleostei : Sparidae) dans la lagune du Mellah (Algérie Nord-Est). *Cah. Biol. Mar.* **46** : 221-225.
- Chaoui, L., Kara, M. H., Faure, E. & Quignard, J. P. (2006).** L'ichtyofaune de la lagune du Mellah : diversité, production et analyse des captures
- 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.

D

- De Jaeger, B., Van Hove, M., Wellekens, D., Kang, X., Liang, H., Mannaert, G., & Decoutere, S. (2012).** Au-free CMOS-compatible AlGaN/GaN HEMT processing on 200 mm Si substrates. In *2012 24th International Symposium on Power Semiconductor Devices and ICs* (pp. 49-52). IEEE.

- De Long, D. W., & Fahey, L. (2000).** Diagnosing cultural barriers to knowledge management. *Academy of Management Perspectives*, 14(4), 113-127.
- 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.
- Denys, C., & Tschardtke, T. (2002).** Plant-insect communities and predator-prey ratios in field margin strips, adjacent crop fields, and fallows. *Oecologia*, 130(2), 315-324.
- Depledge, M., Fossi, M. (1994).** The role of biomarkers in environmental assessment (2). *Invertebrates. Ecotoxicology*, 3:161-172.
- 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.
- 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., Carlson, G. R., Lee D. P. (1998).** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.*, 43: 545-569.
- Dhadialla T. S., Retnakaran A., Smagghe G. (2005).** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Ko stas, I. and Gill, S. (eds.) *Comprehensive Insect Molecular Science*. Vol. 6. Pergamon Press, New York, NY. pp 55-116.
- Dhadialla TS, Retnakaran A, Smagghe G. (2010).** Insect growth and development disturbing insecticides. In: *Gilber, L.I., Gill, S.S. (Eds). Insect Control*. : Elsevier;p. 121-184.
- Draredja, B. & Kara, M.H. (2004).** Diversité de la macrofaune benthique de la lagune Mellah (Algérie Nord-Est)”. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.* 37 : 515.
- 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.
- Dubois, B. (2011).** Récepteurs nicotiniqes neuronaux d’insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l’efficacité des néonicotinoïdes France.

E

- El Hassani, F., Boushaba, A., Raïs, N., & Benaabidate, 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)**.
- Elbert A., Haas M., Springer B., Thielert W. & Nauen, R., 2008.** Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science* **64**: 1099-1105.
- 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, A. F. M. (1999).** Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, *179*(1-4), 149-168.

F

- Fincham, A. A., & Figueras, A. J. (1986).** Larval keys and diagnoses for the subfamily Palaemoninae (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) in the north-east Atlantic and aspects of functional morphology. *Journal of natural history*. **20 (1)**: 203-224.
- Fitzpatrick, P., O'Halloran, J., Sheehan, D., Walsh, A. (1997).** Assessment of glutathione S-transferase and related proteins in the gill digestive gland of *Mytilus edulis* (L), as potential organic pollution biomarkers. **2**: 51-56
- Fouremant, G. (1989).** Enzymes involved in metabolism of PAH by fishes and other aquatic animals: hydrolysis and conjugation enzymes (or phase II enzymes). In: Varanasi U. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. CRC press, Boca Raton, FL, 185-202.

G

- Gagné, M., & Forest, J. (2008).** *The study of compensation systems through the lens of self-determination theory: Reconciling 35 years of debate* (Vol. 49, No. 3, p. 225). Educational Publishing Foundation.

- Gatignol, C., & Etienne, J. C. (2010).** Pesticides et santé. *Rapport parlementaire. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. Rapport*, (2463).
- George,S.(1994).**Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugation enzymes in fish. 37-85.
- Gold, C. (2002).** Etude des effets de la pollution métallique (Cd/Zn) sur la structure des communautés de diatomées périphtiques des cours d'eau, Approches expérimentales in situ et en laboratoire. Thèse de Doctorat, Université Bordeaux I.
- Goulson ,D .(2013)** . An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides, 50,977–987.
- Goulson,D (2017)** . Les néonicotinoïdes nuisent-ils réellement sur les abeilles ?N°178.
- Grafton-Cardwell, E., Godfrey, L., Chaney, W., & Bentley, W. (2005).** Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. *California agriculture*, 59(1), 29-34.
- Grandjean, P., & Landrigan, P. J. (2006).** Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *The Lancet*, 368(9553), 2167-2178.

H

- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jacobi, W.B. (1974).** The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**: 7130-7139.
- Hamdi, S. (2011).** Rythme alimentaire, embonpoint et parasitisme à *Anguillicola crassus* (Kuwahara, Niimi et Itagaki, 1974) chez l'anguille européenne *Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758) dans la lagune Mellah. Thèse Magister. Univ. Annaba : 89p (+ Annexes).
- Hamdi-Ourfella.A.N .,Soltani,N.(2014).** Qualité des sols dans deux sites du Nord-Est Algérien: utilisation d'une espèce bioindicateur de la pollution des sols.2527-2533.
- Haridi, H., (1999).** Le zooplancton de la lagune Mellah (El Kala, Algérie). Bilan d'échanges avec la mer et incidences écologiques en hiver et au printemps. Mémoire de Magister en Océanographie. Institut des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (ISMAL., Alger). 64 p + annexes.

Hoarau ,P., Gnassia-Barelli ,M., Roméo ,M., Girard,J.(2001).Differential induction of glutathione S-transferases in the clam *Ruditapes decussants* exposed to organic compounds. *Environ toxicol chem.* **20**:523-529.

I

Ippolito, J.A., Novak, J.M., Busscher, W.J., Ahmedna, M., Rehrach, D. & Watt, D.W . (2012). witchgrass biochar affects two Aridisols. *J. Environ. Qual.* **41**:1123–1130.

J

Jayed, M., Benbrahim, S., Bakkas, S., Ramdani, M., & Flower, R. (2015). Accumulation of Organochlorines in the European Clam (*Ruditapes decussatus*) and Sediment of the Oualidia Lagoon (Morocco). *Bulletin of environmental contamination and toxicology.* **94(5)**: 614-621.

Jeschke, P., R. Nauen & M. E. Beck, (2013). Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a milestone for modern crop protection. *Angewandte Reviews,* **52**: 9464–9485.

K

Kanzari, F., Syakti, A. D., Asia, L., Malleret, L., Piram, A., Mille, G., & Doumenq, P. (2014). Distributions and sources of persistent organic pollutants (aliphatic hydrocarbons, PAHs, PCBs and pesticides) in surface sediments of an industrialized urban river (Huveaune), France. *Science of the Total Environment,* **478**, 141-151.

Karmakar , R ., Kulshrestha , G .(2009). Persistence, metabolism and safety evaluation of thiamethoxam in tomato crop

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

Kenny, N. J., Quah, S., Holland, P. W., Tobe, S. S., & Hui, J. H. (2013). How are comparative genomics and the study of microRNAs changing our views on arthropod endocrinology and adaptations to the environment?. *General and comparative endocrinology,* **188**, 16-22.

Kristensen, M., & Jespersen, J. B. (2007). Susceptibility to thiamethoxam of *Musca domestica* from Danish livestock farms .

L

Laouira, L., Hamdi, S., Derbal, F., Chaoui, L., & Kara, M.H. (2010). Régime alimentaire de l'anguille *Anguilla anguilla* dans les hydrosystèmes continentaux en Algérie. Cas de la lagune du Mellah et de l'Oued El-Kébir. 12ème journées tunisiennes des sciences de la mer. Hammamet (Tunisie) : 18-21 décembre 2010.

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

Lévêque, C. (1996). *Ecosystèmes aquatiques.*

Liu, X., & Chen, B. (2000). Climatic warming in the Tibetan Plateau during recent decades. *International journal of climatology*, 20(14), 1729-1742.

Louat, F, (2013) .Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster* France .

M

McCauley, R. D., Fewtrell, J., Duncan, A. J., Jenner, C., Jenner, M. N., Penrose, J. D., ... & McCabe, K. (2000). Marine seismic surveys—a study of environmental implications. *The APPEA Journal*, 40(1), 692-708.

McCarthy ,JF., Shugart, L,R. (1990).Biomarkers of environmental contamination. Lewis publishers Florida.

Mebarki, R., Khebbeb, M.E.H. & Soltani, N. (2015). Biomonitoring of El Mellah Lagoon (Northeast, Algeria): Seasonal Variation of Biomarkers in *Cerastoderma glaucum* (Mollusc, Bivalvia). *JEZS*; 3(4): 408-413.

Melouah, K., Draredja, B. & Beldi, H. (2014). Dynamique de la Coque *Cerastoderma Glaucum* (Mollusca, Bivalvia) Dans La Lagune Mellah (Algérie Nord-Est). *Revue Synthèse, Univ. Annaba. Rev. Sci. Technol., Synthèse*. 28: 34-45.

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.

Monod, G., Devaux, A., Riviéré, J.(1988). Effects of chemical pollution on the activities of hepatic xenobiotics metabolizing enzymes in fish from the river Rhone. **73**:189-201.

N

Nicholls, C. I., Altieri, M. A., Dezanet, A., Lana, M., Feistauer, D., & Ouriques, M. (2004). A rapid, farmer-friendly agroecological method to estimate soil quality and crop health in vineyard systems. *Biodynamics*, 33-39.

O

ONDPA. (2005). Étude portant sur la connaissance des biomasses des lacs de la wilaya d'El-Tarf et établissement des règles de gestion halieutiques spécifique. Expertises et rapport pour le compte du ministère de pêche et ressources halieutiques. Tome 1 et 2. 420 p.

Onivogui, G., Balde, S., Bangoura, K., & 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.

P

Pener, M.P., Dhadialla, T.S. (2012). An Overview of Insect Growth Disruptors; Applied Aspect. *Adv Insect Physiol*. **43**. ISBN 978-0-12-391500-9.

Pineda, J. E., Goodman, A. A., Arce, H. G., Caselli, P., Longmore, S., & Corder, S. (2011). Expanded Very Large Array observations of the Barnard 5 star-forming core: embedded filaments revealed. *The Astrophysical Journal Letters*, 739(1), L2.

Poupin, J., Juncker, M. (2010). A guide to the decapod crustaceans of the South Pacific/Guide des crustacés décapodes du Pacifique Sud .

R

Regnault-Roger, C., Fabres, G., & Philogène, B. J. R. (2005). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*.

Retima, A. (1999). Incidences des échanges hydrologiques, chimiques, biochimiques et phytoplanctoniques sur la fertilité de la lagune Mellah et du littoral voisin (El Kala, Algérie) selon le régime de marée dix ans après l'aménagement du chenal de communication. Mémoire de Magister en Ecologie. Université d'Annaba. 87 p.

Robillard,S .,Beaucham ,G .,Laulier ,M.(2003).The role of abiotic factors and pesticide levels on enzymatic activity in the freshwater mussel *Anodonta cygnea* at three different exposure sites, 135:49-59.

Rodríguez ,N ., McLaughlin ,M & Pennock ,D. (2018) . Soils pollution a hidden reality ,Rome.

S

Sánchez-Bayo, F., & Goka, K. (2006). Ecological effects of the insecticide imidacloprid and a pollutant from antidandruff shampoo in experimental rice fields. *Environmental toxicology and chemistry*, 25(6), 1677-1687.

Siblet , J.-Ph .(2008). Impact de la pollution lumineuse sur la biodiversité. Synthèse bibliographique. N°2.

Simon , N., & Bruneau ,E. (2014). Néonicotinoïdes et fipronil L'environnement en péril, n°161.

Simon, E. (2012). Étude des mécanismes de mobilité des hydrocarbures aromatiques polycycliques contaminants des sédiments fluviaux (Doctoral dissertation, Lille 1).

Singh, A. K., Sarkar, D., Khan, G. G., & Mandal, K. (2013). Unique hydrogenated Ni/NiO core/shell 1D nano-heterostructures with superior electrochemical performance as supercapacitors. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(41), 12759-12767.

Souyei, B. (2015). Calculation of coefficient of sharing Octanol-Water of organic compounds using molecular descriptors. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 2(2): 217-224.

T

Thany ,S,H ., Reynier, P & Lenaers ,G .(2013) . Neurotoxicité des pesticides Quel impact sur les maladies neurodégénératives ? . 29 : 273-8.

- Tiwari, G., Tiwari, R., Sriwastawa, B., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P., & Bannerjee, S. K. (2012).** Drug delivery systems: An updated review. *International journal of pharmaceutical investigation*, 2(1), 2.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2003).** Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual review of entomology*. **48(1)**: 339-364.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005).** Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 247-268.
- Tomizawa, M., (2013).** Target receptors in the control of insect pests: part I. Pages 63–99 *Advances in Insect Physiology*. Elsevier.

v

- Van der Werf, G. R., Randerson, J. T., Giglio, L., Collatz, G. J., Kasibhatla, P. S., & Arellano Jr, A. F. (2006).** Interannual variability in global biomass burning emissions from 1997 to 2004. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 6(11), 3423-3441.
- Van Veld ,P .,Lee ,R.(1988).** Intestinal glutathione S-transferase activity in flounder *Platichthys flesus* collected from contaminated and reference sites.**46**:61-63.

y

- Yamamoto ,I. (1996).** Neonicotinoids - mode of action and selectivity. *Agrochemical Japan*, 68: 1-14.