



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 بوعريريج

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

Etude des effets toxiques d'un insecticide sur la  
morphologie et le comportement du protiste cilié :  
*Paramecium sp*

Présenté par : HAMMOUCHE OUIDED  
CHARIF ASMA

Soutenu le : 14/09/2021

Devant le jury :

Président :	M <sup>r</sup> DIAFAT Abdelouahab	M.C.A	(Univ. Bordj Bou Arreridj)
Encadrant :	M <sup>lle</sup> MOUMENI Ouissem	M.C.B	(Univ. Bordj Bou Arreridj)
Examineur :	M <sup>me</sup> BENRADIA Hamida	M.C.B	(Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2020/2021

# *Remerciements:*

*Tout d'abord, nous tenons à  
remercier Dieu*

*pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la  
volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous remercions Mr. DIAFAT Abdelouahab d'avoir bien  
voulu accepter de présider le présent jury de soutenance.*

*Nous remercions notre directeur de mémoire M<sup>lle</sup> MOUMENI  
Ouisseem, pour sa patience, sa disponibilité, sa confiance et  
pour ses remarques et ses conseils.*

*On veut également remercier M<sup>me</sup> BENRADIA Hamida,  
qui a bien voulu juger et apprécier ce travail*

*Enfin, on est profondément reconnaissantes à toute personne qui nous a  
aidé de près ou de loin, directement ou indirectement durant ce passage.*

# Dédicaces

*Je dédie ce travail à*

*Mes parents, **Cherif et Sabah** qui m'ont soutenu et encouragé durant mes années d'études, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance*

*A mes frères surtout **Walid** : ils m'ont chaleureusement supporté lors de la réalisation de ce travail*

*A ma grande famille, du grand au petit, surtout mon oncle **Sebti**, sa femme **Noura** et mes cousins*

*Mon mari pour sa disponibilité et son soutien moral.*

*A tous mes amis, surtout **Nesrine Benkaddour**, **Dyhia Ould Ali** et **Youssra semara**, **Hammouche Ouided**, qui me donnent de l'amour et de la vivacité*

*A tous mes amis d'enfance*

*A tous ceux que j'aime*

**Asma**

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce modeste mémoire à :*

*Mon très cher père pour tous ses sacrifices, ses efforts et son amour, Merci pour ton sens de l'honneur et de la responsabilité. Que Dieu te préserve et t'accorde longue vie.*

*Ma vie, ma source de bonheur et de la force, Maman je tiens à te remercier pour ton amour, ton soutien, tes sacrifices. Que Dieu te préserve et t'accorde longue vie.*

*Mon beau-frère Riadh et ma belle-sœur Wissem, merci pour avoir été un soutien moral, de m'avoir accompagné et d'avoir été là pour moi.*

*Ma chère cousine et ma sœur de lait INES et ses enfants Ibrahim et Layana je vous aime et que dieu vous protège.*

*Mes grands-parents et toute ma famille*

*Chaima Benmoussa, Imene Dekkiche mes meilleures amies et mes sœurs je vous remercie beaucoup pour les moments qu'on a passé ensemble, et pour votre amour et soutien.*

*Tous mes amis(es) sans exception et surtout ma chère cousine MIMI, Ismahen et Chaima, ma binôme Asma, Sara, Amel, Nina et Youssra et ma promo licence 2018 merci pour votre amour et soutien moral durant ces années.*

*En fin je dédie cet humble travail à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin sans exception, à le réaliser*

*Ouided*

## Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet toxique d'un insecticide de la famille pyréthroïdes (Lambda Cyhalothrine) sur la morphologie et le comportement du protiste cilié *Paramecium sp.*

Dans un premier temps, les résultats obtenus révèlent que la croissance cellulaire des paramécies est sensible à cet insecticide et surtout pour les plus fortes concentrations. La toxicité s'est manifestée par une réduction du nombre et de la vitesse de génération ainsi qu'une augmentation du temps de génération, ce qui montre un effet inhibiteur dose dépendant de cette molécule.

D'autre part, l'étude microscopique a mis en évidence certaines anomalies structurelles et membranaires allant du changement de la forme, l'apparition de bourgeonnements, noircissement du milieu intracellulaire à la lyse totale de la cellule.

Enfin, nous avons noté des changements concernant l'aspect comportemental qui se traduit par une perturbation des mouvements des paramécies qui s'est manifestée par un taux d'évitement élevé avec une réponse dose dépendante et des fluctuations dans les trajectoires de déplacement après l'exposition aux plus fortes concentrations de la Lambda Cyhalothrine.

**Mots clés :** *Paramecium sp.*, Lambda Cyhalothrine, croissance cellulaire, toxicité, comportement, anomalies structurelles et membranaires.

## Abstract

The objective of our work is to study the toxic effect of an insecticide of the pyrethroid family (Lambda Cyhalothrin) on the morphology and behavior of the ciliated protista *Paramecium sp.*

Initially, the results obtained reveal that the cell growth of paramecia is sensitive to this insecticide and especially for the highest concentrations. The toxicity was manifested by a reduction in the number and speed of generation as well as an increase in the generation time, which shows a dose-dependent inhibitory effect of this molecule.

On the other hand, the microscopic study revealed certain structural and membrane anomalies ranging from changes in shape, the appearance of buds, blackening of the intracellular medium to total lysis of the cell.

Finally, we noted changes in the behavioral aspect; resulting in a disturbance of the movements of the paramecia which was manifested by a high and dose-dependent avoidance rate and fluctuations in the movement trajectories after exposure to the highest concentrations of Lambda Cyhalothrin.

**Keywords:** *Paramecium sp.*, Lambda Cyhalothrin, cell growth, toxicity, behavior, structural and membrane anomalies.

## المخلص

الهدف من عملنا هو دراسة التأثير السام لمبيد حشري لعائلة (Lambda Cyhalothrin) pyréthroïdes على شكل وسلوك البروتيست الهديبي *Paramecium sp.* أولاً، أظهرت النتائج أن نمو خلايا paramécie حساس لهذا المبيد وخاصة لأعلى التراكيز. تجلت السمية من خلال تقليل عدد وسرعة التوليد بالإضافة إلى زيادة وقت التوليد، مما يدل على تأثير مثبط يعتمد على الجرعة لهذا الجزيء. من ناحية أخرى، كشفت الدراسة المجهرية عن تشوهات هيكلية وغشائية معينة تتراوح من التغير في الشكل، وظهور البراعم، وسواد الوسط داخل الخلايا إلى التحلل الكلي للخلية. أخيراً، لاحظنا التغييرات في الجانب السلوكي؛ مما أدى إلى حركة مضطربة في paramécie يتجلى في معدل تجنب مرتفع وتعتمد على الجرعة وتقلبات في مسارات الحركة بعد التعرض لأعلى تراكيز ل Lambda Cyhalothrine. الكلمات المفتاحية: *Paramecium sp.*، Lambda Cyhalothrin، نمو الخلايا، السمية، السلوك، التشوهات الهيكلية والغشائية.

## Table des matieres

Remerciements	
Dédicaces	
Résumés	
Liste des abreviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Matériel et méthodes</b> .....	5
1. Matériel biologique .....	5
1.1. Présentation du protozoaire cilié <i>Paramecium</i> .....	5
1.2. Biologie et morphologie .....	5
1.3. Mouvement.....	7
1.4. Reproduction.....	7
1.5. Respiration.....	8
1.6. Alimentation .....	8
1.7. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif.....	8
2. Matériel chimique .....	9
2.1. Caractéristiques physico-chimiques .....	10
2.2. Mécanisme d'action .....	11
2. Méthodes .....	12
2.1. Préparation de la culture des paramécies .....	12
2.2. Traitement des paramécies .....	13
2.3. Paramètres étudiés .....	13
2.3.1. Croissance de la population .....	13
2.3.1.1. Cinétique de croissance cellulaire .....	13
2.3.1.2. Calcul du pourcentage de réponse .....	13
2.3.2. Etude morphologique et comportementale.....	14
2.3.2.1. Détermination du taux de malformations et caractérisation des atteintes structurelles et membranaires .....	14
2.3.2.2. Test d'évitement .....	14
2.3.2.3. Suivi des trajectoires de déplacement .....	15

## Table des matieres

2.4. Etude statistique.....	15
<b>Résultats</b> .....	16
1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la croissance de la population .....	16
1.1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la cinétique de croissance cellulaire de <i>Paramecium sp</i> .....	16
1.2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le nombre, le temps et la vitesse de génération .....	17
1.3. Calcul du pourcentage de réponse .....	18
2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la morphologie de <i>Paramecium sp</i> .....	19
2.1. Taux de malformations induites par l'exposition à la Cyhalothrine .....	19
2.2. Anomalies structurelles et atteintes membranaires .....	20
3. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le comportement de <i>Paramecium sp</i> .....	22
3.1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le pourcentage d'évitement .....	22
3.2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur les trajectoires de déplacement .....	24
<b>Discussion</b> .....	26
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	31
<b>Références bibliographiques</b> .....	32

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**Ca<sup>2+</sup>**: Ion Calcique

**CAT**: Catalase

**CE<sub>50</sub>**: Concentration Effective Moyenne

**CL<sub>50</sub>**: Concentration Létale Moyenne

**div**: Division

**g**: Temps de génération

**GABA**: Gamma-Aminobutyric Acid

**GST**: Gluthation-S-Transférase

**k**: Vitesse de génération

**MDA**: Malondialdéhyde

**n**: Nombre de génération

**NOEC**: No Observation Effect Concentration

**PR**: Pourcentage de réponse

**SOD**: Superoxyde Dismutase

**TM**: Taux de malformations

**μM**: Micro-molaire



## LISTE DES FIGURES

N°	Titres	Pages
<b>01</b>	Structure générale d'une paramécie sous microscope	<b>06</b>
<b>02</b>	Emballage de l'insecticide PHOENIX 5EC (photo personnelle)	<b>09</b>
<b>03</b>	Mécanisme d'action des pyréthrinoides sur les neurones	<b>11</b>
<b>04</b>	Représentation schématique de la lame-test (Well-test apparatus) utilisée pour le test d'évitement	<b>15</b>
<b>05</b>	Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la croissance de <i>Paramecium sp</i> ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>16</b>
<b>06</b>	Evolution du pourcentage de réponse de <i>Paramecium sp</i> en présence des concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>18</b>
<b>07</b>	Taux de malformations enregistré chez les paramécies exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>19</b>
<b>08</b>	Observation microscopique d'une paramécie témoin avec une morphologie normale (grossissement x 100).	<b>20</b>
<b>09</b>	Malformations observées chez <i>Paramecium sp</i> après exposition à la Lambda Cyhalothrine (grossissement x 100).	<b>21</b>
<b>10</b>	Pourcentages d'évitement enregistrés après 15 minutes d'exposition aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>23</b>
<b>11</b>	Pourcentages d'évitement enregistrés toutes les 3 minutes pour les différentes concentrations de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>23</b>
<b>12</b>	Trajectoires des paramécies témoins observées en absence (A) et en présence (B) d'obstacles.	<b>24</b>
<b>13</b>	Trajectoires enregistrées chez les paramécies exposées aux concentrations (1, 1.5 et 2 mg/L) de la Lambda Cyhalothrine.	<b>25</b>

--	--	--

## LISTE DES TABLEAUX

<b>N°</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>I</b>	Caractéristiques physicochimiques de la Lambda Cyhalothrine	<b>10</b>
<b>II</b>	Composition et préparation du milieu de culture	<b>12</b>
<b>III</b>	Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le nombre (n), le temps (g) et la vitesse de génération(k) chez une population de <i>Paramecium sp</i> après 96 h de traitement ( $m \pm SD$ , n =3).	<b>17</b>





# **INTRODUCTION**

Les écosystèmes naturels, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, présentent un intérêt écologique majeur, et constituent la base du développement socio-économique humain (**Jian et al., 2007**). Cependant, depuis la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, l'environnement a été soumis à la pression croissante des activités humaines dont les effets se sont fait rapidement sentir. Le fort développement de la technologie et l'important essor industriel ont donné de nouvelles dimensions aux risques de la pollution et aujourd'hui le nombre de populations exposées aux contaminants environnementaux ne cesse d'augmenter. En effet, le nombre de nouveaux produits chimiques synthétisés qui viennent s'ajouter chaque année aux plus de 2 millions de substances déjà répertoriées et plus de 100 000 substances commercialisées, se retrouvent tous dans l'environnement à la fin de leur cycle de vie (**Murati, 2012**).

Parmi les multiples composés chimiques impliqués dans la contamination des écosystèmes naturels, les pesticides constituent, de nos jours, une source importante de préoccupation environnementale. Depuis la révolution verte qui a débuté dans les années 60, les pesticides font partie intégrante du système agricole. Ils sont devenus le principal moyen de lutte contre les organismes nuisibles. Cependant, leur utilisation abusive a entraîné une contamination considérable des écosystèmes, ce qui pose de sérieux problèmes environnementaux et de santé publique. On estime que 2,5 millions de tonnes de pesticides sont appliqués chaque année sur les cultures de la planète. Seulement, 0,3 % de ces produits entrent en contact avec les organismes indésirables cibles, ce qui veut dire que 99,7% des substances déversées s'en vont «ailleurs». (**Bourbia Ait Hamlet, 2013**).

Une partie importante de ces pesticides est dispersée dans l'atmosphère, soit lors de leur application, soit par évaporation ou par envol à partir des plantes ou des sols, sur lesquels ils ont été appliqués. Dispersés par le vent et parfois loin de leur lieu d'épandage, ils retombent avec les pluies directement sur les plans d'eau et sur les sols d'où ils sont ensuite drainés jusqu'aux milieux aquatique par les eaux de pluie, ce qui présentent une réelle menace de la biodiversité et l'équilibre des écosystèmes aquatiques (**Frenske et al., 2002 ; Chevalier, 2014**). Le plus souvent, les effets néfastes sur les organismes aquatiques se traduisent par une surmortalité ou des perturbations comportementales qui modifieront leurs capacités physiologiques, ce qui revient, finalement, à une diminution sensible des effectifs jusqu'à la disparition complète de certaines espèces sensibles (**Harrison, 2001 ; Sindermann, 2006**).

Parmi les pesticides, les insecticides représentent 45% du marché suivis des fongicides (40%) et des herbicides (15%). Les insecticides de première génération et les organochlorés, malgré une toxicité aiguë faible chez l'humain, sont des substances très stables et bioaccumulables dans l'environnement. C'est pourquoi ils ont été interdits au cours des années 1970. Les organophosphorés sont à l'inverse très toxiques (neurotoxique), moins bioaccumulables et peu rémanents dans l'environnement. À la suite de la reconnaissance de l'impact sanitaire et environnemental de ces deux familles chimiques, ont émergé dans les années 1970-1980, les pyréthriinoïdes de synthèse basés sur la structure des pyrèthres naturels. Les pyréthriinoïdes constituent aujourd'hui la famille d'insecticides la plus utilisée, tant en usage agricole que domestique (**Fréry et al., 2013**). Ils sont ainsi présents dans notre environnement quotidien comme principes actifs de spécialités anti-poux ou de médicaments vétérinaires et comme matières actives d'insecticides ménagers, produits de jardinage ou encore xyloprotecteurs (**Bouvier et al., 2005**).

Peu persistants dans l'environnement, les pyréthriinoïdes ont longtemps été considérés comme peu toxiques (**Bradberry et al., 2005**). Cependant, des études *in vitro* attestent le contraire. En effet, la majorité des études soutenant l'inoffensivité des pyréthriinoïdes datent des premières périodes de leur homologation (**Crossland, 1982 ; Ronco et al., 2008 ; Saha et al., 2008 ; Slaninova et al., 2009 ; Zhang et al., 2009**). Cette controverse soulève de nombreuses interrogations quant à la réelle toxicité de ces substances chez les différents organismes vivants (**Amamra, 2015**).

Les pyréthriinoïdes sont considérés comme neurotoxiques. Ils agissent principalement sur le système nerveux des insectes cibles (**Field et al., 2017**) par la modification de la transmission sélective des canaux sodiques voltages dépendants (**Kadala et al., 2014**). Cela mène à un état d'hyperexcitabilité cellulaire (**Sinha et al., 2006**). La perturbation des canaux sodiques voltage-dépendants provoque ainsi la dépolarisation des membranes nerveuses (**Wang, 2003**). Par ailleurs, les mécanismes neurotoxiques de ces molécules ne sont toujours pas parfaitement établis étant donné leur complexité et leur affinité envers de multiples cibles cellulaires. De plus, l'emploi généralisé de ces insecticides photostables et l'étendue de leur spectre d'action ont fait naître de sérieuses craintes quant à leur impact sur l'équilibre et l'intégrité des écosystèmes (**He et al., 2008 ; Amamra, 2015**).

La surveillance de la qualité des écosystèmes repose en grande partie sur l'évaluation de l'impact toxicologique des polluants grâce à des méthodes simples et fiables (**Bouraoui et al., 2009**). Aujourd'hui, deux approches complémentaires sont utilisées: les biomarqueurs et les bioindicateurs (**Valavanidis et al., 2006**). Les biomarqueurs sont des paramètres biologiques observables à un niveau inférieur à celui de l'organisme entier et qui permettent d'obtenir des informations quant au degré d'exposition présent ou passé et à l'effet d'un contaminant sur un organisme (**Key et al., 2006**). Il peut s'agir de paramètres génétiques, enzymatiques, physiologiques, morphologiques, moléculaires, cellulaires, ou encore biochimiques (**Kaiser, 2001; Markert et al., 2003**). Les biomarqueurs ont été largement utilisés dans le cadre des programmes de surveillance de la qualité de l'environnement (**McCarthy & Shugart, 1990 ; Peakall, 1992**) ; leur utilisation permettrait vraisemblablement une évaluation réaliste et fiable des effets des polluants sur les écosystèmes (**Lagadic et al., 1997**).

L'étude des effets induits par les polluants chimiques repose également sur l'utilisation d'organismes reflétant l'état de santé des écosystèmes. Le rôle principal de ces organismes bio indicateurs est de fournir une réponse précoce à des effets délétères sur les systèmes biologiques (**Lam et Gray, 2003**). Cependant l'utilisation d'un organisme dans les tests d'écotoxicologie pour l'évaluation de la qualité de l'environnement suppose qu'il réponde à certains critères : (1) la pertinence écologique (2) la sensibilité aux contaminants (3) la facilité de manipulation au laboratoire (4) la description détaillée de sa taxonomie (5) la durée du cycle de reproduction (qui doit être courte) et (6) le potentiel de développer des bio marqueurs (**Lagadic et al., 1997**).

Les protozoaires aquatiques et plus particulièrement les ciliés sont très largement utilisés comme modèle d'étude pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes aquatiques, compte tenu notamment de leur large distribution géographique, leur intérêt écologique comme maillons clés des chaînes trophiques ainsi que leur sensibilité à une large gamme de toxiques. Il convient de souligner, également, que ces espèces sont des cellules hautement organisées sur lesquelles on peut aisément travailler, tout en permettant de comprendre les mécanismes d'actions des toxiques à différents niveaux d'organisation de la cellule. De plus, leur valeur est toute aussi importante sur le plan de la recherche scientifique car plusieurs problèmes biologiques sont beaucoup plus faciles à étudier sur des cellules isolées plutôt que sur des organismes pluricellulaires (**Amamra, 2015 ; Azzouz, 2012**).

## *Introduction*

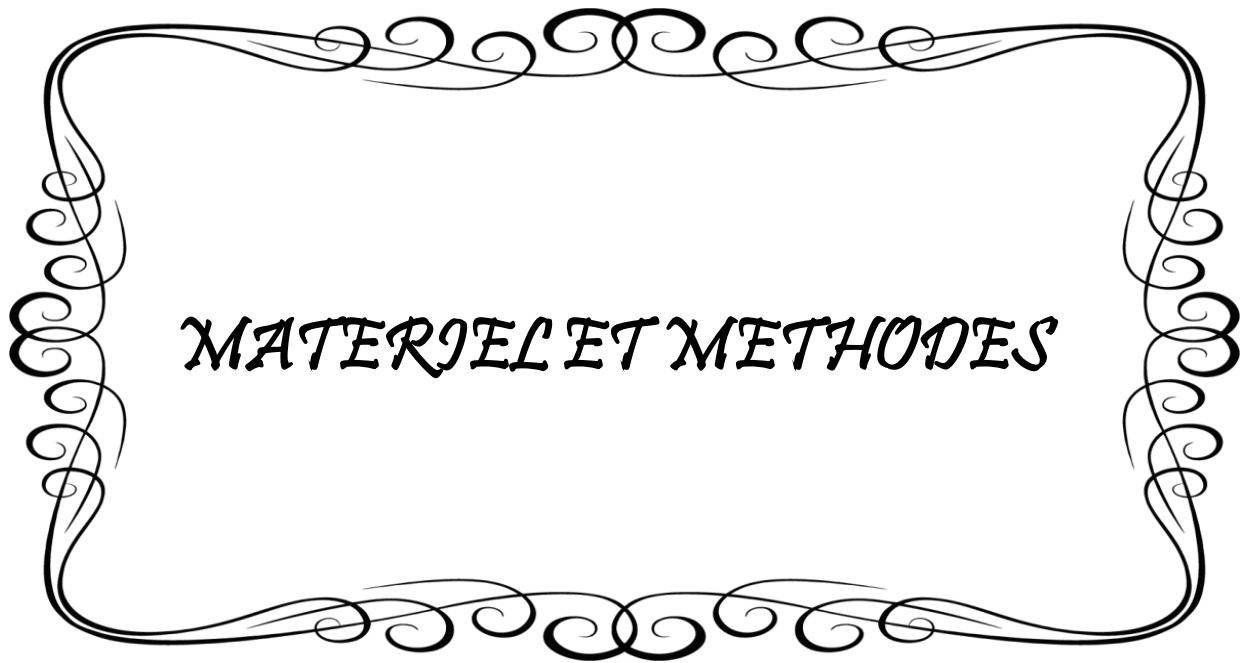
---

Toutes ces observations nous ont incité à mener notre expérimentation sur l'espèce *Paramecium sp*, qui se révèle être un modèle d'étude de choix.

Dans ce contexte, le présent travail vise à évaluer les effets d'un insecticide de la famille des pyréthrinoides commercialisés et fréquemment utilisés par les agriculteurs qu'est la Lambda Cyhalothrine sur un modèle cellulaire alternatif « *Paramecium sp* ».

Le premier objectif fixé dans notre étude est la mise en évidence d'un éventuel effet sur la croissance de la population, indice de la bonne santé d'un écosystème, tant les espèces sont strictement déterminantes et dépendantes des relations les liant les unes aux autres ainsi qu'à leur environnement. Ensuite, nous nous sommes posés la question suivante : Si la paramécie est dépourvue de canaux sodiques voltage dépendants, cible principale des pyréthrinoides, est-il possible que son action chez cette espèce soit régie par les canaux calciques voltage dépendants ? Afin de répondre à cette question nous avons réalisé une étude comportementale et morphologique portant sur le mouvement et les altérations structurelles étant donné l'étroite relation entre la concentration en ions calciques, l'activité motrice et le maintien de l'homéostasie et l'intégrité cellulaire.





**MATERIELE ET METHODES**

### **1. Matériel biologique :**

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est le protiste cilié : *Paramecium sp.*

#### **1.1. Présentation du protozoaire cilié *Paramecium* :**

*Paramecium* est l'un des plus répandus et populaires modèles en protozoologie expérimentale (Fokin, 1997). Selon Beale et Preer (2008), les paramécies comptent parmi les premiers organismes unicellulaires ayant été observé au microscope. De forme allongée, leur corps est uniformément couvert de cils. En effet, leurs dimensions selon les espèces, sont comprises entre 70 et 350  $\mu\text{m}$ . Le genre *Paramecium* inclut environ 15 espèces, actuellement enregistrées, mais moins de 10 peuvent être considérées comme vrai *Paramecium*. Ces micro-organismes unicellulaires sont courants dans les eaux douces et stagnantes.

La systématique actuelle du genre *Paramecium* d'après Corliss, 2016 (Faurean, 1970) peut être établie comme suit :

**Phylum :** Protozoa

**Subphylum :** Ciliophora

**Classe :** Ciliate

**Sous-classe :** Holotrichia

**Ordre :** Hymenostolatida

**Sous-ordre :** Peniculina

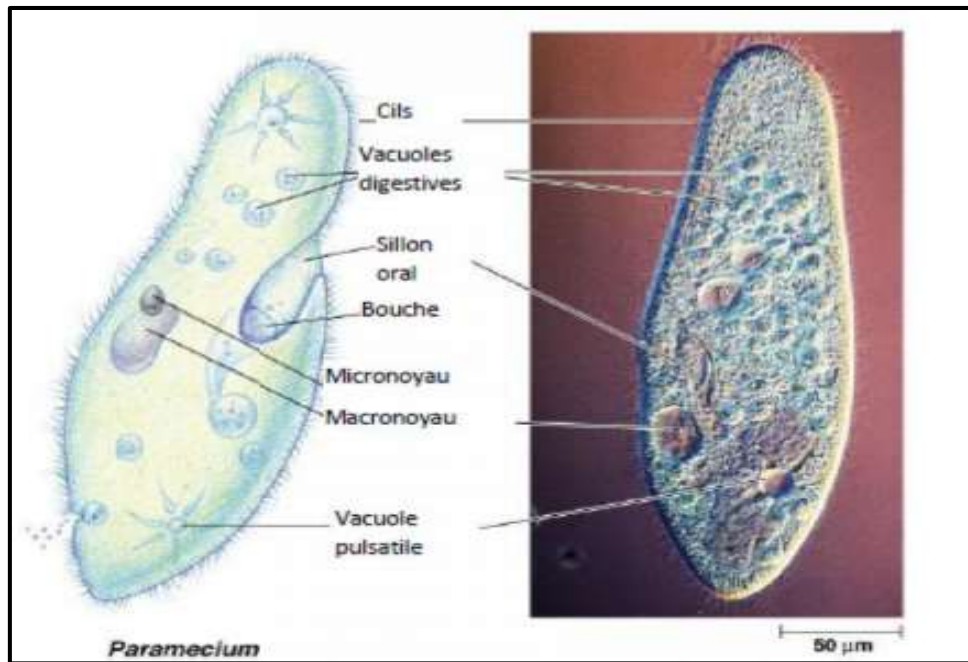
**Famille :** Parameciidae

**Genre :** *Paramecium*

#### **1.2. Biologie et morphologie :**

La paramécie est une cellule fusiforme, quatre fois plus longue que large et enflée dans sa partie moyenne. Les deux extrémités d'une paramécie sont morphologiquement distinctes, l'extrémité antérieure est émoussée, arrondie alors que l'extrémité postérieure a la forme d'un cône (Beaumont et Cassier, 1998).

Le cortex de la paramécie est composé d'unités corticales répétées longitudinalement le long de la surface plusieurs milliers de fois. Une seule unité corticale consiste à un cil. Ainsi, la paramécie comporte au niveau cortical plus de 4000 cils (**Beale et Preer, 2008**).



**Figure 01** : Structure générale d'une paramécie sous microscope (**Génoscope, 2007**).

Comme tous les ciliés, la paramécie possède un macronoyau (un gros noyau qui est indispensable à la survie de la cellule et assure toutes ses fonctions végétatives), deux ou plusieurs micronoyaux (qui assurent les fonctions sexuelles indispensables pour engendrer des variations génétiques). Son cytoplasme limité par une mince cuticule présente une zone périphérique hyaline et visqueuse. Cette cuticule résistante, souple et élastique, limite l'amplitude des déformations du corps de la paramécie. Après toute déformation, grâce à la présence de cette différenciation superficielle, le corps de la paramécie reprend sa forme initiale (**Beaumont et Cassier, 1998**).

La paramécie présente des fonctions cellulaires diverses au même titre que les métazoaires. En effet, elle possède un système de transport vésiculaire jouant un rôle analogue au système digestif. Sur le côté de la cellule notée « ventrale », est situé l'œsophage, dans lequel la nourriture (bactéries, levures, etc) est véhiculée par des cils spéciaux. Au bas de l'œsophage, la nourriture est concentrée dans des vacuoles digestives où elle est dégradée par les enzymes qu'elles contiennent. Les résidus non digérés seront déchargés dans le milieu extérieur par un

pore anal appelé cytoprocte (anus cellulaire). Afin d'éliminer les déchets liquides et de maintenir la pression osmotique, les paramécies sont également pourvues de deux vacuoles pulsatiles qui se produisent sur la surface dorsale. Ces vacuoles se situent sur le premier et le dernier quart de l'organisme et vident leur contenu liquide à l'extérieur par l'intermédiaire des pores excrétoires (**Wichtermen, 1985 ; Beale et Preer, 2008 ; Bengueddach, 2016**) (**Figure 01**).

### **1.3. Mouvement :**

La locomotion des paramécies est assurée par les battements rapides et rythmiques des cils vibratiles. Ces ciliés peuvent diriger les battements de leurs cils pour se déplacer en avant ou en arrière dans un mouvement spiralé (**Cohen, 2007**).

### **1.4. Reproduction :**

- **Reproduction asexuée (fission binaire) :** Les paramécies se multiplient principalement par voie asexuée : division binaire transversale. Cette division débute par celle de l'appareil nucléaire : les micronucleus subissent une mitose et le macronucleus s'étire, s'étrangle et se divise simplement en deux micronucleus fils. Ensuite les organites se dupliquent puis le cytoplasme s'étrangle et les deux cellules filles se séparent. Ce rythme de division est rapide et se reproduit généralement deux à trois fois par jour pour un individu (**Dragesco, 1980 ; Purves et al., 2000**).
- **Conjugaison :** Il existe aussi une multiplication sexuée appelée conjugaison qui se produit après un assez long temps d'élevage en culture. Deux individus s'unissent dans la région du péristome, les cils tombent et les cytoplasmes entrent en communication (**Purves et al., 2000**).

### **1.5. Respiration :**

Les paramécies sont avides d'oxygène, leur respiration se fait par des échanges gazeux avec l'environnement exclusivement par la surface corporelle car présentant un rapport surface / volume donc surface / masse corporelle élevée (**Wehner et Gehring, 1995**).

### **1.6. Alimentation :**

L'alimentation des paramécies est assurée par une cavité buccale prolongée vers l'arrière : le vestibule. Elles se nourrissent des organismes comme les bactéries et autres protozoaires. (Samworth et Morgan, 2000).

- **Ingestion des aliments** : La bouche forme un entonnoir allongé qui s'enfonce dans le cytoplasme. Cet entonnoir est pourvu de cils spéciaux qui produisent un courant d'eau entraînant les proies (débris de végétaux, bactéries, algues unicellulaires) dans le fond de la cavité buccale (péristome). Il se forme ensuite, autour des particules, une vacuole digestive (Samworth et Morgan, 2000).
- **Digestion** : Les aliments sont digérés au niveau des vacuoles digestives, et les produits de la digestion sont absorbés par le cytoplasme (Samworth et Morgan, 2000).
- **Excrétion** : Les éléments indigestibles sont ensuite rejetés vers l'extérieur par le cytoprocte (pore anal) (Beale et Preer, 2008). Les paramécies éliminent leurs déchets azotés sous forme d'ammoniac par diffusion. Cette élimination est facilitée par les mouvements internes du cytoplasme (Samworth et Morgan, 2000).

### **1.7. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif :**

Plusieurs caractéristiques et avantages font des paramécies un excellent modèle d'étude et un outil précieux pour la détection et l'évaluation des perturbations environnementales (Madoni et Romeo, 2006 ; Amaroli, 2010) :

- Leur large distribution géographique, leur abondance et leur facilité d'identification (Bennett et Cabbage, 1992, Marchese et Brinkhurst, 1996) ;
- Leur facilité de culture et de manipulation en laboratoire ainsi que leur multiplication rapide (cycle de vie court) (Taylor et al., 1991 ; Kamola, 1995).
- Elles jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce (Kosmala et al., 1999).
- Il est possible d'étudier les effets aigus et chroniques des toxiques et éventuellement leur bioaccumulation (Chapman, 2001).
- Leur mobilité grâce à des cils possédant la même structure que ceux des cellules épithéliales respiratoires des mammifères (Gräf et Stahr, 1999), d'autant plus que les

battements ciliaires chez les mammifères sont parfaitement comparables à ceux de la paramécie, *Tetrahymena*,...etc, (Berrebbah, 1990).

- Elles permettent l'étude des mécanismes d'action des xénobiotiques à différents niveaux d'organisation de la cellule (échelles cellulaire, subcellulaire et moléculaire) (Rouabhi et al., 2006).
- Leur sensibilité en tant que cellules eucaryotes et leur organisation exposent leurs récepteurs à l'environnement externe, les faisant réagir parfaitement à des stimuli environnementaux (Venkateswara et al., 2006).

### 2. Matériel chimique :

Dans cette étude, notre choix s'est porté sur un insecticide de la famille chimique des pyréthriinoïdes de type II, la **Lambda Cyhalothrine**, commercialisée sous l'appellation « **PHOENIX® 5 EC** » (Figure 02). Sa structure chimique est représentée dans le **tableau (I)**. Cet insecticide est largement utilisé en raison de sa grande capacité à combattre de façon immédiate et efficace contre divers insectes nuisibles dans l'agriculture et contre nombreux vecteurs de maladies infectieuses pour l'homme, à l'instar des moustiques (Schenone et al. 1992).

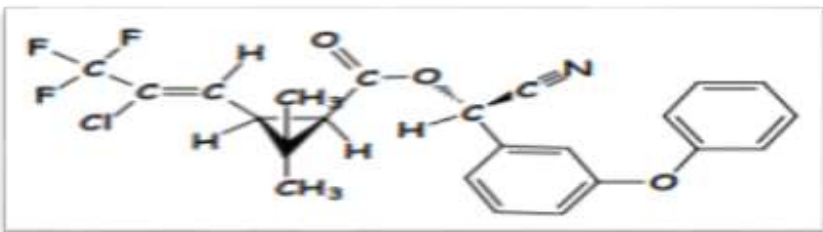


**Figure 02** : Emballage de l'insecticide « PHOENIX® 5 EC » (photo personnelle).

**2.1. Caractéristiques physico-chimiques :**

Les caractéristiques physicochimiques de la Lambda Cyhalothrine sont regroupées dans le **tableau (I)** :

**Tableau I :** Caractéristiques physicochimiques de la Lambda Cyhalothrine (Source : fiche technique).

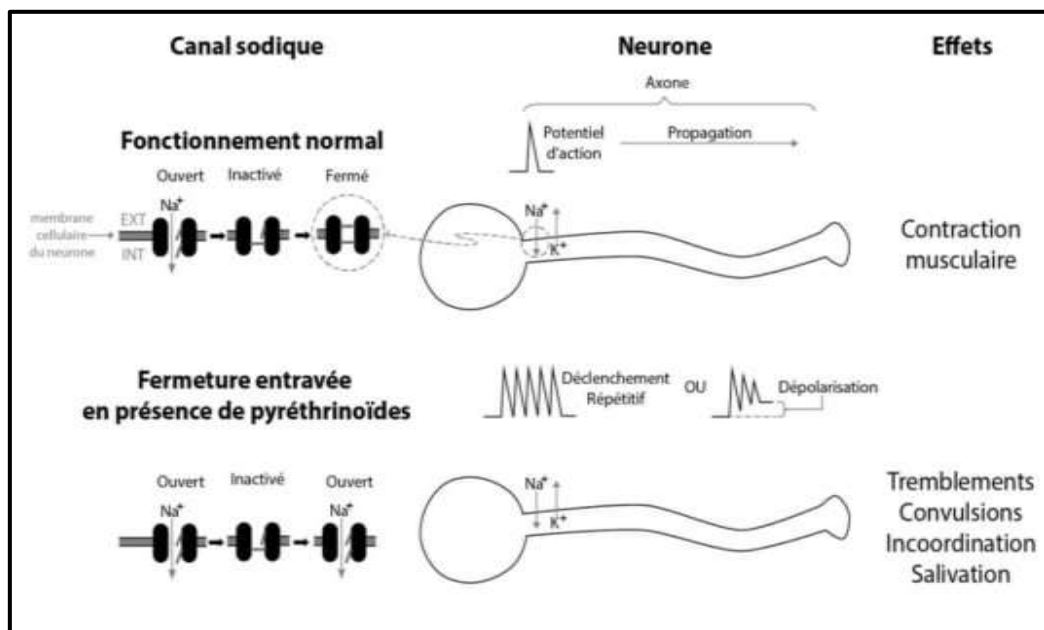
<b>Nom commercial</b>	<b>PHOENIX® 5 EC</b>
<b>Nom chimique</b>	cyclopropanecarboxylate de 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propényl)-2,2-diméthyl-cyano(3-phénoxyphényl)méthyle
<b>Formule moléculaire</b>	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>3</sub>
<b>Masse molaire</b>	449.9 mg/mol
<b>Structure chimique</b>	 <p>The image shows the chemical structure of Lambda Cyhalothrine. It consists of a cyclopropane ring substituted with two methyl groups and a propenyl chain. The propenyl chain is further substituted with a chlorine atom and three fluorine atoms. The cyclopropane ring is linked via an ester bond to a methylene group, which is in turn linked to a cyano group and a 3-phenoxyphenyl group.</p>
<b>Formulation commerciale</b>	Concentré Emulsionnable (EC)
<b>Couleur</b>	blanc cassé
<b>Odeur</b>	Typique des solvants pétroliers aromatiques
<b>Température de décomposition</b>	275°C
<b>Point de fusion</b>	49.2°C
<b>Densité à 20°C</b>	1.3 g/cm <sup>3</sup>
<b>Solubilité dans l'eau</b>	Peu soluble dans l'eau (4.10 <sup>-3</sup> à 20°C)
<b>Pression de vapeur à 20°C</b>	< 0.001
<b>Données éco-toxicologiques</b>	<p><b>Chez des organismes d'eau douce :</b></p> <p>* <b>CE<sub>50</sub> (48 h):</b> Crustacés: - <i>Daphnia magna</i> (0.051 µg/L)                      - <i>Gammarus pulex</i> (0.0068 µg/L)</p>

	<p>* <b>CL<sub>50</sub> (96h)</b>: Poisson (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) (0.19 µg/L)</p> <p>* <b>NOEC (96 h)</b>: Micro-algue (<i>Selenastrum capricornutum</i>) (310 µg/L) (US-EPA, 2011).</p>
--	--

**2.2. Mécanisme d'action :**

Les pyréthrinoides tels que la Lambda Cyhalothrine sont dits neurotoxiques parce qu'ils interfèrent avec la propagation des signaux neuronaux. Leur action réside dans l'inhibition de la fermeture des canaux sodiques voltage dépendants de la membrane des cellules nerveuses. En les maintenant ouverts, ils déclenchent ainsi une série d'influx électriques causant une dépolarisation, ce qui a pour conséquence la perturbation du fonctionnement normal du système nerveux. Ceci engendre différents symptômes comme des tremblements, des mouvements involontaires, la salivation, la paralysie et la mort éventuelle (**Figure 03**) (Li-Ming *et al.*, 2008).

Ces composés sont également connus pour leur action sur d'autres canaux et récepteurs, comme, les canaux calciques, les canaux chlorures et les récepteurs GABA. Par ailleurs, certaines études suggèrent que les pyréthrinoides ou leurs métabolites pourraient aussi agir en tant que génotoxiques ou perturbateurs endocriniens (Lawerence et Casida, 1983 ; Davies *et al.*, 2007 ).



**Figure 03 :** Mécanisme d'action des pyréthrinoides sur les neurones (Catterall, 2000).



### 2. Méthodes :

#### 2.1. Préparation de la culture des paramécies :

La méthode utilisée est celle de **Beaumont et cassier (1998)**. Elle comprend :

##### - Une culture mixte :

Du foin est coupé en petits morceaux et infusé dans un récipient contenant de l'eau de robinet. La préparation est laissée dans un endroit tiède, sombre et aéré. Après 4 à 5 jours, un voile bactérien apparaît sur la solution. On filtre l'infusion et on observe sous microscope optique, les premiers ciliés et flagellés. Cette culture va nous servir à isoler des paramécies à l'aide d'une pipette pasteur sous microscope afin de réaliser une culture pure. Chaque cellule isolée séparément du filtrat est récupérée dans un tube eppendorf contenant 1 ml de milieu de culture (pH=6.5) (**voir tableau II**) et laissée incuber dans une étuve à une température de  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ .

##### - Une culture pure :

Pour suivre pendant plusieurs semaines la descendance d'une paramécie ou pour obtenir un grand nombre de ces protozoaires, il est nécessaire de réaliser des repiquages périodiques, tous les trois jours. Cela permet de maintenir une bonne culture et le caractère jeune de la population (**Wichterman, 1953**). Le milieu de culture est préparé selon la méthode d'**Azzouz et al. (2011)**, dont la composition est détaillée dans le **tableau (II)**.

**Tableau II** : Composition et préparation du milieu de culture (**Azzouz et al., 2011**).

Composants	Foin	Laitue	Blé	Pomme de terre	Peau de concombre	Levure	Amande
Quantité (g)	7.5	10	7.5	5	5	Pincée	2
Préparation	La mixture est bouillie dans 1,5 litre d'eau distillée pendant 20 minutes. La préparation est filtrée, stérilisée par ébullition dans un flacon thermorésistant semi ouvert puis conservée à l'abri de la lumière.						

### 2.2. Traitement des paramécies :

Sur la base de plusieurs essais préliminaires effectués avec différentes batteries de concentrations PHOENIX® 5 EC, nous avons retenu quatre concentrations, à savoir : 0.5, 1, 1.5 et 2 mg/L. Les tests sont réalisés dans des tubes à essai contenant 10 ml de milieu de culture dilué (30% de milieu de culture et 70% d'eau distillée) auxquels sont ajoutées environ 20 paramécies. Trois répétitions sont maintenues pour chaque concentration en plus du témoin.

### 2.3. Paramètres étudiés :

#### 2.3.1. Croissance de la population :

##### 2.3.1.1. Cinétique de croissance cellulaire :

La cinétique de croissance des paramécies est réalisée par comptage cellulaire journalier (toutes les 24 heures) après fixation au lugol à 1%. L'opération est effectuée sous microscope optique au grossissement x 40 (Azzouz, 2012). La cinétique de croissance commence dès la mise en contact des paramécies avec le xénobiotique et se poursuit jusqu'au cinquième jour. Le dénombrement est répété au moins cinq fois pour chaque tube. L'évaluation de la croissance de la population est déterminée par les équations suivantes :

$$n = \log N_t - \log N_0 / \log 2$$

$$k \text{ (div/h)} = n/t$$

$$g \text{ (h)} = 1/k$$

Où : • **n**: Nombre de génération, **N<sub>t</sub>** : Population dans le temps **t**, **N<sub>0</sub>** : Nombre initial de cellules ;

• **k**: Vitesse de la génération ;

• **g**: Temps de génération (temps nécessaire pour qu'une population de cellules double en nombre).

##### 2.3.1.2. Calcul du pourcentage de réponse :

C'est un calcul qui évalue la réponse du protiste vis-à-vis de la molécule testée. Les valeurs positives indiquent une inhibition de la croissance alors que celles négatives indiquent une stimulation de la croissance (Wong et al., 1999) .

Cette relation dose-réponse est calculée par l'équation suivante :

$$\text{PR (\%)} = (\text{Nc} - \text{Ne}) / \text{Nc} * 100$$

Où : • **PR** : Pourcentage de réponse ;

- **Nc** : Nombre de cellules témoins ;
- **Ne** : Nombre de cellules traitées.

### 2.3.2. Etude morphologique et comportementale :

#### 2.3.2.1. Détermination du taux de malformations et caractérisation des atteintes structurales et membranaires :

Le taux de malformations engendrées suite à l'exposition aux concentrations croissantes de l'insecticide est estimé par le dénombrement sous microscope de cellules présentant des anomalies structurales et/ou membranaires.

Le calcul du taux de malformations est effectué selon l'équation suivante :

$$\text{TM (\%)} = \text{Nm} / \text{Nt} \times 100$$

Où : • **TM** : Taux de malformations ;

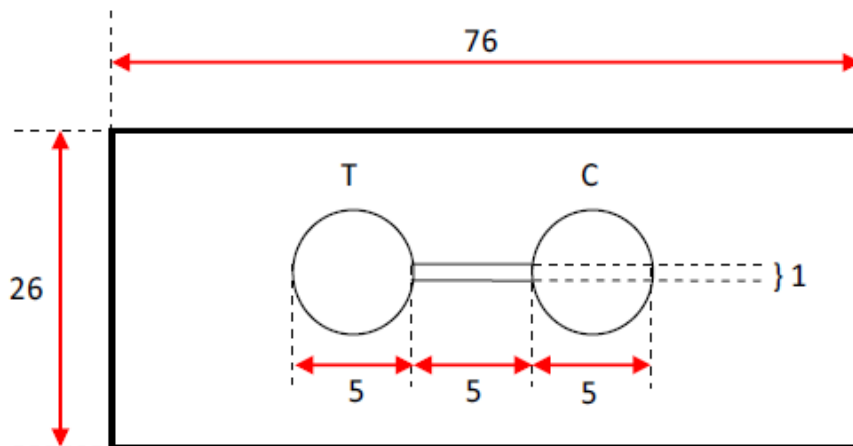
- **Nm** : Nombre de cellules malformées ;
- **Nt** : Nombre total de cellules dans l'échantillon.

Les différents types de malformations sont observés sous microscope au grossissement (x 100) et pris en photos durant les cinq jours de traitement.

#### 2.3.2.2. Test d'évitement :

Pour étudier l'influence de Lambda Cyhalothrine sur le comportement d'évitement, nous avons suivi la méthode décrite par **Azzouz (2012)** adaptée à partir de la méthode de **Takiguchi et al., (2002)** qui consiste en l'utilisation d'une lame creusée de deux puits de 5 mm de diamètre reliés par un fin canal d'une largeur de 1 mm (**Figure 04**).

La méthode décrite par **Azzouz (2012)** repose sur l'introduction d'environ 50 paramécies dans un puits en contact avec la molécule à tester pendant 15 min et le comptage toutes les 3 minutes du nombre de paramécies ayant quitté le premier puits qui contient le xénobiotique vers le deuxième qui ne contient que de l'eau distillée.



**Figure 04 :** Représentation schématique de la lame-test (Well-test apparatus) utilisée pour le test d'évitement (**Takiguchi et al., 2002**)

(Les mensurations sont exprimées en mm).

### 2.3.2.3. Suivi des trajectoires de déplacement :

Afin de déterminer l'influence de la Lambda Cyhalothrine sur le mouvement de déplacement des paramécies, nous avons procédé à l'étude de leurs trajectoires en présence et en absence de la molécule à tester en réalisant un enregistrement vidéo des déplacements. Après enregistrement, les vidéos sont analysées par le logiciel (Kinovea 0.8.15), qui permet le traçage des trajectoires de déplacement des paramécies.

### 2.4. Etude statistique :

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab (Version 14.0). Une analyse de la variance à un critère (concentration) et à deux critères de classification (concentration, temps) a été effectuée en utilisant le test ANOVA. Les moyennes des groupes témoins et traités ont été comparées deux à deux en utilisant le test  $t$  de Student. Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $p \leq 0,05$  (\*); hautement significatives lorsque  $p \leq 0,01$  (\*\*); et très hautement significatives lorsque  $p \leq 0,001$  (\*\*\*)



**RESULTATS**

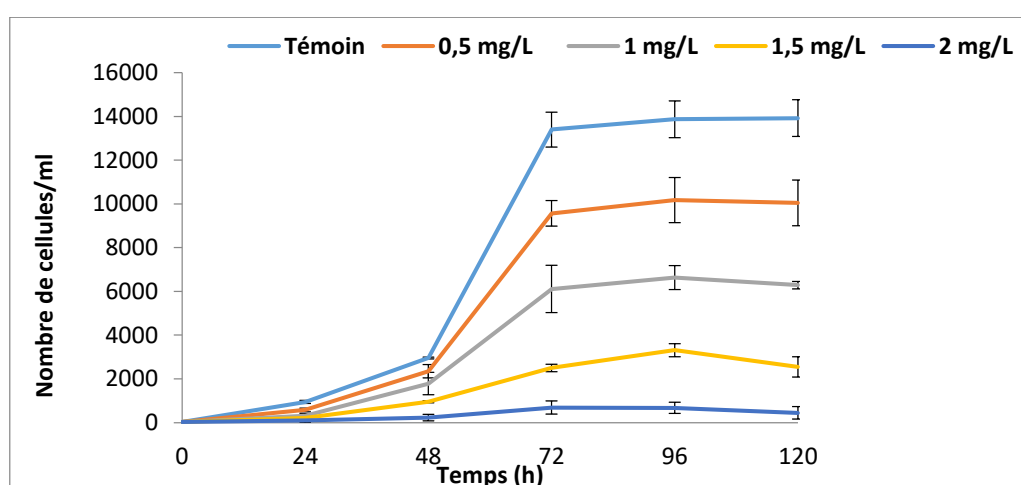
## 1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la croissance de la population :

### 1.1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la cinétique de croissance cellulaire de *Paramecium sp* :

La **figure (05)** ci-dessous représente l'effet, en fonction du temps, des concentrations croissantes de La Lambda Cyhalothrine sur la cinétique de croissance de *Paramecium sp*.

Nos résultats montrent une cinétique de croissance normale chez les cellules témoins, avec une phase exponentielle commençant à partir du deuxième jour et atteignant son pic au troisième jour où nous enregistrons un nombre maximal de cellules qui est de l'ordre de 14260 paramécies/ml. Parallèlement, nous constatons une diminution dose-dépendante du nombre de cellules traitées par rapport à celles témoins dès les 24 premières heures d'exposition à la Lambda Cyhalothrine. Cette inhibition de la croissance cellulaire n'est significative qu'à partir du 3<sup>ème</sup> jour, et persiste jusqu'à la fin du traitement (120h). En effet, au 5<sup>ème</sup> jour, le nombre de cellules témoins est d'environ 13920 paramécies/ml, et diminue de manière très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) chez les traitées par les concentrations 0,5, 1, 1,5 et 2 mg/L, pour atteindre respectivement, des valeurs d'environ 10041, 6286, 2549 et 446 paramécies/ml.

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet temps et un effet concentrations très hautement significatifs ( $P \leq 0,001$ ), et un effet interaction temps / concentrations non significatif ( $p > 0,05$ ).



**Figure 05 :** Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la croissance de *Paramecium sp* ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

### 1.2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le nombre, le temps et la vitesse de génération :

Les résultats relatifs au nombre, au temps et à la vitesse de génération des paramécies exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine sont regroupés dans le tableau ci-après :

**Tableau III :** Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le nombre (n), le temps (g) et la vitesse de génération (k) chez une population de *Paramecium sp* après 96 h de traitement ( $m \pm SD$ ,  $n=3$ ).

Concentration (mg/L)	Nombre de génération	Temps de génération (h)	Vitesse de génération (div/h)
Témoin	9.115 $\pm$ 0.106	10.532 $\pm$ 0.123	0.094 $\pm$ 0.001
0.5	8.665 $\pm$ 0.146 *	11.080 $\pm$ 0.187 *	0.090 $\pm$ 0.001 *
1	8.049 $\pm$ 0.121 ***	11.927 $\pm$ 0.181 **	0.083 $\pm$ 0.001 ***
1.5	7.047 $\pm$ 0.134 ***	13.624 $\pm$ 0.260 **	0.0734 $\pm$ 0.001 ***
2	4.667 $\pm$ 0.605 ***	20.811 $\pm$ 2.838 **	0.048 $\pm$ 0.006 ***

Nous constatons un ralentissement de la division cellulaire des paramécies en présence de la Lambda Cyhalothrine traduisant une inhibition de la croissance de la population. En effet, nous notons une diminution du nombre et de la vitesse de génération chez les paramécies traitées par rapport à celles témoins. Cette diminution est inversement proportionnelle aux concentrations croissantes de l'insecticide. Elle est significative ( $p \leq 0.05$ ) pour la concentration 0.5 mg/L, et très hautement significative pour les concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L ( $p \leq 0.001$ ). Ainsi, le nombre de génération n'est respectivement que de 8.049, 7.047 et 4.667 chez les paramécies traitées par les concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L, comparé à celui des témoins qui est estimé à 9.115. Concernant la vitesse de génération, la valeur enregistrée chez les témoins est de l'ordre de 0.094 divisions/h ce qui correspond à 2.25 divisions/jour, alors qu'elle n'est respectivement que de 0.0734, 0.0734 et 0.048 divisions/h pour les concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L, ce qui correspond en moyenne à une seule division/jour.

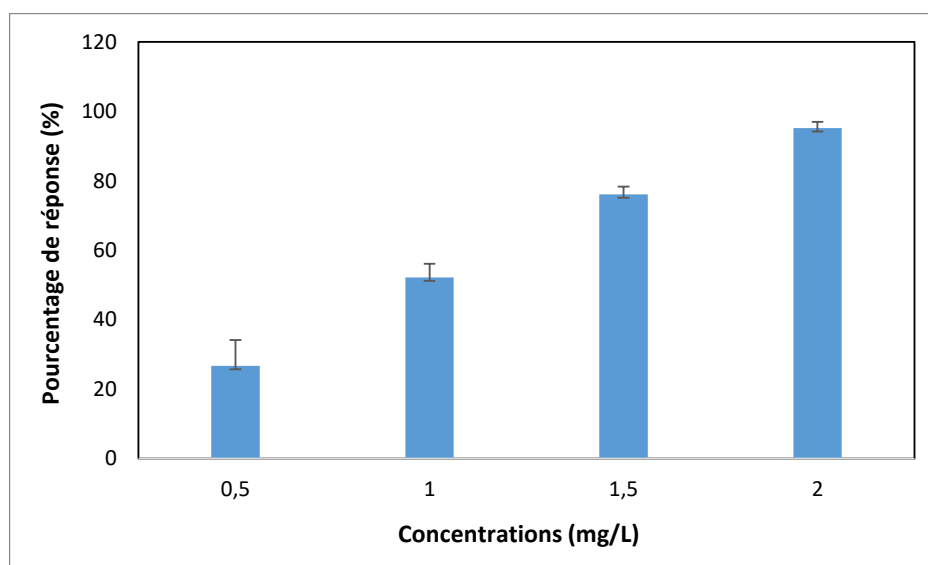
Parallèlement, nos résultats mettent en évidence une augmentation dose dépendante et significative du temps de génération chez les paramécies traitées par rapport à celles témoins. En effet, le temps de génération passe de 10h chez les paramécies témoins à environ 21h chez celles traitées par la plus forte concentration.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet concentrations très hautement significatif ( $p \leq 0.001$ ) pour l'ensemble des paramètres étudiés (temps, nombre et vitesse de génération).

### 1.3. Calcul du pourcentage de réponse :

La **figure (06)** montre l'évolution du pourcentage de réponse chez les paramécies traitées par les concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine.

Nous constatons que le pourcentage de réponse est positif pour toutes les concentrations testées, indiquant une inhibition dose-dépendante de la croissance chez les cellules traitées par la Lambda Cyhalothrine. En effet, cette inhibition est de l'ordre d'environ 26.7 et 52% pour les concentrations (0.5 et 1 mg/L), et atteint environ 76 et 95% chez les paramécies traitées par les deux plus fortes concentrations (1.5 et 2 mg/L), respectivement.



**Figure 06 :** Evolution du pourcentage de réponse de *Paramecium sp* en présence des concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).



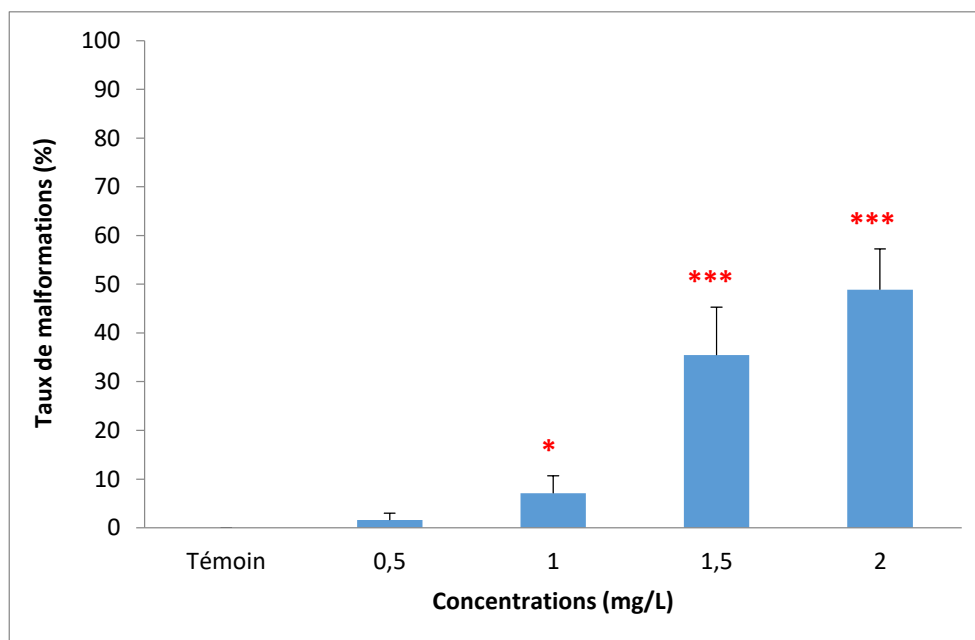
### 2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur la morphologie de *Paramecium sp* :

#### 2.1. Taux de malformations induites par l'exposition à la Cyhalothrine :

La variation du taux de malformations observées chez les paramécies exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine est représentée dans la **figure (07)**.

Nous constatons que le taux de malformations tend à augmenter de manière dose-dépendante et proportionnelle aux concentrations croissantes du xénobiotique. Cette augmentation est significative ( $p \leq 0.05$ ) pour la concentration 1.5 mg/L, avec un taux de malformations d'environ 8%, et très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez les paramécies traitées par les deux plus fortes concentrations (1.5 et 2 mg/L), et ce par rapport aux témoins, où nous enregistrons des taux variant respectivement de 35 à presque 49% de malformations.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet concentrations très hautement significatif ( $p \leq 0.001$ ).



**Figure 07 :** Taux de malformations enregistré chez les paramécies exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

**2.2. Anomalies structurelles et atteintes membranaires :**



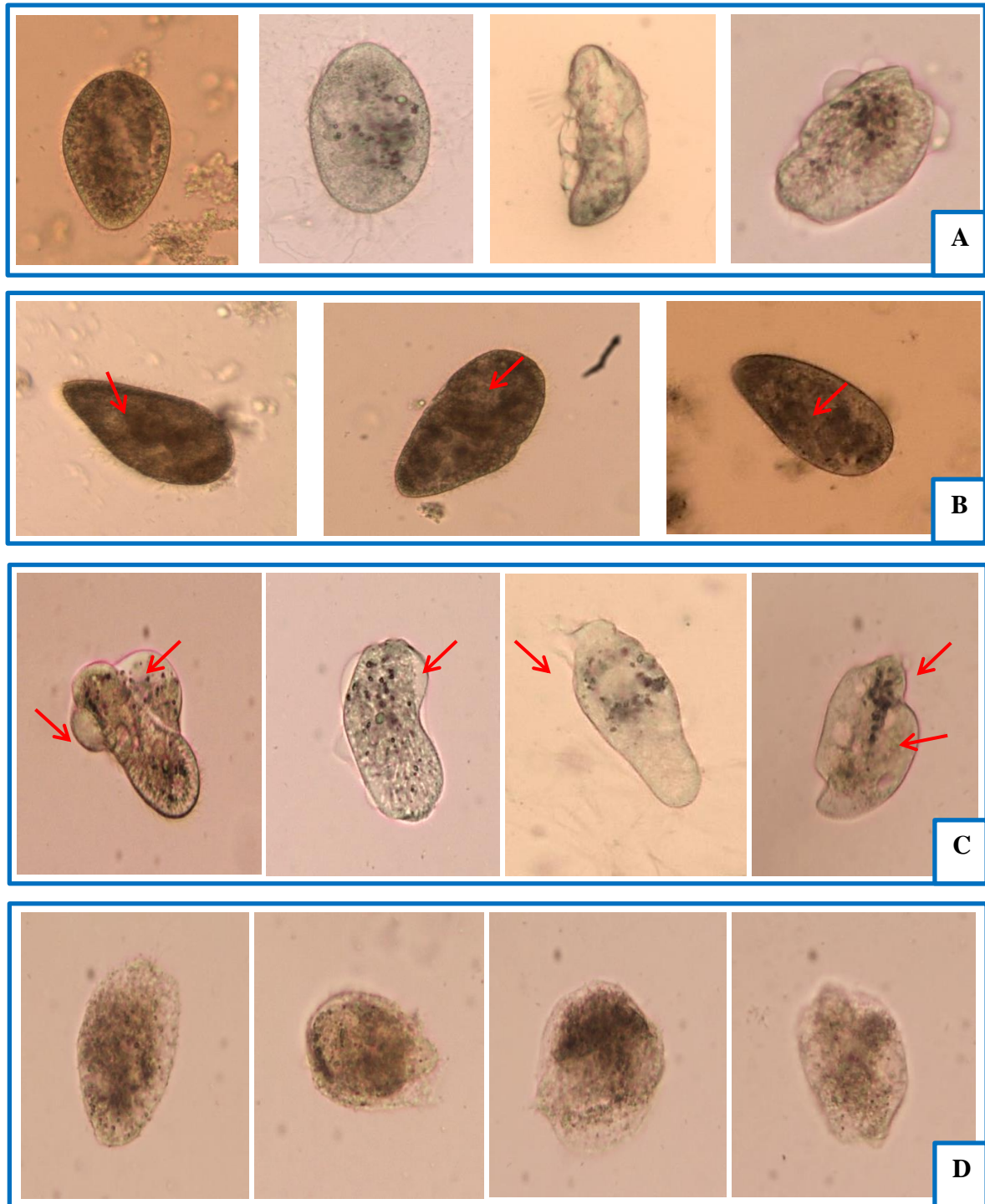
**Figure 08:** Observation microscopique d'une paramécie témoin avec une morphologie normale (grossissement x 100).

La **figure (09)** illustre les malformations relevées chez *Paramecium sp* après exposition aux différentes concentrations (0.5, 1, 1.5, et 2) de la Lambda Cyhalothrine.

Contrairement aux cellules témoins qui présentent des formes normales, symétriques et bien allongées (**Figure 08**), l'observation microscopique des paramécies exposées à la Lambda Cyhalothrine met en évidence l'apparition de certaines anomalies structurelles et membranaires. Ces malformations sont principalement caractérisées par un rétrécissement de la taille et des gonflements cellulaires avec des formes quasi sphériques, ainsi que des asymétries morphologiques (**Figure 09 A**).

D'après la **figure (09 B)** nous constatons également un noircissement et une condensation du cytoplasme suite à une diffusion du contenu des organites intracellulaires.

Nos résultats montrent aussi la formation de petites vésicules et de bourgeonnements apparaissant autour de la membrane cellulaire des paramécies traitées, suivie de l'apparition de perforations et de ruptures membranaires et la libération du contenu cellulaire dans le milieu externe (**Figure 09 C**). Les atteintes membranaires se manifestent chez certaines paramécies par une désintégration complète de la membrane conduisant à une mort cellulaire (**Figure 09 D**).



**Figure 09:** Malformations observées chez *Paramecium sp* après exposition aux différentes concentrations (0.5, 1, 1.5 et 2 mg/L) de la Lambda Cyhalothrine (grossissement x 100). Anomalies de forme (A), noircissement et condensation du cytoplasme (B), formation de bourgeonnements, apparition de ruptures membranaires et libération du contenu cellulaire (C), désintégration membranaire et mort cellulaire (D).

### 3. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le comportement de *Paramecium sp* :

#### 3.1. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur le pourcentage d'évitement :

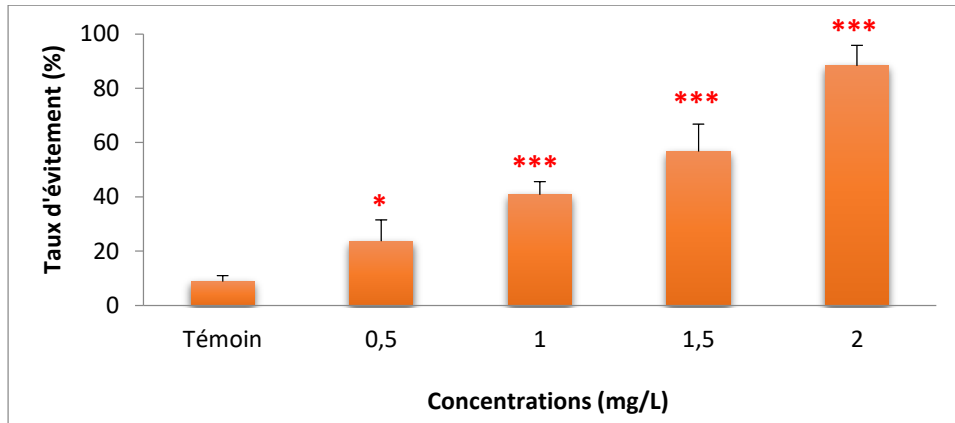
La **figure (10)** représente l'évolution du pourcentage d'évitement chez les paramécies exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine.

Nous notons une augmentation dose-dépendante de ce paramètre chez les cellules exposées aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine, comparativement aux témoins. Cette augmentation est significative ( $p \leq 0.05$ ) pour la concentration 0.5 mg/L et très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) pour les concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L. En effet, le taux d'évitement est estimé à 23.7% chez les paramécies traitées par la concentration 0.5 mg/L et atteint environ 24, 41 et 88% chez celles traitées par les concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L, respectivement, alors que chez les cellules témoins, ce taux ne dépasse pas 9%.

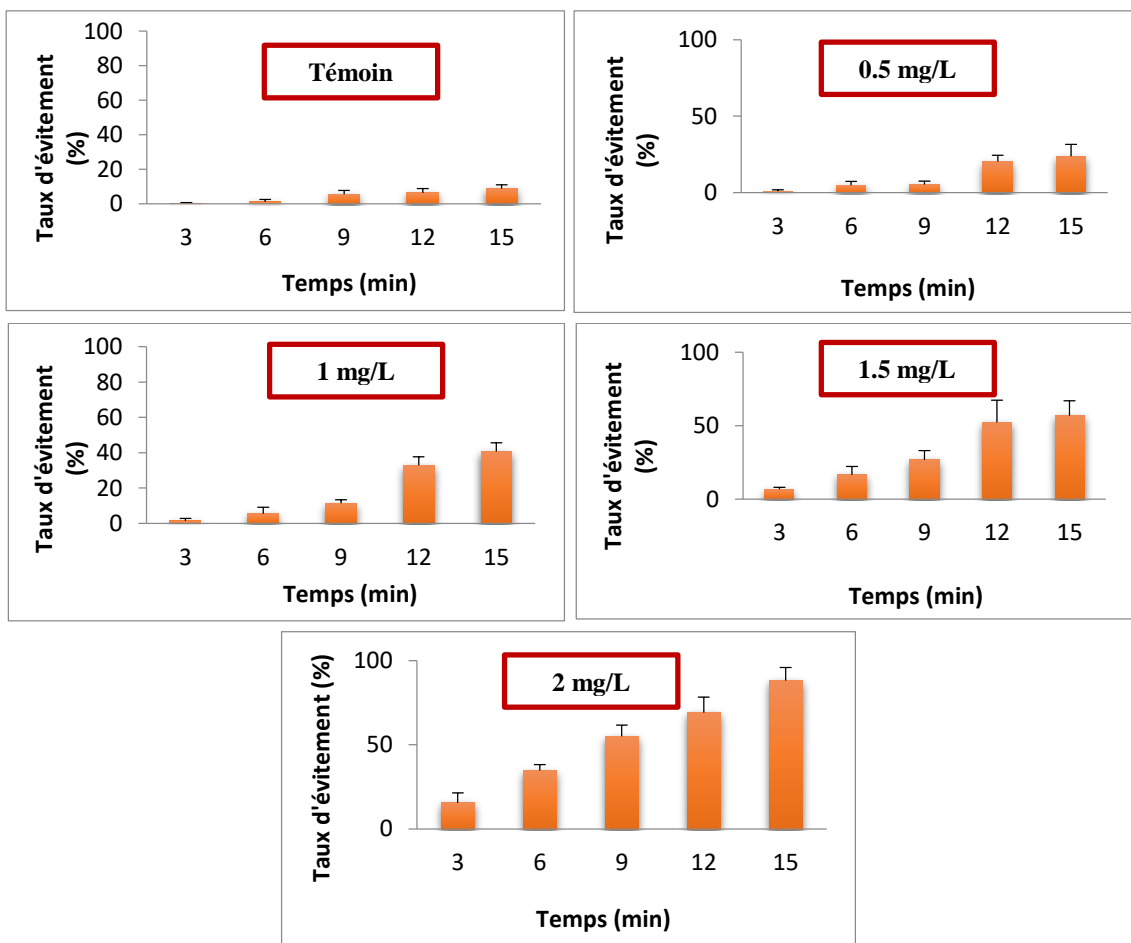
L'analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet concentration très hautement significatif ( $p \leq 0.001$ ).

D'autre part, le suivi du comportement d'évitement toutes les 3 minutes montre une augmentation de la sensibilité des paramécies aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine en fonction du temps, à travers un accroissement dose dépendant du pourcentage d'évitement apparaissant à partir de la sixième minute de l'expérience chez les cellules traitées par les concentrations 0.5 et 1 mg/L. Par contre, chez les paramécies exposées aux plus fortes concentrations (1.5 et 2 mg/L), ce comportement d'évitement se manifeste dès les trois premières minutes de l'expérience et s'accroît en fonction du temps (**Figure 11**).

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle un effet temps très hautement significatif ( $p \leq 0.001$ ).



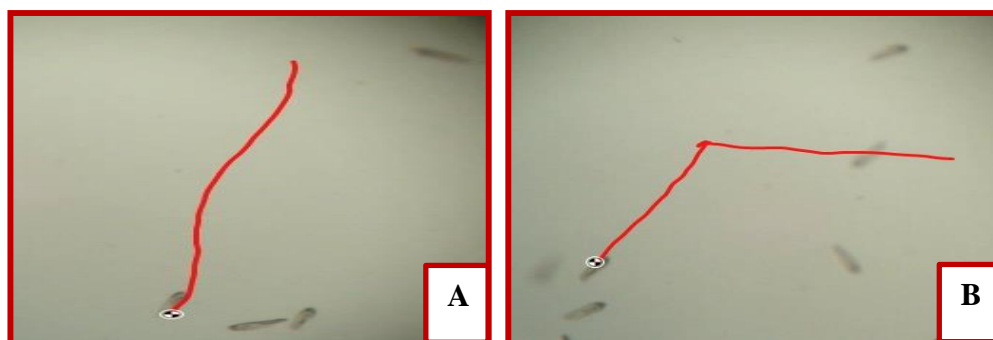
**Figure 10 :** Pourcentages d'évitement enregistrés après 15 minutes d'exposition aux concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).



**Figure 11 :** Pourcentages d'évitement enregistrés toutes les 3 minutes pour les différentes concentrations de la Lambda Cyhalothrine ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

### 3.2. Effet de la Lambda Cyhalothrine sur les trajectoires de déplacement :

La **figure (12)** représente la trajectoire des paramécies témoins observée en absence (**A**) et en présence (**B**) d'obstacles.



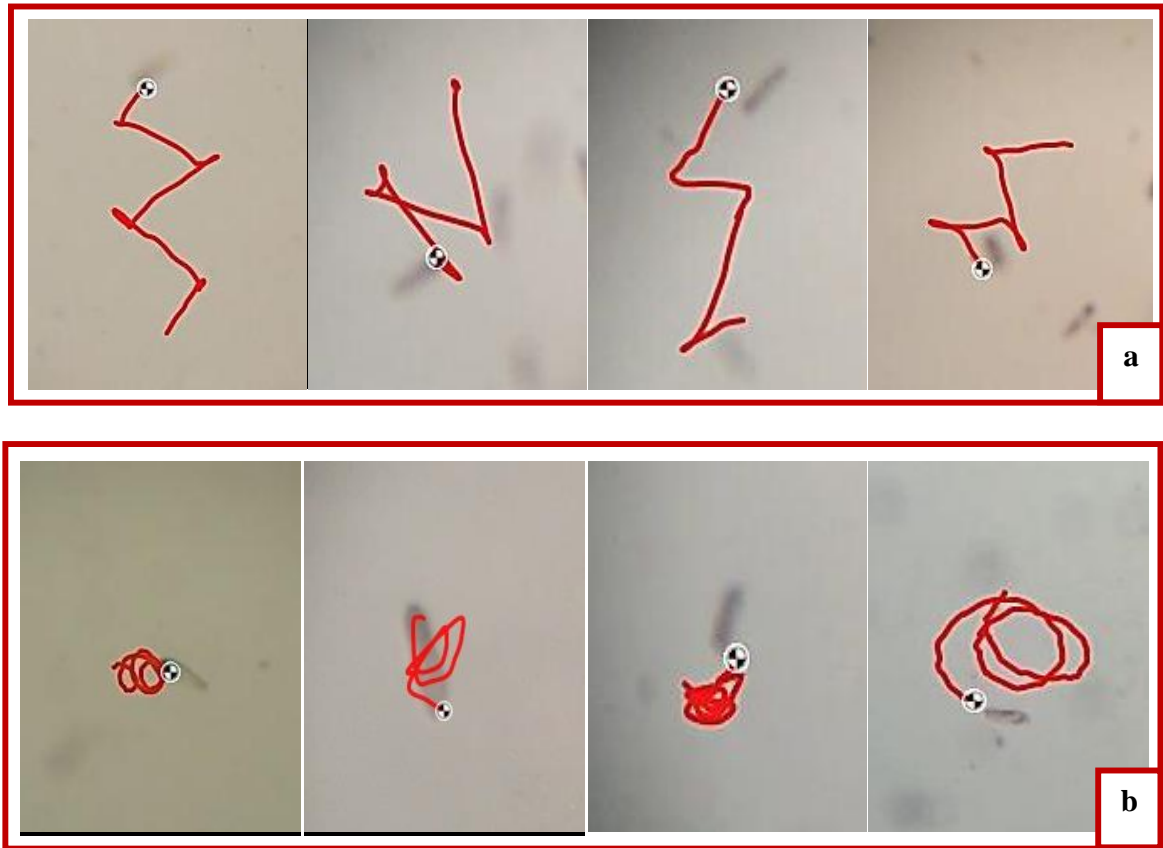
**Figure 12 :** Trajectoires des paramécies témoins observées en absence (**A**) et en présence (**B**) d'obstacles.

Dans le cas normal et en absence d'un obstacle, nous constatons que les paramécies ont une trajectoire d'apparence ondulatoire mais en réalité elle est hélicoïdale autour d'un axe longitudinal. Ce mouvement est assuré par l'action des vagues successives créées par les battements ciliaires du corps (**Figure 12 A**). Au contact d'un obstacle, les cellules se heurtent à celui-ci, et par une inversion du sens des battements ciliaires elles reculent puis pivotent et nagent rapidement dans une nouvelle direction afin de l'éviter (**Figure 12 B**).

Les différentes trajectoires observées chez les paramécies exposées aux concentrations 1, 1.5 et 2 mg/L de la Lambda Cyhalothrine sont illustrées dans la **figure (13)**.

L'observation microscopique des paramécies traitées révèle d'importantes fluctuations dans les trajectoires de déplacement avec un ralentissement marqué des mouvements. Ces perturbations se manifestent par une perte de la linéarité des trajectoires se traduisant chez certaines paramécies par des mouvements en zigzag et des changements brutaux de direction accompagnés d'une nage en arrière (backward swimming) (**Figure 13 a**). Chez d'autres, nous observons plutôt des mouvements circulaires avec une rotation sur place (**Figure 13 b**).

Il convient de signaler qu'aucune perturbation comportementale n'a été observée chez les paramécies exposées à la concentration 0.5 mg/L.



**Figure 13** : Trajectoires enregistrées chez les paramécies exposées aux concentrations (1, 1.5 et 2 mg/L) de la Lambda Cyhalothrine.

(a) : Mouvements en zigzag et changements brutaux de directions, (b) : Mouvements circulaires et rotation sur place.





Le problème de la contamination de l'environnement, et plus particulièrement, des milieux aquatiques suite à l'utilisation des pesticides ne peut être négligé (**Khan, 2006**). En effet, l'application intensive et incontrôlée de ces composés est à l'origine de graves problèmes environnementaux. Par ailleurs, l'estimation de leurs effets sur les écosystèmes s'avère difficile, car il existe un millier de familles de pesticides de base, soit des dizaines de milliers de pesticides combinés disponibles sur le marché. Ils sont en outre utilisés à de faibles doses et leurs comportements sont très divers. Leur impact dépend à la fois de leur mode d'action, de leur persistance dans le temps et de leurs sous-produits de dégradation lesquels sont parfois plus toxiques et se dégradent moins vite que le composé initial (**Azzouz, 2012**).

Actuellement, les pyréthrinoides tels que la Lambda Cyhalothrine sont fréquemment utilisés dans l'agriculture (**El-Demerdash, 2011**). Ces dérivés de pyréthrinés naturels ont émergé comme étant le groupe d'insecticides de choix garantissant à la fois un large éventail d'action, une meilleure efficacité et une faible toxicité. Cependant, plusieurs investigations révèlent leur effets toxiques graves sur des organismes non cibles présentant des degrés de sensibilité beaucoup plus importants (**Giray et al., 2001 ; Livinstone, 2001 ; Amamra, 2015**).

Plusieurs espèces biologiques sont utilisées dans les programmes de biosurveillance de la qualité environnementale. Ces espèces sentinelles doivent être sélectionnées sur la base de leur pertinence vis-à-vis des types de biomarqueurs choisis ainsi que leur praticité expérimentale (**Suter, 2005**). En raison de leurs caractéristiques générales, les paramécies sont considérées comme d'excellents bioindicateurs de la qualité des écosystèmes d'eau douce. Ce sont des organismes abondants, faciles à manipuler et sensibles aux perturbations extérieures affectant leur milieu de vie. De plus, l'avantage majeur de ces protozoaires est le fait qu'ils possèdent des systèmes biologiques comparables à ceux des organismes supérieurs. Leurs réponses vis-à-vis des produits toxiques peuvent alors être similaires à celles des organismes pluricellulaires (**Fent et al., 2006**). Soumis à un stress, ces micro-organismes présentent généralement une grande variété de perturbations aux niveaux physiologique, morphologique et/ou comportemental (**Weis et al., 2001**).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail visant à évaluer les effets toxiques de la Lambda Cyhalothrine sur la croissance cellulaire, la morphologie et le comportement de *Paramecium sp.*

Dans un premier temps, nous nous sommes focalisés sur les effets de l'insecticide sur la croissance de la population, considérée comme étant un phénomène de grand intérêt biologique qui reflète l'état du métabolisme cellulaire chez les micro-organismes (**Perez-Rama et al., 2001**). Nos résultats montrent une diminution dose dépendante et significative de la croissance cellulaire de *Paramecium sp* en présence de la Lambda Cyhalothrine et ce en fonction du temps, avec des pourcentages de réponse positifs pour toutes les concentrations testées. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Yangora et al. (2010)** et **Amamra (2015)** qui ont mis en évidence une inhibition de la croissance cellulaire chez le genre *Paramecium* suite à une exposition à la Cyperméthrine. Les mêmes constatations ont été signalées par **Venkateswara (2006)** et **Benbouzid (2012)**, chez ce même cilié après exposition à d'autres insecticides (les Phosphoramidates et l'Acéphate). En effet, la présence de molécules toxiques en concentrations élevées pourrait être à l'origine d'une altération de l'intégrité cellulaire des paramécies, ce qui a pour conséquence une forte réduction du taux de survie. Cela se traduit au niveau de la population par une baisse du nombre de cellules (**Miyoshi et al., 2003 ; Mountassif et al., 2007 ; Mortuza et al., 2010 ; Amamra, 2015**). Ces effets inhibiteurs de la Lambda Cyhalothrine, rapportés dans notre travail, pourraient être dus à sa nature lipophile, elle est donc susceptible de pénétrer à l'intérieur de la cellule où elle peut s'accumuler et générer des processus cytotoxiques en perturbant l'orientation des phospholipides et en provoquant une altération de la fluidité membranaire conduisant inévitablement à une mort cellulaire (**Benbouzid, 2012 ; Amamra, 2015**). Les études de **Li et al. (2009)** qui se sont intéressées à l'évaluation de la toxicité aiguë (24h) de la Lambda Cyhalothrine chez la même espèce ont pareillement mis en évidence un effet cytotoxique qui s'accroît avec l'augmentation de la concentration de l'insecticide. Les travaux de **Cheriat (2015)** concernant l'effet de la Nifedipine sur *Saccharomyces cerevisiae* montrent également une inhibition de la croissance cellulaire. L'auteur explique ce résultat par la possibilité de l'interférence de la molécule avec les canaux calciques, responsables de la prolifération cellulaire.

D'autre part, la cytotoxicité de l'insecticide testé s'est traduite à l'échelle de la population par une diminution du nombre de génération, un ralentissement de la vitesse de génération et une augmentation du temps de génération, ce qui suggère que la prolifération et le métabolisme cellulaire ont été significativement affectés (**Yoshiaki, 2003; Cheriat et al., 2013**). Des résultats similaires ont été obtenus par **Benbouzid (2012)** qui a démontré que le Phosphoramidate (PA-B)

testé à des doses de 2, 4 et 8  $\mu\text{M}$  a affecté le nombre et le temps de génération de la population des paramécies après 24h d'exposition.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'étude des atteintes membranaires et structurales étant donné leur intérêt comme outils privilégiés permettant de mieux comprendre les effets toxiques des xénobiotiques. Ainsi, l'observation microscopique des paramécies traitées par la Lambda Cyhalothrine a permis de mettre en évidence une altération de la forme cellulaire avec une condensation du cytoplasme et l'apparition de bourgeonnements et de lésions au niveau de la membrane plasmique. Ces atteintes membranaires se manifestent chez certaines paramécies par une désintégration complète de la membrane conduisant à la mort cellulaire. Ces résultats sont en accord avec ceux publiés par **Venkateswara et al. (2006 ; 2008)**, ou encore **Azzouz et al. (2015)** qui ont signalé l'apparition d'anomalies morphologiques chez *Paramecium caudatum* et *Paramecium tetraurelia* suite à une exposition à l'Acéphate (insecticide organophosphoré) et l'Amistar Xtra (fongicide), respectivement. Les mêmes observations ont été également enregistrées par **Djekoun (2016)** concernant l'effet du Tebuconazole (fongicide) sur la morphologie de *Paramecium sp.* **Friedl et Wolf (2003)**, **Shalom et Bergmann (2004)** et **Golam et al. (2005)** supposent que ces dommages structuraux sont exclusivement attribuables à l'altération de l'interaction cytosquelette-membrane qui contribue à l'édification et à la stabilisation de la morphologie cellulaire, ce qui se traduit par l'apparition d'anomalies morphologiques suite à la formation de bourgeonnements au niveau membranaire aboutissant à la destruction et la mort cellulaire. D'après **Harris (1990)**, la formation de vésicules chez *Paramecium* est irréversible et résulte du détachement de la membrane plasmique de la couche d'actine corticale. Ainsi, le détachement des vésicules est susceptible d'engendrer une détérioration de la membrane plasmique conduisant à une désintégration cellulaire. Tous ces phénomènes ont été mis en évidence dans notre travail, ce qui témoigne de la forte toxicité de la Lambda Cyhalothrine pour les micro-organismes d'eau douce. Il convient également de préciser, comme déjà évoqué plus haut, que les pyréthrinoides sont des composés lipophiles capables de pénétrer dans le milieu intracellulaire, de perturber l'organisation et l'orientation des phospholipides et de provoquer des changements dans la fluidité membranaire.

Par ailleurs, nos observations relatives aux dommages intracellulaires qui se manifestent par le noircissement et la condensation du cytoplasme sont en accord avec les travaux de **Venkateswara et al. (2006 ; 2008)** et **Hussain et al. (2008)**, portant respectivement sur l'effet

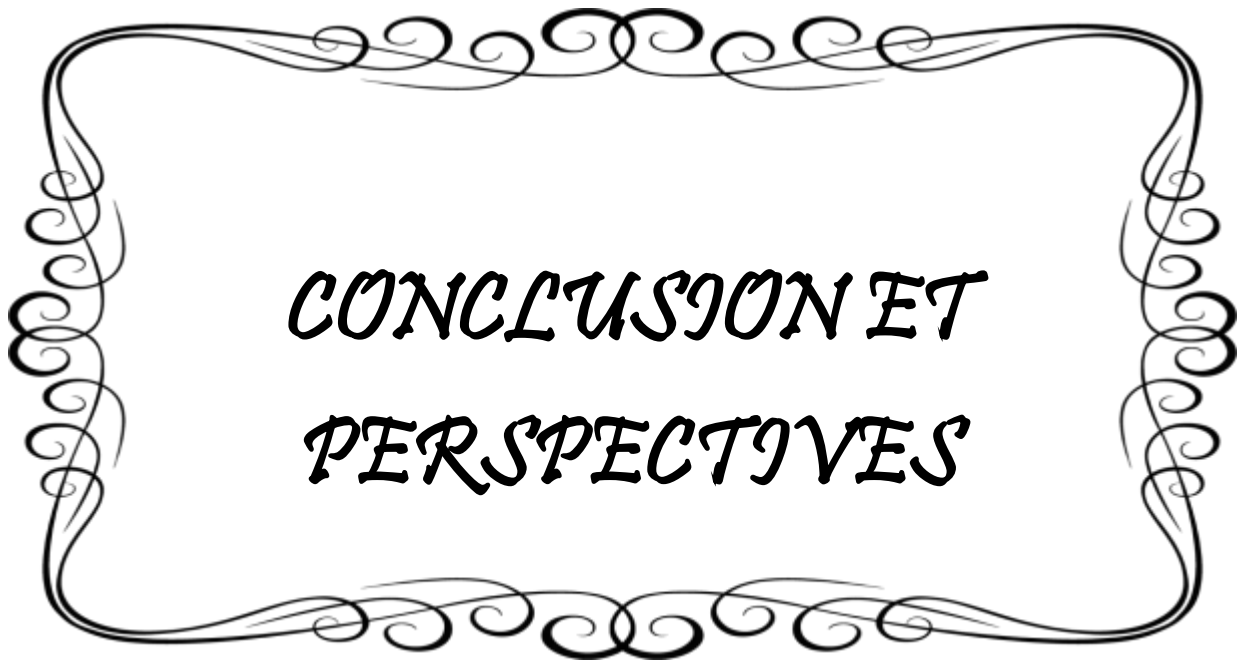
cytotoxique de l'Acéphate, le Fenthion et le Carbofuran (insecticides) chez *Paramecium caudatum*. Les auteurs expliquent ce phénomène commun par la survenue de ruptures au niveau des membranes vacuolaires (vacuoles digestives et pulsatiles) et nucléaires entraînant la diffusion de leurs contenus dans le protoplasme. En effet, la désintégration de l'ensemble des organites cellulaires et du protoplasme qui apparaissent condensés à la périphérie de la cellule entraîne un gonflement cellulaire. Cette pression interne est à l'origine d'une rupture de la membrane plasmique et par conséquent de la lyse cellulaire.

Dans le but de compléter au mieux notre travail, nous avons jugé essentiel de nous pencher sur l'effet de la Lambda Cyhalothrine sur le comportement de *Paramecium sp* en prenant en considération le pourcentage d'évitement et les trajectoires de déplacement qui sont considérés comme des « indicateurs d'alerte précoce » quasi-immédiats et très sensibles aux stress.

Le test d'évitement décrit pour la première fois par **Takiguchi et al. (2002)** et adapté par **Azzouz (2012)** constitue une méthode simple et efficace pour l'évaluation du comportement des paramécies, et donc, de la qualité de leur milieu de vie. En effet, l'évitement est le comportement locomoteur le plus apparent chez le genre *Paramecium* au contact d'un obstacle : En se propulsant par ses cils, la paramécie évite tous types d'obstacles externes qu'ils soient physiques ou chimiques en reculant et en changeant de direction. D'après nos résultats, nous avons noté un taux d'évitement dose et temps dépendants. Ainsi, en présence des concentrations croissantes de la Lambda Cyhalothrine les paramécies adoptent une nage vers l'arrière par un mouvement rapide, puis elles repartent en avant avec un angle de déviation, jusqu'à l'évitement total de cet obstacle. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de **Takiguchi et al. (2002)** et **Moumeni (2017)** qui ont étudié respectivement l'effet de l'acide 2,4-Dichlorophynoxyacétique et le Cycloxydime (herbicide) sur le comportement locomoteur de *Paramecium caudatum* et *Paramecium tetraurelia*. Ces auteurs expliquent l'apparition du phénomène d'évitement et la nage vers l'arrière "backward swimming" en présence des xénobiotiques par la création d'un changement dans le potentiel membranaire. Selon **Naitoh et Eckert (1969)**, **Naitoh et al. (1972)** et **Symington et al. (1999)**, la collision d'une paramécie avec un obstacle ou même la présence de pesticides dans le milieu environnant est censée stimuler mécaniquement la partie antérieure de la cellule. Cette stimulation est à l'origine de l'activation de l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendant associés à la ciliature membranaire des paramécies, ce qui induit une augmentation de l'influx de  $Ca^{2+}$ , accompagnée d'une forte dépolarisation membranaire se

traduisant par une inversion de la direction des battements ciliaires et l'enclenchement d'une nage en arrière et par conséquent d'un évitement. Il est à noter que la repolarisation membranaire se produit après l'ouverture retardée des canaux potassiques (Schultz et al., 1992). Par ailleurs, les réponses comportementales fournies par *Paramecium sp* et sa sensibilité vis-à-vis de la Lambda Cyhalothrine semblent être liées à sa structure et son organisation. Ne possédant pas de canaux sodiques voltage dépendants (admis comme étant cible principale des pyréthrinoides), le plus plausible site d'action des pyréthrinoides chez le genre *Paramecium* sont les canaux calciques voltage dépendants qui commandent le comportement d'évitement et la nage en arrière chez le cilié et qui sont une réponse physiologique directe et rapide à l'augmentation de l'influx du  $\text{Ca}^{2+}$  (Amamra, 2015).

Généralement, les trajectoires adoptées par les paramécies sont tout à fait variables et dépendent des conditions du milieu. Il est d'ailleurs connu que la paramécie se déplace en tournant autour d'un axe longitudinal, selon un mouvement hélicoïdal. Cependant, elle peut changer brusquement de direction et faire marche arrière Bernal et Ruvalcaba (1996). Nos résultats relatifs aux mouvements de déplacement de *Paramecium sp* en présence de la Lambda Cyhalothrine montrent une perturbation de la nage. Ainsi les paramécies déploient des trajectoires irrégulières et désordonnées caractérisées par des mouvements en zig-zag, des mouvements circulaires avec des rotations sur place et une nage vers l'arrière suivie de changements brutaux de directions. Nos observations concordent avec ceux de Azzouz (2012) et Sbartai (2013) qui ont étudié l'effet du Glyphosate et du Bifénazate sur les trajectoires de déplacement de *Paramecium tetraurelia* et *Paramecium sp*, respectivement. Ainsi, les paramécies détectent la présence de nombreuses substances chimiques dans leur milieu et réagissent face à ce type de stimuli en changeant leur comportement natatoire. Cette perturbation comportementale se manifeste par des changements de directions de migration ou des trajectoires de déplacement avec une augmentation ou une diminution de la vitesse de nage et une augmentation de l'amplitude ou la fréquence de rotation. Ce mécanisme électrophysiologique de la chimio-orientation est appelé « Chemokinesis » (chimiokinèse).



*CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES*

Le protiste cilié utilisé dans notre travail occupe une position privilégiée dans les écosystèmes aquatiques, car il constitue à la fois l'un des éléments de base des réseaux trophiques et un excellent bio-indicateur pour l'évaluation de la qualité des eaux douces.

Ainsi, le principal objectif de notre travail était l'étude des réponses morpho-physiologiques et comportementales de ce protiste cilié vis-à-vis d'un insecticide couramment utilisé en agriculture qu'est la « Lambda Cyhalothrine », sous sa forme commerciale « PHEONIX 5 EC ».

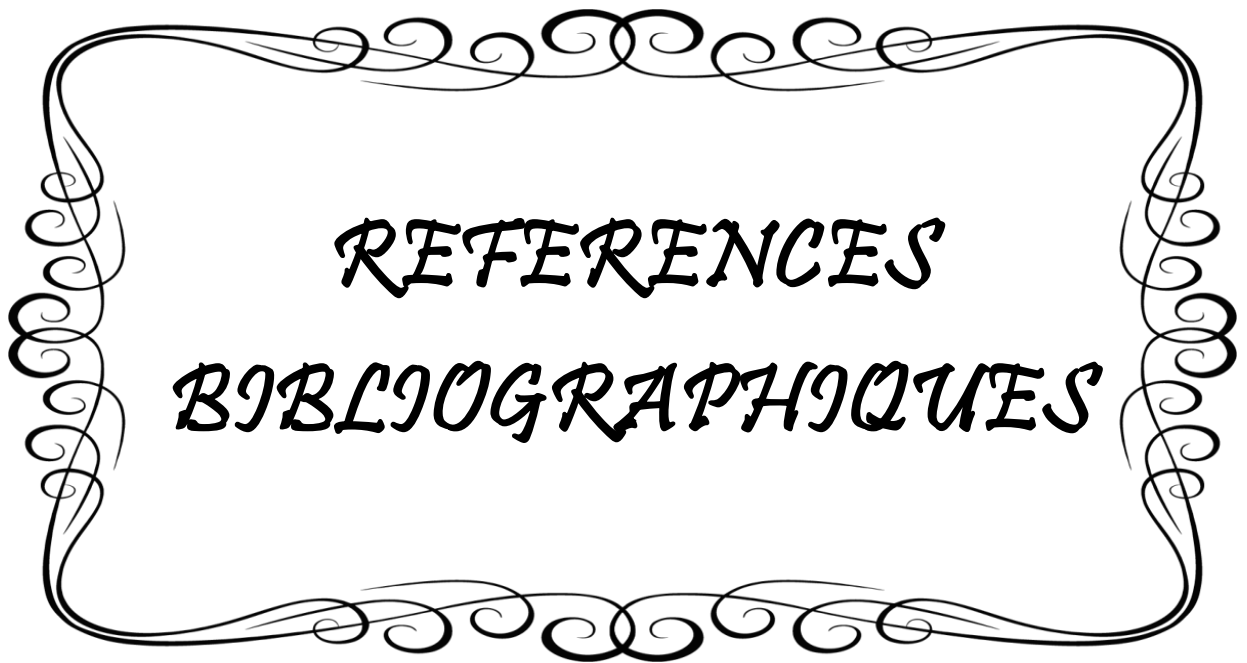
D'une façon générale, ce travail a permis de montrer que l'exposition de *Paramecium sp* à la Lambda Cyhalothrine entraîne une cytotoxicité qui se manifeste par une inhibition dose-dépendante de la croissance cellulaire, une diminution du nombre et de la vitesse de génération ainsi qu'une augmentation du temps de génération.

D'autre part, le traitement par les fortes concentrations de Lambda Cyhalothrine a induit des modifications morphologiques (perte de symétrie et gonflements cellulaires, apparition de bourgeonnements et noircissements) et comportementales (ralentissement des mouvements avec des trajectoires désordonnés, en zigzag, circulaires ou rotatoires) chez les paramécies.

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que la paramécie est un modèle alternatif idéal pour les études toxicologiques et éco-toxicologies vue son organisation cellulaire particulière et son comportement qui reflète parfaitement son état physiologique.

En perspectives, il serait judicieux :

- D'élargir les tests de cyto-toxicité de Lambda Cyhalothrine sur d'autres ciliés proches de la paramécie comme le genre *Tetrahymena*.
- D'employer divers tests de toxicité sur d'autres organismes aquatiques clés occupant différents niveaux trophiques.
- D'étudier le devenir et la toxicité de cet insecticide et de ses métabolites dans des microcosmes obéissant aux conditions naturelles d'exposition.
- D'étudier, à l'échelle subcellulaire, le stress oxydant engendré par l'insecticide en réalisant le dosage de certains bio marqueurs à l'instar des activités CAT, SOD, GST,...ou encore le taux de MDA, marqueur de peroxydation lipidique.



*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*



### A

- **Amamra R, (2015).** Etude de la toxicité de composés pyréthrinoides utilisés en Algérie sur un modèle alternatif : *Paramecium tetraurelia*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- **Amaroli, (2009).** Nitric oxide production inhibited by xenobiotic compounds in the protozoan *Paramecium primaurelia*. *Ecological Indicators*. 2010; (10):212-216. doi: 10.1016/j.ecolind. 04.012.
- **Azzouz Z, (2012).** Etude des effets toxiques d'un fongicide (Amistar Xtra) et d'un herbicide (Glyphosate) sur la biologie et le comportement de *Paramecium tetraurelia*, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 159 p.
- **Azzouz Z., Berrebbah H., Djebar M.R, (2011).** Optimization of *Paramecium tetraurelia* growth kinetics and its sensitivity to combined effects of azoxystrobin and cyproconazole. *Afr. J. Microbiol. Res*, 5, 3243–3250.

### B

- **Beale, G., et Preer Jr, J. R. (2008).** *Paramecium: genetics and epigenetics*. 1<sup>st</sup> edition. Taylor & Francis Group, Boca Raton, p191.
- **Beaumont et Cassier, (1998).** Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie, 3<sup>ème</sup> édition DUNOD, pp : 123-143.
- **Benbouzid-Haddad H, (2012).** Evaluation et étude de la toxicité d'une famille d'acaricides sur les protistes ciliés. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 114 p.
- **Bengueddach H, (2016).** Etude des protéines VFL3 et OFD1 dans le mécanisme d'encrage de corps basaux chez la paramécie. Thèse de Doctorat. L'université Paris-Saclay. France. p167.
- **Bennett J., Cubbage J (1992).** Evaluation of Bioassay Organisms for Freshwater Sediment Toxicity Testing. Washington Department of Ecology, Olympia, WA. 29 pp.
- **Bernal J., Ruvalcaba S, (1996).** Pharmacological prevention of acute lead poisoning in *Paramecium*. *Toxicology*, 108, 165–173.
- **Berrebbah H, (1990).** Etude du contrôle de la mobilité flagellaire et ciliaire par le calcium. Effet du lindane, insecticide organochloré. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VII : 144 pages.
- **Bourabia Ait., Hamlet S, (2013).** Evaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Thèse de doctorat de l'Université Badji. Mokhtar Annaba. P177.
- **Bouraoui Z., Ghedira J., Jebali J., Banni M., Clerendeau C., Narbonnen J-F., Boussetta H, (2009).** Étude de l'effet du cadmium et du benzo[a]pyrène sur des enzymes de phase I et phase II de biotransformation chez le polychète *Nereis diversicolor*. *Revue des Sciences de l'Eau*, 22 (3): 451-459.
- **Bouvier G., Seta N., Vigouroux-Villard A., Blanchard O., and Momas I, (2005).** Insecticide urinary metabolites in nonoccupationally exposed populations. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews* 8, 485-512.

## Références bibliographiques

---

- **Bradberry S. M., Cage S. A., Proudfoot A. T., Vale J. A., (2005).** Poisoning due to pyrethroids. *Toxicol Rev*, 24(2), 93-106.

### C

- **Catterall, (2000).**Forme ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26(1),13-25.
- **Chapman P.M, (2001).** Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. *Hydrobiologia* 463, 149–169.
- **Cherait A, (2015).** Evaluation à l'échelle cellulaire et subcellulaire de la toxicité d'un composé de la famille des dihydropyridines sur un modèle expérimental bioindicateur de stress. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 152 p.
- **Cheriet A., Djebbar M.R, (2013).** Evaluation of dihydropyridine calcium antagonist effects on the stress bioindicator organism *Saccharomyces cerevisiae*. *Ann. Biol. Res*, 4 (10), 40–46.
- **Chevalier J. (2014).** Utilisation du comportement natatoire de *Daphnia magna* comme indicateur sensible et précoce de toxicité pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, France, 153 p.
- **Cohen J, (2007).** Génétique de la dynamique cellulaire chez la paramécie. Centre National de la Recherche Scientifique (C.N.R.S.). Département de Génétique des Fonctions Cellulaires.
- **Corliss J. O, (2016).** The ciliated protozoa: characterization, classification and guide to the literature. Elsevier.
- **Crossland N O, (1982).** Aquatic toxicology of cypermethrin.II. Fate and biological effects in pond experiments. *Aquatic Toxicology* 1982; (2) 205-222.

### D

- **Davies, (2007).**DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB life*, 59(3), 151-162.
- **Djekoun (2016).** Toxicité potentielle de 3 pesticides (Dithiocarbamates, Triazole et une mixture de Phenylpyrrole – Triazole) et leurs impacts sur un microorganisme: *Paramecium sp*. Thèse de doctorat de l'Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 204 p.
- **Dragesco J., (1980).** Les protozoaires. Office de la Recherche scientifique et Techniques Outre-Mer Paris. Initiations, documentations, techniques, 44, 153–192.
- **Dragesco, (1980)., Wehner et Gehring, (1995)., Purves., Samworth et Morgan, (2000)., Cohen (2007)., Beale et Preer, (2008).** Etude de la toxicité d'un Cyclohexanedione (herbicides) sur deux modèles biologiques d'eau douce :*Paramecium tetraurelia* et *Daphnia magna* . Thèse de doctorat de l'université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.14-18 p.

## E

- **El-Demerdash F. M., (2011).** Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides. *Food Chemical Toxicology*. (49): 1346-1352. doi: 10.1016/J.FCT.2011.03.018.

## F

- **Fent K., Weston A.A., Caminada D.** Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 2006, 76, 122–159.
- **Fenske RA., Lu C., Barr D., Needham L. (2002).** Children’s exposure to chlorpyrifos and parathion in an agricultural community in central Washington State. *Environ Health Perspect* 110:549–553.
- **Field L. M., Davies T. E., O’Reilly A. O., Williamson M. S., Wallace, B, (2017).** Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *European Biophysics Journal*, 1-5.
- **Fokin S, (1997).** Morphological diversity of the micronuclei in *Paramecium*. *Archiv für Protistenkunde*, 148(4), p375-387.
- **Fréry N., Guldner L., Saoudi A., Garnier R., Zeghnoun A., Bidondo M, (2013).** Exposition de la population française aux substances chimiques de l’environnement. Tome 2- Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides.
- **Friedl P., Wolf K, (2003).** Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer*, 3, 362–374.

## G

- **Génoscope, (2007).** Centre National de Séquençage. France.
- **Giray T., Luyten YA., MacPherson M., Stevens L.** Physiological bases of genetic differences in cannibalism behavior of the confused flour beetle *Tribolium confusum*. *Evolution*. 2001; 55:797–806.
- **Golam Mortuza M., Toshiyuki T., Tatsuya U., Toshikazu K., Hitoshi M., Hiroshi H, (2005).** Toxicity and bioaccumulation of hexavalent chromium in green *Paramecium*, *Paramecium bursaria*. *J. Health. Sci*, 51, 676–682.
- **Gräf F., Stahr K, (1999).** A Soil and Terrain Map of SW-Niger (NiSOTER). In: Atlas of Benin and Niger.

## H

- **Harris A.K., (1990).** Protrusive activity of the cell surface and the movements of tissue cells, in: N. Akkas (Ed.), Biomechanics of active movement and division of cells NATO ASI Series. Springer. Berlin, Heidelberg, pp. 249–291.
- **Harrison JC., Bardes ESG., Ohya Y., Lew DJ. (2001).** A role for the Pkc1p/Mpk1p kinase cascade in the morphogenesis checkpoint. *Nat Cell Biol* 3(4):417-20.

## Références bibliographiques

---

- **He L., Troiano J., Wang A., Goh K., (2008).** Environmental Chemistry, Ecotoxicity, and Fate of Lambda-Cyhalothrin. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Whitacre.
- **Hussain M.M., Amanchi N.R., Solanki V.R., Bhagavathi M., (2008).** Low cost microbioassay test for assessing cytopathological and physiological responses of ciliate model *Paramecium caudatum* to carbofuran pesticide. *Pestic. Biochem. Physiol*, 90, 66–70.

### J

- **Jian P., Yanglin W., Jianshen W., Yuqing Z., (2007).** Evaluation for regional ecosystem health: methodology and research progress. *ActaEcologicaSinica*,27(11), 4877-4885.

### K

- **Kadala A., Charreton, M., Jakob, I., Cens T., Rousset M., Chahine M., Collet C., (2014).** Pyrethroids differentially alter voltage-gated sodium channels from the honeybee central olfactory neurons. *PLoS One*, 9(11), e112194. doi: 10.1371/journal.pone.0112194
- **Kaiser J., (2001).** Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment (Enfield : Sciences publishers inc).
- **Kamola Z. (1995).** Notes on the Use of Invertebrates, especially Ciliates, in Studies on Pollution and Toxicity. *Foliabiologica* (Krakow), 43 (1–2).
- **Key P.B., Wirth E.F., Fulton M.H., (2006).** A review of grass shrimp, *Palaemonetes* spp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. *Environmental bioindicators*, 1: 115-128.
- **Kosmala A., Charvet S., Roger M.C., Faessel B., (1999).** Impact assessment of a wastewater treatment plant effluents using in stream invertebrates and the *Ceriodaphnia dubia* chronic toxicity test. *Water Res.*, 33(1), 266-278.

### L

- **Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C. (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes and définitions. In: Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., Ramade, F. (Eds.), *Biomarqueurs en écotoxicologie : aspects fondamentaux*. Masson, Londres, Paris, New York, pp. 1-9.
- **Lam P.K.S., Gray J.S. (2003).** The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 182– 186.
- **Lawernce et Casida, (1983).** Stereospecific action of pyrethroid insecticides on the gamma-aminobutyric acid receptor-ionophore complex. *Science*, 221(4618), 1399-1401.
- **Li Lin., Yao Y., Liu J., Qiu T., Han Y., Ding J., (2009).** Toxicity of cyhalothrin against *Paramecium*. *Journal of Yangzhou University, Agricultural and Life Sciences Edition*. Vol.30 No.4 pp.48-51 ref.11
- **Li-Ming J., Hai-Long W., Hui-Ting W., Qian G and Song-Lin F. (2008).** External Electric Field Effect on Hydrogenic Donor Impurity in Zinc-Blende InGaN Quantum Dot. *Chinese Phys. Lett.* 25 3017.

- **Livingstone D.R., (2001).** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar. Pollut. Bull*, 42, 656–666.

### M

- **Madoni P, Guiseppa Roeo M. (2006).** Acute toxicity of heavy metals towards freshwater ciliated protists. *Environmental pollution*; (141): 1-7
- **Marchese M.R., Brinkhurst R.O, (1996).** A comparison of two tubificid oligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. *Hydrobiologia*, 334, 163–168.
- **Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G, (2003).** Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications*, B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors. Oxford : Elsevier Science Limited, pp: 3-39
- **McCarthy J.F., Shugart L.R, (1990).** Biomarkers of environmental contamination. Lewis Publishers, Boca Raton.
- **Miyoshi N., Kawano T., Tanaka M., Kadono T., Kosaka T., Kunimoto M., Takahashi T., Hosoya H. (2003).** Use of *Paramecium* Species in Bioassays for Environmental Risk Management: Determination of IC50 Values for Water Pollutants. *J.Heal. Sci.* 49(6): 429-435.
- **Mortuza M.G., Takahashi T., Kosaka T., Hosoya H. (2010).** Effect of Industrial Sludge Toxicity on the Cell Growth of *Green Paramecium*, *Paramecium bursaria*. *Glob. J. Environ. Res.* 4(2): 101-105.
- **Moumeni O, (2017).** Etude de la toxicité d'un Cyclohexanedione (herbicide) sur deux modèles biologiques d'eau douce : *Paramecium tetraurelia* et *Daphnia magna*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie.
- **Mountassif D., Kabine M., Manar R., Bourhim N., Zaroual Z., Latruffe N., El Kebbaj M. S, (2007).** Physiological, morphological and metabolic changes in *Tetrahymena pyriformis* Références bibliographiques 158 for the in vivo cytotoxicity assessment of metallic pollution: Impact on D-B-hydroxybutyrate dehydrogenase. *Ecol. Indic*, 7, 882–894.
- **Murati M, (2012).** Etude d'élimination de trois herbicides : Atrazine, Sulcotrione et Mésotrione, en milieu aqueux par les procédés électrochimiques d'oxydation avancée. Thèse de doctorat, Université Paris-Est, France. 140p.

### N

- **Naitoh Y., Eckert R, (1969).** Ionic mechanisms controlling behavioral responses of *Paramecium* to mechanical stimulation. *Science*, 164, 963–965.
- **Naitoh Y., Eckert R., Friedman K, (1972).** A regenerative calcium response in *Paramecium*. *J. Exp. Biol*, 56, 667–681.

**P**

- **Peakall D.B., (1992).** Animal biomarkers as pollution indicators. London: Chapman Prog. Ser., 162: 125-135.
- **Perez-Rama M., Abalde A.J., Herrero L.C., Torres E., (2001).** Class III metallothioneins in response to cadmium toxicity in the marine microalga *Tetraselmis suecica* (KYLIN) BUTCH. *Environ. Toxicol. Chem*, 20 (9), 2061-2066.
- **Purves W.K., Orians G.H., Heller H.G., Sadava D., (2000).** Le monde du vivant, 2ème édition Flammarion, pp 552–577.

**R**

- **Ronco E.A., Carriquiriborde P., Natale G S., Martin M L., Mugni H., Bonetto C., (2008).** Integrated approach for the assessment of biotech soybean pesticides impact on low order stream ecosystems of the Pampasic Region, In: J.Chen. C. Guo (Eds). *Ecosystem Ecology Research Trends*. Nova Science. Hauppauge: 209-239.
- **Rouabhi R., Berrebbah H., Djebar M.R., (2006).** Toxicity evaluation of flucycloxon and diflubenzuron on the cellular model, *Paramecium* sp. *Afr. J. Biotechnol*, 5, 45–48.

**S**

- **Saha S., Kaviraj A., (2008).** Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere* 74 (9), 1254–1259.
- **Samworth M., Morgan M., (2000).** Article on pond life: *Paramecium*. MISCape Article: *Paramecium*, Text by MIKE SAMWORTH, images by MIKE MORGAN. Dec.95 Updated by the MISCape Editor April 2000.
- **Sbartai I., (2013).** Toxicité d'un hydrazine (Bifenazte) et d'un oxadiazine (Indoxacarbe) observée chez un modèle cellulaire d'eau douce: *Paramecium* sp. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 132 p.
- **Schenone G., Botteschi G., Fumagalli I., Montinaro F. (1992).** Effects of ambient air pollution in open-top chambers on bean (*Phaseolus vulgaris* L.). I. Effects on growth and yield. *New Phytol* 122, 689-697.
- **Schultz J.E., Klumpp S., Bernz R., Schürhoff-Goetus W.J., Schmid A., (1992).** Regulation of adenylatecyclises from *Paramecium* by an intrinsic potassium conductive. *Science*, 255, 600–603.
- **Schultz J.E., Klumpp S., Bernz R., Schürhoff-Goetus W.J., Schmid A., (1992).** Regulation of adenylatecyclises from *Paramecium* by an intrinsic potassium conductive. *Science*, 255, 600–603.
- **Shalom A.L., Bergmann F., (2004).** Properties and biological activity of a new peptide antibiotic (Colisan), *Biotechnol. Bioeng.* 10: 429-444.
- **Sinderman C. J. (2006).** Coastal Pollution: Effects on Living Resources and Humans. CRS press publishers.

## Références bibliographiques

---

- **Sinha C., Seth K., Islam F., Chaturvedi R. K., Shukla, S., Mathur N., Agrawal A. K., (2006).** Behavioral and neurochemical effects induced by pyrethroid-based mosquito repellent exposure in rat offsprings during prenatal and early postnatal period. *Neurotoxicol Teratol*, 28(4), 472-481. doi: 10.1016/j.ntt.2006.03.005
- **Slaninova A., Smutna M., Modra H., Svobodova Z. (2009).** A review; oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuro Endocrinol. Lett.*(30):2-12.
- **Suter G.W., Norton S.B., Fairbrother A. (2005).** Individuals versus organisms versus populations in the definition of ecological assessment endpoints. *Integr. Environ. Assess. Manag*, 1, 397–400.
- **Symington S.B., Zhang A., Karstens W., Van Houten J.L., Clark J.M, (1999).** Characterization of pyrethroid action on ciliary calcium channels in *Paramecium tetraurelia*. *Pestic. Biochem. Physiol*, 65, 181–193.

### T

- **Takiguchi N., Tajima T., Isayama K., Ikeda T., Kuroda A., Kato J., Ohtake H, (2002).** Behavioral Responses of the Ciliated Protozoan *Paramecium caudatum* to 2,4- Dichlorophenoxyacetic Acid and its Analogues. *J. Biosci. Bioeng*, 93 (4), 416–420.
- **Taylor E. J., Maund S. J., Pascoe, D. (1991).** Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 21(3), p371-376.

### V

- **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. Saf.*, 64: 178-189.
- **Venkateswara J.R., Srikanth K., Arepalli S.K., Gunda V.G, (2006).** Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology, behaviour, and generation time. *Pestic. Biochem. Physiol*, 86, 131–137.

### W

- **Wang S. Y., Wang G. K, (2003).** Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins. *Cell Signal*, 15(2), 151-159.
- **Wehner et Gehring, (1995).** *Biologie et Physiologie Animales. Bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles : Orientation comparée et évolutive.* Deboeck Université.Thieme Verlag, pp : 286-287.
- **Weis J.S., Smith G., Zhou T., Santiago-Bass C., Weis P, (2001).** Effects of contaminants on behaviour: biochemical mechanisms and ecological consequences. *Bioscience*, 51, 209–217.
- **Wichterman N.R, (1953).** *The Biology of Paramecium.* Blakiseon (Pa), page 527.
- **Wong C.K., Cheung., Ming-Ho Yo, (1999).** Toxicological assesment of coastal sediments in Hong Kong using a flagellate *Dunaliella tertiolecta*. *Environ. pollut*, 105, 175–183.

## *Références bibliographiques*

---

- **Wong et al, (1999).** Effects of the antioxidant defense system of bromide ionic liquids on the antioxidant defense system of *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Saf* ; 72 ; 1798-1804.

### **Y**

- **Yangora Y. M., Farooq S., Mustapha R. K., Savi M., Hamid H., Sonia H., Dutta J, (2017).** Studies on the effect of chlorpyrifos (Organophosphate) and Cypermethrin (synthetic pyrethrinoid) on the growth of *Paramecium*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 10(1): 290 – 294.
- **Yoshiaki I Wadate, (2003).** Photolysis of caged calcium in cilia induces ciliary reversal in *Paramecium caudatum*. *Journal of Experimental Biology*. 2003; (206): 1163-1170.

### **Z**

- **Zhang, (2009).** Time-dependent oxidative stress responses of crucian carp (*Carassius auratus*) to intermediated injection of extracted microcystins. *Bulletin of Environmental contamination and toxicology*. (82): 574-578.