

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –
ANNABA



جامعة باجي مختار -
عنابة

FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUÉE

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

Domaine : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE

Spécialité : BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALE - PHYSIOTOXICOLOGIE
ANIMALE

Intitulé

Evaluation des effets secondaires d'un insecticide néonicotinoïde
(Actara) chez un poisson culiciphage *Gambusia affinis*

Presentée par : Mlle CHEGHIB Yasmine

Directrice de thèse : Mme CHOUAHDA Salima (MCA, Université Badji
Mokhtar - Annaba)

Devant un jury composé de :

Pr. SOLTANI N.	Président	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. BERGHICHE H.	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. HAMAIDIA K.	Examinatrice	Université Souk Ahras
Dr. HAMDANI A.	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Dr. ZAIDI N.	Examinatrice	Université 20 Aout 1955 - Skikda

DEDICACE

*“Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ;
elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries.”*

Marcel Proust

Je dédie cette thèse à mes parents, Lilia et Hocine, que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

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

Je tiens tout d'abord à témoigner toute ma reconnaissance au Professeur **SOLTANI Noureddine**, Professeur de Biologie et Directeur du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée à l'Université Badji Mokhtar de Annaba, de m'avoir fourni les outils nécessaires qui m'ont permis d'accomplir mes travaux de recherche, guidé, conseillé aussi et fait l'honneur de présider le présent jury.

Puis, je voudrais remercier ma directrice de thèse, Docteur **CHOUAHDA Salima**, enseignante de Biologie à l'Université Badji Mokhtar de Annaba, de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté de juger et pris le temps de lire ce travail. Madame **BERGHICHE Hinda** (Professeur à l'Université Badji Mokhtar de Annaba); Madame **HAMDANI Amel** (Maitre de conférences A à l'Université Badji Mokhtar de Annaba); Madame **ZAIDI Nedjouda** (Maitre de conférences A à l'Université 20 août 1955 de Skikda) et Madame **HAMAIDIA Kaouther** (Maitre de conférences A à l'Université Mohamed-Chérif Messaadia de Souk Ahras) d'avoir accepté d'être les examinatrices de cette thèse.

J'aimerais exprimer ma gratitude à toute l'équipe pédagogique, à tous les intervenants professionnels responsables de ma formation, à tous les chercheurs et spécialistes, aux ingénieurs de notre laboratoire, à l'ensemble de mes enseignants de la Licence « Génome Cellule Développement et Evolution » et du Master « Biologie du Développement », qui m'ont accordé leur patience et leur volonté durant mon parcours universitaire.

J'adresse mes sincères remerciements aux Professeurs de l'Université de Dijon, M. **NEIERS Fabrice** et M. **FRAICHARD Stéphane** de m'avoir accueilli dans leur laboratoire pour leurs conseils et leurs critiques qui ont guidé mes réflexions et qui ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

Je remercie mon frère **Rayene** et mes sœurs **Jihène & Meriem** pour leur tendresse, leur complicité et leur présence ainsi que ma famille qui a toujours été là pour me soutenir.

REMERCIEMENTS

Enfin, je remercie tous mes collègues et amies en particulier M^{lle} **BOUKARI Asma** pour m'avoir assisté et porté main forte par sa disponibilité, ses précieux conseils et son énorme patience ainsi que M^{lle} **DENNA Abir** pour son soutien et son aide inconditionnels.

A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail, ainsi qu'à tous ceux que j'ai omis de citer.

M^{lle} CHEGHIB Yasmine

SOMMAIRE

SOMMAIRE

1.	INTRODUCTION.....	1
2.	MATÉRIEL ET MÉTHODES	8
	2.1.Présentation du matériel biologique	8
	2.1.1. Morphologie et anatomie	8
	2.1.2. Position systématique	11
	2.1.3. Répartition géographique	13
	2.1.4. Habitat	14
	2.1.5. Régime alimentaire	14
	2.1.6. Cycle biologique	15
	2.1.7. Choix de l'espèce pour l'étude toxicologique.....	17
	2.2.Technique d'élevage	18
	2.2.1. Localisation et présentation du site d'échantillonnage	18
	2.2.2. Élevage des poissons	19
	2.3.Application de l'insecticide.....	20
	2.3.1. Présentation de l'insecticide.....	20
	2.4.Traitements.....	21
	2.4.1. Toxicité aigüe.....	21
	2.4.2. Toxicité chronique.....	22
	2.5.Analyse de la croissance	23
	2.5.1. Mensurations et prélèvement des organes.....	23
	2.6.Analyse des indices organo-somatiques.....	23
	2.6.1. Rapport gonado-somatique	23
	2.6.2. Rapport hépato-somatique.....	23
	2.6.3. Coefficient de condition	23
	2.7.Analyses des biomarqueurs	24
	2.7.1. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	24
	2.7.2. Dosage du glutathion S-transférase.....	25
	2.7.3. Extraction et dosage des protéines carbonylées	26
	2.7.4. Dosage des vitellines	28
	2.7.5. Dosage des protéines	29
	2.8.Analyse statistique.....	30
3.	RÉSULTAS.....	31
	3.1.Toxicité aigüe du thiaméthoxame chez les femelles de <i>G. affinis</i>	31

3.2.Effet de l'Actara sur la morphométrie durant l'exposition et la dépuración chez les femelles de <i>G. affinis</i>	33
3.2.1. Effet sur la morphométrie de <i>G. affinis</i> en période de reproduction.....	34
3.2.1.1. Taille totale.....	34
3.2.1.2. Poids total.....	35
3.2.2. Effet sur la morphométrie de <i>G. affinis</i> en période de repos.....	38
3.2.2.1. Taille totale.....	38
3.2.2.2. Poids total.....	39
3.3.Effet du thiaméthoxame sur les indices organo-somatiques durant l'exposition et la dépuración chez les femelles de <i>G. affinis</i>	42
3.3.1. Effet sur les indices métriques de <i>G. affinis</i> en période de reproduction.....	42
3.3.1.1. Rapport gonado-somatique	42
3.3.1.2. Rapport hépto-somatique.....	43
3.3.1.3. Indice de condition	44
3.3.2. Effet sur les indices organo-métriques de <i>G. affinis</i> en période de repos	47
3.3.2.1. Rapport gonado-somatique	47
3.3.2.2. Rapport hépto-somatique.....	48
3.3.2.3. Indice de condition	49
3.4.Effet du thiaméthoxame sur les biomarqueurs chez <i>G. affinis</i>	52
3.4.1. Effet sur les biomarqueurs chez <i>G. affinis</i> en période de reproduction	52
3.4.1.1. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase.....	52
3.4.1.2. Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase	53
3.4.1.3. Effet sur le taux des protéines carbonylées	55
3.4.1.4. Effet de l'Actara sur le taux des vitellines	58
3.4.2. Effet sur les biomarqueurs chez <i>G. affinis</i> en période de repos	59
3.4.2.1. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase.....	59
3.4.2.2. Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase	61
3.4.2.3. Effet sur le taux des protéines carbonylées	63
4. DISCUSSION	66
4.1.Effet sur la croissance	66
4.2.Effet sur les indices organo-somatique	68
4.3.Effet du thiaméthoxame sur les biomarqueurs	70
4.3.1. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'AChE.....	71
4.3.2. Effet du thiaméthoxame sur l'activité de la GST	73
4.3.3. Effet du thiaméthoxame sur le taux des protéines carbonylées.....	75

4.3.4. Effet du thiaméthoxame sur le taux de vitelline.....	78
4.4. Dépuration.....	79
5. CONCLUSION & PERSPECTIVES	83
6. RÉSUMÉ.....	85
ABSTRACT	87
الملخص	89
7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	90
ANNEXE 1 : Données Statistiques	145
ANNEXE 2 : Description des Données Statistiques	158
ANNEXE 3 : Valorisation Scientifique	162

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Morphologie externe de <i>G. affinis</i> (photo personnelle).....	9
Figure 2. Dimorphisme sexuel chez <i>G. affinis</i> (photo personnelle).....	10
Figure 3. Morphologie interne de <i>G. affinis</i> (photo personnelle).....	10
Figure 4. Cycle de reproduction de <i>G. affinis</i> (photo personnelle).....	17
Figure 5. Localisation du site d'échantillonnage Chbaita Mokhtar, El Tarf (photo personnelle).....	18
Figure 6. Site d'échantillonnage Chbaita Mokhtar, El Tarf (Photo personnelle).....	18
Figure 7. Elevage de <i>G. affinis</i> au laboratoire (90 x 31 x 38) (Photo personnelle).....	19
Figure 8. Structure Chimique du thiaméthoxame.	21
Figure 9. Toxicité aigüe de l'Actara chez les femelles de <i>G. affinis</i> (photo personnelle).....	22
Figure 10. Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	30
Figure 11. Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}), à l'égard des femelles adultes de <i>G. affinis</i> après une exposition de 24h : Mortalité corrigée (% des stades immatures ($m \pm \text{SEM}$, $n = 4$ répétitions de 10 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.....	32
Figure 12. Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}), à l'égard des femelles adultes de <i>G. affinis</i> après une exposition de 24h : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée chez les femelles de <i>G. affinis</i> en fonction du logarithme de la dose. $R^2 = 97,64 \%$...	33
Figure 13. Effet du thiaméthoxame sur la taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$)..	35
Figure 14. Effet du thiaméthoxame sur le poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$)..	36
Figure 15. Effet du thiaméthoxame sur la taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$)..	39
Figure 16. Effet du thiaméthoxame sur le poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$)..	40
Figure 17. Effet du thiaméthoxame sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$).....	43
Figure 18. Effet du thiaméthoxame sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$).....	44
Figure 19. Effet du thiaméthoxame sur l'indice de condition (K) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$).....	45
Figure 20. Effet du thiaméthoxame sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$).....	48

Figure 21. Effet du thiaméthoxame sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4)..	49
Figure 22. Effet du thiaméthoxame sur l'indice de condition (K) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	50
Figure 23. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM/min/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	53
Figure 24. Effet du thiaméthoxame sur l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (nM/min/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	54
Figure 25. Effet du thiaméthoxame sur le taux des protéines carbonylées (nmol/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	56
Figure 26. Effet du thiaméthoxame sur le taux des vitellines ovariennes (μ g/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement (Moyenne \pm SEM, n= 4)..	58
Figure 27. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM/min/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	60
Figure 28. Effet du thiaméthoxame sur l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (μ M/min/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4).	62
Figure 29. Effet du thiaméthoxame sur le taux des protéines carbonylées (nmol/mg de protéines) des femelles de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (moyenne \pm SEM, n= 4.).	64

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Position systématique de <i>G. affinis</i>	12
Tableau 2 : Fiche technique du thiaméthoxame (Actara).....	20
Tableau 3 : Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.....	29
Tableau 4 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) à l'égard des femelles adultes de <i>G. affinis</i> après une exposition de 24h : mortalité corrigées (%) ($m \pm \text{SEM}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).....	31
Tableau 5 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) à l'égard des femelles adultes de <i>G. affinis</i> après une exposition de 24h : transformation angulaire ($m \pm \text{SEM}$; $n= 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).....	32
Tableau 6 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) à l'égard des femelles adultes de <i>G. affinis</i> après une exposition de 24h : transformation en probits ($m \pm \text{SEM}$; $n= 4$ répétitions comportantes chacune 10 individus).....	32
Tableau 7 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) après une exposition de 24h des femelles adultes de <i>G. affinis</i> : analyse des probits de la CL50 (IC : intervalle de confiance).....	33
Tableau 8 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur la taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración.....	37
Tableau 9 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración.....	37
Tableau 10 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur la taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.....	41
Tableau 11 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.....	41
Tableau 12 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración.....	46
Tableau 13 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración.....	46
Tableau 14 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'indice de condition (K) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración.....	46
Tableau 15 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.....	51
Tableau 16 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.....	51
Tableau 17 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'indice de condition (K) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.....	51

Tableau 18 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.	57
Tableau 19 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion S-transférase des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.	57
Tableau 20 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.	57
Tableau 21 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.	59
Tableau 22 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de redépuraciónstauración.	65
Tableau 23 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion S-transférase des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración.	65
Tableau 24 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración.	65
Tableau 25 : Taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	149
Tableau 26 : Poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	149
Tableau 27 : Taille totale (mm) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	150
Tableau 28 : Poids total (mg) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	150
Tableau 29 : Rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	151
Tableau 30 : Rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	151

Tableau 31 : Indice de condition (K) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les de phases traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	152
Tableau 32 : Rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les de phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	152
Tableau 33 : Rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	153
Tableau 34 : Indice de condition (K) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	153
Tableau 35 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	154
Tableau 36 : Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	154
Tableau 37 : Taux des protéines carbonylées (PCo) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	155
Tableau 38 : Taux des vitellines ovariennes des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de reproduction durant la phase de traitement (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$)..	155
Tableau 39 : Activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	156
Tableau 40 : Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	156
Tableau 41 : Taux des protéines carbonylées (PCo) des femelles adultes de <i>G. affinis</i> en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).....	157

INTRODUCTION

« Soit A un succès dans la vie. Alors $A = x + y + z$, où $x = travailler$, $y = s'amuser$, $z = se taire.$ »

Albert Einstein.

1. INTRODUCTION

La surface terrestre est couverte d'environ 70 à 72% d'eau représentée par 97,3% d'eau saline et 2,7 % d'eau douce, cependant les ressources en eau douce accessibles pour les besoins humains directs sont inférieures à 1% (**Qadri & Bhat, 2020**). Fondamentalement, les milieux aquatiques sont ouverts aux pollutions anthropiques (**Zhu et al., 2017 ; Shao et al., 2018 ; Karkman et al., 2018 ; Jiang et al., 2018**) provenant d'un large éventail d'influences, notamment les eaux pluviales/les déchets agricoles ou les écoulements de surface (**Ahmed et al., 2018**), effluents hospitaliers (**Harnisz & Korzeniewska, 2018**), déchets industriels (**Karkman et al., 2018**), ruissellements agricoles des abattoirs (**Wan & Chou, 2015 ; Fang et al., 2018**), effluents des décharges, eaux de crue et fonctions récréatives (**Ekundayo & Okoh, 2020**). La croissance démographique peut également être un facteur polluant (**Haseena et al., 2017**). En nécessitant une production alimentaire accrue, l'agriculture devient un problème majeur pouvant entraîner une eutrophisation des eaux douces (**Okumah et al., 2019 ; Davey et al., 2020**). Les pesticides fréquemment appliqués sur les produits agricoles pour améliorer la qualité et la quantité des aliments, avec une utilisation massive et sans restriction de produits de synthèse, entraînent des effets délétères, et un effet létal sur divers organismes non ciblés dans l'environnement aquatique (**Kalavathy et al., 2001 ; Sathyamoorthi et al., 2019 ; Kumaresan et al., 2018 ; Al-Ghanim et al., 2019**).

Les pesticides sont un groupe de produits chimiques utilisés en agriculture pour lutter contre les maladies et les insectes ainsi que pour réguler la croissance des plantes. Certains pesticides sont des composés naturels et d'autres sont synthétisés par l'homme. Selon les différentes applications des pesticides, ils peuvent être divisés en herbicides, insecticides et fongicides (**He et al., 2020**). Parmi les insecticides, les néonicotinoïdes sont apparus comme une nouvelle génération d'insecticides respectueux de l'environnement pour remplacer des composés plus toxiques et persistants tels que les organophosphorés et les carbamates (**Simon-Delso et al., 2015 ; Cossi et al., 2020**). En tant que classe d'insecticides systémiques, les néonicotinoïdes se lient au récepteur d'acétylcholine nicotine (nAChR) du système nerveux central de l'insecte. Cela provoque une excitation neuronale inhabituelle, des spasmes du corps entier, une paralysie et même la mort chez les insectes (**Yamamoto & Casida, 1999 ; Tian et al., 2020**). Cependant, leur potentiel toxique est plus faible chez les vertébrés car ces derniers ont une affinité relativement faible pour les récepteurs nicotiniques et que les



néonicotinoïdes ne traversent pas facilement la barrière hémato-encéphalique (**Gupta & Milatovic, 2014 ; Ensley, 2018 ; Stara et al., 2020**).

Parmi les néonicotinoïdes de deuxième génération, le thiaméthoxame (**Abd-Abrahim, 2014 ; Jyot & Singh, 2017 ; Chouahda et al., 2018 ; Pang et al., 2020**) en est le premier (**Gomez-Herrero et al., 2019**). Il est utilisé dans la région Nord-Est Algérienne contre les insectes piqueurs et suceurs des céréales, des arbres fruitiers et des cultures maraîchères. Le TMX est utilisé en culture à des doses allant de 800 à 4000 mg/L d'insecticide (formulation commerciale), correspondant à 200 à 1000 mg/L de thiaméthoxame (matière active) (**Aït Hamlet et al., 2019**). Le TMX est connu pour se transformer efficacement en son métabolite, la clothianidine, lorsqu'il est présent dans les plantes ou les insectes (**Coulon et al., 2018 ; Tesovnik et al., 2020**). Sa solubilité dans l'eau lui permet d'être facilement libéré dans l'environnement à partir des zones agricoles pendant son utilisation (**Barbosa et al., 2016 ; Wang et al., 2020**). Actuellement, il n'existe pas de normes sur la qualité de l'eau douce pour protéger la santé des animaux aquatiques pour le thiaméthoxame. Le problème des fortes concentrations de néonicotinoïdes qui s'infiltrent dans les systèmes aquatiques est aggravé par le fait que les néonicotinoïdes sont rarement trouvés isolément, mais plus souvent dans des mélanges potentiellement toxiques (**Morrissey et al., 2015 ; Rohonczy et al., 2020**).

Bien que les principaux modes d'action des néonicotinoïdes sur les espèces ciblées ont été bien caractérisés, les récentes découvertes de leurs effets indésirables sur des organismes non ciblés ont soulevé de nouvelles inquiétudes quant aux modes d'action supplémentaires de ces composés (**Wei et al., 2020**). Leurs effets sur les organismes non ciblés dépendent de facteurs tels que la structure chimique, la voie d'exposition, le stade de vie de l'organisme et la durée de l'exposition (**Harding & Burbidge, 2013 ; McClure et al., 2020**).

Dans les programmes de surveillance et les études scientifiques qui évaluent la qualité de l'eau et la santé des organismes aquatiques, les biomarqueurs s'avèrent être un outil avantageux (**Calado et al., 2020**). Leur pertinence est due au fait qu'ils indiquent directement tout effet toxique sur les organismes (**Gao et al., 2020**) car ils sont définis comme étant des changements biochimiques et tissulaires détectables qui indiquent une altération de la physiologie (**Smit et al., 2009 ; Martínez-Morcillo et al., 2020**). Il existe plusieurs biomarqueurs tels qu'un biomarqueur biochimique (mesure de l'activité enzymatique) (**Betim**



et al., 2016) comme l'activité de la cholinestérase (ChE) qui a été largement utilisée comme biomarqueur de la neurotoxicité chez les poissons (Sobjak *et al.*, 2018 ; Folle *et al.*, 2020) ; chimique (quantification des composés) (Soares *et al.*, 2007 ; Salgado *et al.*, 2019) ; génotoxique (mesure des dommages causés à l'ADN) (Klingelfus *et al.*, 2017 ; Delmond *et al.*, 2019) ; morphologique (histopathologie) (Simonato *et al.*, 2016). Ces biomarqueurs sont aussi utilisés pour évaluer l'impact de l'exposition aux pesticides dans les cours d'eau influencés par les activités agricoles (Vieira *et al.*, 2016) pour la compréhension des processus d'adaptation et de dépuración (Ramesh *et al.*, 2015 ; Korkmaz *et al.*, 2018). L'étude du processus de dépuración est importante car elle permet de révéler si les effets du contaminant persistent longtemps après sa disparition (Sanghvi *et al.*, 2003 ; Sundin *et al.*, 2019). Les niveaux de dépuración chez les poissons sont influencés par plusieurs paramètres, notamment la concentration initiale du composé, la teneur en graisse des tissus, la température et l'activité physique des poissons (Howgate, 2004 ; Johnsen *et al.*, 1996 ; Schram *et al.*, 2017 ; Podduturi *et al.*, 2021).

Bien que moins sensibles que les indicateurs primaires (c'est-à-dire neuroendocrinaux) et secondaires (c'est-à-dire hématologiques) du stress des poissons, les indices organosomatiques sont relativement plus faciles à recueillir et contribuent souvent à la compréhension des réponses à long terme des poissons aux facteurs de stress (Sopinka *et al.*, 2016). Les indices de condition et croissance ont été utilisés de manière exhaustive comme indicateurs de l'état nutritionnel et de la santé des poissons (Vasconcelos *et al.*, 2009 ; Fonseca *et al.*, 2015). Ces indices englobent différents niveaux de réponse biologique, allant des mesures morphométriques aux mesures biochimiques, en tenant compte des changements de poids (Weber *et al.*, 2003 ; Duarte *et al.*, 2018).

Le rapport Gonado-Somatique (RGS) est le rapport entre le poids des ovaires et le poids somatique (Basilone *et al.*, 2006 ; Basilone *et al.*, 2020). Il est utilisé comme l'un des indicateurs du développement et de la maturité des gonades (Khaironizam & Zakaria-Ismail, 2013 ; Mukti *et al.*, 2020), notamment pour décrire le moment et la durée de la saison du frai (West, 1990 ; Flores *et al.*, 2019). Pendant la maturation des gonades, le RGS augmente en raison du dépôt de grandes quantités de protéines et de lipides dans les ovules et les spermatozoïdes en développement (Htun-Han, 1978 ; Erasmus *et al.*, 2019). La diminution du RGS des poissons exposés pourrait être le reflet de la réduction de la masse des gonades. En outre, la réduction du RGS pourrait avoir résulté de la diminution de l'activité



hypothalamique et hypophysaire et/ou des changements morphologiques et pathologiques, des gonades, causés par les effets toxiques (**Louiz et al., 2009 ; Sayed et al., 2012 ; Saravanan et al., 2019**).

Le rapport Hépat-Somatique (RHS) reflète l'état physiologique du poisson, qui peut être le résultat de mécanismes d'adaptation sous influence anthropique (**Prysiachniuk et al., 2019**). Il reflète, également, son état nutritionnel (**Landa & Antolínez, 2018**). En effet, cet indice physiologique dépend de la disponibilité des nutriments dans l'eau. Ainsi, la disponibilité des aliments peut affecter la répartition de l'énergie, ce qui se manifeste par des changements de la valeur de l'indice de masse corporelle (**Huuskonen & Lindström-Seppä, 1995 ; Louiz et al., 2018**). Le rapport Hépat-Somatique peut être suggéré, de ce fait, comme biomarqueur qui indique l'état de l'alimentation et du métabolisme. La taille du foie indique une activité métabolique élevée, tandis que la petite taille du foie peut être due à un manque de nourriture (**Larsson et al., 2000 ; Sandstrom et al., 2005 ; Pandit et al., 2019**).

Parmi les indices organo-somatiques, l'indice de condition (K) est utilisé pour comparer la "condition" ou le statut de santé inter et intra spécifique des poissons provenant d'habitats identiques. C'est un indice utile pour le suivi de l'intensité de l'alimentation, de l'âge, des taux de croissance des poissons (**Oni et al., 1983 ; Famofo & Abdul, 2020**), le moment et la durée du processus de reproduction (**Zamri et al., 2016 ; Łuczyńska et al., 2018**). L'indice de condition permet, également, de déduire les réponses physiologiques des poissons au stress (**Sopinka et al., 2016**) ainsi que d'évaluer leurs réponses aux changements environnementaux (**Miranda et al., 2019 ; Champion et al., 2020**), en effet, de faibles valeurs indiquent aussi une mauvaise condition somatique chez les poissons (**Pope & Kruse, 2001 ; Camara et al., 2011 ; Neves et al., 2020**).

L'acétylcholinestérase (AChE) est un biomarqueur sensible de neurotoxicité chez les organismes confrontés à des substances toxiques et à des conditions environnementales défavorables (**Ajima et al., 2017 ; Iheanacho & Odo, 2020**). L'AChE appartient à une famille d'enzymes appelées estérases, et a pour rôle physiologique de mettre fin à la neurotransmission par hydrolyse de l'acétylcholine (**Bernal-Reya et al., 2020**). Ce dernier, est le plus important neurotransmetteur qui intervient dans la régulation des processus corporels (**El Alami et al., 2020**). L'inhibition de l'AChE a été largement utilisée pour évaluer les effets toxiques des pesticides tels que les carbamates, et les organophosphorés (**Sayed et al., 2019 ; Amamra et al., 2019 ; Parrino et al., 2020**), ou encore les néonicotinoïdes qui interfèrent



avec le système nerveux en agissant comme agonistes du neurotransmetteur acétylcholine (**Jeschke et al., 2011 ; 2013 ; Taillebois et al., 2018**). Le degré élevé d'affinité et la liaison presque irréversible des néonicotinoïdes aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR) entraînent une altération de la transmission du signal nerveux (**Paquet-Walsh et al., 2019**). L'inhibition de l'activité de l'AChE en présence de pesticides peut engendrer une augmentation des cellules apoptotiques (**Köktürk et al., 2020**). Son activité est donc un indicateur fiable pour évaluer et surveiller les effets des polluants environnementaux sur les poissons (**Samanta et al., 2014 ; Kim et al., 2020**).

Les glutathion S-transférases (GST) sont une grande famille complexe d'enzymes localisés dans le cytosol et le réticulum endoplasmique (**Ioannides, 2002 ; Sandamalika et al., 2019**), qui agissent comme d'importants régulateurs dans de nombreuses étapes métaboliques clés (**Edwards & Dixon, 2002 ; Ulrich et al., 2002 ; Gao et al., 2020**) d'oxydoréduction et de détoxification (**Omicinski et al., 2011 ; Paineofilú et al., 2020**). Les GST catalysent la liaison du glutathion nucléophile (GSH) aux produits chimiques exogènes électrophiles pour les détoxifier (**Hayes et al., 2005 ; Zhou et al., 2020**), mais aussi, les composés et les polluants endogènes, tels que les pesticides et les herbicides (**Nebert & Vasiliou, 2004 ; Zhou et al., 2020**). En outre, l'augmentation de l'activité de la GST facilite les réactions de conjugaison synthétique de diverses substances électrophiles avec le glutathion tripeptidique, ce qui rend les xénobiotiques plus hydrophiles pour le transport ou l'excrétion afin de défendre les organismes contre le stress oxydatif (**Srikanth et al., 2013 ; Cui et al., 2020**).

Les protéines sont des cibles pour les radicaux libres, et leur oxydation est définie comme la modification covalente qui peut être induite soit directement par les ROS (les espèces oxygénées réactives), soit indirectement par la réaction avec des sous-produits secondaires du stress oxydatif, conduisant à l'altération de certains résidus d'acides aminés formants des dérivés de la protéine carbonylée (**Dalle-Donne et al., 2003 ; Copat et al., 2020**). Cependant, certains chercheurs ont confirmé que divers facteurs de stress, généralement considérés comme des réponses non spécifiques, pourraient également induire les protéines carbonylées (**Li et al., 2020**). Les protéines carbonylées représentent donc une modification post-traductionnelle irréversible (**Muñoz et al., 2018**), leur permettant d'être considérées comme un biomarqueur précieux pour l'évaluation de l'oxydation des protéines



qui reflète la perte de leur fonction de protéines (Wong *et al.*, 2010 ; Schwarzbacherová *et al.*, 2019) et de la perturbation des tissus (Yan *et al.*, 1997 ; Bobori *et al.*, 2020).

La vitellogénine est une lipoprotéine majeure et un précurseur de la protéine ovarienne (Utarabhand & Bunlipatanon, 1996 ; Pan *et al.*, 2019). Au cours de la vitellogénèse, les poissons ont besoin d'aliments riches en graisses et en protéines pour produire de la vitellogénine, un précurseur phospholipoprotéique du lipovitelline et de la phosphovitelline qui sont stockés dans les ovocytes sous forme de vitelline. La quantité et la qualité de la vitelline sont des facteurs clés pour une reproduction réussie, car la vitelline est la seule source de nourriture pour l'embryon et les premiers stades larvaires (Alvarez-Lajonchère, 2006 ; Gonzalez-Silvera *et al.*, 2020). L'utilisation de biomarqueurs de la vitellogénine (vtg) pour détecter l'impact des substances chimiques perturbant le système endocrinien chez les poissons (Matthiessen *et al.*, 2002 ; 2018 ; Khatir *et al.*, 2020).

Parmi les espèces non ciblées de ces substances, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Pisces, Poeciliidae) est un petit poisson d'eau douce introduit dans les cours d'eau du monde entier pour lutter contre les moustiques (Pyke, 2008 ; Jyotsna *et al.*, 2020). Sa capacité à résister à différents types de pollution lui permet d'être considéré comme un indicateur de la pollution de l'environnement (Huang *et al.*, 2019 ; Liu *et al.*, 2020). En effet, pendant la période de croissance de son cycle de reproduction, des mécanismes complexes se développent lui permettant de s'adapter aux changements de l'environnement (El-Greisy & El-Gamal, 2015 ; Adam *et al.*, 2019) mais aussi pour son rôle possible dans la chaîne alimentaire aquatique, et sa culture pratique en laboratoire (Ou *et al.*, 2015 ; Huang *et al.*, 2016 ; Bao *et al.*, 2018). Les travaux antérieurs sur cette espèce ont porté sur sa croissance, sa reproduction et son rôle écotoxicologique à l'égard de différentes substances, notamment le diflubenzuron, le cadmium, l'halofenozide, le malathion, le flucycloxuron (Draredja-Beldi & Soltani, 2001 ; Beldi & Soltani, 2003 ; Chouahda *et al.*, 2006 ; 2007 ; 2010 ; Chouahda & Soltani, 2009 ; 2013 ; Soltani *et al.*, 2008 ; Zaidi & Soltani, 2010 ; 2011 ; 2013), et ont confirmé son utilité comme modèle biologique.

La présente thèse s'inscrit dans le cadre du projet P.R.F.U « Etude de certaines espèces aquatiques : aspects bio-écologiques, morphométriques et biochimiques liés aux facteurs environnementaux » du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, a pour objectif d'évaluer l'impact d'un insecticide néonicotinoïde (thiaméthoxame) sur un organisme non visé *Gambusia affinis* (Cyprinodontiforme : Poeciliidae), et se présente en deux parties :



La première consiste à évaluer l'effet d'une exposition chronique (28 jours) à différentes concentrations, à savoir, 10 ; 20 ; 40 mg.L⁻¹ de la matière active (thiaméthoxame) sur les paramètres morphométrique et pondérale (taille et poids totaux), les indices organo-somatiques (le rapport gonado-somatique, le rapport hépatique-somatique et l'indice de condition), ainsi que sur les différents biomarqueurs (Acétylcholinestérase, glutathion-S-transférase, protéines carbonylées et vitellines). Cette expérience est effectuée dans les deux phases du cycle de reproduction (activité et repos sexuel) chez les femelles adultes.

La seconde partie vise à révéler la capacité de dépuration des adultes femelles de *G. affinis* suite à l'exposition chronique, en les transvasant dans une eau non contaminée durant 28 jours. Les paramètres pris en charge sont les mêmes que ceux considérés dans la partie d'exposition. Cette partie est, également, effectuée dans les deux phases du cycle de reproduction (activité et repos sexuel).



MATÉRIEL ET MÉTHODES

« Je me sers des animaux pour instruire l'homme. »

Jean de la Fontaine.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Présentation du matériel biologique

2.1.1. Morphologie et anatomie

Gambusia affinis est une espèce ovovivipare de petite taille, allant de 1 à 5 cm de longueur, qui ne possède pas de couleurs vives comme ses cousins (Guppy), elle est caractérisée par des couleurs assez ternes (suivant le milieu) et translucides sur le dos et la cavité abdominale laissant apparaître les viscères. Elle est capable de changer de couleur (du noir au gris très clair) en changeant le niveau d'agrégation des pigments de mélanine dans les chromatophores pour s'adapter à la couleur de son environnement (Pyke, 2005).

La morphologie interne et externe de *G. affinis* reflète son régime alimentaire et son comportement de recherche de nourriture (Odum & Caldwell, 1955 ; Rosen & Mendelson, 1960 ; Meffe & Snelson, 1989). Selon Cadwallader & Backhouse (1983), le corps de la gambusie est petit et trapu, le dos un peu arqué en avant de la nageoire dorsale. La tête est aplatie dorso-ventrale (Lewis, 1970). La bouche est petite, pourvue de nombreuses dents, solides et coniques (Odum & Caldwell, 1955 ; Rosen & Mendelson, 1960 ; Meffe & Snelson, 1989) pointées vers le haut qui correspondent à leur habitude de se nourrir à la surface de l'eau. Un œsophage et un intestin relativement courts, caractéristiques typiques des poissons prédateurs (Odum & Caldwell, 1955 ; Rosen & Mendelson, 1960 ; Meffe & Snelson, 1989). Elle ne possède pas de canaux céphaliques (Rosen & Mendelson, 1960) et, par conséquent, a une capacité relativement faible de détecter les perturbations ou vibrations de l'eau (Walker, 1987 ; Helfman *et al.*, 1997). Les gambusies comptent sans doute d'avantage sur la vue pour détecter les proies, les prédateurs et autres prédateurs physiques (Lanzing & Wright, 1982). Les yeux sont larges et positionnés près du profil dorsal. La nageoire dorsale est courte, haute et bombée, elle est située en arrière de l'anale, et les nageoires pelviennes sont très abdominales (Keith & Allardi, 2001). La nageoire caudale est plus grande en forme d'éventail arrondi. La nageoire ventrale se situe à la base de la queue, elle est courte et arrondie chez la femelle et se transforme chez le mâle en un long organe copulateur pointu, le gonopode. La tête et le tronc sont couverts de grandes écailles. La ligne latérale est absente chez cette espèce, on répertorie 30 à 32 grandes écailles le long d'une rangée longitudinale (Terofal, 1987). Le dos est d'un vert olive à brun, les côtés gris d'un éclat bleuâtre, et le ventre d'un blanc argenté.



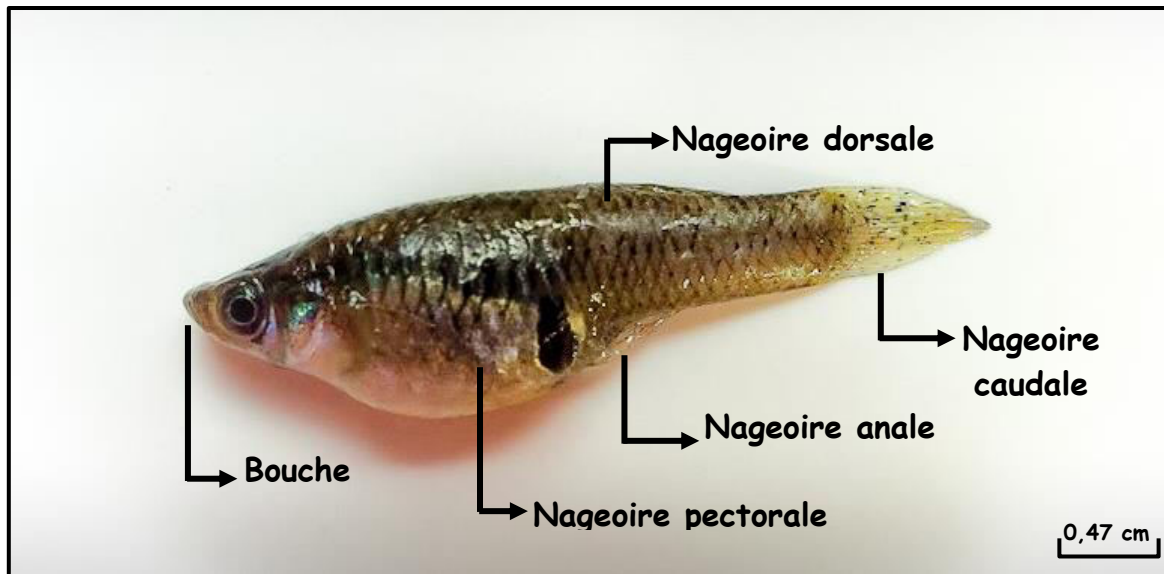


Figure 1. Morphologie externe de *G. affinis* (photo personnelle).

Ce poisson présente un dimorphisme sexuel se manifestant par :

Une différence de taille très nette (**Beldi, 2007**). La femelle est deux à trois fois plus grande que le mâle (5 à 6 cm pour la femelle et 3,5 à 4 cm pour le mâle) (**Chouahda, 2011**).

Les mâles de la Gambusie sont caractérisés par un organe externe appelé un gonopode, qui est la nageoire anale (**Cohen, 1946 ; Singh & Zutshi, 2020**). Certains auteurs ont avancé que le développement du gonopode est médié par la signalisation androgène qui contribue à la croissance de la nageoire anale et au développement de nouveaux segments osseux et qui fait finalement la transition de la nageoire anale vers le gonopode (**Ogino et al., 2011 ; Hou et al., 2019**). Les mâles fécondent les femelles lors d'une copulation rapide "à la nage", au cours de laquelle le mâle utilise son gonopode cannelé (**Fraile et al., 1992 ; Edwards et al., 2013**) pour introduire le sperme à l'intérieur de la femelle (**Xie et al., 2010**).

La nageoire anale de la femelle reste inchangée et est de forme arrondie. Pendant la gestation, en avant de cette nageoire (**Chambolle, 1970**) on distingue par transparence une tache sombre latérale qui marque l'emplacement de l'ovaire (**Jacques et al., 2001**).



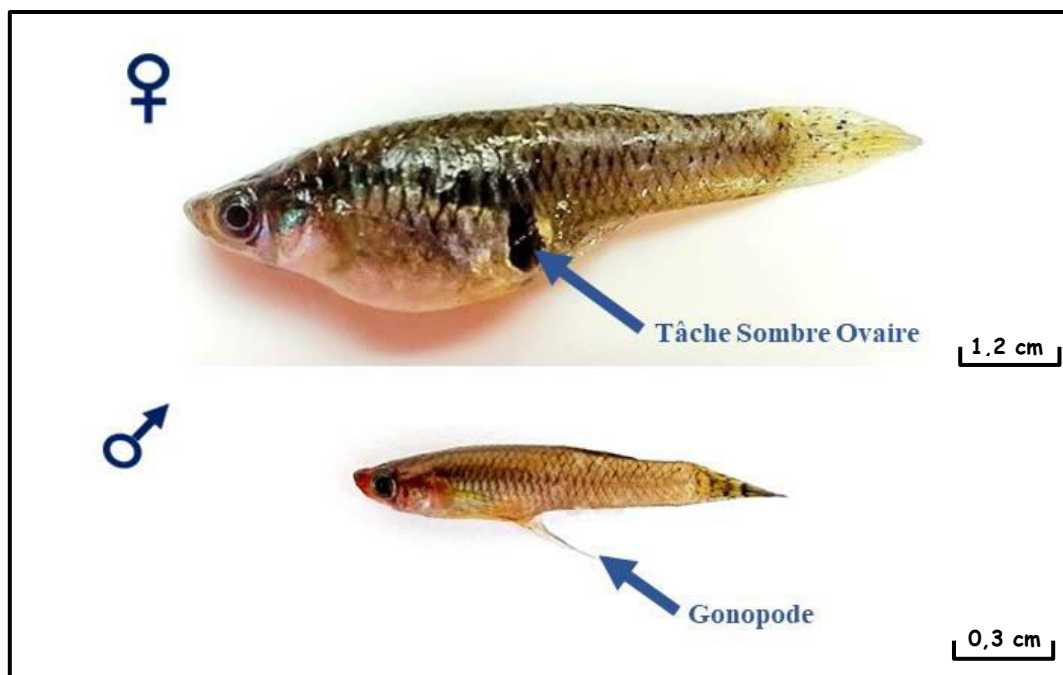


Figure 2. Dimorphisme sexuel chez *G. affinis* (photo personnelle).

L'étude de l'anatomie interne, après dissection du poisson de la bouche à l'orifice anal, révèle que l'œsophage est court, droit et très musculueux, qui fait suite directement à l'intestin moyen (tube digestive), on ne note pas l'estomac. A l'avant de l'abdomen et au-dessous du cœur se situe la glande hépatopancréatique, appelée ainsi car le tissu pancréatique est confondu avec celui du foie et forme un seul organe (Bouhafs, 1993).

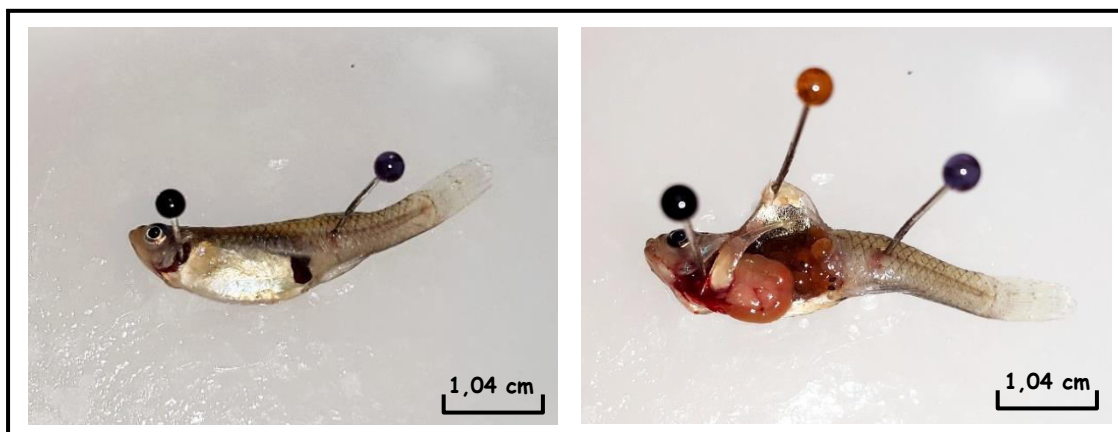


Figure 3. Morphologie interne de *G. affinis* (photo personnelle).



2.1.2. Position systématique

La Gambusie est un mot latin qui signifie « rien » ou « frustration » (**Gall et al., 1980**). **Poey, (1854)** a ajouté : « on dit de pêcher les Gambusinos quand on n'a rien attrapé » (**Jordan & Gilbert, 1882 ; Jordan & Evermann, 1896 ; Kuntz, 1913**). *G. affinis* appartient à la famille des Poeciliidae (**Miller et al., 2005 ; Pérez-López et al., 2020**) qui compte 30 genres et 293 espèces.

Au milieu du 19^{ème} siècle, trois espèces ont été reconnues : *G. affinis*, *G. patruelis* et *G. holbrooki*. Peu après, elles ont été considérées comme une seule espèce polytypique avec deux sous-espèces, l'une occidentale, *G. affinis affinis* (englobant les anciennes espèces *G. affinis* et *G. patruelis*) et l'autre orientale, *G. affinis holbrooki*. Cependant, leur statut taxonomique a continué à être remis en question. **Black & Howell, (1979)** rapportent l'existence de barrières reproductives entre eux, et l'étude génétique de **Wooten et al. (1988)**, basée sur l'analyse des allozymes, a révélé un taux élevé de degré de divergence génétique ainsi que de la structuration des fréquences des allèles (**Landeka, 2015**). Les poissons de ce genre ont d'abord été perçus comme étant « de non importance » et « sans valeur » (**Kuntz, 1913**). Le poisson occidental (*Gambusia affinis*, Baird & Girard, 1853) et son proche parent, le poisson-moustique de l'Est (*Gambusia holbrooki* Girard, 1859), ont été introduits comme agents de contrôle contre les moustiques dans les systèmes aquatiques frais et salins sur tous les continents sauf l'Antarctique (**Pyke, 2008 ; Cheng et al., 2018**). La répartition de ces deux espèces dans les zones d'introduction est encore largement inconnue et elles sont souvent confondues principalement alors que la plupart des introductions ont eu lieu avant les derniers changements dans leur taxonomie, mais aussi en raison de l'absence ou l'insuffisance des archives historiques sur les origines des stocks introduits ainsi que sur les schémas complexes de leur transfert (**Pyke, 2005 ; Vidal et al., 2010**).



La classification taxonomique la plus complète est proposée par l’Inventaire National du Patrimoine Naturel (INPN) (mise à jour en Octobre 2019), et est la suivante :

Tableau 1 : Position systématique de *G. affinis*.

Domaine	Biota
Règne	Animalia (Linnaeus, 1758)
Sous-Règne	Eumetazoa (Bütschli, 1910)
Clade	Bilateria (Haeckel, 1874)
Infra-Règne	Deuterostomia (Karl Grobben, 1908)
Embranchement	Chordata (Haeckel, 1874)
Sous-embranchement	Craniata (Janvier, 1981)
Infra-embranchement	Vertebrata
Super-Classe	Gnathostomata
Clade	Euteleostomi
Classe	Actinopterygii
Sous-Classe	Neopterygii (Regan, 1923)
Infra-Classe	Teleostei
Ordre	Cyprinodontiformes
Famille	Poeciliidae (Bonaparte, 1831)
Sous-Famille	Poeciliinae (Bonaparte, 1831)
Genre	<i>Gambusia</i> (Poey, 1854)
Espèce	<i>affinis</i> (Baird & Girard, 1853).



2.1.3. Répartition géographique

G. affinis, a été introduite dans de nombreuses régions du globe, notamment dans de nombreux pays tropicaux et subtropicaux, afin de faire face à un problème de santé humaine, le paludisme, par la démoustication (**Spillmann, 1961 ; Terofal, 1987 ; Pascal et al., 2006**). Elle est considérée comme l'une des espèces les plus invasives du littoral méditerranéen et en Europe Centrale (**Benejam et al., 2009**).

Aux États-Unis, les premières introductions connues de mousquito fish ont eu lieu au début des années 1900 (**Krumholz, 1948**). En 1905, environ 150 *G. affinis* ont été introduits à Hawaï à partir du Texas pour tester leur efficacité dans la prédation des larves de moustiques (**Seale, 1905**), et en 1910 leurs descendants ont été libérés dans des parties d'Oahu, Hawaï, Maui, Kauai et Molokai (**Van Dine, 1907 ; Stearns, 1983a**). De plus, en 1905, *G. affinis*, de la Caroline du Nord, a été relâchée dans les eaux du New Jersey pour contrôler les moustiques (**Seal, 1910 ; Krumholz, 1948**). En 1922, des mousquito fish du Texas (900 d'Austin et 300 de Hearne) ont été introduits dans un étang de nénuphar, au fort de Sutter. Cet étang a servi d'écloserie pour répandre *G. affinis* à travers la Californie et le Nevada pendant les années 1920 et 1930 (**Stockwell et al., 1996**).

Elle a été introduite volontairement en Europe, dans de nombreux pays, en Espagne dès 1921 (**García-Berthou et al., 2005 ; Vidal et al., 2010**), du Portugal au Sud de la Russie, comme dans le lac Pamvotis au Nord-Ouest de la Grèce (**Leonardos et al., 2008**), le Sud de la Caspienne (principalement côtes Ouest et Sud-Ouest) et le pourtour de la mer Noire ainsi que dans d'autres parties du monde, pour combattre la Malaria via le contrôle des moustiques. Introduite en France métropolitaine de 1927 à 1931, elle est présente en Provence, Camargue, dans le canal du Midi et les étangs saumâtres du Languedoc-Roussillon, en Corse en 1924 (**Pascal et al., 2006**), et sur les côtes atlantiques, dans les rivières de la Charente-Maritime aux Landes, et est abondante dans les étangs et marais de la région bordelaise (**Chambolle, 1973**).

G. affinis a été introduite en Algérie pour la première fois en 1928, dans le cadre de lutte biologique contre les larves d'Anophèles agent vecteur du paludisme. L'opération de repeuplement a été initiée pour la première fois dans le bassin de Khemissa près de Souk-Ahras.



2.1.4. Habitat

Les Gambusies sont capables d'utiliser un très large éventail d'habitats dans un très large éventail de paysages et d'environnements et sont capables de tolérer, et parfois de prospérer, sous des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques très différentes (Rees, 1958 ; Lloyd *et al.*, 1986 ; Hubbs, 2000) avec une tolérance élevée à la salinité (Hubbs, 2000). Leurs habitats préférés sont les étangs de plaine, les lacs et les cours d'eau (Lloyd *et al.*, 1986 ; Lee *et al.*, 2017), ils sont probablement capables de se propager entre les bassins versants par les lagunes côtières et les zones humides (Regmi *et al.*, 2016). Dans leur habitat naturel, les Gambusies se trouvent dans une région chaude (elles préfèrent des températures avoisinantes les 31 et 35 °C (Pyke, 2005), dense en macrophytes, à faible vitesse d'eaux (Pyke, 2008) et peu profonde (Walton, 2007) (une profondeur d'eau comprise entre 8 et 15 cm (Pyke, 2005). Ces caractéristiques, offrent des conditions de reproduction favorables (Koya & Kamiya, 2000) et leur permettent de s'abriter des courants rapides et des prédateurs (Britton & Moser, 1982 ; Pyke, 2005). Winkler, (1979) ainsi que Maglio & Rosen, (1969) décrivent chez *G. affinis* une recherche de la meilleure place au niveau thermique dans le plan d'eau, qui provoque des relations sociales hiérarchisées. Winkler, (1979) décrit que les places les plus profitables sont toujours occupées par les plus grands individus (c'est-à-dire les plus grosses femelles).

La stabilité de l'habitat influence également les caractéristiques du cycle de reproduction des populations de poissons-moustiques. Des analyses génétiques ont révélé que la fluctuation de l'eau dans les habitats des réservoirs était positivement corrélée à la fécondité et négativement corrélée à la taille à maturité (Stearns, 1983a ; 1983b ; Walton, 2007).

2.1.5. Régime alimentaire

Le prédateur d'anophèles *G. affinis* (Couret *et al.*, 2020) n'est pas strictement culiciphage. C'est un prédateur opportuniste qui a une préférence pour la nourriture animale (Pyke, 2005). Une étude des contenus stomacaux a décrit une très large gamme de proies (Crivelli & Boy, 1987; Arthington, 1989), rendant son régime omnivore comportant des petits crustacés, du zooplancton, divers mollusques et arthropodes aquatiques, des débris, des juvéniles de poissons (y compris de sa propre espèce), des hexapodes terrestres tombés dans l'eau (collemboles, fourmis) flottants en surface (la dérive) et avec une préférence pour les larves d'insectes et notamment de moustiques, gobés surtout au moment de l'émergence de l'imago. D'autres auteurs tels que Hurlbert & Mulla, (1981) les qualifient de poissons



Zooplanktonophages. Le menu préféré de *G. affinis* varie selon le sexe, la taille, la saison et le milieu (Fraval, 2002). Elle adapte donc son régime alimentaire en fonction de la disponibilité des proies (Arthington, 1989 ; Bounaceur, 1997).

2.1.6. Cycle biologique

Le cycle annuel de reproduction du mâle et de la femelle de la Gambusie est marqué par une saison de reproduction distincte qui, dans la plupart des endroits, s'étend du milieu du printemps jusqu'au milieu de l'automne, avec un pic en été (Pyke, 2005 ; Gao *et al.*, 2019). Chez les mâles matures, la libération des spermatozoïdes se fait pendant presque toute la période de spermatogenèse (Self, 1940 ; Fraile *et al.*, 1992 ; Pyke, 2005). Chez *G. affinis*, comme chez tous les Poeciliidae de type cystovarien, le cortex de l'ovaire embryonnaire, tapissé par l'épithélium germinale, subit une invagination qui fusionne intérieurement pour devenir la structure sacculaire de l'ovaire. Cette structure possède un espace interne, la lumière ovarienne (Grier *et al.*, 2016). En conséquence de ce développement unique, au moment de l'ovulation, les ovules sont libérées dans la lumière de l'ovaire (ovulation interne) (Dodd, 1977 ; Uribe *et al.*, 2019). La fécondation et la gestation sont dites intrafolliculaire (Pandian, 2013 ; Bhat & Ganesh, 2019). En effet, la gestation intra-ovarienne des poeciliidae est initiée lorsque les ovocytes sont fécondés dans le follicule ovarien et le développement des embryons s'effectue dans le follicule jusqu'à la naissance (Koya *et al.*, 2000 ; Uribe *et al.*, 2009 ; Jourdan *et al.*, 2014).

La durée de gestation est assez variable ; Krumholz, (1948) a indiqué que la période de gestation des Gambusies était de 21-28 jours tandis que Turner, (1937) a indiqué 28-30 jours. Les femelles de gambusie peuvent avoir plusieurs portées au cours d'une seule saison de reproduction, à savoir, que les femelles plus âgées et plus grandes ont plus de portées pendant la saison de reproduction que les jeunes femelles (Pyke, 2005). Cependant, le nombre de couvées qu'une seule femelle pourrait avoir au cours d'une saison dépend de son statut (Haynes & Cashner, 1995 ; Singh & Gupta, 2016). Elle est généralement considérée comme lécithotrophe, c'est-à-dire que la progéniture dépend entièrement des réserves vitellines (Greven, 2011 ; Cazan & Klerks ; 2015), autrement dit, les embryons et les larves en développement n'obtiennent des nutriments que de l'œuf (Praveenraj *et al.*, 2018). La fécondité et la taille de l'embryon sont en fonction de la taille de la mère ; les jeunes nés en début de saison mûrissent rapidement (à des tailles plus petites), mais la taille initiale de leur couvée (nombre de jeunes produits) est petite, tandis que ceux nés tard en saison, la



croissance est plus lente et mûrissent à des tailles plus grandes et peuvent donc porter des couvées beaucoup plus grandes (**Krumholz, 1948 ; Haynes & Cashner, 1995 ; Fernandez-Delgado & Rossomanno, 1997; Singh & Gupta, 2014**).

En général, la température et la photopériode jouent un rôle important dans la reproduction des téléostéens, suggérant que le recrutement ovarien commence par une augmentation de la température (**Koya et al., 2000**). En effet, la vitellogénèse et la grossesse chez *G. affinis* nécessitent des températures seuils de 14°C et 18°C respectivement (**Koya & Kamiya, 2000 ; Edwards et al., 2006**) et la vitellogénèse est d'environ 8 jours chez *G. affinis* (**Beldi, 2007**).

La femelle de gambusie peut présenter une superfétation, caractérisée par la présence de plus d'une couvée d'embryons en développement chez la même femelle (**Norazmi-Lokman et al., 2016**), c'est une adaptation reproductive pour réduire la charge reproductive des femmes pendant leur grossesse (**Pollux et al., 2009 ; Pires et al., 2010 ; Fleuren et al., 2019**) sans affecter leur fécondité (**Thibault & Schultz, 1978 ; Zúñiga-Vega et al., 2010 ; Fleuren et al., 2019**). Différents stades de développement embryonnaire ont été identifiés, à savoir, embryon précoce (stade de la tache oculaire), embryon tardif (stade du sac vitellin) et stades juvéniles (**Koya et al., 1998 ; Ganesh et al., 2015**). Les variations de développement s'atténuent au cours de la gestation ; en homogénéisant les portées avec la fin du développement (**Beldi, 2007**) pour qu'à la naissance, les alevins aient tous le même état de développement. Au moment de la parturition la femelle est animée de contractions abdominales, et prend part activement à l'expulsion des embryons (**Chambolle, 1970**). La femelle gravide met au monde (parturition) de 10 à 100 néonates par portée (maximum 314 aux Etats-Unis), toutes les 3 à 4 semaines à 25-30°C soit 3 à 5 fois dans l'année, de la fin du printemps (Mai) à la fin de l'été (fin Aout mi-Septembre) (**Chouahda, 2011**). Cependant, la taille à la naissance des alevins est liée au nombre d'alevins portés dont ils sont issus (**Meffe, 1987, 1990**).



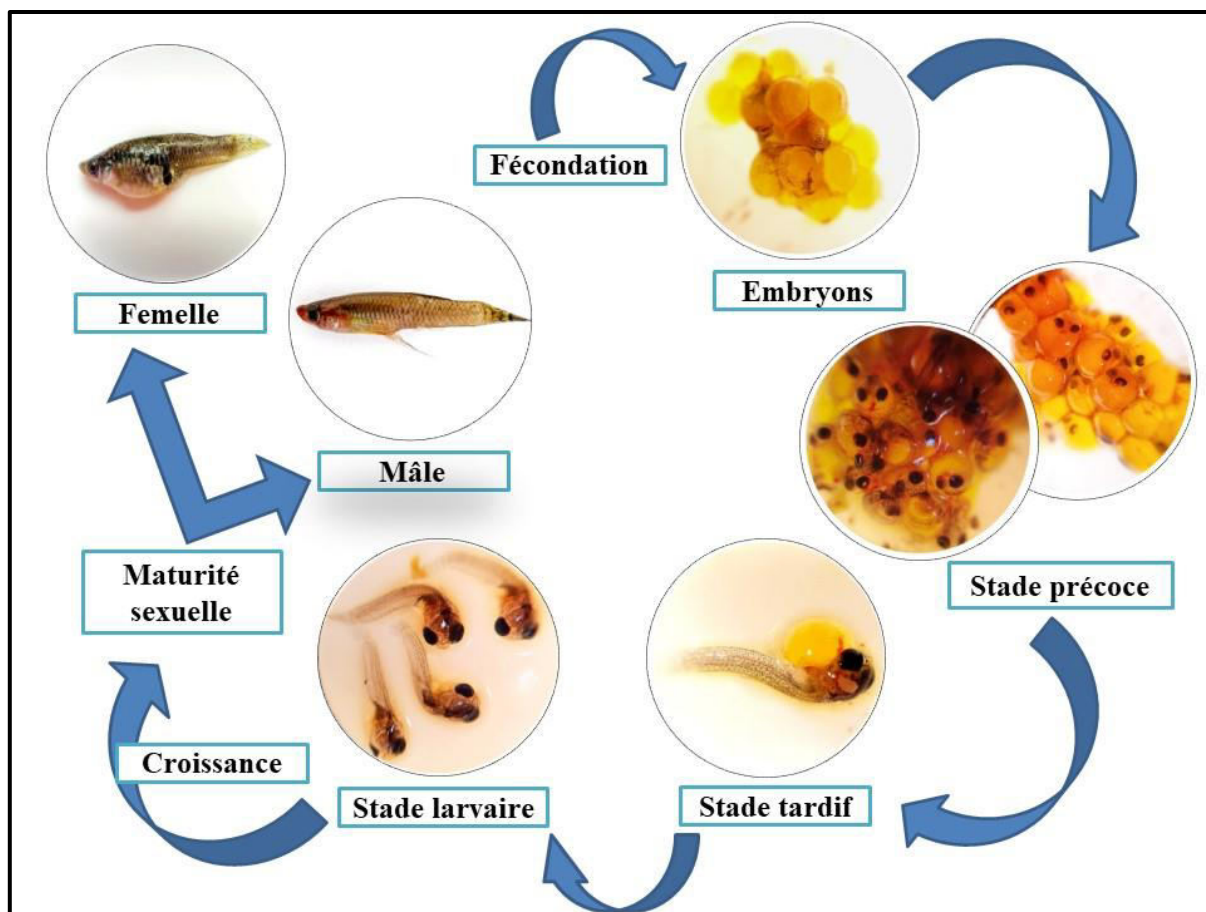


Figure 4. Cycle de reproduction de *G. affinis* (photo personnelle).

2.1.7. Choix de l'espèce pour l'étude toxicologique

La gambusie, *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) a été utilisée dans les expériences toxicologiques (Pyke, 2005 ; Kavitha & Venkaswara, 2007 ; Zaidi & Soltani, 2010), et le choix de cette espèce comme matériel biologique dans cette étude est motivé par :

- Son abondance dans les ruisseaux et les étangs de la région de Annaba ;
- Sa facilité d'élevage dans des aquariums grâce à sa robustesse et rusticité ;
- Sa haute résistance aux températures élevées, au manque d'oxygène et aux fortes turbidités ;
- Sa pertinence en tant que modèle pour les essais de toxicité.



2.2. Technique d'élevage

2.2.1. Localisation et présentation du site d'échantillonnage

L'échantillonnage a été pratiqué dans une retenue d'eau douce à Chbaita Mokhtar (El Tarf) ($36^{\circ}46'00,51''$ N et $7^{\circ}44'54,30''$ E) (**figure 5**) caractérisée par son éloignement des sources de pollution potentielles et apparentes (**figure 6**). La pêche a été effectuée à l'aide d'une grande épuisette (filet à manche) avec des ouvertures de mailles de 1 mm. Cette technique n'est pas agressive pour le milieu et permet de capturer les poissons vivants, aux conditions nécessaires à nos expérimentations.

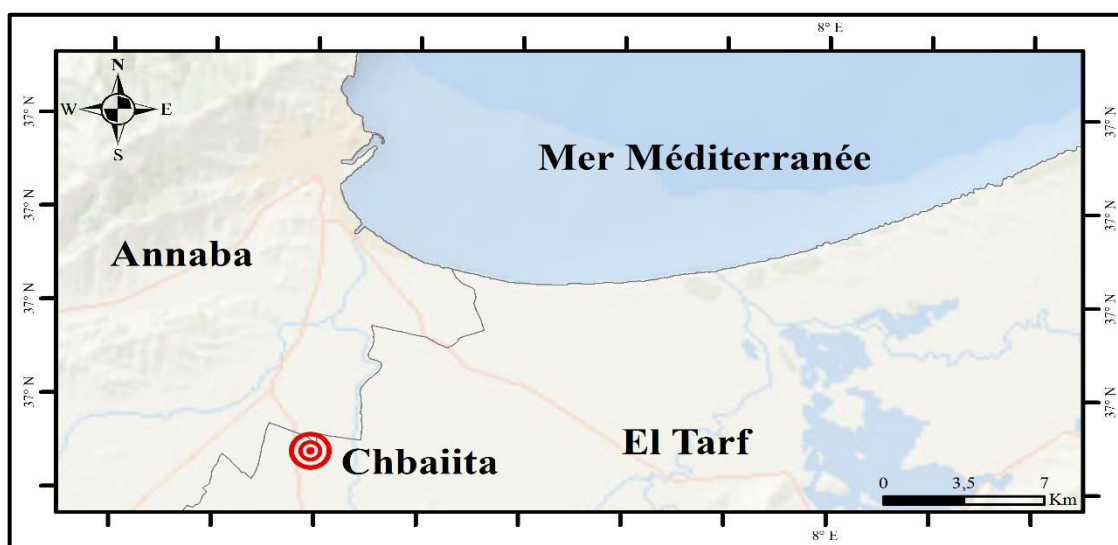


Figure 5. Localisation du site d'échantillonnage Chbaita Mokhtar, El Tarf (photo personnelle).



Figure 6. Site d'échantillonnage Chbaita Mokhtar, El Tarf (Photo personnelle).



2.2.2. Élevage des poissons

Les expérimentations ont été effectuées durant trois années (2016 ; 2017 ; 2018), au cours de la période de reproduction (Avril) et la période de repos sexuel (Novembre) de chaque année. Les Gambusies sont transférées au laboratoire dans des bacs en plastiques contenant de l'eau du site d'échantillonnage dans les heures qui suivent leurs pêches, pour être élevées au laboratoire. 200 individus de taille moyenne d'environ $38,6 \pm 3,4$ mm et de poids total moyen de $399,9 \pm 15,6$ mg, sont placées dans un aquarium d'une capacité de 80 litres contenant 50 litres d'eau de robinet, exposées préalablement à l'air libre pendant au moins 48h, afin d'éliminer l'hypochlorite de sodium (**Draredja-Beldi, 1993**). Les aquariums ont été munis de pompes à air (Nirox), de filtres et de diffuseurs, dans des conditions de laboratoire (Photopériode 14L : 10D ; Température $16,33 \pm 0,66$ °C ; pH $7,66 \pm 0,53$; Oxygène Dissous $14,52 \pm 6,65$ % ; Salinité $242,00 \pm 33,57$ mg.L⁻¹). Les Gambusies ont été quotidiennement nourries de Tetramin® (Tetrawerk, Allemagne), aliment fait à base de crevettes et de poissons déshydratés.



Figure 7. Elevage de *G. affinis* au laboratoire (90 x 31 x 38) (Photo personnelle).



2.3. Application de l'insecticide

2.3.1. Présentation de l'insecticide

Le thiaméthoxame est un insecticide de seconde génération, doté d'un large spectre d'activité et homologué en Algérie, est destiné au traitement des parties aériennes dans la lutte contre les insectes piqueurs suceurs et quelques insectes broyeur des pommiers, de la pomme de terre, des cultures légumières, du tabac, les fruits à pépins et les petits fruits. Il démontre un transport translaminaire et systémique acropétale à la fois dans les racines, les tiges et les feuilles. Il agit sur les insectes par contact et ingestion. La matière active interfère avec le récepteur acétyl-choline nicotinique du système nerveux ; déjà 1 heure voire 30 minutes après l'absorption d'Actara, l'insecte arrête de s'alimenter ; immobile et inactif, il meurt 1 jour plus tard. Il agit contre tous les stades larvaires et les adultes des insectes.

Selon la classification et l'étiquetage harmonisés [(ATP 01) « 1^{ère} Adaptation au Progrès Technique »] approuvé par l'Union européenne, cette substance est très toxique pour la vie aquatique avec des effets à long terme et est nocif en cas d'ingestion.

Tableau 2 : Fiche technique du thiaméthoxame (Actara).

Nom chimique	3-[(2-chloro-5-thiazolyl) methyl] tetrahydro-5-methyl-N-nitro-4H-1, 3, 5- oxadiazin-4-imine)
Nom commercial	ACTARA® 25WG
Type de pesticide	Insecticide
Types d'utilisations	Phyosanitaires
Groupe chimique (famille)	Néonicotinoïdes
Sous-classe	Thianicotinyls
Classe toxicologique	Classe C (cancérogène)
Formule chimique	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S
Hydrosolubilité (mg.L⁻¹)	4100
Demi-vie, sols aérobies (j)	121
Demi-vie, tissus végétaux (j)	4,4
Dose journalière admissible	0,6 mg.Kg ⁻¹ poids corporel /jour
Le taux d'application recommandé pour les cucurbitacées et les légumes-fruits	140 g /ha



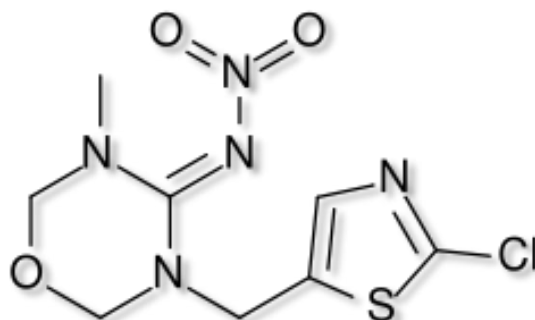


Figure 8. Structure Chimique du thiaméthoxame.

2.4. Traitements

2.4.1. Toxicité aigüe

Afin de déterminer la CL50 du thiaméthoxame, correspondant à la concentration qui induit la mortalité de 50% de la population, différentes concentrations (20 ; 70 ; 80 ; 85 ; 95 ; 100 mg.L⁻¹) de matière active ont été additionnées à l'eau d'élevage des femelles adultes de *G. affinis*. Chaque concentration a été additionnée dans 4 bacs remplis chacun d'un litre d'eau de robinet et contenant 10 individus. Un suivi quotidien a été effectué à la même heure tout au long du bioessai (24h) et les individus morts sont aussitôt enlevés des bacs.

Pour les différentes concentrations, les pourcentages de mortalité observée ont été déterminés à 24 heures puis corrigés selon la formule d'**Abbott, (1925)** afin d'éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages de mortalité corrigée subissent ensuite une transformation angulaire selon les tables de **Bliss, (1938)**, citées par **Fisher & Yates, (1957)** puis font l'objet d'une analyse de la variance à deux critères de classification afin d'évaluer les effets du pesticide et du temps. Le test HSD (Honest Significant Difference) de Tukey permet le classement des doses puis une régression non linéaire, exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme de la dose, précise la concentration létale (CL50) des femelles adultes avec leur intervalle de confiance.





Figure 9. Toxicité aigüe de l'Actara chez les femelles de *G. affinis* (photo personnelle).

2.4.2. Toxicité chronique

Les concentrations utilisées pour la présente expérience de toxicité chronique ont été choisies à la lueur des bioessais précédents à savoir la $CL_{50-24h} = 84,7 \text{ mg.L}^{-1}$.

L'expérience est divisée en deux phases, **la première** concerne l'exposition des femelles de *G. affinis* à différentes concentrations du thiaméthoxame : 10 ; 20 et 40 mg.L^{-1} de la matière active (thiaméthoxame), additionnées dans de l'eau de robinet pendant 28 Jours. Pour se faire, chaque concentration est additionnée à un aquarium (90 x 30 x 30 cm) contenant 40 individus. **La deuxième** phase est dite de dépuración qui correspond au transfert des individus dans de l'eau de robinet non contaminée et les y laisser pendant 28 jours. Le dernier jour d'exposition à l'insecticide (28 jours) est considéré comme 0 jour pour la phase de dépuración. Pour chaque expérience les individus non traités ont été utilisés comme témoins. Au cours des deux phases un prélèvement des échantillons a été effectué à 0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours afin d'évaluer leurs effets sur les paramètres biométriques (taille et poids totaux), mais aussi, sur l'activité enzymatique des biomarqueurs de l'acétylcholinestérase, la glutathion-S-transférase, et des taux de protéines carbonylées ainsi que les vitellines.

L'ensemble de l'expérience, à savoir les deux phases d'exposition et de dépuración, est effectué pendant les deux périodes de vie de la gambusie : au cours de la période de reproduction pendant le mois d'Avril de l'année 2018, et la période de repos sexuel pendant le mois de Novembre de l'année 2018.



2.5. Analyse de la croissance

2.5.1. Mensurations et prélèvement des organes

La taille totale (L), est la distance entre l'extrémité de la nageoire caudale et l'extrémité du maxillaire où le poisson doit être bien étalé sur une règle (**Kerstant, 1985**). Les corps entiers ainsi que les différents organes ont été pesés à l'aide d'une balance de précision OHAUS. L'anesthésie est réalisée à l'aide de l'éther éthylique, dans laquelle le poisson est immergé quelques minutes (3-5 mn) jusqu'à ce que ses opercules cessent de battre (**Kah, 1986**). Le poisson est fixé latéralement sur une plaque de paraffine. La dissection est réalisée sous loupe binoculaire, une incision est faite de l'orifice urogénital jusqu'aux opercules. Une fois le tégument dégagé, l'ovaire ainsi que l'hépatopancréas sont récupérés (**Beldi, 2007**). Les organes prélevés sont pesés puis conservés dans les produits de conservation correspondants aux différents dosages biochimiques.

2.6. Analyse des indices organo-somatiques

2.6.1. Rapport gonado-somatique

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

$$GS = \frac{PG}{PT} \times 100$$

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

2.6.2. Rapport hépato-somatique

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

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

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

2.6.3. Coefficient de condition

Le coefficient de condition s'exprime par la formule de **LeCren, (1951)** :

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

P : poids frais total du corps (mg), L : longueur totale (mm).



2.7. Analyses des biomarqueurs

2.7.1. Dosage de l'acétylcholinestérase

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) est mesurée au niveau du cerveau des individus prélevés au cours des deux phases de l'expérience (exposition et dépuration) pour les différents temps considérés (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours) pour les deux périodes de reproduction 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 quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique et révélée grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (Le dithiobisnitrobenzoate ou DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

Les échantillons sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente (38,03 mg éthylène glycol tris-bêta-aminoéthyl éther NNNN'ou EGTA, 1 ml triton X 100%, 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris 10mMn, pH 7) à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons (Sonifer B-30) puis centrifugés à 5000 tours/min pendant 5 minutes. Le surnageant est utilisé immédiatement pour la mesure de l'activité AChE.

L'activité spécifique de l'AChE est déterminée comme suit :

100 μ l de surnageant sont additionnés à 100 μ l de DTNB (0,1 M, pH 8) (39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃ Na, dans 10 ml tris 0,1 M pH 7) et 1 ml du tampon tris (0,1 M pH7)



Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée



100 μ l de substrat acétylthiocholine iodide (23,6 mg ASCh dans 1 ml d'eau distillée) sont ajoutés.



La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente (100 μ l).



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

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

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

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

$1,36 \times 10^4$: 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.

2.7.2. Dosage du glutathion S-transférase

L'activité de la glutathion-S-transférase mesurée au cours des deux phases de l'expérience (exposition et dépuración) pour les différents temps considérés (0, 7, 14, 21 et 28 jours) pour les deux périodes de reproduction, au niveau du hépatopancréas des individus prélevés selon la méthode de **Habig et al. (1974)**, qui consiste à fournir à l'enzyme un substrat : le 1-chloro-2,4 dinitrobenzène (CDNB), qui réagit facilement avec le glutathion réduit. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle, qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

Les hépatopancréas des femelles témoins et traitées sont homogénéisés dans 1 ml du tampon d'homogénéisation (20 ml de tampon phosphate 0,1 M, pH = 7 ; 1,71 g saccharose) pendant quelques secondes à l'aide d'un broyeur à ultrasons (Sonifer B-30). L'homogénat hépatique ainsi obtenu est centrifugé à 5000 tours/min et le surnageant servira au dosage de l'activité de la GST.



Le protocole utilisé pour le dosage de l'activité de la GST est le suivant :

200 µl de surnageant est ajouté à 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5mM) ;
(20,26 mg CDNB ; 153,65 mg GSH ; 100 ml tampon phosphate 0,1 M pH 7).



La variation de la densité optique due à l'apparition du complexe CDNB-GSH est mesurée toute la 1 minute pendant 5 minutes à 340 nm dans un spectrophotomètre (SHIMADZI-UV-1202), contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec 200 µl d'eau distillée remplaçant le surnageant.

L'activité spécifique de la GST est déterminée par la formule :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / mg \text{ de protéines}$$

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

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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.7.3. Extraction et dosage des protéines carbonylées

La détermination des protéines carbonylées se fait au niveau du tube digestif des individus prélevés au cours des deux phases de l'expérience (exposition et dépuration) pour les différents temps considérés (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours) par spectrophotométrie, pour les deux périodes de reproduction.

Le dosage est basé sur la réaction du 2,4- dinitrophenylhydrazine (DNPH) avec les groupements carbonyles formant des 2,4- dinitrophenylhydrazones de couleur jaune, le DNPH se fixe aux groupements carbonyles mole à mole. Les teneurs en dérivés carbonylés sont déterminées selon la méthode de **Levine *et al.* (1990)** modifiée par **Mesquita *et al.* (2014)**.



MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le tissu est homogénéisé dans 1 ml du tampon phosphate (50 mM, pH 7,4) contenant 200 µl de l'Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA ; 1mM) puis incubé pendant 15 min à température ambiante. Un blanc (sans DNPH) a été réalisé. L'ensemble est centrifugé (14000 rpm pendant 10 min).

Pour le calcul des proportions des protéines carbonylées :

100 µl de l'homogénat sont prélevés pour être utilisés dans le dosage des protéines totales (Bradford, 1976). 500 µl d'homogénat sont mélangés avec 500 µl d'une solution à 10 mM de 2,4dinitrophénylhydrazine (DNPH) dans de l'acide chlorhydrique HCL (2 M), puis 100µl de streptomycine sulfate (10 % dans 50 mmol/L de tampon HEPES, pH 7,2) est ajoutée pour précipiter les acides nucléiques.



L'ensemble est incubé pendant 1h à température ambiante et à l'obscurité en agitant toutes les 10 à 15 min. Ensuite, du TCA (0,5 ml à 20 %) est additionné dans chaque tube pour précipiter les protéines.



Après homogénéisation au vortex, les tubes sont centrifugés à 10000 rpm pendant 5min. Le 2,4-DNPH n'ayant pas réagi est éliminé par 3 lavages successifs du culot dans un mélange éthanol/éthyle acétate (1:1 v/v)



Puis centrifugé à nouveau à 6 000rpm pendant 10 min. Le culot est remis en suspension dans 0,5 ml de solution de guanidine (6 M) est incubé pendant 15 min à 37 °C puis tout matériel insoluble a été enlevé par une centrifugation à 10000 rpm pendant 5 minutes afin d'éliminer les débris insolubles.



L'absorbance du surnageant a été lue à 370 nm et les résultats sont exprimés en mM par mg de protéines grâce à l'utilisation du coefficient d'absorbance molaire de la 2,4 dinitrophénylhydrazone formée (22 000 M⁻¹cm⁻¹).

Le contenu en carbonyles est ensuite normalisé par la concentration finale de protéines totales mesurées au spectrophotomètre (WPA). Les teneurs en protéines sont estimées par la méthode colorimétrique au bleu de Coomassie (Bradford, 1976). La gamme



d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) contenant 1 mg/ml.

Le coefficient d'extinction (ϵ) de la dinitrophénylhydrazine à 375 nm est de 22 000 M⁻¹ cm⁻¹. Lorsque l'absorbance de l'échantillon est lue à 375 nm contre le blanc, la teneur en carbonyle est calculée :

Protein Carbonyl (M) = A_{375 nm} / 22,000 M⁻¹ (en cas d'utilisation d'une cuvette de 1 cm de largeur)

Protein Carbonyl (nmol/mL) = A_{375 nm} x 45.45 (nmol/mL)

Protein Carbonyl (nmol/mg) = Protein Carbonyl (nmol/mL) / Protein Concentration (mg/mL)

$$\text{carbonyl (nmol carbonyl/mg de protein)} = \frac{A_{370} \times 45,45 \text{ (nmol/ml)}}{\text{protein concentration (mg/ml)}}$$

A₃₇₀ : Densité optique / absorbance.

Protein concentration (mg/ml) : quantité de protéines exprimée.

2.7.4. Dosage des vitellines

➤ Technique d'extraction

L'extraction des vitellines est réalisée selon la méthode de **Descamps, 1996** in **Fabre et al. (1990)** au niveau de l'ovaire des échantillons prélevés au cours des deux phases de l'expérience (exposition et dépuration) pour les différents temps considérés (0, 7, 14, 21 et 28 jours) pour la période de reproduction.

Les échantillons biologiques, conservés dans 500µl de tampon d'extraction¹ Tris-HCl-NaCl (pH 7,4), sont broyés aux ultrasons puis l'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 5000 tours/min pendant 10 minutes. Après centrifugation, trois couches distinctes sont visibles mais seule la couche intermédiaire contient les vitellogénines ou les vitellines (en fonction des échantillons). Celle-ci, récupérée à l'aide d'une seringue est ensuite déposée dans un tube Eppendorf puis tous les échantillons sont maintenus au froid (-20°C) jusqu'au dosage.



¹La préparation de la solution mère de Tris-HCl consiste à diluer 3,02g de Tris (0,5M) dans 300 ml d'eau distillée puis cette solution est ajustée à un PH de 7,4 en utilisant de l'HCl concentré ; le tout est complété avec 500 ml d'eau distillée.

Pour réaliser le tampon complet : diluer 2,9g de NaCl (0,5M) dans 10 ml de la solution mère de Tris-HCl et compléter à 100 ml d'eau distillée.

➤ Dosage des vitellines

Les vitellines ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford, (1976)**. Le dosage des vitellines chez *G. affinis* a été effectué dans une fraction aliquote de 100 µl. La lecture des absorbances se fait à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

2.7.5. Dosage des protéines

La quantification des protéines a été faite selon **Bradford, (1976)** sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat, avec le bleu brillant de Coomassie (G 250, Merck) 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). L'albumine de sérum de bœuf (Sigma, France) a été utilisée comme standard. Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm, et la gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution d'albumine à 1 mg/ml selon le tableau 2 ci- dessous.

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

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



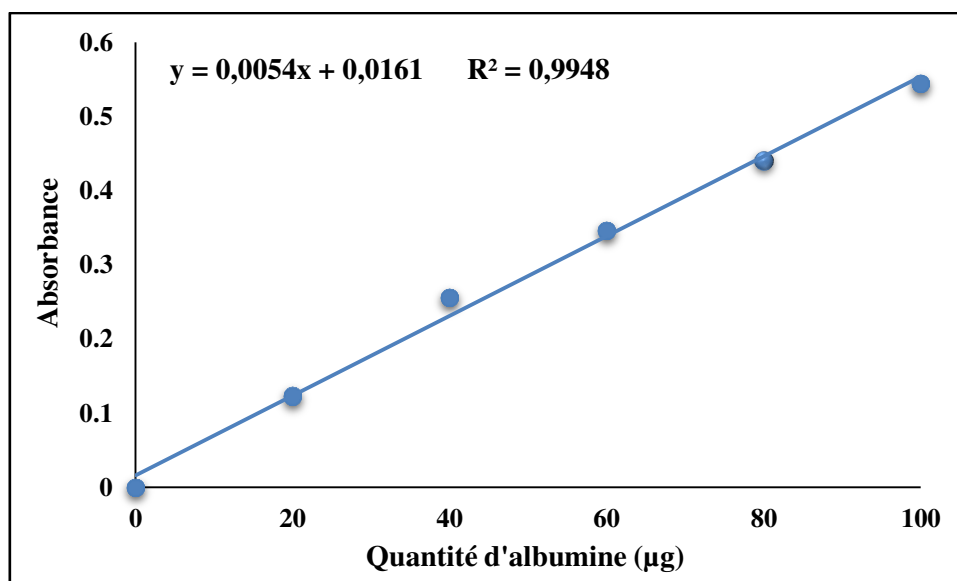


Figure 10. Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (µg) (R^2 : coefficient de détermination).

2.8. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne arithmétique plus ou moins l'écart type (Moyenne \pm SEM). La régression linéaire ainsi que l'analyse de la variance à un critère de classification ont été réalisées respectivement grâce au logiciel PRISM version 7 française d'analyse et de traitement statistique des données. L'homogénéité des variances est confirmée préalablement par les tests de Bartlett et de Brown-Forsythe. Dans le cas de non égalité des variances, une normalisation des données est alors effectuée (**Dagnelie, 1998**).

Différents tests ont été utilisés : régression linéaire pour la détermination des différentes droites de régression ; les activités spécifiques des biomarqueurs ont été déterminées à partir de cette dernière exprimant la densité optique en fonction du temps ; l'analyse de la variance (ANOVA) à deux critères de classification (traitement, temps) a été utilisée afin de comparer les moyennes deux à deux. De plus, le test de Tukey nous permet de classer les différentes moyennes, et de déterminer les différences entre les groupes étudiés



RÉSULTATS

« Je suis de ceux qui pensent que la science est d'une grande beauté. Un scientifique dans son laboratoire est non seulement un technicien : il est aussi un enfant placé devant des phénomènes naturels qui l'impressionnent comme des contes de fées. »

Marie Curie.

3. RÉSULTATS

3.1. Toxicité aigüe du thiaméthoxame chez les femelles de *G. affinis*

Le thiaméthoxame a été appliqué à différentes concentrations (20 ; 70 ; 80 ; 85 ; 95 et 100 mg.L⁻¹) dans l'eau de robinet dans quatre bacs contenant chacun 10 individus de *G. affinis*. Les mortalités enregistrées au cours des tests de toxicité varient de 2,5 ± 2,5 % à la dose la plus faible (20 mg.L⁻¹) à 100 ± 0 % à la dose la plus forte (100 mg.L⁻¹) (**tableau 4**). La mortalité naturelle enregistrée chez la série témoin est nulle.

L'analyse de la variance à un critère de classification effectuée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les concentrations utilisées. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 6 groupes (**figure 11**).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme de la dose appliquée (**figure 12**) a permis l'estimation de la valeur de la concentration létale (CL50) ainsi que son intervalle de confiance et le Hill Slope.

Tableau 4 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L⁻¹) à l'égard des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24h : mortalité corrigées (%) ($m \pm SEM$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg.L ⁻¹)	20	70	80	85	95	100
R1	10	10	20	20	100	100
R2	0	10	50	50	100	100
R3	0	10	50	80	50	100
R4	0	10	10	50	50	100
m ± SEM	2,5 ± 2,5	10 ± 0	32,5 ± 10,31	50 ± 12,25	75 ± 14,43	100 ± 0



Tableau 5 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) à l'égard des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24h : transformation angulaire ($m \pm \text{SEM}$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentrations (mg.L^{-1})	20	70	80	85	95	100
R1	18,43	18,43	26,57	26,57	84,26	84,26
R2	0	18,43	45,00	45,00	84,26	84,26
R3	0	18,43	45,00	63,43	45,00	84,26
R4	0	18,43	18,43	45,00	45,00	84,26
m \pm SEM	4,61 \pm 4,61	18,43 \pm 0	33,75 \pm 6,70	45 \pm 7,52	64,63 \pm 11,33	84,26 \pm 0

Tableau 6 : Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) à l'égard des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24h : transformation en probits ($m \pm \text{SEM}$; $n = 4$ répétitions comportantes chacune 10 individus).

Concentrations (mg.L^{-1})	20	70	80	85	95	100
Mortalités corrigées	2,50	10,00	32,50	50,00	75,00	100,00
Probits	3,0400	3,7184	4,5462	5,0000	5,6745	8,7190

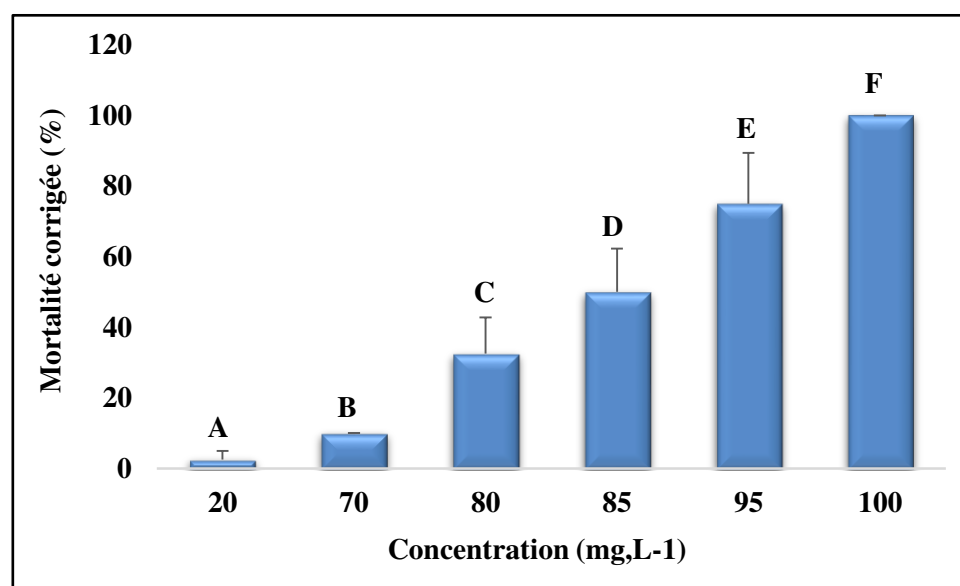


Figure 11. Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}), à l'égard des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24h : Mortalité corrigée (% des stades immatures ($m \pm \text{SEM}$, $n = 4$ répétitions de 10 individus)). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.



Tableau 7: Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}) après une exposition de 24h des femelles adultes de *G. affinis* : analyse des probits de la CL50 (IC : intervalle de confiance).

Traitement	Droite de régression	Slope	CL50 (IC)
Thiaméthoxame	$Y = 1,0595X - 34,298$	2,19	84,70 (81,70 - 87,81)

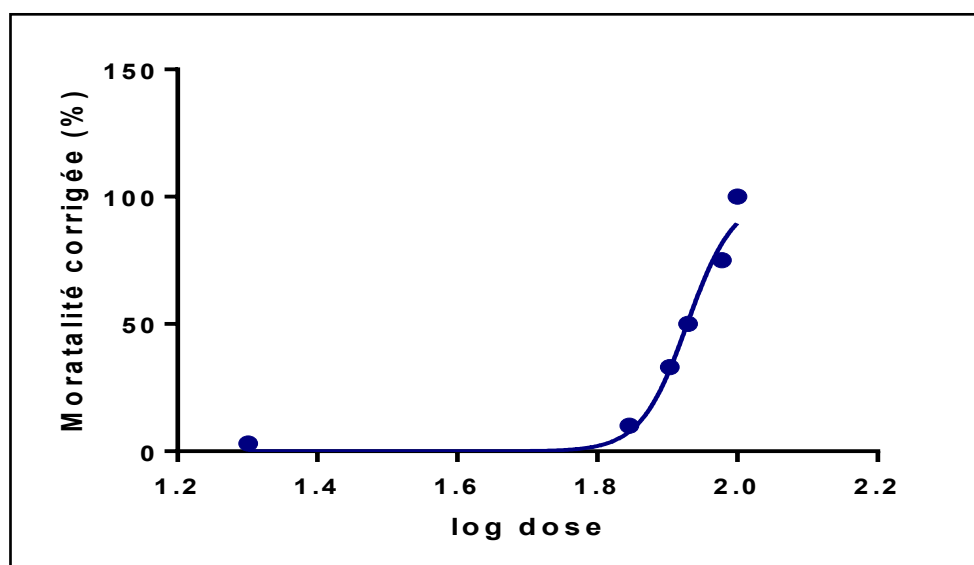


Figure 12. Toxicité du thiaméthoxame (mg.L^{-1}), à l'égard des femelles adultes de *G. affinis* après une exposition de 24h : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée chez les femelles de *G. affinis* en fonction du logarithme de la dose. $R^2 = 97,64\%$.

3.2. Effet de l'Actara sur la morphométrie durant l'exposition et la dépuración chez les femelles de *G. affinis*

Le thiaméthoxame (matière active de l'Actara) a été testé à trois concentrations différentes, 10 ; 20 et 40 mg.L^{-1} sur la morphométrie des femelles de *G. affinis* exposées en continu (28 jours) à l'insecticide. La taille totale (longueur) et le poids corporel total des poissons ont été déterminés à différents temps : de la phase de traitement (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours) et de la phase de dépuración (7 ; 14 ; 21 et 28 jours) chez les séries témoins et traitées.



3.2.1. Effet sur la morphométrie de *G. affinis* en période de reproduction

3.2.1.1. Taille totale

Les résultats obtenus de l'effet du thiaméthoxame sur la taille totale en période de reproduction, représentés dans la **figure 13** ci-dessous, révèlent que le thiaméthoxame n'affecte pas la taille totale des femelles de *G. affinis*.

La variation de la taille totale des femelles **durant le traitement** montre une taille individuelle minimale de 37 ± 1 mm chez la série témoin, et maximale de $42,5 \pm 0,5$ mm chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} de thiaméthoxame au 28^{ème} jour d'exposition. **Durant la dépuración**, la taille totale minimale était de $34 \pm 0,91$ mm chez la série témoin, et maximale de $41,5 \pm 1,5$ mm chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} de thiaméthoxame au 7^{ème} jour de dépuración (**tableau 25**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (traitement, temps) en période de reproduction montre (**tableau 8**) un effet temps significatif ($F_{5, 72} = 6,813$; $P < 0,0001$), mais un effet traitement ($F_{3, 72} = 0,762$; $P = 0,5191$) et une interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,5658$; $P = 0,8913$) non significatifs durant la **phase de traitement** ; tandis que, durant la **phase de dépuración** les effets temps ($F_{3, 48} = 13,6$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 48} = 6,356$; $P = 0,0010$) significatifs ont été enregistrés cependant l'interaction traitement/temps ($F_{9, 48} = 1,417$; $P = 0,2075$) n'était pas significative.



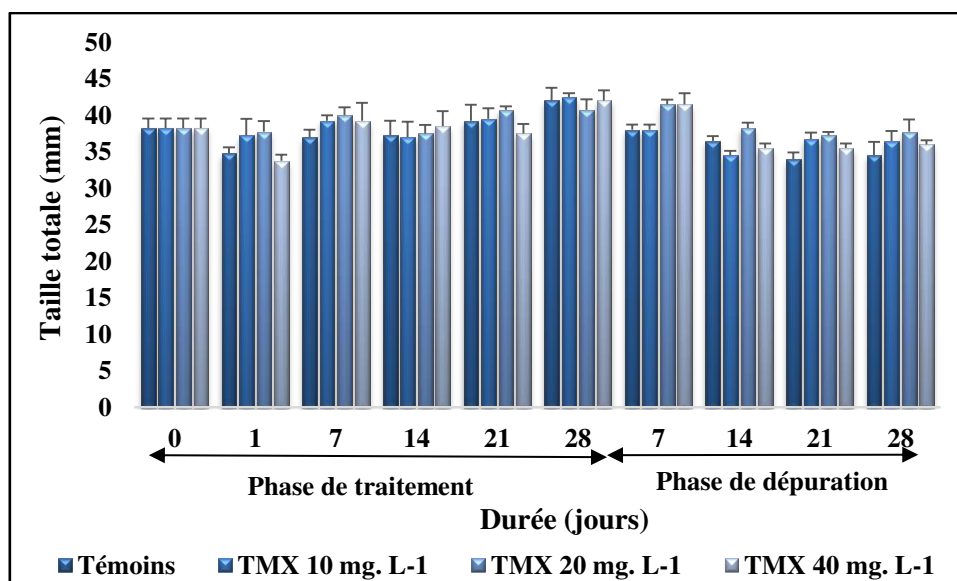


Figure 13. Effet du thiaméthoxame sur la taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n=4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p<0,05$; **: différence significative à $p<0,01$; ***: différence significative à $p<0,001$).

3.2.1.2. Poids total

Les résultats obtenus de l'effet du thiaméthoxame en période de reproduction sur le poids total sont représentés dans la **figure 14** ci-dessous. La variation du poids total des femelles durant le **traitement** montre un poids total individuel minimal de $378,1 \pm 26,98$ mg chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} de thiaméthoxame après 14 jours d'exposition, et maximal de $427,1 \pm 30,06$ mg chez la série témoin au 0 jour de l'expérience. Durant la **dépuración**, le poids total minimal est de $572,1 \pm 9,60$ mg chez la série témoin au 7^{ème} jour de l'expérience, et maximal est de $616 \pm 10,15$ mg chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} de thiaméthoxame au 14^{ème} jour de dépuración (**tableau 26**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) des poissons exposés en période de reproduction (**tableau 9**) ne montre pas d'effets temps ($F_{5,72} = 1,152$; $P= 0,3413$), traitement ($F_{3,72} = 0,07469$; $P= 0,9734$) et interaction traitement/temps ($F_{15,72} = 0,05116$; $P>0,9999$) significatifs durant la **phase de traitement** ; tandis que, durant la **phase de dépuración** des effets temps ($F_{3,48} = 4,235$; $P= 0,0098$), traitement ($F_{3,48} = 7,606$;



$P= 0,0003$) significatifs et l'interaction traitement/temps ($F_{9, 48} = 0,4433$; $P= 0,9044$) non significative ont été enregistrés.

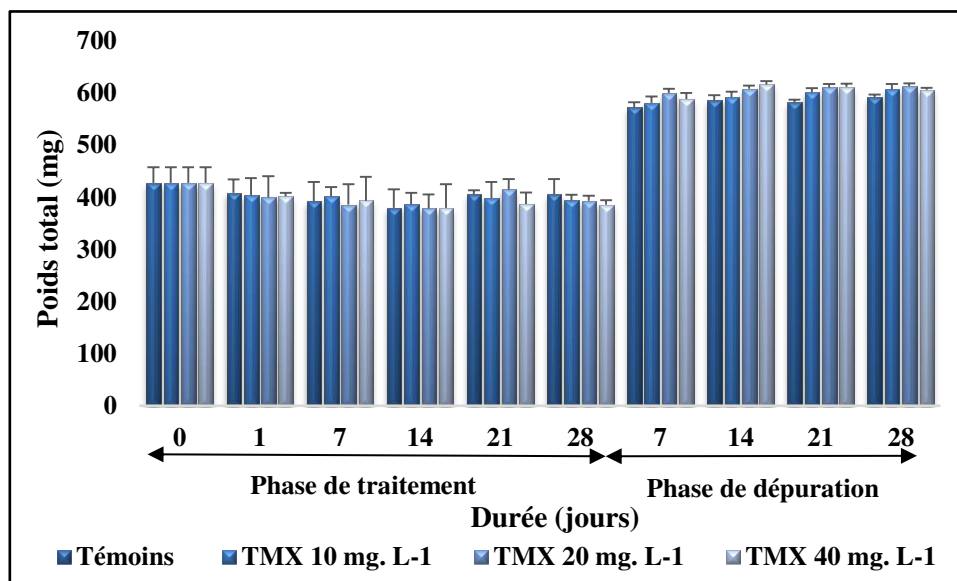


Figure 14. Effet du thiaméthoxame sur le poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n= 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p<0,05$; **: différence significative à $p<0,01$; ***: différence significative à $p<0,001$).



Tableau 8 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur la taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	312,7	62,54	6,807	<0,0001***	3	162,4	54,13	13,6	<0,0001***
Traitement	3	18,75	6,25	0,6803	0,5670 NS	3	75,88	25,29	6,356	<0,0010 **
Interaction temps/traitement	15	80,38	5,358	0,5832	0,8785 NS	9	50,75	5,639	1,417	0,2075 NS
Erreur Résiduelle	72	661,5	9,187			48	191	3,979		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 9 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	19170	3834	1,152	0,3413 NS	3	3473	1158	4,235	<0,0098 **
Traitement	3	745,8	248,6	0,07469	0,9734 NS	3	6237	2079	7,606	<0,0003 ***
Interaction temps/traitement	15	2555	170,3	0,05116	>0,9999 NS	9	1091	121,2	0,4433	0,9044 NS
Erreur Résiduelle	72	239671	3329			48	13121	273,3		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



3.2.2. Effet sur la morphométrie de *G. affinis* en période de repos

3.2.2.1. Taille totale

Les résultats obtenus de l'effet du thiaméthoxame sur la taille totale en période de repos représentés dans la **figure 15** ci-dessous, révèlent que le thiaméthoxame n'affecte pas la taille totale des femelles de *G. affinis*.

La variation de la taille totale des femelles durant **le traitement** montre une taille individuelle minimale de $31,5 \pm 0,29$ mm chez la série témoin au 1^{er} jour de l'expérience, et maximale de $43,5 \pm 0,96$ mm chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} de thiaméthoxame au 28^{ème} jour d'exposition. Durant **la dépuración**, la taille totale minimale a été de $31,75 \pm 0,63$ mm chez la série témoin au 21^{ème} jour de l'étude de dépuración, et maximale de $41,5 \pm 1,50$ mm chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} de thiaméthoxame au 7^{ème} jour de dépuración (**tableau 27**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (traitement, temps) en période de repos (**tableau 10**) montrent un effet temps ($F_{5, 72} = 68,58$; $P < 0,0001$) significatif, mais pas d'effet significatifs traitement ($F_{3, 72} = 1,265$; $P = 0,2928$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 1,736$; $P = 0,0627$) durant la **phase de traitement** ; la même signification d'effets a été enregistré durant la **phase de dépuración**, temps ($F_{3, 48} = 26,94$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 48} = 2,358$; $P = 0,0834$) et l'interaction traitement/temps ($F_{9, 48} = 1,186$; $P = 0,3256$).



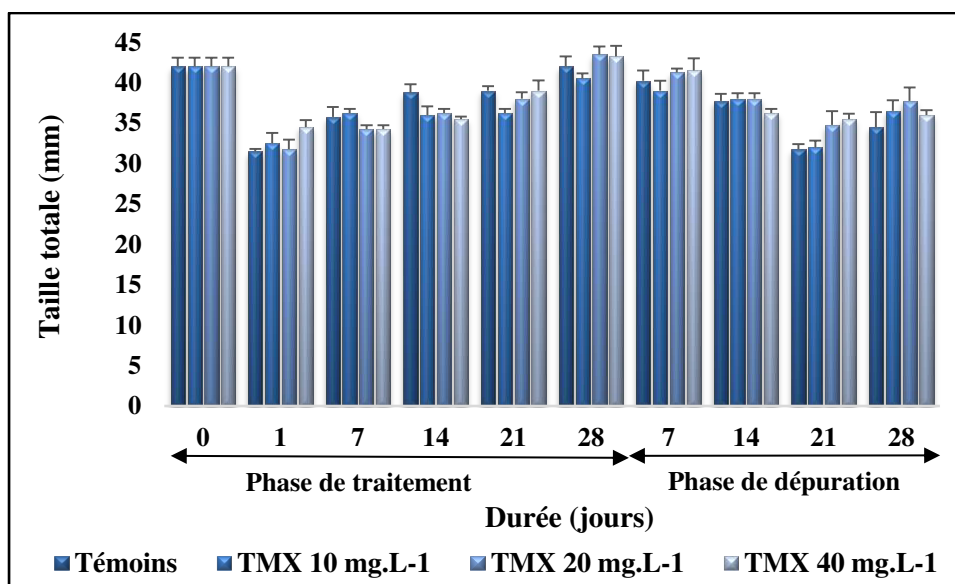


Figure 15. Effet du thiaméthoxame sur la taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuraton (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.2.2.2. Poids total

Les résultats obtenus de l'effet du thiaméthoxame sur le poids total en période de repos sont représentés dans la **figure 16** ci-dessous. La variation du poids total des femelles durant **le traitement** montre un poids total individuel minimal de $387,6 \pm 0,87$ mg chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} de thiaméthoxame après 21 jour d'exposition, et maximal de $389,5 \pm 0,26$ mg chez la série témoin au 1^{er} jour de l'expérience. Durant **la dépuraton**, le poids total minimal était de $385 \pm 0,21$ mg chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} après le 7^{ème} jour de dépuraton, et maximal de $385,8 \pm 0,23$ mg chez la série témoin au dernier jour de l'étude de dépuraton (**tableau 28**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuraton.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) des poissons exposés en période de repos (**tableau 11**) ne montre pas d'effets temps ($F_{5, 72} = 0,7618$; $P = 0,5803$), traitement ($F_{3, 72} = 2,671$; $P = 0,0539$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,7432$; $P = 0,7330$) significatifs durant la **phase de traitement** ; de même, durant la **phase de dépuraton**, temps ($F_{3, 48} = 1,51$; $P = 0,2238$), traitement ($F_{3, 48} = 1,976$; $P = 0,1301$) et interaction traitement/temps ($F_{9, 48} = 1,121$; $P = 0,3669$).



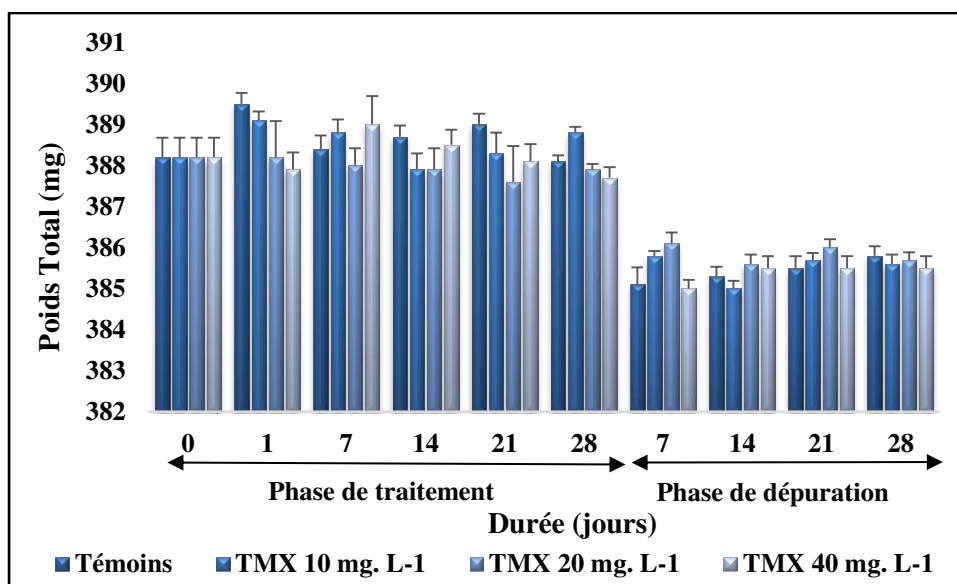


Figure 16. Effet du thiaméthoxame sur le poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).



Tableau 10 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur la taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	1185	236,9	68,58	<0,0001 ***	3	406,2	135,4	26,94	<0,0001 ***
Traitement	3	13,11	4,372	1,265	0,2928 NS	3	35,55	11,85	2,358	0,0834 NS
Interaction temps/traitement	15	89,95	5,997	1,736	0,0627 NS	9	53,64	5,96	1,186	0,3256 NS
Erreur Résiduelle	72	248,8	3,455			48	241,3	5,026		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 11 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	3,467	0,6934	0,7618	0,5803 NS	3	1,162	0,3873	1,51	0,2238 NS
Traitement	3	7,292	2,431	2,671	0,0539 NS	3	1,521	0,5069	1,976	0,1301 NS
Interaction temps/traitement	15	10,15	0,6764	0,7432	0,7330 NS	9	2,587	0,2874	1,121	0,3669 NS
Erreur Résiduelle	72	65,53	0,9101			48	12,31	0,2565		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



3.3. Effet du thiaméthoxame sur les indices organo-somatiques durant l'exposition et la dépuración chez les femelles de *G. affinis*

Les effets du thiaméthoxame à différentes concentrations (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹) ont été examinés sur les divers indices organo-somatiques chez les femelles de *G. affinis* exposées en continu (28 jours) à l'insecticide. Ainsi, le rapport gonado-somatique (RGS), le rapport hépato-somatique (RHS) et l'indice de condition (K) ont été déterminés à différents temps d'exposition (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours) et de dépuración (7 ; 14 ; 21 et 28 jours) en période de reproduction et de repos sexuels chez les séries témoins et traitées.

3.3.1. Effet sur les indices métriques de *G. affinis* en période de reproduction

3.3.1.1. Rapport gonado-somatique

Les résultats obtenus représentés dans la **figure 17** et le **tableau 12** montrent que le thiaméthoxame n'affecte pas le rapport gonado-somatique des femelles de *G. affinis*. Durant le **traitement**, il atteint une valeur minimale de $17,92 \pm 1,40$ chez la série témoin au 1^{er} jour de l'expérience et une valeur maximale de $29,86 \pm 1,64$ chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ au 28^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame. Cependant, durant la **dépuración** une valeur minimale de $21,63 \pm 0,78$ chez la série traitée à 20 mg.L⁻¹ après 7 jours de dépuración et une valeur maximale de $26,37 \pm 0,77$ après 21 jours de dépuración chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ ont été enregistrées (**tableau 29**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse statistique des données par AV2, révèle que durant la **phase de traitement** il y a un effet temps ($F_{5, 72} = 6,485$; $P < 0,0001$) significatif, mais pas d'effet traitement ($F_{3, 72} = 1,502$; $P = 0,2213$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,3769$; $P = 0,9810$) significatifs. Concernant la **phase de dépuración** aucun effet significatif, temps ($F_{3, 48} = 1,601$; $P = 0,2015$), traitement ($F_{3, 48} = 2,299$; $P = 0,0893$) et interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 1,25$; $P = 0,2882$) ont été enregistrés.



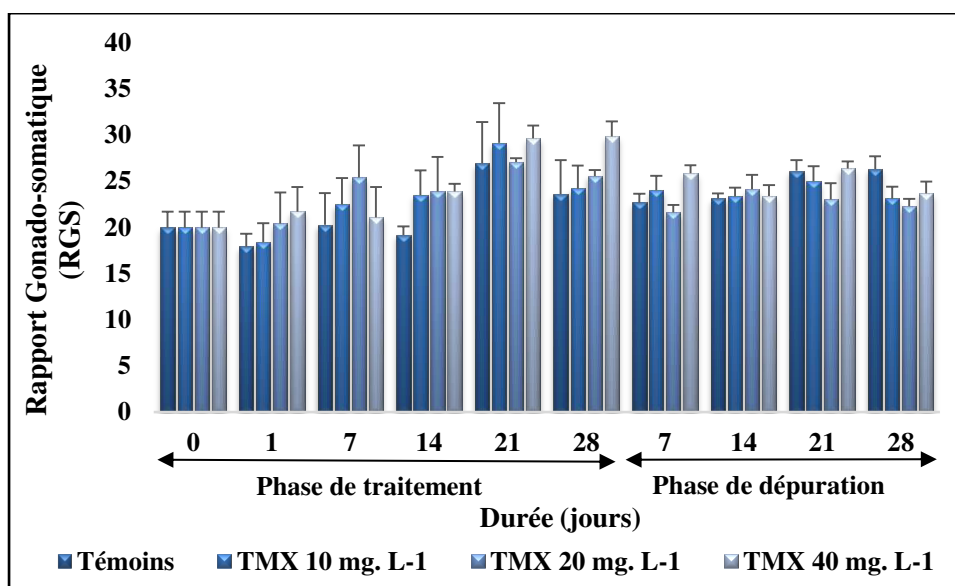


Figure 17. Effet du thiaméthoxame sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.3.1.2. Rapport hépato-somatique

Les résultats obtenus résumés dans la **figure 18** et le **tableau 13** montrent que le thiaméthoxame n'affecte pas le rapport hépato-somatique des femelles de *G. affinis* en période d'activité sexuelle. Durant **le traitement** la valeur minimale enregistrée de $0,07 \pm 0,025$ chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} au 28^{ème} jour d'exposition et la valeur maximale de $0,16 \pm 0,023$ chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} après 24 heure d'exposition. Durant **la dépuración**, une valeur minimale de $0,30 \pm 0,002$ chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} après 7 jours de dépuración et une valeur maximale de $0,31 \pm 0,001$ après 21 jours de dépuración chez la série témoin ont été enregistrés (**tableau 30**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.



L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) pendant la période de reproduction, révèle que durant la **phase de traitement** aucune différence significative pour le temps ($F_{5, 72} = 0,633$; $P = 0,6747$), le traitement ($F_{3, 72} = 2,143$; $P = 0,1023$) ainsi que l'interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,3792$; $P = 0,9805$) n'a été enregistrée, de même durant la **phase de dépuración**, pas d'effet temps ($F_{3, 48} = 2,409$; $P = 0,0785$), traitement ($F_{3, 48} = 2,255$; $P = 0,0940$) et interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 0,6908$; $P = 0,7136$) n'ont été enregistrés.

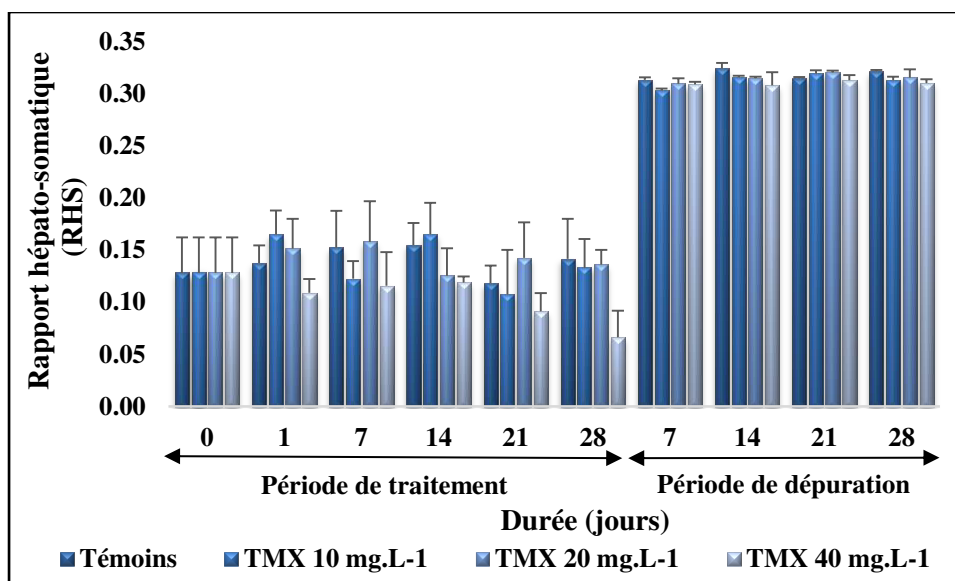


Figure 18. Effet du thiaméthoxame sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.3.1.3. Indice de condition

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 19** et le **tableau 14** ci-dessous, révèlent que le thiaméthoxame affecte l'indice de condition des femelles de *G. affinis* en période d'activité sexuelle, où il atteint une valeur minimale durant la **phase traitement** de $0,86 \pm 0,02$ chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} au 21^{ème} jours d'exposition au thiaméthoxame et une valeur maximale de $1,19 \pm 0,02$ chez la série témoin au 21^{ème} jour de l'expérience. Concernant la **phase dépuración**, la valeur minimale était de $0,85 \pm 0,05$ chez la série témoin après 7 jours de l'étude de dépuración, et la valeur maximale de $1,01 \pm 0,03$ chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} au 7^{ème} jour de dépuración (**tableau 31**).



La comparaison des moyennes par le test de « tukey » durant la phase de traitement indique une différence significative ($p=0,0014$) à la concentration 40 mg.L^{-1} du thiaméthoxame à partir 21^{ème} jour comparativement aux témoins, cependant durant la phase de dépuración aucune différence significative n'a été observé pour les trois concentrations comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) pendant la période de reproduction, révèle que durant la **phase de traitement** des effets significatifs temps ($F_{5, 72} = 2,798$; $P=0,0230$), traitement ($F_{3, 72} = 3,821$; $P= 0,0134$) ont été enregistrés mais l'interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 1,795$; $P= 0,0521$) était non significative. Durant la **phase de dépuración**, aucune signification n'a été enregistrée pour le temps ($F_{3, 48} = 1,121$; $P= 0,3498$), le traitement ($F_{3, 48} = 2,32$; $P= 0,0871$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 1,425$; $P= 0,2043$).

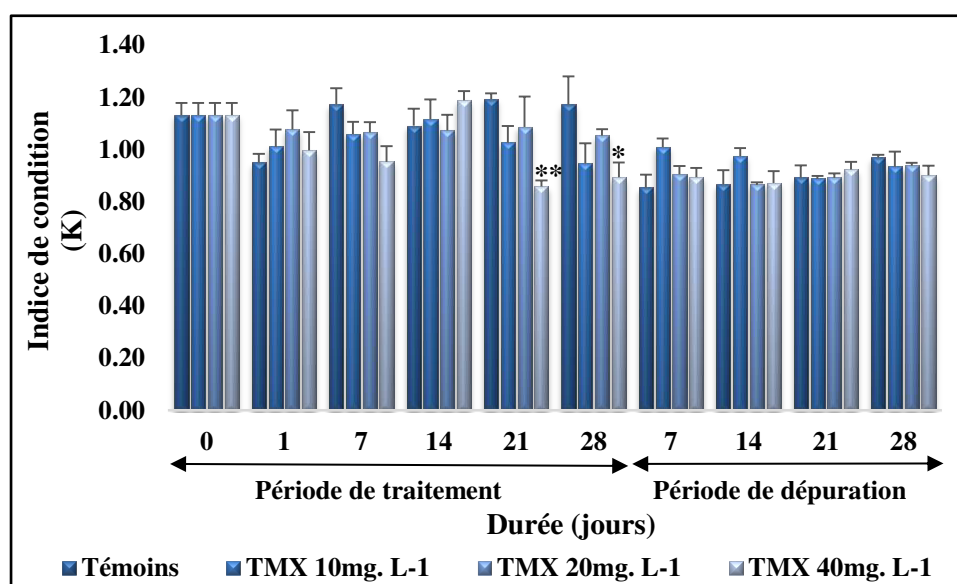


Figure 19. Effet du thiaméthoxame sur l'indice de condition (K) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n= 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p<0,05$; **: différence significative à $p<0,01$; ***: différence significative à $p<0,001$).



Tableau 12 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	897,5	179,5	6,485	<0,0001 ***	3	28,03	9,344	1,601	0,2015 NS
Traitement	3	124,7	41,57	1,502	0,2213 NS	3	40,26	13,42	2,299	0,0893 NS
Interaction temps/traitement	15	156,5	10,43	0,3769	0,9810 NS	9	65,7	7,3	1,25	0,2882 NS
Erreur Résiduelle	72	1993	27,68			48	280,2	5,838		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 13 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	0,01016	0,002031	0,6336	0,6747 NS	3	0,0006451	0,000215	2,409	0,0785 NS
Traitement	3	0,02061	0,006869	2,143	0,1023 NS	3	0,0006039	0,0002013	2,255	0,0940 NS
Interaction temps/traitement	15	0,01824	0,001216	0,3792	0,9805 NS	9	0,000555	6,167e-005	0,6908	0,7136 NS
Erreur Résiduelle	72	0,2308	0,003206			48	0,004285	8,927e-005		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 14 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'indice de condition (K) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	0,2115	0,04231	2,798	0,0230 *	3	0,0169	0,005632	1,121	0,3498 NS
Traitement	3	0,1734	0,05779	3,821	0,0134 *	3	0,03497	0,01166	2,32	0,0871 NS
Interaction temps/traitement	15	0,4071	0,02714	1,795	0,0521 NS	9	0,06441	0,007157	1,425	0,2043 NS
Erreur Résiduelle	72	1,089	0,01512			48	0,2411	0,005023		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



3.3.2. Effet sur les indices organo-métriques de *G. affinis* en période de repos

3.3.2.1. Rapport gonado-somatique

Les résultats obtenus représentés dans la **figure 20** et le **tableau 15** montrent que le thiaméthoxame n'affecte pas le rapport gonado-somatique des femelles de *G. affinis* en période de repos. Durant **le traitement**, il atteint une valeur minimale de $1,05 \pm 0,02$ chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} au 28^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame, et une valeur maximale de $2,94 \pm 0,04$ chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} au 1^{er} jour d'exposition au thiaméthoxame. Durant **la dépuración**, une valeur minimale de $1,69 \pm 0,01$ chez la série témoin après 14 jours de l'étude de dépuración et une valeur maximale de $1,82 \pm 0,01$ après 7 jours de dépuración chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} (**tableau 32**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse statistique des données par ANOVA à 2 critères de classification, révèle que durant la **phase de traitement** il y a un effet temps significatif ($F_{5, 72} = 1287$; $P < 0,0001$) mais pas d'effet traitement ($F_{3, 72} = 1,131$; $P = 0,3424$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 1,423$; $P = 0,1603$) significatifs. Concernant la **phase de dépuración** aucune signification pour le temps ($F_{3, 48} = 0,9088$; $P = 0,4438$), le traitement ($F_{3, 48} = 2,545$; $P = 0,0670$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 1,068$; $P = 0,4029$) n'a été enregistrée.



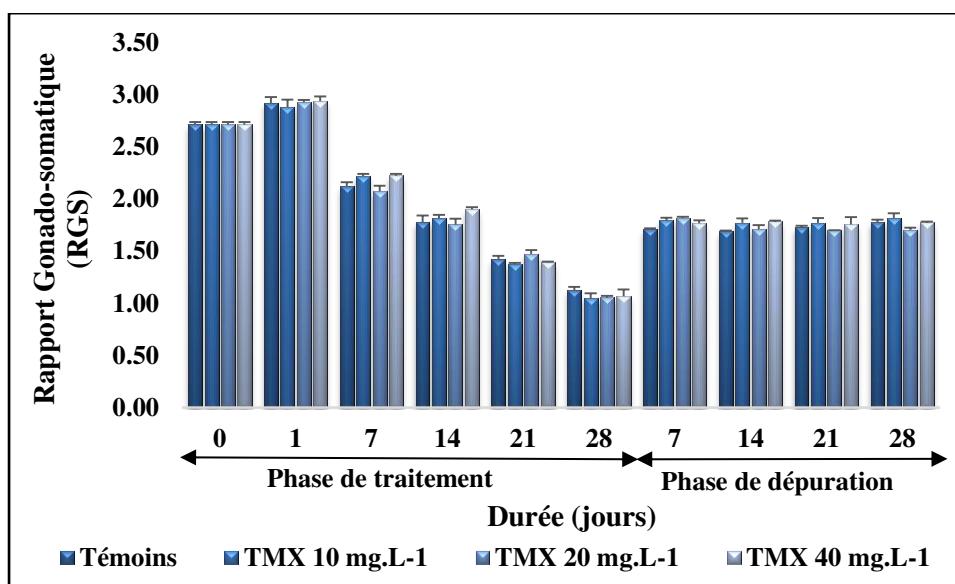


Figure 20. Effet du thiaméthoxame sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.3.2.2. Rapport hépto-somatique

Les résultats obtenus représentés dans la **figure 21** et le **tableau 16** montrent que le thiaméthoxame n'affecte pas le rapport hépto-somatique des femelles de *G. affinis* en période de repos sexuel. Durant le **traitement** la valeur minimale était de $0,11 \pm 0,003$ chez la série témoin au 21^{ème} jour de l'expérience et la valeur maximale de $0,32 \pm 0,007$ chez la série témoin à 0 jour de l'expérience. Durant la **dépuración** une valeur minimale de $0,29 \pm 0,024$ chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} après 7 jours de dépuración et une valeur maximale de $0,35 \pm 0,015$ après 21 jours de dépuración chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} (**tableau 33**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) pendant la période de repos, révèle que durant la **phase de traitement** un effet significatif pour le temps ($F_{5, 72} = 1399$; $P < 0,0001$) est enregistré, tandis qu'il ne l'est pas pour le traitement ($F_{3, 72} = 0,3975$; $P = 0,7552$) et l'interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 1,85$; $P = 0,0437$). Durant la **phase de dépuración** aucun effet n'a été enregistré pour le temps ($F_{3, 48} = 1,112$; $P = 0,3537$), le traitement ($F_{3, 48} = 2,206$; $P = 0,0995$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 0,6379$; $P = 0,7590$).



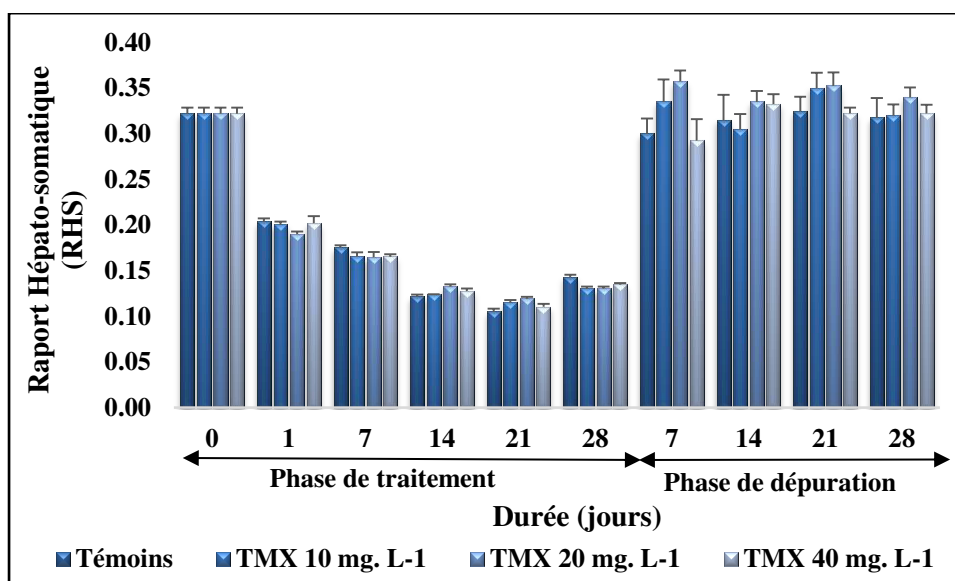


Figure 21. Effet du thiaméthoxame sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.3.2.3. Indice de condition

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 22** et le **tableau 17** ci-dessous, révèlent que le thiaméthoxame n'affecte pas l'indice de condition des femelles de *G. affinis* en période de repos sexuel, où il atteint une valeur minimale durant la **phase traitement** de $0,92 \pm 0,03$ chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} au 21^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame et une valeur maximale de $1,20 \pm 0,05$ chez la série traitée à 20 mg.L^{-1} au 7^{ème} jour d'exposition. Pour la **phase dépuración**, la valeur minimale était de $0,68 \pm 0,04$ chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} après 7 jours de dépuración et la valeur maximale de $0,88 \pm 0,04$ chez la série témoin au 21^{ème} jour de l'étude de dépuración (**tableau 34**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » ne présente aucune différence significative entre les trois concentrations comparativement aux témoins durant les phases de traitement et de dépuración.



L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) pendant la période de repos, révèle que durant la **phase de traitement** un effet significatif temps ($F_{5, 72} = 20$; $P < 0,0001$), et pas d'effets significatifs pour le traitement ($F_{3, 72} = 0,9629$; $P = 0,4151$) et l'interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,7528$; $P = 0,7232$) ont été enregistrés. Durant la **phase de dépuración**, aucun effet significatif n'a été enregistré pour le temps ($F_{3, 48} = 1,819$; $P = 0,1564$), le traitement ($F_{3, 48} = 1,831$; $P = 0,1541$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 1,14$; $P = 0,3545$).

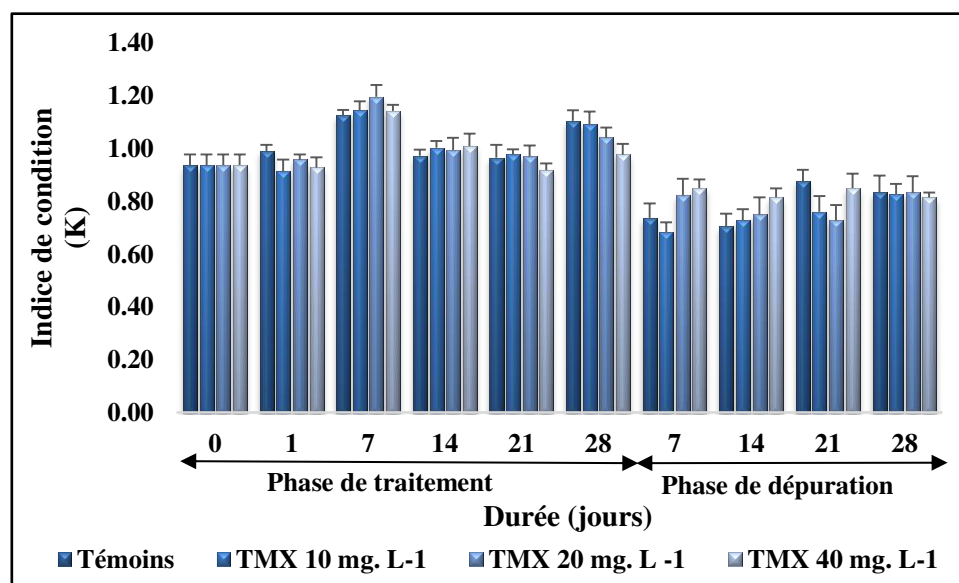


Figure 22. Effet du thiaméthoxame sur l'indice de condition (K) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).



Tableau 15 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	41,75	8,35	1287	<0,0001 ***	3	0,0132	0,004402	0,9088	0,4438 NS
Traitement	3	0,02201	0,007337	1,131	0,3424 NS	3	0,03698	0,01233	2,545	0,0670 NS
Interaction temps/traitement	15	0,1385	0,009231	1,423	0,1603 NS	9	0,04656	0,005174	1,068	0,4029 NS
Erreur Résiduelle	72	0,4671	0,006488			48	0,2325	0,004843		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 16 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	0,4815	0,0963	1399	<0,0001 ***	3	0,003706	0,001235	1,112	0,3537 NS
Traitement	3	8,208e-005	2,736e-005	0,3975	0,7552 NS	3	0,007356	0,002452	2,206	0,0995 NS
Interaction temps/traitement	15	0,00191	0,0001273	1,85	0,0437 *	9	0,006381	0,000709	0,6379	0,7590 NS
Erreur Résiduelle	72	0,004956	6,883e-005			48	0,05335	0,001111		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 17 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'indice de condition (K) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	0,5459	0,1092	20	<0,0001 ***	3	0,05555	0,01852	1,819	0,1564 NS
Traitement	3	0,01577	0,005256	0,9629	0,4151 NS	3	0,05593	0,01864	1,831	0,1541 NS
Interaction temps/traitement	15	0,06164	0,004109	0,7528	0,7232 NS	9	0,1045	0,01161	1,14	0,3545 NS
Erreur Résiduelle	72	0,393	0,005459			48	0,4888	0,01018		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



3.4. Effet du thiaméthoxame sur les biomarqueurs chez *G. affinis*

L'effet du thiaméthoxame sur les différents biomarqueurs AChE, GST, PCo et taux des vitellines ont été déterminés chez les femelles adultes de *G. affinis* pendant les deux périodes du cycle de reproduction (activité et repos sexuel), pour les deux phases, à savoir, phase de traitement (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours) et phase de dépuración (7 ; 14 ; 21 et 28 jours) aux différentes concentrations du thiaméthoxame 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹.

3.4.1. Effet sur les biomarqueurs chez *G. affinis* en période de reproduction

3.4.1.1. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est déterminée selon la méthode d'Ellman *et al.* (1961) au niveau du cerveau des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les deux phases (traitement et dépuración). L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase a été calculée par les pentes des équations de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une inhibition de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase marquée dans le temps avec l'augmentation des doses comparativement aux témoins (**figure 23**). Elle est estimée à $12,30 \pm 0,44$ nM/min/mg de protéines chez la série traitée à 10 mg.L⁻¹ contre $13,73 \pm 0,08$ nM/min/mg de protéines chez la série témoin après 1 jour d'exposition au thiaméthoxame. L'inhibition de l'activité de l'AChE continue à diminuer jusqu'à atteindre une valeur de $6,15 \pm 0,44$ nM/min/mg de protéines chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ contre $10,82 \pm 0,31$ nM/min/mg de protéines chez la série témoin le dernier jour d'exposition (28^{ème} jours). Durant la **phase de dépuración** on remarque que l'activité enzymatique de l'AChE a été restaurée chez l'ensemble des séries témoins et traitées où elle passe de la valeur de $1,17 \pm 0,01$ nM/min/mg de protéines après 7 jours à $11,20 \pm 0,10$ nM/min/mg de protéines, chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ après le 28^{ème} jour de dépuración (**tableau 35**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » durant la phase de traitement indique une inhibition hautement significative ($p < 0,001$) de l'activité spécifique de l'AChE chez les individus traités à la concentration la plus élevée 40 mg.L⁻¹ du thiaméthoxame comparativement aux témoins après le 1 jour d'exposition et à partir du 14^{ème} jour durant la phase de dépuración.



L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase révèle des effets temps ($F_{5, 72} = 149,7$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 72} = 64,8$; $P < 0,0001$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 4,701$; $P < 0,0001$), significatifs durant la **phase de traitement**. De même durant la **phase de dépuración**, pour le temps ($F_{3, 48} = 5981$; $P < 0,0001$), le traitement ($F_{3, 48} = 334,5$; $P < 0,0001$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 81,95$; $P < 0,0001$) (**tableau 18**).

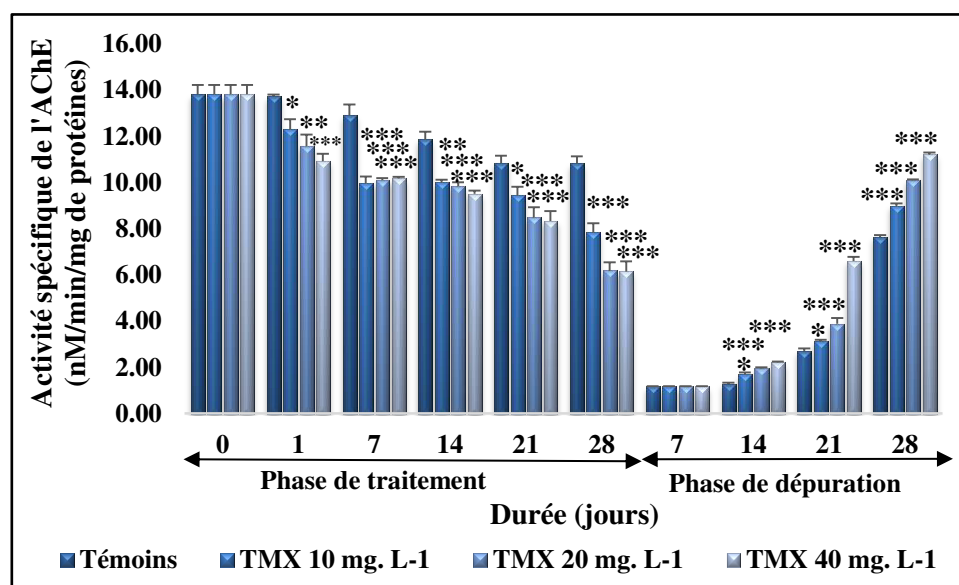


Figure 23. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM/min/mg de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n = 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

3.4.1.2. Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase

L'activité enzymatique de la glutathion S-transférase est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)** au niveau de l'hépatopancréas des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les deux phases (traitement et dépuración).

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une induction marquée de l'activité enzymatique de la GST à partir du 14^{ème} jour d'exposition pour les 3 concentrations (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹) par rapport aux témoins (**figure 24**). L'induction la plus importante a été enregistré chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ avec $0,24 \pm 0,009$ nM/min/mg de protéines contre $0,04 \pm 0,006$ nM/min/mg de protéines chez la série témoin, puis continue d'augmenter progressivement avec le temps jusqu'à atteindre une valeur de $0,44 \pm 0,017$ à la fin du traitement contre



0,04 ± 0,003 nM/min/mg de protéines chez la série témoin. Durant la **phase de dépuración**, on remarque que l'activité enzymatique de la GST a été restaurée chez l'ensemble des séries témoins et traitées où elle passe d'une valeur de 0,25 ± 0,002 nM/min/mg de protéines après 7 jours de dépuración à 0,02 ± 0,002 nM/min/mg de protéines, chez la série traitée à 40mg.L⁻¹ après le 28^{ème} jour de dépuración (**tableau 36**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » durant la phase de traitement indique une induction hautement significative (p<0,001) chez les individus traités à la concentration la plus élevée 40 mg.L⁻¹ du thiaméthoxame comparativement aux témoins à partir 14^{ème} jour d'exposition. Cependant durant la phase de dépuración une différence hautement significative (p<0,001) a été observé à partir du 7^{ème} jour pour les individus traités aux trois concentrations comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) de l'activité de la GST révèle des effets significatifs pour le temps (F_{5, 72} = 201,8 ; P<0,0001), le traitement (F_{3, 72} = 121,9 ; P<0,0001) et l'interaction traitement/temps (F_{15, 72} = 27,16 ; P<0,0001), durant la **phase de traitement**. Les mêmes effets ont été enregistrés, durant la **phase de dépuración** pour le temps (F_{3, 48} = 759,3 ; P<0,0001), le traitement (F_{3, 48} = 73,38 ; P<0,0001) et l'interaction temps/traitement (F_{9, 48} = 9,494 ; P<0,0001) (**tableau 19**).

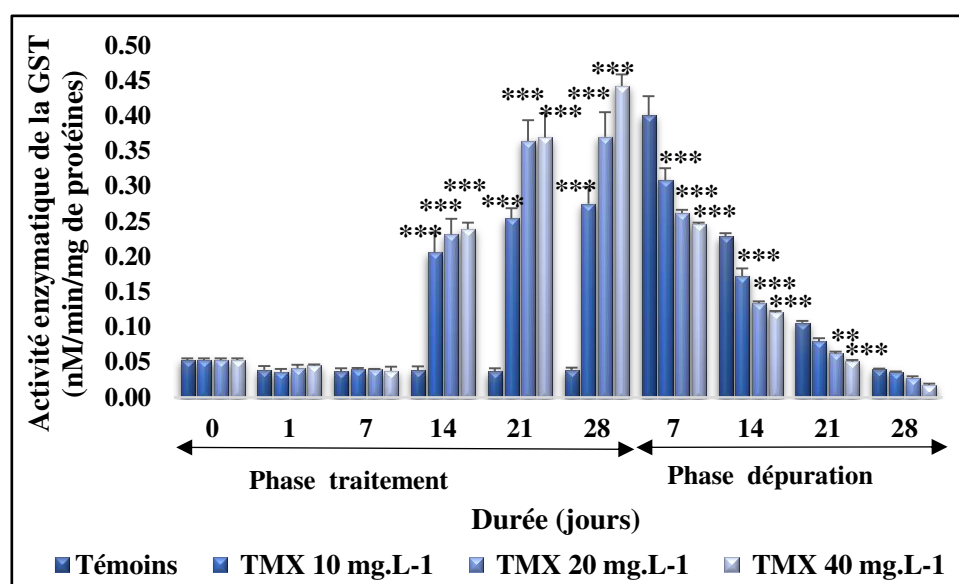


Figure 24. Effet du thiaméthoxame sur l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (nM/min/mg de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne ± SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à p<0,05 ; **: différence significative à p<0,01 ; ***: différence significative à p<0,001).



3.4.1.3. Effet sur le taux des protéines carbonylées

Le taux des protéines carbonylées a été exprimé chez les femelles adultes de *G. affinis* pendant la période de reproduction durant la phase d'exposition au thiaméthoxame et la phase de déuration selon la méthode de **Levine *et al.* (1990)** modifiée par **Mesquita *et al.* (2014)**.

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une augmentation marquée du taux des protéines carbonylées par rapport aux témoins (**figure 25**). En effet, nos résultats démontrent que chez les individus traités une augmentation des taux est noté à partir du 7^{ème} jour d'exposition pour la concentration 40 mg.L⁻¹ et du 14^{ème} jour pour les concentrations 10 mg.L⁻¹ et 20 mg.L⁻¹. Les taux d'induction les plus importants ont été enregistrés chez les traitées à 20 mg.L⁻¹ et 40 mg.L⁻¹ avec une valeur de $78,27 \pm 0,44$ nmol/mg de protéines et $78,81 \pm 1,29$ nmol/mg de protéines respectivement au 28^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame. Durant la **phase de déuration**, on remarque que le taux des protéines carbonylées a été restauré chez l'ensemble des séries témoins et traitées à partir du 7^{ème} jour de déuration, où le taux le plus important passe d'une valeur de $29,82 \pm 0,79$ nmol/mg de protéines à une valeur de $12,48 \pm 0,32$ nmol/mg de protéines chez la série traité à 40 mg.L⁻¹ au 28^{ème} jour de déuration (**tableau 37**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » indique une induction hautement significative ($p < 0,001$) chez les individus traités à la concentration la plus élevée 40 mg.L⁻¹ du thiaméthoxame à partir 7^{ème} jour et à partir du 14^{ème} jour chez les individus traités aux deux concentrations 20 et 40 mg.L⁻¹ du thiaméthoxame comparativement aux témoins durant la phase de traitement. Durant la phase de déuration une différence hautement significative ($p < 0,001$) a été observé pour les individus traités aux trois concentrations à partir du 7^{ème} jour comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) du taux des protéines carbonylées révèle durant la **phase traitement** des effets significatifs pour le temps ($F_{5, 72} = 87,68$; $P < 0,0001$), le traitement ($F_{3, 72} = 30,74$; $P < 0,0001$) et l'interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 4,515$; $P < 0,0001$). De même, durant la **phase déuration** pour le temps ($F_{3, 48} = 641,8$; $P < 0,0001$), le traitement ($F_{3, 48} = 612,5$; $P < 0,0001$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 31,75$; $P < 0,0001$) (**tableau 20**).



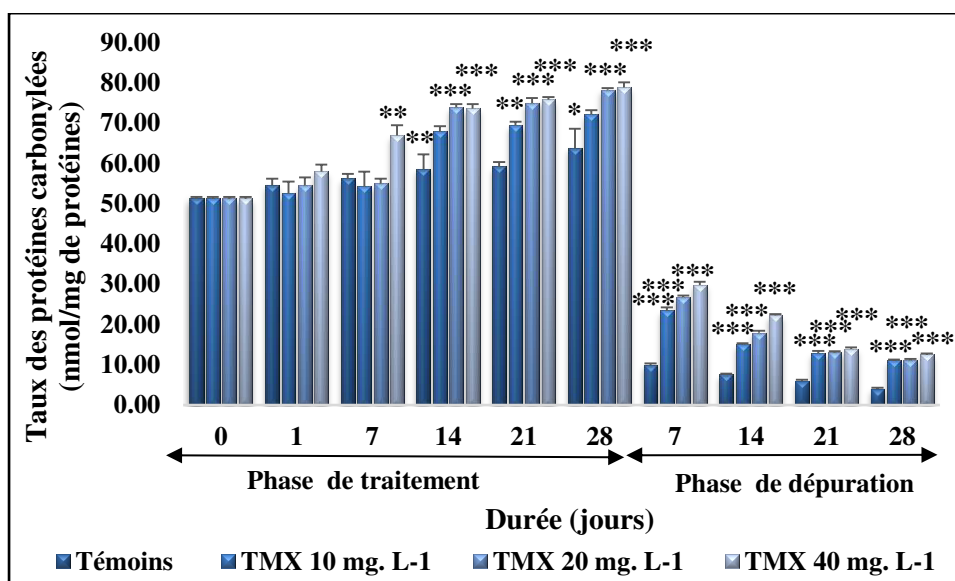


Figure 25. Effet du thiaméthoxame sur le taux des protéines carbonylées (nmol/mg de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).



Tableau 18 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	363,7	72,73	149,7	<0,0001 ***	3	686,6	228,9	5981	<0,0001***
Traitement	3	94,46	31,49	64,8	<0,0001 ***	3	38,4	12,8	334,5	<0,0001***
Interaction temps/traitement	15	34,26	2,284	4,701	<0,0001 ***	9	28,22	3,136	81,95	<0,0001***
Erreur Résiduelle	72	34,98	0,4859			48	1,837	0,03826		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 19 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion S-transférase des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	1,003	0,2007	201,8	<0,0001 ***	3	0,7014	0,2338	759,3	<0,0001 ***
Traitement	3	0,3635	0,1212	121,9	<0,0001 ***	3	0,06779	0,0226	73,38	<0,0001 ***
Interaction temps/traitement	15	0,4052	0,02701	27,16	<0,0001 ***	9	0,02631	0,002924	9,494	<0,0001 ***
Erreur Résiduelle	72	0,07159	0,0009944			48	0,01478	0,0003079		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 20 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de dépuración				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	6566	1313	87,68	<0,0001 ***	3	1568	522,8	641,8	<0,0001 ***
Traitement	3	1381	460,4	30,74	<0,0001 ***	3	1497	498,9	612,5	<0,0001 ***
Interaction temps/traitement	15	1014	67,63	4,515	<0,0001 ***	9	232,7	25,86	31,75	<0,0001 ***
Erreur Résiduelle	72	1078	14,98			48	39,1	0,8146		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



3.4.1.4. Effet de l'Actara sur le taux des vitellines

Le taux de vitellines est déterminé selon la méthode de **Descamps, 1996 in Fabre et al. (1990)** au niveau des ovaires des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une diminution progressive avec le temps du taux des vitellines ovariennes par rapport aux témoins (**figure 26**). En effet, on enregistre une valeur minimale de $0,13 \pm 0,03$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines chez la série traitée à $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de thiaméthoxame au dernier jour d'exposition contre une valeur maximale de $0,61 \pm 0,04$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines chez la série témoin à 0 jour de traitement (**tableau 38**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » indique une différence hautement significative ($p < 0,001$) durant la phase de traitement au 28^{ème} jour d'exposition chez les individus traités à la concentration la plus élevée du thiaméthoxame $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) du taux des vitellines durant la **phase de traitement** révèle des effets temps ($F_{5, 72} = 77,37$; $P < 0,0001$) et traitement ($F_{3, 72} = 6,371$; $P = 0,0007$) significatifs mais une interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 0,5361$; $P = 0,9115$) non significative (**tableau 21**).

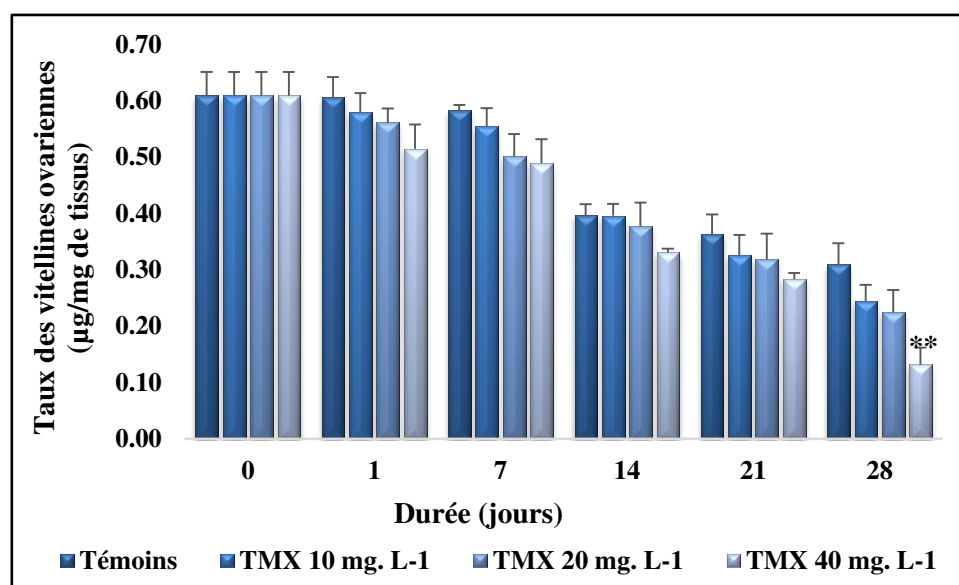


Figure 26. Effet du thiaméthoxame sur le taux des vitellines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement (Moyenne \pm SEM, $n = 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les



témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).

Tableau 21 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	1,854	0,3708	77,37	<0,0001 ***
Traitement	3	0,09158	0,03053	6,371	0,0007 ***
Interaction temps/traitement	15	0,03854	0,002569	0,5361	0,9115 NS
Erreur Résiduelle	72	0,345	0,004792		
Total	95				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

3.4.2. Effet sur les biomarqueurs chez *G. affinis* en période de repos

3.4.2.1. Effet sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase est déterminée selon la méthode de 'Ellman *et al.* (1961) au niveau du cerveau des femelles de *G. affinis* en période de repos durant les deux phases (traitement et déuration). L'activité spécifique de l'acétylcholinestérase a été calculée par les pentes des équations de régression exprimant l'absorbance en fonction du temps.

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une inhibition marquée de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase marquée dans le temps avec l'augmentation des doses comparativement aux témoins (**figure 27**). Elle atteint une valeur de $14,42 \pm 0,15$ nM/min/mg de protéines chez la série traitée à 10 mg.L^{-1} contre $18,29 \pm 0,28$ nM/min/mg de protéines chez la série témoin après 1 jour d'exposition au thiaméthoxame. L'inhibition de l'activité de l'AChE continue avec le temps jusqu'à atteindre $3,23 \pm 0,15$ nM/min/mg de protéines chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} contre $18,56 \pm 0,57$ nM/min/mg de protéines chez la série témoin au dernier jour d'exposition. Durant la **phase de déuration** on remarque que l'activité spécifique de l'AChE a été restaurée chez l'ensemble des séries témoins et traitées où elle passe d'une valeur de $7,97 \pm 0,38$ nM/min/mg de protéines à partir du 7^{ème} jour à $19,60 \pm 0,83$ nM/min/mg de protéines au 28^{ème} jour de déuration chez la série traitée à 40 mg.L^{-1} (**tableau 39**).



La comparaison des moyennes par le test de « tukey » indique une inhibition hautement significative ($p < 0,001$) chez les individus traités aux trois concentrations de thiaméthoxame comparativement aux témoins à partir 7^{ème} jour durant les phases de traitement et de dépuration.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase révèle des effets temps ($F_{5, 72} = 998,7$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 72} = 1538$; $P < 0,0001$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 110,1$; $P < 0,0001$) significatifs durant la **phase de traitement**, ainsi que, pour la **phase de dépuration** temps ($F_{3, 48} = 282,7$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 48} = 229,9$; $P < 0,0001$) et interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 36,82$; $P < 0,0001$) (**tableau 22**).

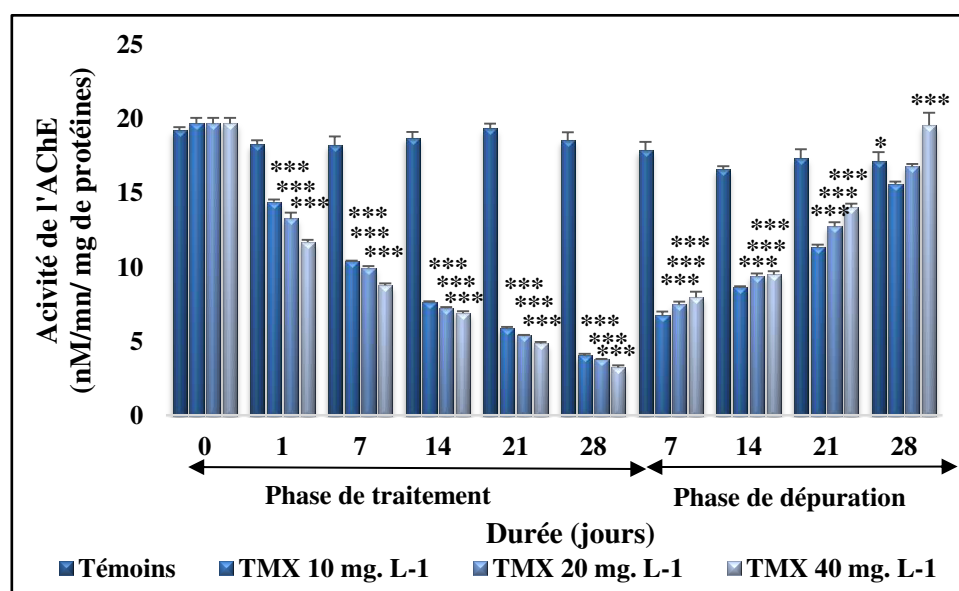


Figure 27. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (nM/min/mg de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, $n = 4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).



3.4.2.2. Effet sur l'activité de la glutathion S-transférase

L'activité enzymatique de la glutathion S-transférase est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)** au niveau de l'hépatopancréas des femelles de *G. affinis* en période de repos durant les deux phases (traitement et dépuración).

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une induction marquée de l'activité enzymatique de la GST à partir du 14^{ème} jour d'exposition pour les 3 concentrations (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹) par rapport aux témoins (**figure 28**). L'induction la plus importante a été enregistrée chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ avec $11,97 \pm 0,099$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines contre $2,61 \pm 0,059$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines chez la série témoin, puis continue d'augmenter progressivement avec le temps jusqu'à atteindre une valeur maximale de $27,72 \pm 0,176$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ contre $1,84 \pm 0,031$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines chez la série témoin à la fin du traitement. Durant la **phase de dépuración**, on remarque que l'activité de la GST a été restauré chez l'ensemble des séries témoins et traitées et passe d'une valeur de $20,08 \pm 0,006$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines à partir du 7^{ème} jour de dépuración à $2,05 \pm 0,002$ $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines, chez la série traitée à 40 mg.L⁻¹ à 28 jours de dépuración (**tableau 40**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » durant la phase de traitement indique une induction significative ($p=0,0145$) chez les individus traités à la concentration 20 mg.L⁻¹ et hautement significative ($p<0,001$) à la concentration la plus élevée 40 mg.L⁻¹ du thiaméthoxame à partir 14^{ème} jour comparativement aux témoins. Cependant durant la phase de dépuración une différence hautement significative a été observé pour les individus traités aux trois concentrations à partir du 7^{ème} jour comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) de l'activité de la GST révèle des effets temps ($F_{5, 72} = 597,3$; $P<0,0001$), traitement ($F_{3, 72} = 812,7$; $P<0,0001$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 242,4$; $P<0,0001$) significatifs durant la **phase de traitement**, les effets significatifs ont été enregistrés, également, durant la **phase de dépuración** pour le temps ($F_{3, 48} = 4608$; $P<0,0001$), le traitement ($F_{3, 48} = 6793$; $P<0,0001$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 1443$; $P<0,0001$) (**tableau 23**).



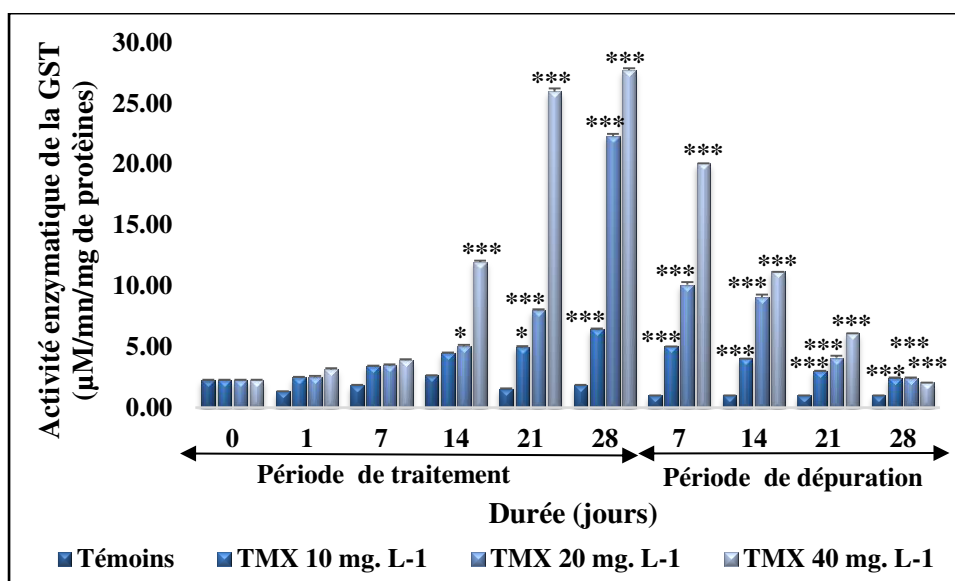


Figure 28. Effet du thiaméthoxame sur l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, $n=4$). La série des astérisques ci-dessus traités indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p<0,05$; **: différence significative à $p<0,01$; ***: différence significative à $p<0,001$).



3.4.2.3. Effet sur le taux des protéines carbonylées

Le taux des protéines carbonylées a été déterminé chez les femelles adultes de *G. affinis* pendant la période de repos durant la phase d'exposition au thiaméthoxame et la phase de dépuration selon la méthode de **Levine *et al.* (1990)** modifiée par **Mesquita *et al.* (2014)**.

Au cours de la **phase de traitement**, les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une augmentation marquée du taux des protéines carbonylées par rapport aux témoins (**figure 29**). En effet, nos résultats démontrent que chez les individus traités une induction significative à partir du 1^{er} jour d'exposition jusqu'à la fin du traitement. Les taux d'induction les plus importants ont été enregistrés au 28^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame chez les traitées à 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹ avec une valeur de $23,36 \pm 0,10$ nmol/mg de protéines, de $25,21 \pm 0,26$ nmol/mg de protéines et de $35,04 \pm 0,08$ nmol/mg de protéines respectivement. Durant la **phase de dépuration** on remarque que le taux des protéines carbonylées a été restauré chez l'ensemble des séries témoins et traitées à partir du 7^{ème} jour de dépuration, où elle passe d'une valeur maximale de $32,96 \pm 0,22$ nmol/mg de protéines à une valeur minimale de $19,02 \pm 0,18$ nmol/mg de protéines chez la série traité à 40 mg.L⁻¹ au 28^{ème} jour de l'étude (**tableau 41**).

La comparaison des moyennes par le test de « tukey » durant la phase de traitement indique une induction hautement significative ($p < 0,001$) chez les individus traités aux trois concentrations du thiaméthoxame à partir du 1^{er} jour d'exposition comparativement aux témoins. Cependant durant la phase de dépuration une différence hautement significative a été observé pour les individus traités aux trois concentrations à partir du 7^{ème} jour comparativement aux témoins.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification (temps/traitement) du taux des protéines carbonylées révèle, durant la **phase de traitement**, des effets temps ($F_{5, 72} = 5878$; $P < 0,0001$), traitement ($F_{3, 72} = 15791$; $P < 0,0001$) et interaction traitement/temps ($F_{15, 72} = 967,9$; $P < 0,0001$) significatifs. Les mêmes significations ont été observées, durant la **phase de dépuration** pour le temps ($F_{3, 48} = 2029$; $P < 0,0001$), le traitement ($F_{3, 48} = 11323$; $P < 0,0001$) et l'interaction temps/traitement ($F_{9, 48} = 298,4$; $P < 0,0001$) (**tableau 24**).



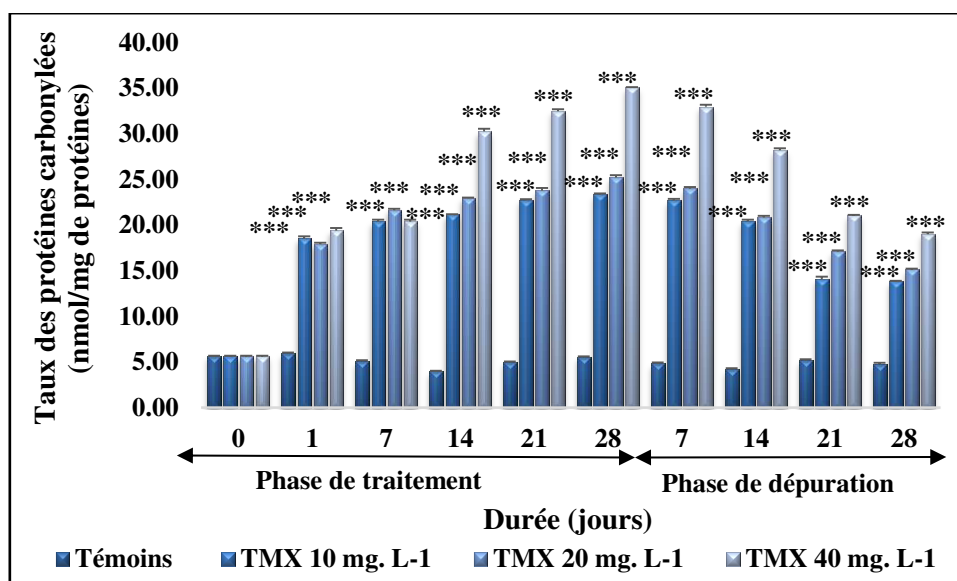


Figure 29. Effet du thiamethoxame sur le taux des protéines carbonylées (nmol/mg de protéines) des femelles de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (moyenne \pm SEM, n= 4). La série des astérisques ci-dessus traitées indique une différence significative avec les témoins du même temps (*: différence significative à $p < 0,05$; **: différence significative à $p < 0,01$; ***: différence significative à $p < 0,001$).



Tableau 22 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de l'acétylcholinestérase des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de redéurationstauraton.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	1567	313,5	998,7	<0,0001 ***	3	199,3	22,14	36,82	<0,0001 ***
Traitement	3	1448	482,7	1538	<0,0001 ***	3	509,9	170	282,7	<0,0001 ***
Interaction temps/traitement	15	518,2	34,54	110,1	<0,0001 ***	9	414,7	138,2	229,9	<0,0001 ***
Erreur Résiduelle	72	22,6	0,3139			48	28,86	0,6013		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 23 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur l'activité de la glutathion S-transférase des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	3870	773,9	597,3	<0,0001 ***	3	469	156,3	4608	<0,0001 ***
Traitement	3	3159	1053	812,7	<0,0001 ***	3	691,4	230,5	6793	<0,0001 ***
Interaction temps/traitement	15	4711	314,1	242,4	<0,0001 ***	9	440,7	48,97	1443	<0,0001 ***
Erreur Résiduelle	72	93,3	1,296			48	1,629	0,03393		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.

Tableau 24 : Analyse de la variance à 2 critères de classification (temps, traitement) sur le taux des protéines carbonylées des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de déuration.

Source de variation	Phase de traitement					Phase de déuration				
	DDL	SCE	CM	Fobs	P	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Temps	5	2911	582,2	5878	<0,0001 ***	3	644,3	214,8	2029	<0,0001 ***
Traitement	3	4692	1564	15791	<0,0001 ***	3	3595	1198	11323	<0,0001 ***
Interaction temps/traitement	15	1438	95,86	967,9	<0,0001 ***	9	284,2	31,58	298,4	<0,0001 ***
Erreur Résiduelle	72	7,131	0,09905			48	5,08	0,1058		
Total	95					63				

DDL : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; P : niveau de signification.



DISCUSSION

« *Discussion. Moyen de confirmer les autres dans leurs erreurs.* »

Jurgen Habermas.

4. DISCUSSION

Les pesticides ont été largement utilisés dans plusieurs secteurs de la production agricole afin d'accroître la production alimentaire et d'améliorer la qualité du produit (Doruchowski *et al.*, 2017 ; Baldissera *et al.*, 2018). Malgré ses nombreux mérites, l'utilisation abusive et aveugle des pesticides représente un problème environnemental et de sanitaire publique important dans le monde entier en raison de la toxicité, de la bioaccumulation et de la contamination de l'environnement, y compris de l'écosystème aquatique (Zheng *et al.*, 2016 ; Rodrigues *et al.*, 2018), car seulement 0,1 % des pesticides atteignent leur objectif. Les organismes aquatiques, tels que les poissons, sont inévitablement exposés à plusieurs pesticides par différentes voies, principalement par ruissellement ou par dérive de pulvérisation à partir des champs agricoles, y compris le thiaméthoxame. Ce pesticide était l'un des plus utilisés dans les systèmes de riziculture simultanée du sud-ouest du Bangladesh (Sumon *et al.*, 2016). Le thiaméthoxame est le premier insecticide néonicotinoïde commercial de deuxième génération de la sous-classe des thianicotinyles et est utilisé pour lutter efficacement contre plusieurs insectes nuisibles importants sur le plan commercial sur diverses cultures (Tang *et al.*, 2017). Son mécanisme d'action est exercé par des effets antagonistes associés sur le récepteur synaptique et extra synaptique de l'acétylcholine nicotinique (nACh) de l'insecte (Thany *et al.*, 2007). Bien que le thiaméthoxame représente un faible risque pour certains organismes non ciblés (par exemple les mammifères) (Jeschke *et al.*, 2011), la faible absorption par le sol, la forte capacité de lixiviation, la grande solubilité dans l'eau et la résistance au traitement biologique font du thiaméthoxame un contaminant potentiel des eaux de surface et souterraines (Zhang *et al.*, 2012), ce qui représente un risque important pour la santé des poissons.

4.1. Effet sur la croissance

La pollution du milieu aquatique par les pesticides nuit à la survie des organismes aquatiques, y compris des espèces de poissons commercialement importantes (Holden, 1973 ; Johnson, 1973 ; Vidhya *et al.*, 2019). L'utilisation intensive de ces substances constitue une menace constante pour la vie aquatique en modifiant le fonctionnement de l'habitat, la croissance et le potentiel de reproduction (Jarvinen *et al.*, 1977 ; Vidhya *et al.*, 2019). La croissance est considérée en termes d'augmentation de volume, représenté par le poids et est lié au cube de dimension linéaire (Longueur). Il est donc vrai qu'une relation existe entre la longueur (dimension linéaire) et le poids chez les animaux (Shakir *et al.*, 2008). La



croissance des poissons est généralement évaluée en mesurant leur poids ou leur longueur (Vidhya *et al.*, 2019).

Les poissons ne sont généralement pas des organismes cibles pour les pesticides (Vidhya *et al.*, 2019) et les connaissances des effets des insecticides néonicotinoïdes tels que le thiaméthoxame sur la croissance de *G. affinis* (poisson culiçiphage d'eau douce) sont encore rares. Par conséquent, la présente étude a été réalisée pour déterminer ses effets sur la croissance, représentée par le poids corporel total et la taille totale, des femelles adultes de *G. affinis* exposées pendant 28 jours aux concentrations 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹.

Les résultats obtenus révèlent qu'il n'y a pas des variations significatives pendant la période d'exposition pour les paramètres considérés. Plusieurs chercheurs rappellent qu'un stress chimique ne conduit pas forcément à une altération de la croissance moyenne des individus comme cela a pu être observé sur les poissons *Gambusia helbrooki*, *Gambusia affinis* et *Leuciscus cephalus* contaminé en eau douce (Mulvey *et al.*, 1995 ; Theodorakis & Shugar, 1997 ; Larno *et al.*, 2001). Cette réponse est soutenue par une étude antérieure de Zaidi & Soltani, (2011), qui a montré que le diflubenzuron et le flucycloxyuron n'avaient aucun effet significatif sur la croissance des femelles adultes de *G. affinis*, aussi, l'étude d'Elias *et al.* (2020), où il n'y avait pas eu de différences significatives dans la longueur corporelle moyenne entre les traités au thiobencarbe et le groupe témoin du poisson-chat africain (*Clarias gariepinus*).

Cependant, Majumder & Kaviraj, (2018) et Ibrahim *et al.* (2019), ont observé, après une exposition de 90 jours le chlorpyrifos (insecticide organophosphoré) modifiait les performances de croissance du poisson d'eau douce tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus*) en engendrant sa réduction. L'exposition de la même espèce au deltaméthrine a engendré un taux de croissance significativement plus faibles (Dawood *et al.*, 2020). La croissance des poissons *Oryzias latipes* mesurée en longueur totale (taille totale), a été affectée par l'exposition à l'imidaclopride (Vignet *et al.*, 2019). Celle d'*Etroplus suratensis* (poisson d'eau douce), mesurée par le poids, a diminué progressivement avec l'augmentation des concentrations de lambda-cyhalothrine (insecticide, pyrèthri-noïde) (Vidhya *et al.*, 2019).

Prosser *et al.* (2016), ont enregistré une inhibition de la croissance des escargots d'eau douce *Planorbella pilsbryi* exposés à l'imidaclopride, la clothianidine et au thiaméthoxame, tandis que, Velisek *et al.* (2018), ont montré que l'exposition chronique au métolachlore (un pesticide organochloré) a affecté la croissance de l'écrevisse marbrée (*Procambarus virginalis*).



4.2. Effet sur les indices organo-somatique

Les indices organo-somatiques (par exemple : l'indice de condition, le rapport gonado-somatique et le rapport hépato-somatique) sont des approches courantes pour évaluer le stress environnemental chez les poissons (Adams *et al.*, 1993 ; Elias *et al.*, 2020) dans des études toxicologiques (Nwani *et al.*, 2015 ; Elias *et al.*, 2020). Ils représentent, donc, des indicateurs intégratifs des conditions du poisson (Zezza *et al.*, 2020).

L'indice hépato-somatique reflète la taille relative du foie et est lié aux activités des enzymes hépatiques pour la détoxification des composés, indiquant une exposition à des polluants (Yeom *et al.*, 2007 ; Fang *et al.*, 2009 ; Elias *et al.*, 2020). Il est défini comme le rapport entre le poids du foie et le poids corporel, et donne une indication sur l'état de la réserve énergétique des animaux. Dans de mauvaises conditions environnementales, les poissons ont généralement un foie plus petit (avec moins d'énergie réservée dans le foie) (Elias *et al.*, 2020). Selon Bonifacio *et al.* (2016), parmi les indices somatiques, l'indice hépato-somatique est un biomarqueur plus spécifique que l'indice de condition, car il est directement lié aux effets toxiques sur le foie. Dans notre étude, le RHS des femelles adultes de *G. affinis* n'était pas assez sensible pour montrer des différences entre les traitées et les témoins au cours des deux périodes du cycle de reproduction. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Elias *et al.* (2020), où il n'y avait pas de différences significatives du RHS entre les femelles du poisson-chat (*Clarias gariepinus*) exposées à l'herbicide thiobencarb et les témoins sur les différentes périodes d'exposition. Des études antérieures ont montré que des valeurs du RHS normales étaient également observées chez différentes espèces de poissons : par exemple *Carassius auratus* (poisson rouge d'eau douce) (Yi *et al.*, 2007 ; Elias *et al.*, 2020) ainsi que *Cyprinus carpio* (poisson téléostéen) exposés à l'alachlore (Mikula *et al.*, 2009 ; Ensibi *et al.*, 2013 ; Elias *et al.*, 2020) et *Oncorhynchus mykiss* (truite arc-en-ciel poisson téléostéen) exposé à la carbamazépine (Li *et al.*, 2011 ; Elias *et al.*, 2020). Aussi, Zaidi & Soltani, (2011), ont indiqué que le diflubenzuron et le flucycloxuron n'avaient aucun effet significatif sur le RHS de *G. affinis*. De même pour le poisson téléostéen médaka japonais (*Orizyas latipes*) traité au diclofénac (Anti-inflammatoire) (Lee *et al.*, 2011 ; Guiloski *et al.*, 2015) ; *Cnesterodon decemmaculatus* après l'exposition chronique au Roundup Max®, Clorfox® et au mélange (Bonifacio *et al.*, 2016), et chez *Clarias gariepinus* exposé au dichlorvos (pesticide organophosphoré) (Ogamba *et al.*, 2014).



Le Rapport gonado-somatique est une métrique qui représente le poids relatif des gonades par rapport au poids du poisson. Il est généralement considéré comme un bon indicateur du succès de la reproduction (**Lowerre-Barbieri et al., 2011 ; Elias et al., 2020**) et largement utilisé pour évaluer le moment de la reproduction, car il est peu coûteux et facile à calculer (**Elias et al., 2020**). Il est aussi, exploité comme indicateur de la dépense des gonades (**Parker et al., 2017**) ; de l'état de santé des poissons (**Adams et al., 1996 ; Al-Deghayem et al., 2017**) et de l'évolution de l'état nutritionnel et énergétique (**Anderson & Gutreuter, 1983 ; Goede & Barton, 1990 ; Al-Deghayem et al., 2017**). Dans notre étude, le RGS des femelles adultes de *G. affinis* n'a montré aucune différence entre les groupes traités aux différentes concentrations et les témoins pendant les deux périodes de vie étudiées. Nos résultats sont en accord avec les études antérieures de **Zaidi & Soltani, (2011)**, qui ont montré que diflubenzuron et flucycloxuron n'avaient aucun effet significatif sur le RGS des femelles adultes de *G. affinis*, de même, chez *Oreochromis niloticus* exposé au chlorpyrifos (**Oruç, 2010**) et chez *Hoplias malabaricus* traité au diclofénac (Anti-inflammatoire) (**Guiloski et al., 2015**).

L'indice de condition montre le degré de bien-être des poissons dans leur habitat et exprime l'interaction entre les facteurs biotiques et abiotiques relatifs à l'état physiologique des poissons (**Olurin & Aderibigbe, 2006 ; Elias et al., 2020**). Il est basé sur l'hypothèse que les poissons plus lourds d'une certaine longueur sont dans un meilleur état physiologique (**Bagenal, 1978 ; Toke & Aung, 2020**). Les différences dans l'indice de condition ont été interprétées comme une mesure d'événements histologiques tels que la réservation de graisse, l'adaptation à l'environnement et le développement gonadique (**LeCren, 1951 ; Toke & Aung, 2020**). **Gupta & Banergee, (2015)** ont signalé que la valeur de l'indice de condition (K) des poissons était affectée par des facteurs tels que l'intensité de l'alimentation, la disponibilité de la nourriture, la taille du poisson, l'âge, le sexe et le stade de maturation.

Les résultats obtenus dans la présente étude indiquent qu'une différence significative à partir du 21^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame pendant la période de reproduction a été enregistrée, et qu'aucune différence entre les femelles adultes de *G. affinis* traitées et témoins n'a été enregistrée pendant la période de repos. La réduction de K, si elle est persistante, pourrait entraîner une réduction du taux de croissance et de la capacité de reproduction (**Jenkins, 2004 ; Gabriel et al., 2009 ; Uedeme-Naa & Deekae, 2016**). La présente étude n'a pas révélé de persistance, ce qui peut expliquer l'absence d'effets du TMX sur la croissance et la reproduction de notre espèce.



Elias et al. (2020), ont obtenu les mêmes résultats avec une réduction significative de l'indice de condition chez les femelles du poisson-chat (*Clarias gariepinus*) au dernier jour d'exposition à l'herbicide thiobencarb. **Nnadi et al. (2018)**, ont montré que la diminution de l'indice de condition chez la même espèce était plus importante à la concentration $6,00 \mu\text{g.L}^{-1}$ aux 21 et 28^{èmes} jours d'exposition au Termex® (imidaclopride 35,50% SC). Après l'exposition chronique de *Cnesterodon decemmaculatus* aux pesticides, l'indice de condition a montré une diminution significative à la concentration la plus élevée de Clorfox® (**Bonifacio et al., 2016**). **Zaidi & Soltani, (2011)**, ont montré que seul le flucycloxuron à CL90 réduisait significativement l'indice de condition au 21^{ème} jour d'exposition. L'indice de condition n'a changé dans aucun des traitements au chlorpyrifos chez le poisson-chat africain diploïde et triploïde (*Clarias gariepinus*) (**Karami et al., 2016**).

4.3. Effet du thiaméthoxame sur les biomarqueurs

Le poisson moustique *G. affinis* a été utilisé dans un programme de lutte biologique en Algérie, au niveau du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, en étudiant l'efficacité de *G. affinis* à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* (**Bendali et al., 2001**), les effets du cadmium et de l'halofenozide sur la croissance et l'activité enzymatique des alevins (**Chouahda et al., 2006**), ainsi que, l'évaluation de l'halofenozide contre les larves de moustiques (proies) et son impact sur la croissance et l'activité enzymatique de *G. affinis* (prédateur) (**Soltani et al., 2008**). L'étude de la toxicité aiguë du malathion à l'égard des adultes (**Chouahda et al., 2010**), de la toxicité chronique du flucycloxuron (**Zaidi & Soltani, 2010**), une évaluation des risques environnementaux de deux inhibiteurs de la synthèse de la chitine sur *G. affinis* (**Zaidi & Soltani, 2011**), l'étude de la toxicité aiguë et chronique du cadmium (**Chouahda & Soltani, 2013**), enfin, une étude de la bioconcentration du diflubenzuron (**Zaidi et al., 2013**) et l'évaluation de la toxicité du dimilin® (**Zaidi & Soltani, 2013**) ont été réalisées.

A ce jour, aucune expérimentation n'a étudié les effets d'une exposition chronique au thiaméthoxame chez le poisson *G. affinis*. Sa toxicité potentielle sur cet organisme non ciblé fait l'objet de la présente étude par la mesure de divers biomarqueurs qui permettent de révéler de manière substantielle les effets du toxique sur l'organisme exposé, tels que la neurotoxicité qui peut entraîner une modification du comportement, des profils histopathologiques, morphologiques, anatomiques, physiologiques, hématologiques et biochimiques (**Ullah et al., 2019**), et donc, d'intégrer l'ensemble de la cascade d'événements



qui suit l'exposition (**Lionetto et al., 2019**). Le suivi des différents biomarqueurs, acétylcholinestérase ; glutathion-S-transférase ; protéines carbonylées et le taux de vitellines a été effectué chez des individus exposés pendant 28 jours au thiaméthoxame aux concentrations 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹, ainsi que chez des individus témoins.

4.3.1. Effet du thiaméthoxame sur l'activité spécifique de l'AChE

L'acétylcholinestérase (AChE) est une sérine hydrolase, que l'on trouve principalement dans le tissu musculaire et le système nerveux des organismes. C'est une enzyme clé impliquée dans la neurotransmission (**Jebali et al., 2013 ; Kim & Lee, 2018**) à la fois chez les vertébrés et les invertébrés (**Valbonesi et al., 2003 ; Singh et al., 2019**). L'AChE se lie très étroitement aux récepteurs présents dans le système nerveux central (SNC) des organismes (**Jeschke et al., 2011 ; Jameel et al., 2020**), et favorise l'hydrolyse du neurotransmetteur, l'acétylcholine, pour assurer des impulsions nerveuses intermittentes (qui caractérisent la communication neuronale) tout en prévenant le syndrome cholinergique aiguë qui peut résulter d'une accumulation de ce neurotransmetteur dans les terminaisons nerveuses du système nerveux central et périphérique (**Karczmar, 1998 ; Kellar, 2006 ; de Araujo et al., 2018**). Cette enzyme peut être inhibée par les métaux, les pesticides, les insecticides, les produits pharmaceutiques et d'autres types de polluants (**Piner & Üner 2012 ; Rhee et al., 2013 ; Ezeoyili et al., 2019**), ce qui provoque une accumulation d'acétylcholine et une hyperstimulation des récepteurs. Pour cette raison, l'enzyme AChE est l'un des biomarqueurs essentiels utilisés pour démontrer les effets des polluants environnementaux (**Colovic et al., 2013 ; Demirci et al., 2018**), notamment chez les poissons d'eau douce pour surveiller la contamination par les pesticides (**Walker et al., 2006**).

Parmi les insecticides, les néonicotinoïdes sont chimiquement similaires à la nicotine, ils agissent sur les récepteurs nicotiques postsynaptiques situés entièrement dans le système nerveux central des invertébrés, ils présentent un risque relativement faible pour les vertébrés et sont très spécifiques aux sous-types de récepteurs nicotiques présents chez les invertébrés (**Ensley, 2018**). En raison de leur utilisation généralisée, les néonicotinoïdes sont fréquemment détectés dans l'environnement, l'eau et les aliments, ce qui représente un risque potentiel pour les organismes non ciblés (**Süß et al., 2006 ; Klarich et al., 2017 ; Bradford et al., 2018 ; Craddock et al., 2019 ; Fedrizzi et al., 2019 ; Stara et al., 2020**).

La présente étude a révélé que l'exposition d'une espèce non ciblée, *G. affinis*, aux trois concentrations du thiaméthoxame entraîne une inhibition dans l'activité spécifique de



l'AChE. Les réponses observées varient significativement en fonction des concentrations, et du temps d'exposition, avec une diminution marquée à partir du 1^{er} jour pour les trois concentrations en période de reproduction et de repos. Cette diminution est soutenue par des études antérieures portées sur des pesticides de la même famille telles que celle de **Kocamaz & Oruc, (2020)**, qui ont noté une inhibition de l'AChE dans le tissu gonadique d'*Oreochromis niloticus* le 15^{ème} jour d'exposition au thiaméthoxame. L'étude de **Qi et al. (2018)**, a révélé que l'activité spécifique de l'AChE a été inhibée par deux nouveaux insecticides néonicotinoïdes : le Cycloxaprid (CYC) et le Guadipyr (GUA) chez *Daphnia magna*, celle de **Topal et al. (2017)** l'a révélé dans le cerveau du poisson truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* suite à l'exposition à l'imidaclopride. Ce dernier a eu le même effet sur divers tissus (glande digestive, branchies et muscle adducteur) d'un mollusque bivalve Sydney rock oyster (SRO) (*Saccostrea glomerata*) (**Ewere et al., 2019a ; 2019b ; 2020**). L'étude des effets du oxytétracycline sur les yeux du poisson d'eau douce *Oncorhynchus mykiss* (**Rodrigues et al., 2018**), et du fipronil sur le cerveau et le muscle de la carpe *Cyprinus carpio*, ainsi que, sur le muscle du poisson-chat argenté *Rhamdia quelen* (**Menezes et al., 2016**) a révélé une inhibition significative de l'AChE dans les différents tissus.

D'autres études ont indiqué que différents pesticides provoquent une inhibition de l'AChE dans les tissus des poissons (**Almeida et al., 2010 ; Xing et al., 2010 ; Xing et al., 2013 ; Topal et al., 2017 ; Severo et al., 2020**) avec une accumulation marquée d'acétylcholine dans le cerveau (**Pala & Serdar, 2018 ; Iheanacho & Odo, 2020**) tel que le chlorpyrifos, un insecticide organophosphoré, qui a induit le même effet au niveau du tissu cérébral du poisson téléostéen *Cyprinus carpio* (**Berkoz et al., 2019**) ainsi que, chez *G. affinis* (**Rao et al., 2005**), et *Cyprinus carpio* (poisson téléostéen) (**Stoyanova et al., 2020**). L'étude de **Singh et al. (2018)**, a révélé que le triazophos (organophosphoré) et le deltaméthrine (pyréthriinoïde), provoquent une inhibition des activités de l'AChE dans le cerveau d'un poisson téléostéen d'eau douce, *Channa punctatus*. Le deltaméthrine a également provoqué une inhibition musculaire de l'AChE chez les poissons-zèbres *Danio rerio* (**Ren et al., 2016**), et une inhibition chez leurs embryons (**Parlak, 2018**). **Folle et al. (2020)**, a noté une inhibition de l'activité de l'AChE chez les embryons du poisson-chat argenté d'eau douce d'Amérique du Sud *Rhamdia quelen* (**Quoy & Gaimard, 1824**) après l'exposition au 2,4,6-tribromophénol (TBP), un polluant environnemental persistant largement utilisé comme insecticide dans la préservation du bois et la production de plastique. L'activité de l'AChE a également été significativement inhibée avec l'augmentation du temps



d'exposition dans le cerveau du poisson chat africain d'eau douce *Clarias gariepinus*, exposé aux microparticules de chlorure de polyvinyle (PVC) lors du 45^{ème} jour d'exposition (Iheanacho & Odo, 2020), ainsi que, chez les embryons du poisson zèbre (*Danio rerio*) exposés au n-butano (Köktürk *et al.*, 2019). L'étude de Kim *et al.* (2020), portant sur l'exposition de *Paralichthys olivaceus*, poisson téléostéen élevé en bio-floc et en eau de mer, aux nitrites d'origine hydrique a révélé une inhibition de l'AChE dans le foie et les branchies.

4.3.2. Effet du thiaméthoxame sur l'activité de la GST

Les biomarqueurs biochimiques tels que l'acétylcholinestérase (AChE) et les glutathion S-transférases (GST) sont de plus en plus utilisés pour identifier les impacts potentiels des pesticides sur les organismes (Wu *et al.*, 2014 ; Li *et al.*, 2020). Diverses familles d'enzymes, notamment les GST sont impliquées dans l'absorption, la détoxification et l'excrétion des pesticides (Srivastava *et al.*, 2020) et autres composés xénobiotiques via la modulation du transport, de la biosynthèse des hormones et des protéines (Ketterman *et al.*, 2011 ; Srivastava *et al.*, 2020). La glutathion S-transférase, est l'antioxydant le plus soluble et largement distribué dans tous les compartiments cellulaires (Birnie-Gauvin *et al.*, 2017 ; Hoseinifar *et al.*, 2020), qui permettent la fusion du groupe cystéine sulfhydryle du tripeptide glutathion (GSH) avec les xénobiotiques (Srivastava *et al.*, 2020), catalysant ainsi la conversion d'un grand nombre de composés électrophiles dérivés de xénobiotiques en substances solubles dans l'eau (Samanta *et al.*, 2014 ; Demirci & Güngördü, 2020). Son rôle essentiel dans le système de détoxification permet de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs induits par les pesticides chez les poissons (Atamaniuk *et al.*, 2013 ; El Euony *et al.*, 2020).

De nombreuses études ont montré que les organismes aquatiques exposés à plusieurs xénobiotiques présentaient une augmentation de l'activité de la GST (Salaberria *et al.*, 2009 ; Qi *et al.*, 2013 ; Liu *et al.*, 2015 ; Demirci & Güngördü, 2020). La présente étude a révélé une induction de cette enzyme, au niveau du foie des femelles de *G. affinis*, traitées avec les différentes concentrations du thiaméthoxame, marquée à partir du 14^{ème} jour d'exposition pour les 3 concentrations (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹) par rapport aux témoins en période de reproduction, et pour les concentrations 20 mg.L⁻¹ et 40 mg.L⁻¹ en période de repos. Le foie des poissons remplit un certain nombre de fonctions associées au métabolisme des xénobiotiques ; il est le principal tissu de détoxification et réagit principalement après un stress causé par des substances toxiques (Salbego *et al.*, 2010 ; Golombieski *et al.*, 2016 ;



Salbego et al., 2020). L'induction de la GST observée dans notre étude pourrait indiquer une altération de l'homéostasie dans le foie ; ou l'activation du système de défense antioxydant naturel par l'insecticide (**Radwan & Mohamed, 2013**). Cette induction par le TMX a également été notée chez le poisson-chat africain (*Clarias garipenus*) (**El Euony et al., 2020**), et dans le foie des poissons zèbres (*Danio rerio*) (**Yan et al., 2015**). L'étude de **Kocamaz & Oruc, (2020)**, a révélé une augmentation de 96,42% et 38,78% suite à une exposition à 23,86 mg.L⁻¹ (correspondant à 1/20 de la CL50 à 96 heures), et 47,72 mg.L⁻¹ (correspondant à 1/10 de la CL50 à 96 heures) de thiaméthoxame respectivement chez *Oreochromis niloticus* (poisson téléostéen).

Li et al. (2020), ont déclaré que l'activité enzymatique de la GST pouvait dépendre de plusieurs facteurs, tels que la concentration, la durée d'exposition, et la sensibilité des espèces exposées. L'exposition du poisson zèbre (*Danio rerio*) à l'imidaclopride, un néonicotinoïde, a engendré l'induction de l'activité de la GST après 7 jours d'exposition (**Ge et al., 2015 ; Chang et al., 2020**), ainsi que le mélange de l'imidaclopride, l'acétochlore et la tébuconazole après 14 jours d'exposition (**Chang et al., 2020**). Le cyperméthrine modifie, également, l'activité de la GST chez les larves de poisson zèbre après une exposition combinée au chlorpyrifos (**Zhang et al., 2017**). La pyraclostrobine a eu le même effet au niveau du foie du poisson zèbre, avec une augmentation de l'activité à mesure que la dose de la substance augmente (**Zhang et al., 2017**). **Chang et al. (2020)**, ont étudié la toxicité individuelle et combinée de l'insecticide néonicotinoïde imidaclopride (IMI), de l'herbicide acétochlore (ACT) et du fongicide tébuconazole (TBZ) sur le poisson zèbre (*Danio rerio*) et ont démontré que l'activité de la GST a augmenté de manière significative après 7, 14 ou 21 jours d'exposition à l'imidaclopride par rapport à celle du groupe témoin dépendamment des doses et après 14 ou 28 jours d'exposition au mixte (IMI+ACT +TBZ). L'étude de la toxicité de l'insecticide à base d'acétamipride (ABI) (appartenant à la famille des néonicotinoïdes) sur *Gambusia holbrooki* a montré que l'activité de la GST a été significativement augmentée à la concentration la plus élevée d'ABI par rapport aux témoins après une exposition de 24 h (**Demirci & Güngördü, 2020**). Une augmentation significative de l'activité hépatique de la GST chez le bar européen (*Dicentrarchus labrax*) a été signalée après une exposition au fipronil (**Dallarés et al., 2019**), et chez *Channa punctata* après une exposition à la deltaméthrine (**Yang et al., 2020**).

D'autres espèces aquatiques ont aussi montré une induction de l'activité de la GST suite à une exposition à un pesticide telles que les crevettes *Palaemon adspersus*



exposées aux concentrations sublétals (CL10 et CL25) du thiaméthoxame (**Berghiche et al., 2018**) et *Daphnia magna*, un petit crustacé planctonique, après une exposition de 2 jours à l'imidaclopride (**Butcherine et al., 2019**), ou encore, chez la moule d'eau douce *Unio ravoisieri* exposée au perméthrine (insecticide pyréthriinoïde) (**Khazri et al., 2016**).

Ewere et al. (2020), ont montré que la molécule de défense antioxydante, GST, dans l'hémolymphe du mollusque bivalve Sydney rock oyster (*Saccostrea glomerata*) a été induite après une exposition de 4 jours d'imidaclopride (insecticide néonicotinoïde).

4.3.3. Effet du thiaméthoxame sur le taux des protéines carbonylées

La protéine est le constituant fondamental et le plus abondant présent chez les poissons (**Parvez & Raisuddin, 2005 ; Tabassum et al., 2016a**), elle représente une cible potentielle pour les dommages oxydatifs (**Tabassum et al., 2016a**) induit par les pesticides (**De Moura et al., 2017 ; Gonçalves et al., 2018**). L'attaque des protéines par les ERO ou un sous-produit du stress oxydatif entraîne la formation des groupements carbonyles (**Levine et al., 1994 ; Soladoye et al., 2015**). Les groupes carbonyles (aldéhydes et cétones réactifs) peuvent être introduits dans les protéines par l'oxydation des chaînes latérales d'acides aminés ou ils peuvent être générés par le clivage oxydatif des protéines par la voie d'amidation de α - ou par l'oxydation des chaînes latérales de glutamyl, conduisant à la formation de peptides avec un dérivé α -keto à l'extrémité N-terminale. La carbonylation des protéines peut également être générée par conjugaison avec des aldéhydes produits lors de la peroxydation d'acides gras polyinsaturés (PUFA) (appelés produits finaux de peroxydation avancée, ALE) et avec des dérivés carbonyle réactifs générés par réaction avec des hydrates de carbone réducteurs (appelés produits finaux de glycation avancée, AGE) (**Møller et al., 2011**). Cette modification peut aboutir à l'altération de la structure ou de la fonction des protéines (**Levine et al., 1990 ; Martínez et al., 2020**). Le mécanisme chimique de l'oxydation des protéines et les conséquences biologiques qui en résultent dépendent de plusieurs facteurs, tels que la structure primaire ; l'accessibilité de l'oxydant aux résidus d'acides aminés sensibles dans une molécule de protéine, c'est-à-dire les contraintes de structure tridimensionnelle et l'espèce oxydante (**Nyström, 2005, Augustyniak et al., 2015 ; Crobotova & Rustad, 2019**).

Les PCo peuvent être considérés comme un bon biomarqueur de l'exposition des organismes aquatiques aux contaminants environnementaux (**Wei & Yang, 2015 ; Falfushynska et al., 2016 ; Sturve et al., 2017**). La carbonylation élevée des protéines a été



trouvée pour la première fois dans les moules bleues *Mytilus edulis* en 2005 par **McDonagh et al.** Elle a été utilisée pour évaluer les dommages oxydatifs causés par les métaux lourds toxiques et les pesticides chez les poissons, les amphibiens et les crevettes, par exemple : le poisson zèbre *Danio rerio* , Carpe de couleur Oujiang *Cyprinus carpio var*, poisson rouge *Carassius auratus*, napoléon *Symphodus melops*, poisson d'eau douce *Channa punctata*, grenouille *Rana nigromaculata* et crevette tigrée noire *Penaeus monodon* (**Parvez & Raisuddin, 2005 ; Craig et al., 2007 ; Jia & Shi, 2010 ; Braconi et al., 2011 ; Liu et al., 2011 ; Cao et al., 2012 ; Wei & Yang, 2015**).

La présente étude a démontré que les individus traités avec les différentes concentrations du thiaméthoxame présentent une induction marquée des taux des PCo à partir du 7^{ème} jour d'exposition pour la concentration 40 mg.L⁻¹ et à partir du 14^{ème} jour pour les deux concentrations (10 et 20 mg.L⁻¹) par rapport aux témoins en période de reproduction. En période de repos, une induction a été notée à partir du 1^{er} jour pour les trois concentrations (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹). Nos résultats concordent avec les études antérieures portées sur des poissons d'eau douce tels que l'exposition de *Channa punctata* (Bloch) à différents pesticides (la deltaméthrine, l'endosulfan et le paraquat) (**Parvez & Raisuddin, 2005**), et chez *Labeo rohita* exposés au malathion avec une augmentation dans les tissus branchiaux, hépatiques et rénaux (**Patil & David, 2013**). L'étude de **Murussi et al. (2016)** a révélé qu'une exposition de *Cyprinus carpio* à l'azadirachtine a provoqué une induction des taux de protéines carbonylées pour aider les branchies à se protéger contre l'oxydation ; celle de **Gonçalves et al. (2018)** a montré une augmentation des protéines carbonylées chez *Astyanax jacuhiensis* (poisson d'eau douce) exposé à l'insecticide propoxur.

Des taux de protéines carbonylées ont augmenté dans les branchies du poisson-chat argenté d'eau douce *Rhamdia quelen* après une exposition de 96h au thiaméthoxame (**Baldissera et al., 2018**) ; dans le foie, les branchies et le rein du poisson d'eau douce *Prochilodus lineatus* exposé à l'imidaclopride (**Vieira et al., 2018**), ou encore, chez *Oreochromis niloticus* un poisson téléostéen exposé au thiaméthoxame et au mélange thiaméthoxame et à la cyhalothrine λ (**Kocamaz & Oruc, 2020**) et chez *Cyprinus carpio* (poisson téléostéen) exposé au fipronil (**Clasen et al., 2012 ; Menezes et al., 2016 ; Monteiro et al., 2019 ; Moraes et al., 2020**).

Les poissons téléostéens néotropical d'eau douce *curimba Prochilodus lineatus* exposés au mélange d'insecticides pyréthroïde lambda-cyhalothrine (LC) avec le



néonicotinoïde imidaclopride (IMI), ont montré une augmentation significative des PCo dans les branchies après 48 heures, et dans le foie, après 96 h d'exposition par rapport aux poissons exposés à la LC et à l'IMI seuls (Alvim & Martinez, 2019).

L'étude de Tabassum *et al.* (2016b) qui porte sur l'exposition des poissons d'eau douce *Channa punctata* Bloch à la pendiméthaline (substance active de produit phytosanitaire herbicide) a induit un stress oxydatif dans le foie, les reins et les branchies. Celle de Da Silva *et al.* (2018) sur *Hoplias malabaricus* (une espèce de poissons d'eau douce) exposée à la cylindrospermopsines (toxines produites par des cyanobactéries) a, également, indiqué une augmentation significative des PCo.

L'induction des PCo a été étudiée chez d'autres espèces aquatiques telles que l'écrevisse d'eau douce *Procambarus clarkii* après 96 h d'exposition au cuivre et au bêta-cyperméthrine (insecticide pyréthriinoïde) (Wei & Yang, 2015) ; la Carpe commune *Cyprinus carpio* (poisson téléostéen) exposée à la fipronil après 30 et 90 jours (Wang *et al.*, 2016) et au chlorpyrifos (Berkoz *et al.*, 2019). Ce dernier a également, provoqué une élévation des protéines carbonylées chez les deux espèces *Mytilus galloprovincialis* et *Littorina littorea* (Shaw *et al.*, 2019).

La cyperméthrine (un insecticide pyréthriinoïde) a induit une augmentation des niveaux de PCo dans l'hépatopancréas de *Cherax quadricarinatus* (écrevisse d'eau douce) (Yuan *et al.*, 2019), ainsi que, chez *Unio gibbus* (moule d'eau douce) (Khazri *et al.*, 2015) et *Labeo rohita* (poissons d'eau douce) (Dawar *et al.*, 2016).



4.3.4. Effet du thiaméthoxame sur le taux de vitelline

La vitellogenèse est un processus clé pour la croissance ovarienne, impliquant la synthèse de lipoprotéines essentielles pour le développement de l'embryon. Le composant principal de cette matière nutritive est appelé vitellogénine (Tsukimura, 2001 ; Huberman, 2000 ; Charmantier *et al.*, 1997 ; Silveyra *et al.*, 2020). Ce précurseur du jaune (Wilder *et al.*, 2010 ; Silveyra *et al.*, 2020), est une phospholipoglycoprotéine, qui se présente sous la forme de dimère de deux polypeptides différents. Chaque polypeptide de vitellogénine se compose d'une partie riche en phosphate et d'une partie riche en lipides (Saravanan *et al.*, 2016). Chez les vertébrés ovipares, la production hépatique de vitellogénine est étroitement contrôlée par les taux endogènes d'E2, une fois produite, elle est transportée dans le sang vers les ovaires pour former la principale protéine « vitelline » (Chen & Chan, 2016). Leur absorption et conversion en protéines ovariennes (protéines du jaune) est le principal mécanisme de croissance des ovocytes, et représentent jusqu'à 90% de ce processus chez certaines espèces (Brooks *et al.*, 1997 ; Yilmaz *et al.*, 2018). Leur concentration est donc élevée pendant la maturité chez les femelles, en particulier pendant la saison de reproduction (Hiramatsu *et al.*, 2015 ; Zezza *et al.*, 2020). La multiplicité des vitellogénines a été largement étudiée au cours des deux dernières décennies, et il semble maintenant que tous les téléostéens produisent plusieurs formes de vitellogénines (Hiramatsu *et al.*, 2005 ; Reading & Sullivan, 2011 ; Yilmaz *et al.*, 2018). L'exposition des femelles à des facteurs de stress pendant la gestation (stress maternel) pourrait fortement influencer la biologie de la reproduction des espèces. Cependant, le poisson moustique *G. affinis* (Baird & Girard 1853) présente une gestation intra-ovarienne et est censé être principalement lécithotrophes où les embryons dépendraient principalement du jaune plutôt que de l'approvisionnement maternel après la fécondation (Morrison *et al.*, 2017 ; Bhat & Ganesh, 2020). Rendant l'expression de la vitellogénine un biomarqueur pertinent pour la reproduction (Chen & Chan, 2016).

Nos résultats montrent que le TMX ajouté à l'eau de robinet pendant la saison de reproduction des femelles adultes de *G. affinis* affecte la vitelline, avec une diminution progressive plus marquée le dernier jour d'exposition à la concentration la plus élevée. Chez *G. affinis* la vitellogenèse dure environ 8 jours et la durée de gestation est assez variable ; entre 25 jours pour les grossesses courtes et 35 jours pour les plus longues, à peu près dix jours après la parturition (Chambolle, 1970). L'expérimentation a duré 28 jours, de ce fait, la vitellogenèse devrait être achevée d'où la diminution des taux de vitellines. Cette diminution peut être due à une baisse de la fonction hépatique qui modifie le trafic, la libération ou la



production de vitellogénine. Il est connu chez les femelles que le foie est impliqué dans le développement des gonades et assure l'approvisionnement en réserves de vitellogénine pour les œufs issus d'embryons en développement. L'exposition d'une femelle téléostéenne à un insecticide active la détoxification au niveau du foie menant à une compétition entre la détoxification de l'organisme et l'approvisionnement en réserve nutritive. La demande métabolique sur le foie devient très importante, étant donné que le poids de l'ovaire peut augmenter jusqu'au quart ou plus du poids corporel en raison de la croissance vitellogène des ovocytes. Ces besoins métaboliques supplémentaires pourraient nuire à la croissance vitellogène de l'ovaire (**Annabi et al., 2012**).

Une réduction du niveau de vitellogénine a été observée dans le foie et les ovaires des poissons *Esomus danricus* exposés à différentes concentrations de cyperméthrine (insecticide appartenant à la famille des pyréthrinoïdes) (**Saravanan et al., 2016**), ainsi que, dans l'ovaire des femelles *Procambarus clarkii* exposées à l'atrazine (**Silveyra et al., 2018**). Ce dernier, a provoqué les mêmes effets chez les femelles du crabe *Neohelice granulata* (**Silveyra et al., 2017 ; 2020**).

L'étude d'**Annabi et al. (2012)**, révèle que le cadmium inhibe l'induction in vivo de la vitellogénine chez les femelles de *G. affinis*. **Pereira et al. (1992)**, ont montré que l'exposition au cadmium diminuait les concentrations plasmatiques de vitellogénine chez la plie rouge à maturité (*Pleuronectes americanus*) alors qu'**Olsson et al. (1995)**, suggèrent que le cadmium inhibe la transcription de vitellogénine chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

4.4. Dépuration

Les insecticides contenant du thiaméthoxame font partie de la classe des néonicotinoïdes ; ils sont mis au point pour remplacer les organophosphorés ainsi que les carbamates (**Anderson et al., 2015 ; Teló et al., 2015 ; Salbego et al., 2020**), et sont considérés comme essentiels pour le développement de l'agriculture (**Do Amaral et al., 2018 ; Das & Mukherjee, 2003 ; Dolci et al., 2014 ; Salbego et al., 2020**). Seulement 1% des pesticides atteignent l'organisme cible et les 99% restants sont dispersés dans l'environnement (**Zhang & Zhao, 2017 ; Demirci & Güngördü, 2020**), même les pesticides appliqués dans des zones locales, peuvent être emportés par l'irrigation des eaux, les pluies et les courants vers les rivières ainsi que les lacs et être hautement toxiques pour les populations de poissons (**Yhasmine, 2013 ; Korkmaz et al., 2018**). Ces derniers sont considérés comme des éléments



importants structurants les communautés aquatiques, avec une grande variété de tailles, d'habitats et de positions trophiques (Daufresne & Boët, 2007 ; Ernst *et al.*, 2018), présentant, ainsi, des profils différents d'accumulation de contaminants tels que les pesticides (Yim *et al.*, 2005 ; Wei *et al.*, 2014 ; Akoto *et al.*, 2016). Ces substances constituent, donc, une menace cruciale pour les zones aquatiques et les organismes non ciblés (Do Amaral *et al.*, 2018 ; Das & Mukherjee, 2003 ; Dolci *et al.*, 2014 ; Salbego *et al.*, 2020). La détermination de leurs effets à court et long termes est essentielle pour l'évaluation des risques environnementaux et la détermination de la capacité de dépuración des organismes affectés est également importante pour la prévision de la santé des organismes non ciblés (Korkmaz *et al.*, 2018). Ceci est confirmé par les recherches de Ríos *et al.* (2014) ; Kocamaz & Oruc, (2020), qui ont étudié les effets de différentes périodes de dépuración sur les paramètres de stress oxydatif des poissons exposés aux pesticides. Pham *et al.* (2017), ont précisé que la dépuración dépend des produits chimiques, des espèces et de la période de dépuración.

La présente étude vise à déterminer la capacité des femelles de *G. affinis*, exposées au thiaméthoxame pendant 28 jours puis transférées dans l'eau de robinet propre, à surmonter les effets nocifs du TMX après une période de dépuración de 7 ; 14 ; 21 et 28 jours, en fonction des trois concentrations testées (10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹) et de la période étudiée (repos/reproduction). Les résultats obtenus ont révélé un potentiel de purification important chez *G. affinis*, montrant que la dépuración réduit le stress oxydatif induit par le TMX.

Les schémas de dépuración de l'activité de l'AChE des espèces de poissons exposées peuvent être un biomarqueur utile pour une meilleure explication des effets environnementaux des pesticides sur les poissons (Kocamaz & Oruc, 2020). La dépuración de l'activité spécifique de l'AChE notée à partir du 14^{ème} jour en période de reproduction et du 7^{ème} jour en période de repos pour les trois concentrations étudiées, est attribué soit à la réactivation spontanée d'enzymes inhibées (Jokanović *et al.*, 1996 ; Trac *et al.*, 2016), soit à la synthèse de nouvelles enzymes (Savolainen, 2001 ; Trac *et al.*, 2016). L'étude de Kavitha & Venkateswara, (2007) a démontré qu'après une diminution de l'activité AChE (79%) dans le cerveau de *G. affinis* exposée au monocrotophos, une récupération subséquente a été observée. Celle de Narra *et al.* (2017) a révélé qu'après 30 jours de dépuración dans de l'eau exempte de substances toxiques, une récupération maximale a été observée dans le cerveau des poissons *Clarias batrachus* intoxiqués au monocrotophos. Des résultats similaires ont été notés chez les poissons *Carassius auratus* exposés aux pesticides azinphos-méthyl, parathion



et carbaryl (**Ferrari et al., 2004**), et dans le tissu gonadique d'*Oreochromis niloticus* exposé au chlorpyrifos (**Oruç, 2010**).

Pham et al. (2017), ont démontré que lors du transfert dans l'eau propre, l'activité de l'AChE de l'écrevisse *Cherax destructor* exposée au chlorpyrifos, au malathion et au méthomyl a augmenté de manière significative au cours de la période de dépuración de 14 jours, bien que la récupération ait été plus rapide dans les écrevisses exposées au méthomyl par rapport à ceux qui ont été exposées au chlorpyrifos et au malathion, les différences dans les taux de récupération peuvent être liées au niveau d'inhibition de l'AChE imposé ou au potentiel de bio activation des insecticides anticholinestérase (**Abdullah et al., 1994 ; Pham et al., 2017**). Les écrevisses, bien qu'à un niveau taxonomique inférieur, sont similaires aux poissons dans leur capacité à récupérer une activité enzymatique dans leur système nerveux après une exposition aux pesticides (**Pham et al., 2017**).

Une dépuración de l'activité de la GST à partir du 7^{ème} jour en période de reproduction et de repos pour les trois concentrations étudiées a été observée. Ces résultats concordent avec l'étude de **Kocamaz & Oruc, (2020)**, qui ont rapporté qu'après une période de dépuración, l'activité de la glutathion-S-transférase a considérablement diminué chez *Oreochromis niloticus* exposée au thiaméthoxame et à la λ cyhalothrine par rapport aux témoins. Des résultats de dépuración similaires ont été notés dans le foie et les reins de *Piaractus mesopotamicus* suite à une exposition à la λ cyhalothrine (**Bacchetta et al., 2014**). Une récupération complète de l'activité de la GST chez *Cherax destructor* transférées dans une eau propre suite à une exposition au méthomyl (insecticide, carbamate), chlorpyrifos et le malathion (insecticide, organophosphorés) a été observée (**Pham et al., 2017**). **Mundhe et al. (2016)**, ont rapporté une récupération maximale de l'activité de la GST dans les tissus branchiaux (35 %), les tissus du manteau (30%), des muscles (27%) et du pied (21 %) des bivalves d'eau douce *Lamellidens marginalis* (Lam.) exposés au monocrotophos (pesticide, organophosphoré).



Une dépuración des taux de PCo à partir du 7^{ème} jour pour la concentration la plus élevée et à partir du 14^{ème} jour pour les autres concentrations en période de reproduction, et à partir du 7^{ème} jour pour les trois concentrations en période de repos a été notée. Ces résultats sont semblables à ceux enregistrés chez *Oreochromis niloticus* exposée au thiaméthoxame et à la λ cyhalothrine, après une période de dépuración (Kocamaz & Oruc, 2020). La teneur en protéines carbonylées chez le poisson-chat argenté *Rhamdia quelen* exposé au Roundup a été mesuré dans une étude de (Menezes *et al.*, 2010) comme biomarqueurs du stress oxydatif ; et a montré un modèle de rétablissement lorsque les poissons ont été transférés dans de l'eau dépourvue d'herbicide. Le niveau de PCo a également, été restauré chez *Cyprinus carpio* exposée au tébuconazole (Toni *et al.*, 2011).



CONCLUSION & PERSPECTIVES

« Le danger qui menace les chercheurs aujourd'hui serait de conclure qu'il n'y a plus rien à découvrir. »

Pierre Joliot Curie.

5. CONCLUSION & PERSPECTIVES

La présente thèse qui s'inscrit dans le cadre du projet P.R.F.U « Etude de certaines espèces aquatiques : aspects bioécologiques, morphométriques et biochimiques liés aux facteurs environnementaux » du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, a pour objectif d'évaluer l'impact d'un insecticide néonicotinoïde (thiaméthoxame) sur un organisme non visé *Gambusia affinis* (Cyprinodontiforme : Poeciliidae) et se présente en deux parties :

La première consiste à évaluer l'effet d'une exposition chronique (28 jours) à différentes concentrations, à savoir, 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹ de la matière active (thiaméthoxame) sur la croissance (taille et poids totaux), les indices organo-somatiques (le rapport gonado-somatique, le rapport hépatique-somatique et l'indice de condition), ainsi que sur les différents biomarqueurs (Acétylcholinestérase, glutathion-S-transférase, protéines carbonylées et vitellines). Cette expérience est effectuée dans les deux période du cycle de vie (activité et repos sexuel) chez les femelles adultes. Les résultats obtenus ont révélé que le TMX n'affecte pas considérablement la croissance et la physiologie de *G. affinis* à long terme. Cependant, l'induction des GST et PCo ainsi que l'inhibition de l'activité de l'AChE et la diminution des taux de Vitelline démontrent que le TMX induit un stress oxydatif et une neurotoxicité chez cette espèce et a un potentiel reprotoxique.

La seconde partie vise à déterminer la capacité de *G. affinis* à surmonter le stress oxydatif causé par le TMX, encore mal connue à ce jour, en évaluant les réponses des différents biomarqueurs (AChE, GST, PCo et vitelline), après les avoir transvasés dans une eau non contaminée durant 28 jours. Cette partie est, également, effectuée dans les deux périodes du cycle de reproduction (activité et repos sexuel). La dépuración dépend étroitement des concentrations testées, du temps et de la période étudiée. Les résultats ont montré que *G. affinis* peut surmonter le stress environnemental et restaurer assez rapidement ses fonctions.

L'étude permet de projeter des perspectives intéressantes qui considèreraient les points suivants :

- Prolongation de la durée d'exposition à l'insecticide.
- Mesure de la taille de portée des femelles gestantes traitées au thiaméthoxame
- Etudier l'effet du thiaméthoxame sur la descendance de *G. affinis* et observation des malformations.
- Histologie des ovaires pendant les deux périodes du cycle de reproduction.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- La dépuraction sur une durée plus longue afin d'apprécier la réversibilité de la toxicité sur les organismes exposés et ce, à tous les niveaux (organe, cellulaire et moléculaire).
- Etude comportementale afin d'évaluer l'impact du thiaméthoxame sur la nage.



RÉSUMÉ

6. RÉSUMÉ

Cette étude conduite dans les conditions de laboratoire a pour but, dans un premier temps, d'évaluer la toxicité et l'effet d'un insecticide de la classe des néonicotinoïdes le thiaméthoxame (matière active de l'Actara® 25 WG) sur la croissance, les indices organo-somatiques et les biomarqueurs de stress environnemental chez les femelles adultes d'un poisson non ciblé, *G. affinis* ; et dans un deuxième temps, à déterminer la capacité de dépuración de cette espèce (*G. affinis*). Le produit est additionné dans l'eau d'élevage des poissons à des concentrations de 10 ; 20 et 40 mg.L⁻¹, les femelles y sont exposées pendant 28 jours, puis transvasées dans une eau de robinet non contaminée. L'expérience est effectuée en période de reproduction et repos sexuel de l'espèce. Les différents organes destinés aux dosages à savoir le cerveau, le foie, le tube digestif et les ovaires sont prélevés à différents temps de l'expérience d'exposition et de dépuración (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 et 28 jours).

L'expérimentation a permis de ne révéler aucun effet significatif du thiaméthoxame sur la croissance (taille et poids totaux) et les indices organo-somatiques (Rapport gonado-somatique et hépato-somatique) de *Gambusia affinis* pour les deux périodes de reproduction (activité et repos sexuels). L'analyse des biomarqueurs en phase d'exposition a démontré une inhibition de l'activité spécifique de l'AChE à partir du 1^{er} jour pour les trois concentrations en périodes de reproduction et de repos sexuel ; une induction de la GST et des PCo à partir du 14^{ème} jour pour les trois concentrations et du 7^{ème} jour pour la concentration 40 mg.L⁻¹ respectivement en période de reproduction et à partir du 14^{ème} jour pour les concentrations 20 mg.L⁻¹ et 40 mg.L⁻¹ et du premier jour pour les trois concentrations en période de repos sexuel. Une diminution des taux de vitellines en période de reproduction a été notée au 28^{ème} jour pour la concentration 40 mg.L⁻¹. L'étude de la dépuración de *G. affinis* a révélé une restitution de l'activité de l'AChE et de la GST à partir du 14^{ème} jour et 7^{ème} jour respectivement pour les trois concentrations ; et à partir du 7^{ème} jour à la concentration 40 mg.L⁻¹ pour les taux de PCo en période de reproduction. Une dépuración de l'activité de l'AChE et de la GST a été notée à partir du 1^{er} jour et du 7^{ème} jour respectivement pour les trois concentrations, ainsi qu'une dépuración des taux de PCo à partir du 7^{ème} jour pour les trois concentrations en période de repos sexuel.

L'ensemble des résultats montre que le thiaméthoxame n'affecte pas la croissance des femelles adultes de *G. affinis*, cependant, il semble affecter sa physiologie et provoquer un stress oxydatif et une neurotoxicité en période de reproduction et de repos sexuel. Les



femelles répondent rapidement à ce stress en mettant en place un système de détoxification. L'étude de la dépuration en périodes de reproduction et de repos démontre que cette espèce est capable de surmonter relativement rapidement le stress induit par cet insecticide.

Mots clés : toxicité ; biomarqueurs ; thiaméthoxame ; *Gambusia affinis* ; croissance.



ABSTRACT

The purpose of this laboratory study is, first, to assess the toxicity and effect of the neonicotinoid class of insecticides thiamethoxam (the active ingredient in Actara[®] 25 WG) on growth, organosomatic indices and environmental stress biomarkers in adult females of a non-target fish, *G. affinis* ; and second, to evaluate the depuration capacity of this species (*G. affinis*). The product is added to fish farm water at concentrations of 10 ; 20 and 40 mg.L⁻¹, the females are exposed for 28 days and then transferred to uncontaminated tap water. The experiment is conducted during the breeding and sexual rest periods of the species. The various organs to be assayed, namely the brain, the liver, the gastrointestinal tract and the ovaries, are taken at different times of the exposure and restoration experiments (0 ; 1 ; 7 ; 14 ; 21 and 28 days).

The experiment revealed no significant effect of thiamethoxam on the growth (total height and weight) and organo-somatic indices (gonado-somatic and hepato-somatic ratio) of *G. affinis* for the two reproduction periods (sexual activity and rest). Biomarkers analysis during the exposure phase demonstrated inhibition of specific AChE activity from day 1 for all three concentrations in the reproductive and sexual rest periods; induction of GST and PCo from day 14 for all three concentrations and from day 7 for the 40 mg.L⁻¹ concentration respectively in the breeding period and from day 14 for the 20 mg.L⁻¹ and 40 mg.L⁻¹ concentrations and from day 1 for all three concentrations in the sexual rest period. A decrease in yolk levels during the breeding period was noted on day 28 for the 40 mg.L⁻¹ concentration. The *G. affinis* restoration study revealed a recovery of AChE and GST activity from day 14 and day 7 respectively for all three concentrations and from day 7 at the 40 mg.L⁻¹ concentration for PCo levels during the breeding period. A restoration of AChE and GST activities was noted from day 1 and day 7 respectively for all three concentrations, and recovery of PCo levels from day 7 for all three concentrations during sexual rest period.



The overall results show that thiamethoxam does not affect the growth of adult females of *G. affinis*, however, it appears to affect its physiology and causes oxidative stress and neurotoxicity during breeding and sexual rest periods. Females respond rapidly to this stress by establishing a detoxification system. The study of restoration during breeding and resting periods shows that this species is able to overcome the stress induced by this insecticide relatively quickly.

Key words: toxicity; biomarkers; thiamethoxam; *Gambusia affinis*; growth.



الملخص

الهدف من هذه الدراسة المجرات في الشروط المخبرية هو، أولاً، تقييم سمية و تأثير مبيد حشرات من صنف النيونيكوتينويد التياميتوكسام (المادة الحيوية الأكتمار 25ج) على نمو، المؤشرات organo-somatique و المؤشرات الحيوية للإجهاد البيئي عند الإناث البالغات لسماك غير مستهدف (*G. affinis*) ، ثانياً، تهدف (الدراسة) إلى تحديد قابلية التجديد(الترميم، التنقية) عند هذا النوع من السمك. يتم إضافة المنتج إلى المياه المستزرعة السمكية بتركيزات 10 ; 20 و 40 ملغ / لتر ، تتعرض لها الإناث لمدة 28 يوماً ثم تنتقل إلى غير المياه

لم تكشف التجربة عن وجود تأثير معنوي thiamethoxam على النمو (الطول والوزن الكلي) والمؤشرات العضوية الجسدية (نسبة الغدد التناسلية الجسدية والكبدية الجسدية) من فطر غامبوسيا لفترتي التكاثر (النشاط و الراحة الجنسية). أظهر تحليل المؤشرات الحيوية خلال مرحلة التعرض تثبيطاً للنشاط المحدد لـ AChE من اليوم الأول للتركيزات الثلاثة خلال فترات التكاثر والراحة الجنسية ؛ تحريض GST و PCo من الرابع عشر للتركيزات الثلاثة ومن اليوم السابع لتركيز 40 ملغ / لتر على التوالي خلال فترة الإنجاب ، وخلال فترة الراحة الجنسية من اليوم الرابع عشر من التعرض. ولوحظ انخفاض في مستويات فيتامين خلال فترة الإنجاب في اليوم الثامن والعشرين لتركيز 40 ملغ / لتر. كشفت دراسة ترميم *G. affinis* عن استعادة نشاط AChE و GST من اليوم الرابع عشر واليوم السابع على التوالي للتركيزات الثلاثة ؛ ومن اليوم السابع بتركيز 40 مجم / لتر لمستويات PCo خلال فترة التكاثر. خلال فترة الراحة الجنسية ، لوحظ استعادة نشاط AChE و GST من اليوم الأول واليوم السابع على التوالي للتركيزات الثلاثة ، بالإضافة إلى استعادة مستويات PCo من السابع يوم للتركيزات الثلاثة.

تشير النتائج الإجمالية إلى أن thiamethoxam لا يؤثر على نمو الإناث البالغات لـ *G. affinis* ، ومع ذلك ، يبدو أنه يؤثر على علم وظائف الأعضاء ويسبب الإجهاد التأكسدي والسمية العصبية أثناء التكاثر والراحة الجنسية. تستجيب الإناث بسرعة لهذا الضغط من خلال تنفيذ نظام إزالة السموم. تظهر دراسة الترميم خلال فترات التكاثر والراحة أن هذا النوع قادر على التغلب بسرعة على الإجهاد الناجم عن هذا المبيد الحشري.

الكلمات المفتاحية : التسمم ; المؤشرات الحيوية ; thiaméthoxame ; *Gambusia affinis* ; النمو.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbott, W.S., 1925.** A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18 (2)** : 265–267. Doi:10.1093/jee/18.2.265a
- Abd-Alrahman, S.H., 2014.** Residue and dissipation kinetics of thiamethoxam in a vegetable- field ecosystem using QuEChERS methodology combined with HPLCDAD. *Food Chemistry*, **159** : 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.124>
- Abdullah, A.R., Kumar, A., & Chapman, J.C., 1994.** Inhibition of acetylcholinesterase in the Australian freshwater shrimp (*paratya australiensis*) by profenofos. *Environmental toxicology and chemistry*, **13 (11)** : 1861-1866.
- Adam, M.A., Maftuch, M., Kilawati, Y., & Risjani, Y., 2019.** The effect of cadmium exposure on the cytoskeleton and morphology of the gill chloride cells in juvenile mosquito fish (*Gambusia affinis*). *Egyptian Journal of Aquatic Research*, **45** : 337-343.
- Adams, S.M., Brown, A.M., & Goede, R.W., 1993.** A Quantitative Health Assessment Index for Rapid Evaluation of Fish Condition in the Field. *Transactions of the American Fisheries Society*, **122 (1)** : 63–73. Doi:10.1577/1548-8659(1993)122<0063:aqhaif>2.3.co;2
- Adams, S.M., Ham, K.D., Greeley, M.S., LeHew, R.F., Hinton, D.E., & Saylor, C.F., 1996.** Downstream gradients in bioindicator responses: point source contaminant effects on fish health. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **53 (10)** : 2177–2187. Doi:10.1139/f96-191
- Ahmed, W., Zhang, Q., Lobos, A., Senkbeil, J., Sadowsky, M.J., Harwood, V.J., Saeidi, N., Marinoni, O., & Ishii, S., 2018.** Corrigendum to “Precipitation influences pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes abundance in storm drain outfalls in coastal sub-tropical waters”. *Environment International*, **116** : 308-318. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.005>



- Aït hamlet, S., Djekoun, M., Bensoltane, S., & Berrebbah, H., 2019.** Effets du thiaméthoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques de l'escargot terrestre *helix aspersa*. *Revue Agrobiologia*, **9 (2)** : 1491-1498. [http://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2020/01/03-1491-1498- - A%C3%8FT-HAMLET-et-al.pdf](http://agrobiologia.net/online/wp-content/uploads/2020/01/03-1491-1498-A%C3%8FT-HAMLET-et-al.pdf)
- Ajima, M.N.O., Pandey, P.K., Kumar, K., & Poojary, N., 2017.** Neurotoxic effects, molecular responses and oxidative stress biomarkers in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) exposed to verapamil. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **196** : 44–52. Doi:10.1016/j.cbpc.2017.03.009
- Akoto, O., Azuure, A.A., & Adotey, K.D., 2016.** Pesticide residues in water, sediment and fish from Tono Reservoir and their health risk implications. *SpringerPlus*, **5 (1)** : 1849. Doi:10.1186/s40064-016-3544-z
- Al-Deghayem, W.A., Al-Balawi, H.F., Kandeal, S.A., & Suliman, El A.M., 2017.** Gonadosomatic index and some hematological parameters in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) as affected by feed type and temperature level. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **60**. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160157>
- Al-Ghanim, K.A., Mahboob, S., Vijayaraghavan, P., Al-Misned, F.A., Kim, Y.O., & Kim, H.J., 2019.** Sub-lethal effect of synthetic pyrethroid pesticide on metabolic enzymes and protein profile of non-target Zebra fish, *Danio rerio*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **27 (1)** : 441-447. Doi:10.1016/j.sjbs.2019.11.005
- Almeida, J.R., Oliveira, C., Gravato, C., & Guilhermino, L., 2010.** Linking behavioural alterations with biomarkers responses in the European seabass *Dicentrarchus labrax* L. exposed to the organophosphate pesticide fenitrothion. *Ecotoxicology*, **19 (8)** : 1369–1381. Doi:10.1007/s10646-010-0523-y
- Alvarez-Lajonchère, L., 2006.** Nutrición de reproductores en peces marinos. 1-19. In : Cruz Suárez, L.E., Rique Marie, D., Tapia Salazar, M., *et al.* (Eds.), Avances en nutrición acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.



- Alvim, T.T., & Martinez, C.B.dos R., 2019.** Genotoxic and oxidative damage in the freshwater teleost *Prochilodus lineatus* exposed to the insecticides lambda-cyhalothrin and imidacloprid alone and in combination. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **842** : 85-93.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2018.11.011>
- Amamra, F., Sifi, K., Kaouachi, N., & Soltani, N., 2019.** Evaluation of the impact of pollution in the gulf of Annaba (ALGERIA) by measurement of environmental stress biomarkers in an edible mollusk bivalve *Donax trunculus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, **28 (2)** : 908-915.
- Anderson, J.C., Dubetz, C., & Palace, V.P., 2015.** Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of The Total Environment*, **505** : 409–422.
Doi:10.1016/j.scitotenv.2014.09.090
- Anderson, R.O., & Gutreuter, S.J., 1983.** Length, weight, and associated structural indices: In L.A. Nielsen and D. L. Johnson, (eds.), *Fisheries Techniques*, 283 - 300p.
- Annabi, A., Kessabi, K., Kerkeni, A., Said, K., & Messaoudi, I., 2012.** Influence of Cadmium Exposure on Growth and Fecundity of Freshwater Mosquitofish *Gambusia affinis*: In Situ and In Vivo Studies. *Biological Trace Element Research*, **148 (3)** : 345–355. Doi:10.1007/s12011-012-9372-2
- Arthington, A.H., 1989.** Diet of *Gambusia affinis holbrooki*, *Xiphophorus helleri*, *X. maculatus* and *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae) in streams of southeastern Queensland, Australia. *Asian Fisheries Science*, **2** : 193-212.
- Atamaniuk, T.M., Kubrak, O.I., Husak, V.V., Storey, K.B., & Lushchak, V.I., 2013.** The mancozeb-containing carbamate fungicide tattoo induces mild Oxidative Stress in goldfish brain, liver, and kidney. *Environmental Toxicology*, **29 (11)** : 1227-35.
Doi:10.1002/tox.21853
- Augustyniak, E., Adam, A., Wojdyla, K., Rogowska-Wrzesinska, A., Willetts, R., Korkmaz, A., Atalay, M., Weber, D., Grune, T., Borsa, C., Gradinaru, D., Bollineni, R.C., Fedorova, M., & Griffiths, H.R., 2015.** Validation of protein carbonyl measurement: A multi-centre study. *Redox Biology*, **4** : 149–157.
Doi:10.1016/j.redox.2014.12.014



B

- Bacchetta, C., Rossi, A., Ale, A., Campana, M., Parma, M.J., & Cazenave, J., 2014.** Combined toxicological effects of pesticides: A fish multi-biomarker approach. *Ecological Indicators*, **36** : 532–538. Doi:10.1016/j.ecolind.2013.09.016
- Bagenal, T.B., 1978.** Aspects of Fish Fecundity. In: Gerking, S.D. (Ed.), *Ecology of Freshwater Fish Production*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 75-101p.
- Baird, S.F., & Girard, C., 1853.** Descriptions of new species of fishes collected by Mr. John H. Clark, on the U.S. and Mexican boundary survey, under Lt. Col. Jas. D. Graham. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, **4** : 387-390. https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/34413/Proceedings_Fishes3.pdf
- Baldissera, M.D., Souza, C.F., Seben, D., Sippert, L.R., Salbego, J., Marchesan, E., Zanella, R., Baldisserotto, B., & Golombieski, J.I., 2018.** Gill bioenergetics dysfunction and oxidative damage induced by thiamethoxam exposure as relevant toxicological mechanisms in freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. *Science of The Total Environment*, **636** : 420–426. Doi:10.1016/j.scitotenv.2018.04.292
- Bao, S., Nie, X., Liu, Y., Wang, C., & Liu, S., 2018.** Response of PXR signaling pathway to simvastatin exposure in mosquitofish (*Gambusia affinis*) and its histological changes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **154** : 228-236. Doi:10.1016/j.ecoenv.2018.02.015
- Barbosa, M.O., Moreira, N.F.F., Ribeiro, A.R., Pereira, M.F.R., & Silva, A.M.T., 2016.** Occurrence and removal of organic micropollutants: an overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water Research*, **94** : 257–279. Doi:10.1016/j.watres.2016.02.047
- Basilone, G., Ferreria, R., Barra, M., Bonanno, A., Pulizzi, M., Gargano, A., Fontana, I., Giacalone, G., Rumolo, P., Mazzola, S., Genovese, S., McBride, R., & Aronica, S., 2020.** Spawning ecology of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily: Linking variations of zooplankton prey, fish density, growth, and reproduction in an upwelling system. *Progress in Oceanography*, **184** : 102330. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2020.102330>



- Basilone, G., Guisande, C., Patti, B., Mazzola, S., Cuttitta, A., Bonanno, A., Vergara, A.R., & Maneiro, I., 2006.** Effect of habitat conditions on reproduction of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. *Fisheries Oceanography*, **15 (4)** : 271–280. Doi:10.1111/j.1365-2419.2005.00391.x
- Beldi, H., & Soltani, N., 2003.** Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non-target species. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, **68 (4 Pt A)** : 299-305.
- Beldi, H., 2007.** Etude de *Gambusia affinis* (Poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (Mollusque, Pélécy-pode) : écologie, physiologie et impacts de quelques altéragènes. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale, Option : Biologie et écologie marines. Université d'Annaba, Algérie, 116p.
- Bendali, F., Djebbar, F., & Soltani, N., 2001.** Efficacité comparée de quelques espèces de poisons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens L.* dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, **57 (4)** : 255-265.
- Benejam, L., Alcaraz, C., Sasal, P., Simon-Levert, G., & García-Berthou, E., 2009.** Life history and parasites of the invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) along a latitudinal gradient. *Biological Invasions*, **11 (10)** : 2265–2277. Doi:10.1007/s10530-008-9413-0
- Berghiche, H., Touati, K., Chouahda, S., & Soltani, N., 2018.** Impact of the Neonicotinoid Insecticide, Actara®, on the Shrimp *Palaemon adspersus*: Biomarkers Measurement. *Advances in Science, Technology & Innovation*, 533–534. Doi:10.1007/978-3-319-70548-4_162
- Berkoz, M., Ozkan-Yilmaz, F., Ozluer- Hunt, A., Gunduz, S.G., Yildirim, M., & Yalin, S., 2019.** Influence of sublethal chlorpyrifos exposure on oxidative stress and acetylcholinesterase activity in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fresenius Environmental Bulletin*, **28 (6)** : 4642-4649.
https://www.researchgate.net/profile/Ivaylo_Sirakov2/publication/334272534_Accumulationgrowth_and_photosynthetic_response_of_Lemna_minuta_Kunth_to_heavy_metal_polution/links/5d20018592851cf44068f138/Accumulation-growth-and-photosynthetic-response-of-Lemna-minuta-Kunth-to-heavy-metal-polution.pdf#page=245



- Bernal-Reya, D.L., Cantera, C.G., Afonso, M.D.S., & Menéndez-Helman, R.J., 2020.** Seasonal variations in the dose-response relationship of acetylcholinesterase activity in freshwater fish exposed to chlorpyrifos and glyphosate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **187** : 109673. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109673>
- Betim, F.L., Galvan, G.L., Cestari, M.M., Yamamoto, C.I., & Silva de Assis, H.C., 2016.** Biochemical responses in freshwater fish after exposure to water-soluble fraction of gasoline. *Chemosphere*, **144** : 1467-1474.
- Bhat, S.K., & Ganesh, C.B., 2019.** Domperidone treatment advances onset of puberty in the viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, **80** : 65. <https://doi.org/10.1186/s41936-019-0136-9>
- Bhat, S.K., & Ganesh, C.B., 2020.** Domperidone treatment attenuates stress-induced suppression of reproduction in viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*. *Journal of Fish Biology*, **96** : 37–48. Doi:10.1111/jfb.14183
- Birnie-Gauvin, K., Costantini, D., Cooke, S.J., & Willmore, W.G., 2017.** A comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: A review. *Fish and Fisheries*, **18** (5) : 928–942. Doi:10.1111/faf.12215
- Black, D.A., & Howell, W.M., 1979.** The North American Mosquitofish, *Gambusia affinis*: A Unique Case in Sex Chromosome Evolution. *Copeia*, **3** : 509. Doi:10.2307/1443231
- Bliss, C.I., 1938.** The determination of the dosage-mortality curve from small numbers. *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **11** (2) : 192-216.
- Bobori, D., Dimitriadi, A., Karasialia, S., Tsoumaki-Tsouroufli, P., Mastora, M., Kastrinaki, G., Feidantsis, K., Printzi, A., Koumoundouros, G. & Kaloyianni, M., 2020.** Common mechanisms activated in the tissues of aquatic and terrestrial animal models after TiO₂ nanoparticles exposure. *Environment International*, **138** : 105611. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105611>
- Bonifacio, A.F., Cazenave, J., Bacchetta, C., Ballesteros, M.L., de los Ángeles Bistoni, M., Amé, M.V., Bertrand, L., & Hued, A.C., 2016.** Alterations in the general condition, biochemical parameters and locomotor activity in *Cnesterodon decemmaculatus* exposed to commercial formulations of chlorpyrifos, glyphosate and their mixtures. *Ecological Indicators*, **67** : 88–97. Doi:10.1016/j.ecolind.2016.02.011



- Bougis, P., 1952.** Recherche biométrique sur les Rougets *Mullus barbatus L.* et *Mullus surmuletus L.* *Archives de zoologie expérimentale et générale*, **89 (2)** : 57-174.
- Bouhafs, N., 1993.** Contribution à l'étude de la biologie d'un téléostéen d'eau douce *Gambusia affinis*. Thèse de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. 55p.
- Bounaceur, F., 1997.** Contribution to the ecological survey of *Gambusia affinis* (Baird and Girard, 1853) in 3 humid sites of the National Park of El Kala. Thèse de Magistere institue national agronomique. INA-EL Harrach, 128p.
- Braconi, D., Bernardini, G., & Santucci, A., 2011.** Linking protein oxidation to environmental pollutants: Redox proteomic approaches. *Journal of Proteomics*, **74 (11)** : 2324–2337. Doi:10.1016/j.jprot.2011.06.029
- Bradford, B.Z., Huseh, A.S., & Groves, R.L., 2018.** Widespread detections of neonicotinoid contaminants in central Wisconsin groundwater. *Plos one*, **13 (10)** : e0201753. Doi:10.1371/journal.pone.0201753
- Bradford, M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72 (1-2)** : 248–254. Doi:10.1016/0003-2697(76)90527-3
- Britton, R.H., & Moser, M.E., 1982.** Size specific predation by herons and its effect on the sexratio of natural populations of the mosquito fish *Gambusia affinis* baird and girard. *Oecologia*, **53** : 146–151. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00545657>.
- Brooks, S., Tyler, C.R., & Sumpter, J.P., 1997.** Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **7 (4)** : 387–416. Doi:10.1023/a:1018400130692
- Butcherine, P., Benkendorff, K., Kelaher, B., & Barkla, B.J., 2019.** The risk of neonicotinoid exposure to shrimp aquaculture. *Chemosphere*. **217** : 329-348. Doi:10.1016/j.chemosphere.2018.10.197

C

- Cadwallader, P.L., & Backhouse, G.N., 1983.** A guide to the freshwater fish of Victoria. Government Printers. Melbourne. 249p.



- Calado, S.L.M., Santos, G.S., Vicentini, M., Bozza, D.C., Prodocimo, V., Magalhães, V.F., Cestari, M.M., & Assis, H.C.S., 2020.** Multiple biomarkers response in a Neotropical fish exposed to paralytic shellfish toxins (PSTs). *Chemosphere*, **238** : 124616. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124616>
- Camara, E.M., Caramaschi, E.P., & Petry, A.C., 2011.** Fator de condição: bases conceituais, aplicações e perspectivas de uso em pesquisas ecológicas com peixes. *Oecologia Australis*, **5 (11)** : 249-274. <https://doi.org/10.4257/oeco.2011.1502.05>
- Cao, H., Shi, C.L., & Jia, X.Y., 2012.** Toxicity mechanism of cadmium-induced reactiveoxygen species and protein oxidation in testes of the frog *Rana nigromaculata*. *Acta Ecologica Sinica*, **32 (13)** : 4199–4206. Doi:10.5846/stxb201106020739
- Cazan, A.M., & Klerks, P.L., 2015.** Physiological effects and reduced tolerance following maternal metal exposure in the live-bearing fish *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **34 (6)** : 1337–1344. Doi:10.1002/etc.2919
- Chambolle, P., 1970.** Modalités du développement et analyse des facteurs physiologiques de la reproduction chez *Gambusia sp.* (Poisson Téléstéen) ; recherches descriptives et expérimentales. Thèse 3^{ème} cycle. Université de Bordeaux I : 192p.
- Chambolle, P., 1973.** La reproduction du *Gambusia*. *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*, **107 (1)** : 27-101.
- Champion, C., Hobday, A.J., Pecla, G.T., & Tracey, S.R., 2020.** Maximising the utility of bioelectrical impedance analysis for measuring fish condition requires identifying and controlling for sources of error. *Fisheries Research*, **229** : 105575. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2020.105575>
- Chang, Y., Mao, L., Zhang, L., Zhang, Y., & Jiang, H., 2020.** Combined toxicity of imidacloprid, acetochlor, and tebuconazole to zebrafish (*Danio rerio*): acute toxicity and hepatotoxicity assessment. *Environmental Science and Pollution Research*. **27 (10)** : 10286-10295. Doi:10.1007/s11356-020-07653-3
- Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., & Van Herp, F., 1997.** Hormonal regulation of growth and reproduction in crustaceans. In: Fingerman, M., Nagabhushanam, R., Thompson, M. F. (eds) Recent advances in marine biotechnology. Oxford & IBH Publishing Co, New Delhi, 109–161p.



- Chen, Y.Y., & Chan, K.M., 2016.** Regulation of vitellogenin (vtg1) and estrogen receptor (er) gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) following the administration of Cd 2+ and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Chemosphere*, **147** : 467–476. Doi:10.1016/j.chemosphere.2015.12.083
- Cheng, Y., Xiong, W., Tao, J., He1, D., Chen, K., & Chen, Y., 2018.** Life-history traits of the invasive mosquitofish (*Gambusia affinis* Baird and Girard, 1853) in the central Yangtze River, China. *Bio Invasions Records*, **7 (3)** : 309–318. <https://doi.org/10.3391/bir.2018.7.3.13>
- Chouahda, S., & Soltani, N., 2009.** Impact du cadmium et du halofenozide sur les indices métriques des femelles adultes d'un poisson culiciphage, *Gambusia affinis*. *Science & Technologie*, **C 29** : 9–14.
- Chouahda, S., & Soltani, N., 2013.** Toxicité aiguë et chronique du cadmium chez un poisson culiciphage : *Gambusia affinis*. *Bulletin de la Société zoologique de France*, **138 (1-4)** : 115-126.
- Chouahda, S., 2011.** Evaluation de deux xénobiotiques (Cadmium et Halofenozide) sur un poisson culiciphage à intérêt médical, *Gambusia affinis*. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale, Option : ecotoxicologie. Université d'Annaba, Algérie, 220p.
- Chouahda, S., Berghiche, H., & Soltani, N., 2010.** Toxicité aiguë du malathion à l'égard des adultes d'un poisson larvivoire, *Gambusia affinis*. *Bulletin de l'INSTM NS*, **14** : 158-163.
- Chouahda, S., Cheghib, Y., & Soltani, N., 2018.** Impact of a Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam on Metric Indexes and Enzymatic Activity of Glutathione S-Transferase in Adult Females of a Mosquitofish *Gambusia affinis*. In: Kallel A., Ksibi M., Ben Dhia H., Khélifi N (Eds), Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions. EMCEI 2017. Advances in Science, Technology & Innovation (IEREK Interdisciplinary Series for Sustainable Development), 311-312. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70548-4_99
- Chouahda, S., Sifi, K., & Soltani, N., 2006.** Toxicité du cadmium et de l'halofenozide chez les alevins d'un poisson culiciphage *Gambusia affinis* : croissance et activités enzymatiques. *Bulletin de l'Institut National des Sciences de la Mer et Technologies de la Mer (INSTM, Salammbô)*, **NS 10** : 137-140.



- Chouahda, S., Sifi, K., & Soltani, N., 2007.** Evaluation de l'impact d'un insecticide sélectif efficace contre els moustiques sur la croissance des alevins d'un poisson larvivoire, *Gambusia affinis*. *Journal Algérien de Médecine*, **1 & 2 (15)** : 17-19.
- Clasen, B., Loro, V.L., Cattaneo, R., Moraes, B., Lópes, T., de Avila, L.A., Zanella, R., Reimche, G.B., & Baldisserotto, B., 2012.** Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: Implications for rice–fish cultivation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **77** : 45–51. Doi:10.1016/j.ecoenv.2011.10.001
- Cohen, H., 1946.** Effects of sex hormones on the development of the platyfish, *Platypoecilus maculatus*. *Zoologica*, **31** : 121– 128.
- Colovic, M.B., Krstic, D.Z., Lazarevic-Pasti, T.D., Bondzic, A.M., & Vasic, V.M., 2013.** Acetylcholinesterase Inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharmacology*, **11 (3)** : 315–335. Doi:10.2174/1570159x11311030006
- Copat, C., Rizzo, M., Zuccaro, A., Grasso, A., Zuccarello, P., Fiore, M., Mancini, G., & Ferrante, M., 2020.** Metals/Metalloids and Oxidative Status Markers in Saltwater Fish from the Ionic Coast of Sicily, Mediterranean Sea. *International Journal of Environmental Research*, **14** : 15-27. <https://doi.org/10.1007/s41742-019-00237-1>
- Cossi, P.F., Herbert, L.T., Yusseppone, M.F., Pérez A.F., & Kristoff, G., 2020.** Toxicity evaluation of the active ingredient acetamiprid and a commercial formulation (Assail® 70) on the non-target gastropod *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **192** : 110248. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110248>
- Coulon, M., Schurr, F., Martel, A.C., Cougoule, N., Begaud, A., Mangoni, P., Dalmon, A., Alaux, C., Le Conte, Y., Thiery, R., Ribiere-Chabert, M., & Dubois, E., 2018.** Metabolisation of thiamethoxam (a neonicotinoid pesticide) and interaction with the Chronic bee paralysis virus in honeybees. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **144** : 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.10.009>
- Couret, J., Notarangelo, M., Veera, S., LeClaire-Conway, N., Ginsberg, H.S., & LeBrun, R.L., 2020.** Biological control of Aedes mosquito larvae with carnivorous aquatic plant, *Utricularia macrorhiza*. *Parasites & Vectors*, **13 (1)** : 208. Doi:10.1186/s13071-020-04084-4



- Craddock, H.A., Huang, D., Turner, P.C., Quirós-Alcalá, L., & Payne-Sturges, D.C., 2019.** Trends in neonicotinoid pesticide residues in food and water in the United States, 1999–2015. *Environmental Health*, **18** (7). Doi:10.1186/s12940-018-0441-7
- Craig, P.M., Wood, C.M., & McClelland, G.B., 2007.** Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **293** (5) : R1882–R1892. Doi:10.1152/ajpregu.00383.2007
- Crivelli, A.J., & Boy, V., 1987.** The diet of the mosquitofish *Gambusia affinis* (Baird and Girard) Poeciliidae in Mediterranean France. *Revue d'Ecologie*, **42** : 421–435. http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/55274/LATERREETLAVIE_1987_42_4_421.pdf?sequence=1
- Cropotova, J., & Rustad, T., 2019.** A novel fluorimetric assay for visualization and quantification of protein carbonyls in muscle foods. *Food Chemistry*, **297** : 125006. Doi:10.1016/j.foodchem.2019.125006
- Cui, W., Cao, L., Liu, J., Ren, Z., Zhao, B., & Dou, S., 2020.** Effects of seawater acidification and cadmium on the antioxidant defense of flounder *Paralichthys olivaceus* larvae. *Science of the Total Environment*, **718** : 137234. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137234>

D

- Da Silva, R.de C., Grötzner, S.R., Moura Costa, D.D., Garcia, J.R.E., Muelbert, J., de Magalhães, V.F., Neto, F.F., & de Oliveira Ribeiro, C.A., 2018.** Comparative bioaccumulation and effects of purified and cellular extract of cylindrospermopsin to freshwater fish *Hoplias malabaricus*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, **81** (14) : 620–632. Doi:10.1080/15287394.2018.1469101
- Dagnelie, P., 1998.** Statistique théorique et appliquée : Inférence statistique à une et à deux dimensions. De Boeck & Larcier. Paris, Bruxelles. 181-186p.
- Dallarés, S., Dourado, P., Sanahuja, I., Solovyev, M., Gisbert, E., Montemurro, N., Torreblanca, A., Blazquez, M., & Solé, M., 2019.** Multibiomarker approach to fipronil exposure in the fish *Dicentrarchus labrax* under two temperature regimes. *Aquatic Toxicology*, **29** : 105378. Doi:10.1016/j.aquatox.2019.105378



- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R., 2003.** Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta. the International Journal of Clinical Chemistry*, **329 (1-2)** : 23- 38. Doi:10.1016/s0009-8981(03)00003-2
- Das, B.K., & Mukherjee, S.C., 2003.** Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **134 (1)** : 109–121. Doi:10.1016/s1532-0456(02)00219-3
- Daufresne, M., & Boët, P., 2007.** Climate change impacts on structure and diversity of fish communities in rivers. *Global Change Biology*, **13 (12)** : 2467–2478. Doi:10.1111/j.1365-2486.2007.01449.x
- Davey, A.J.H., Bailey, L., Bewes, V., Mubaiwa, A., Hall, J., Burgess, C., Dunbar, M.J., Smith, P.D., & Rambohu, I.J., 2020.** Water quality benefits from an advice-led approach to reducing water pollution from agriculture in England. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **296** : 106925. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106925>
- Dawar, F.U., Zuberi, A., Azizullah, A., & Khan Khattak, M.N., 2016.** Effects of cypermethrin on survival, morphological and biochemical aspects of rohu (*Labeo rohita*) during early development. *Chemosphere*, **144** : 697–705. Doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.007
- Dawood, M.A.O., AbdEl-kader, M.F., Moustafa, E.M., Gewaily, M.S., & Abdo, S.E., 2020.** Growth performance and hemato-immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to deltamethrin and fed immunobiotics. *Environmental Science and Pollution Research*, **27** : 11608–11617. Doi:10.1007/s11356-020-07775-8
- De Araujo, M.C., de Assis, C.R.D., Silva, K.C.C., de Souza, K.S., de Azevedo, R.S., Alves, M.H.M.E., da Silva, L.C., da Silva, V.L., Adam, M.L., de Carvalho Junior, L.B., de Souza Bezerra, R., & de Oliveira, M.B.M., 2018.** Characterization of brain acetylcholinesterase of bentonic fish *Hoplosternum littorale*: Perspectives of application in pesticides and metal ions biomonitoring. *Aquatic Toxicology*, **205** : 213-226. Doi:10.1016/j.aquatox.2018.10.017



- De Moura, F.R., Brentegani, K.R., Gemelli, A., Sinhorin, A.P., & Sinhorin, V.D.G., 2017.** Oxidative stress in the hybrid fish jundiara (*Leiarius marmoratus* × *Pseudoplatystoma reticulatum*) exposed to Roundup Original®. *Chemosphere*, **185** : 445–451. Doi:10.1016/j.chemosphere.2017.07.030
- Delmond, K.A., Vicari, T., Guiloski, I.C., Dagostim, A.C., Voigt, C.L., Silva de Assis, H.C., Ramsdorf, W.A., & Cestari, M.M., 2019.** Antioxidant imbalance and genotoxicity detected in fish induced by titanium dioxide nanoparticles (NpTiO₂) and inorganic lead (PbII). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **67** : 42-52. Doi:10.1016/j.etap.2019.01.009
- Demirci, Ö., & Güngördü, A., 2020.** Evaluation of the biochemical effects of an acetamiprid-based insecticide on a non-target species, *Gambusia holbrooki*. *Water and Environment Journal*. Doi:10.1111/wej.12549
- Demirci, Ö., Güven, K., Asma, D., Öğüt, S., & Uğurlu, P., 2018.** Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **147** : 749–758. Doi:10.1016/j.ecoenv.2017.09.038
- Do Amaral, A.M.B., de Lima Costa Gomes, J., Weimer, G.H., Marins, A.T., Loro, V.L., & Zanella, R., 2018.** Seasonal implications on toxicity biomarkers of *Loricariichthys anus* (Valenciennes, 1835) from a subtropical reservoir. *Chemosphere*, **191** : 876–885. Doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.114
- Dodd, J.M., 1977.** The structure of the ovary in non-mammalian vertebrates, In Zuckerman, S. and B.J. Weir: The ovary. 1^{ère} edition, Academic Press, New York. 219–263p.
- Dolci, G.S., Vey, L.T., Schuster, A.J., Roversi, K., Roversi, K., Dias, V.T., Pase, C.S., Barcelos, R.C.S., Antoniazzi, C.T.D., Golombieski, J.I., Glanzner, W.G., Anezi Junior, P.A., Gonçalves, P.B.D., Nunes, M.A.G., Dressler, V.L., Baldisserotto, B., & Burger, M. E., 2014.** Hypoxia acclimation protects against oxidative damage and changes in prolactin and somatolactin expression in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to manganese. *Aquatic Toxicology*, **157** : 175–185. Doi:10.1016/j.aquatox.2014.10.015



- Doruchowski, G., Świechowski, W., Masny, S., Maciesiak, A., Tartanus, M., Bryk, H., & Holownicki, R., 2017.** Low-drift nozzles vs. standard nozzles for pesticide application in the biological efficacy trials of pesticides in apple pest and disease control. *Science of The Total Environment*, **575** : 1239–1246. Doi:10.1016/j.scitotenv.2016.09.200
- Draredja-Beldi, H., & Soltani, N., 2001.** Effects of diflubenzuron on growth and glutathione in mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Rijksuniversiteit te Gent. Fakulteit van de Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen*, **66 (2b)** : 857-862.
- Draredja-Beldi, H., 1993.** Contribution à l'étude de *Gambusia affinis* (Téléostéen, Poeciliidae), poisson prédateur des larves de moustiques, croissance des alevins, étude du cycle sexuel et corrélations métaboliques. Thèse magister en physiologie animale. Université d'Annaba : 107p.
- Duarte, I.A., Vasconcelos, R.P., França, S., Batista, M.I., Tanner, S., Cabral, H.N., & Fonseca, V.F., 2018.** Short-term variability of fish condition and growth in estuarine and shallow coastal areas. *Marine Environmental Research*, **134** : 130-137. Doi:10.1016/j.marenvres.2018.01.008

E

- Edwards, R., & Dixon, D.P., 2002.** Plant glutathione transferases. *Genome Biology*, **3 (3)** : 1-10.
- Edwards, T.M., Miller, H.D., & Guillette, L.J., 2006.** Water Quality Influences Reproduction in Female Mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) from Eight Florida Springs. *Environmental Health Perspectives*, **114 (S-1)** : 69–75. Doi:10.1289/ehp.8056
- Edwards, T.M., Miller, H.D., Toft, G., & Guillette, L.J., 2013.** Seasonal reproduction of male *Gambusia holbrooki* (eastern mosquitofish) from two Florida lakes. *Fish Physiology and Biochemistry*, **39 (5)** : 1165–1180. Doi:10.1007/s10695-013-9772-z
- Ekundayo, T.C., & Okoh, A.I., 2020.** Antimicrobial resistance in freshwater *Plesiomonas shigelloides* isolates: Implications for environmental pollution and risk assessment. *Environmental Pollution*, **257** : 113493. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113493>



- El Alami, A., Lagarde, F., Huo, Q., Zheng, T., Baitoul, M., & Daniel, P., 2020.** Acetylcholine and acetylcholinesterase inhibitors detection using gold nanoparticles coupled with dynamic light scattering. *Sensors International*, **1** : 100007. <https://doi.org/10.1016/j.sintl.2020.100007>
- El Euony, O.I., Elblehi, S.S., Abdel-Latif, H.M., Abdel-Daim, M.M., & El-Sayed, Y.S., 2020.** Modulatory role of dietary *Thymus vulgaris* essential oil and *Bacillus subtilis* against thiamethoxam-induced hepatorenal damage, oxidative stress, and immunotoxicity in African catfish (*Clarias garipenus*). *Environmental Science and Pollution Research*, **27** : 23108–23128. Doi:10.1007/s11356-020-08588-5
- El-Greisy, Z.A., & El-Gamal, A.H.A., 2015.** Experimental studies on the effect of cadmium chloride, zinc acetate, their mixture and the mitigation with vitamin C supplementation on hatchability, size and quality of newly hatched larvae of common carp, *Cyprinus carpio*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, **41** (2) : 219-226. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.03.007>
- Elias, N.S., Abouelghar, G.E., Sobhy, H.M., El Miniawy, H.M., & Elsaiedy, E.G., 2020.** Sublethal effects of the herbicide thiobencarb on fecundity, histopathological and biochemical changes in the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **19** (3) : 1589-1614. Doi: 10.22092/ijfs.2018.119669.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., & Featherstone, R.M., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7** (2) : 88–95. Doi:10.1016/0006-2952(61)90145-9
- Ensibi, C., Pérez-López, M., Soler Rodríguez, F., Míguez-Santiyán, M.P., Yahya, M.N.D., & Hernández-Moreno, D., 2013.** Effects of deltamethrin on biometric parameters and liver biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio L.*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **36** (2) : 384–391. Doi:10.1016/j.etap.2013.04.019
- Ensley, S.M., 2018.** Chapter 40 – Neonicotinoids, in : *Veterinary Toxicology : Basic and Clinical Principles*. Third Edition, Academic Press, 1238 p. Doi:10.1016/b978-0-12-811410-0.00040-4



- Erasmus, V.N., Iitembu, J.A., Hamutenya, S., & Gamatham, J., 2019.** Evidences of possible influences of methylmercury concentrations on condition factor and maturation of *Lophius vomerinus* (Cape monkfish). *Marine Pollution Bulletin*, **146** : 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.060>
- Ernst, F., Alonso, B., Colazzo, M., Pareja, L., Cesio, V., Pereira, A., Márquez, A., Errico, E., Segura, A.M., Heinzen, H., & Pérez-Parada, A., 2018.** Occurrence of pesticide residues in fish from south American rainfed agroecosystems. *Science of The Total Environment*, **631-632** : 169–179. Doi:10.1016/j.scitotenv.2018.02.320
- Ewere, E.E., Powell, D., Rudd, D., Reichelt-Brushett, A., Mouatt, P., Voelcker, N. H., & Benkendorff, K., 2019.** Uptake, depuration and sublethal effects of exposure to the neonicotinoid, imidacloprid exposure in Sydney rock oysters. *Chemosphere*, **230** : 1-13. Doi:10.1016/j.chemosphere.2019.05.045
- Ewere, E.E., Reichelt -Brushett, A., & Benkendorff, K., 2019.** Imidacloprid and formulated product impacts the fatty acids and enzymatic activities in tissues of Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata*. *Marine Environmental Research*, **151** : 104765. Doi:<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.104765>
- Ewere, E.E., Reichelt-Brushett, A., & Benkendorff, K., 2020.** The neonicotinoid insecticide imidacloprid, but not salinity, impacts the immune system of Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata*. *Science of The Total Environment*, **742** : 140538. Doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140538
- Ezeoyili, I.C., Mgbenka, B.O., Atama, C.I., Ngwu, G.I., Madu, J.C., & Nwani, C.D., 2019.** Changes in brain acetylcholinesterase and oxidative stress biomarkers in *Clarias gariepinus* exposed to carbendazim. *Journal of Aquatic Animal Health*. **31** : 371–379. Doi:10.1002/aah.10089

F

- Fabre, M.C., Descamps, M., & Baert, J.L., 1990.** Identification and partial characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulata* Latreille (*Myriapoda Chilopoda*). 8th international conference on myriapodology, Innsbruck, Austria, Ber. nat.-ined. Verein Innsbruck, 117-121p.



- Falfushynska, H., Gnatyshyna, L., Yurchak, I., Stoliar, O., & Sokolova, I.M., 2016.** Interpopulational variability of molecular responses to ionizing radiation in freshwater bivalves *Anodonta anatina* (Unionidae). *Science of The Total Environment*, **568** : 444–456. Doi:10.1016/j.scitotenv.2016.05.175
- Famofo, O.O., & Abdul, W.O., 2020.** Biometry, condition factors and length-weight relationships of sixteen fish species in Iwopin fresh-water ecotype of Lekki Lagoon, Ogun State, Southwest Nigeria. *Heliyon*, **6** : 02957. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02957>
- Fang, H., Han, L., Zhang, H., Long, Z., Cai, L., & Yu, Y., 2018.** Dissemination of antibiotic resistance genes and human pathogenic bacteria from a pig feedlot to the surrounding stream and agricultural soils. *Journal of Hazardous Materials*, **35** : 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.066>
- Fang, J.K.H., Au, D.W.T., Wu, R.S.S., Chan, A.K.Y., Mok, H.O.L., & Shin, P.K.S., 2009.** The use of physiological indices in rabbitfish *Siganus oramin* for monitoring of coastal pollution. *Marine Pollution Bulletin*, **58** (8) : 1229–1235. Doi:10.1016/j.marpolbul.2009.05.013
- Fedrizzi, G., Altafini, A., Armorini, S., Al-Qudah, K.M., & Roncada, P., 2019.** LC–MS/MS Analysis of Five Neonicotinoid Pesticides in Sheep and Cow Milk Samples Collected in Jordan Valley. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **102** : 347–352. Doi:10.1007/s00128-019-02555-8
- Fernandez-Delgado, C., & Rossomanno, S., 1997.** Reproductive biology of the mosquitofish in a permanent natural lagoon in south-west Spain: two tactics for one species. *Journal of Fish Biology*, **51** (1) : 80–92. Doi:10.1111/j.1095-8649.1997.tb02515.x
- Ferrari, A., Venturino, A., & Pechen de D’Angelo, A.M., 2004.** Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphosmethyl, parathion and carbaryl exposure in the goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **57** (3) : 420–425. Doi:10.1016/s0147-6513(02)00069-6
- Fisher, R., & Yates., F., 1957.** Statistical tables for biological, agricultural and medical research. 6^{ème} édition, Oliver and Boyd, Edinburgh Tweeddale Court, London, 138p.



- Fleuren, M., van Leeuwen, J.L., & Pollux, B.J.A., 2019.** Superfetation reduces the negative effects of pregnancy on the fast-start escape performance in live-bearing fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **286** (1916) : 20192245. Doi:10.1098/rspb.2019.2245
- Flores, A., Wiff, R., Gantias, K., & Marshall, C.T., 2019.** Accuracy of gonadosomatic index in maturity classification and estimation of maturity ogive. *Fisheries Research*, **210** : 50–62. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2018.10.009>
- Folle, N.M.T., Azevedo-Linhares, M., Garcia, J.R.E., Souza, A.T.da C., Grötzner, S.R., Oliveira, E.C.de, Paulin, A.F., Leite, N.F., Neto, F.F., & Oliveira Ribeiro, C.A.de., 2020.** Low concentration of 2,4,6-tribromophenol (TBP) represents a risk to South American silver catfish *Ramdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) population. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **187** : 109815. Doi:10.1016/j.ecoenv.2019.109815
- Fonseca, V.F., Vasconcelo, R.P., Tanner, S.E., França, S., Serafim, A., Lope, B., Company, R., Bebianno, M.J., Costa, M.J., & Cabral, H.N., 2015.** Habitat quality of estuarine nursery grounds: Integrating non-biological indicators and multilevel biological responses in *Solea senegalensis*. *Ecological Indicators*, **58** : 335-345. Doi:10.1016/j.ecolind.2015.05.064
- Fraille, B., Sáez, F.J., Vicentini, C.A., Miguel, M.P.de, & Paniagua, R., 1992.** The testicular cycle of *Gambusia affinis holbrooki* (Teleostei: Poeciliidae). *Journal of Zoology*. **228** (1) : 115–126. Doi:10.1111/j.1469-7998.1992.tb04436.x
- Fraival, A., 2002.** Elles aussi, elles aiment les insectes, les Gambusies. *Insectes*, **125** (2) : 14-16.

G

- Gabriel, U.U., Obomanu, F.G, & Edori, O.S., 2009.** Haematology, plasma enzymes and organ indices of *Clarias gariepinus* after intramuscular injection with aqueous leaves extracts of *Lepidagathis alopecuroides*. *African Journal of Biochemistry Research*, **3** (9) : 312-316. <https://academicjournals.org/journal/AJBR/article-full-text-pdf/0A69FC111207>



- Gall, G.A.E., Cech, J.J., Garcia, R., Resh, V.H., & Washino, R.K., 1980.** Biological control and genetics: Mosquito fish - an established predator. *California Agriculture*, **34** : 21–22. <http://calag.ucanr.edu/archive/?type=pdf&article=ca.v034n03p21>
- Ganesh, C.B., Shinde, D., Hidkal, P.S., Gaikwad, G.B., & Hegde, P., 2015.** Chronic exposure to moderate hypoxia impairs reproductive success in the mosquitofish *Gambusia affinis*. *Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences*, **3** (1) : 10-14. <http://www.isca.in/AVFS/Archive/v3/i1/ISCA-RJAVFS-2015-003.pdf>
- Gao, J., Chen, B., Lin, H., Liu, Y., Wei, Y., Chen, F., & Li, W., 2020.** Identification and Characterization of the Glutathione S-Transferase (GST) Family in Radish Reveals a Likely Role in Anthocyanin Biosynthesis and Heavy Metal Stress Tolerance. *Gene*, **743** : 144484. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144484>
- Gao, J., Santi, S., Zhou, L., Wang, X., Riesch, R., & Plath, M., 2019.** Geographical and temporal variation of multiple paternity in invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*, *Gambusia affinis*). *Molecular Ecology*, **28** (24) : 5315-5329. <https://doi.org/10.1111/mec.15294>
- Gao, Y., Xu, H., Li, L., & Niu, C., 2020.** Immune defense parameters of wild fish as sensitive biomarkers for ecological risk assessment in shallow sea ecosystems: A case study with wild mullet (*Liza haematocheila*) in Liaodong Bay. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **194** : 110337. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110337>
- García-Berthou, E., Alcaraz, C., Pou-Rovira, Q., Zamora, L., Coenders, G., & Feo, C., 2005.** Introduction pathways and establishment rates of invasive aquatic species in Europe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **62** (2) : 453–463. Doi:10.1139/f05-017
- Ge, W., Yan, S., Wang, J., Zhu, L., Chen, A., & Wang, J., 2015.** Oxidative Stress and DNA Damage Induced by Imidacloprid in Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63** (6) : 1856–1862. Doi:10.1021/jf504895h
- Goede, R.W., & Barton, B.A., 1990.** Organismic indices and an autopsy-based assessment as indicators of health and condition of fish. In: Adam, S.M., Ed., *Biological Indicators of Stress in Fish*, American Fisheries Society, Bethesda, MD, 93-108p.



- Golombieski, J.I., Sutili, F.J., Salbego, J., Seben, D., Gressler, L.T., da Cunha, J.A., Gressler, L.T., Zanella, R., Vaucher de A., R., Marchesan, E., & Baldisserotto, B., 2016.** Imazapyr+imazapic herbicide determines acute toxicity in silver catfish *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **128** : 91–99. Doi:10.1016/j.ecoenv.2016.02.010
- Gomez-Herrero, E., Lebik-ElHadi, H., Ait-Amar, H., Tobajas, M., Rodriguez, J.J., & Mohedano, A.F., 2019.** Thiamethoxam removal by Fenton and biological oxidation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. **95** (4) : 913-921. Doi:10.1002/jctb.5953
- Gonçalves, C.R., Marins, A.T., do Amaral, A.M.B., Leitemperger, J., Severo, E.S., Moraes, B.S., Zanella, R., & Loro, V.L., 2018.** Biochemical Responses in Freshwater Fish Exposed to Insecticide Propoxur. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **100** (4) : 524–528. Doi:10.1007/s00128-018-2285-9
- Gonzalez-Silvera, D., Izquierdo-Gomez, D., Sanchez-Jerez, P., Elbal, M.T., López-Jiménez, J.A., & Martínez-López, F.J., 2020.** Influence of aquaculture waste on fatty acid profiles and gonad maturation of wild fish aggregations at fish farms. *Marine Environmental Research*, **156** : 104902. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104902>
- Greven, H., 2011.** Gonads, genitals, and reproductive biology. In: Ecology and Evolution of Poeciliid Fishes. The University of Chicago Press, Chicago and London. Jonathan P. Evans, Andrea Pilastro, Ingo Schlupp, Chicago: 3–17p.
- Grier, H.J., Uribe, M.C., Lo Nostro, F.L., Mims, S.D., & Parenti, L.R., 2016.** Conserved form and function of the germinal epithelium through 500 million years of vertebrate evolution. *Journal of Morphology*, **277** (8) : 1014–1044. Doi:10.1002/jmor.20554
- Guiloski, I.C., Ribas, J.L.C., Pereira, L.da S., Neves, A.P.P., & Silva de Assis, H.C., 2015.** Effects of trophic exposure to dexamethasone and diclofenac in freshwater fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **114** : 204–211. Doi:10.1016/j.ecoenv.2014.11.020
- Gupta, C.R., & Milatovic, D., 2014.** Chapter 23 – Insecticides, 389–407p, in : Biomarkers in Toxicology. Academic Press, 1152p. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-01373-7>



Gupta, S., & Banerjee, S., 2015. Length-weight relationship of *Mystus tengara* (Ham. - Buch., 1822), a freshwater catfish of Indian subcontinent. *International Journal of Aquatic Biology*, **3 (2)** : 114-118.

H

Habig, W.H., Pabst, M.J., & Jacoby, W.B., 1974. The glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249** : 7130-7139.

Harding, G., & Burbidge, C., 2013. State of the Gulf of Maine Report: Toxic Chemical Contaminants. Gulf of Maine Council on the Marine Environment Available. [PDF] <http://www.gulfofmaine.org/state-of-the-gulf/docs/toxic-chemical-contaminants-theme-paper.pdf>

Harnisz, M., & Korzeniewska, E., 2018. The prevalence of multidrug-resistant *Aeromonas spp.* in the municipal wastewater system and their dissemination in the environment. *Science of the Total Environment*, **626** : 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.100>

Haseena, M., Malik, M.F., Javed, A., Arshad, S., Asif, N., Zulfiqar, S., & Hanif, J., 2017. Water pollution and human health. *Environmental Risk Assessment and Remediation*, **1 (3)** : 16-19. Doi: 10.4066/2529-8046.100020

Hayes, J.D., Flanagan, J.U., & Jowsey, I.R., 2005. Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **45** : 51-88.

Haynes, J.L., & Cashner, R.C., 1995. Life history and population dynamics of the western mosquitofish: a comparison of natural and introduced populations. *Journal of Fish Biology*, **46 (6)** : 1026–1041. Doi:10.1111/j.1095-8649.1995.tb01407.x

He, B., Ni, Y., Jin, Y., & Fu, Z., 2020. Pesticides-induced energy metabolic disorders. *Science of The Total Environment*, **729** : 139033. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139033>

Helfman, G.S., Collette, B.B., & Facey, D.E., 1997. The Diversity of Fishes. Blackwell Science, Malden, MA, 512p.



- Hiramatsu, N., Cheek, A.O., Sullivan, C.V., Matsubara, T., & Hara, A., 2005.** Chapter 16 Vitellogenesis and endocrine disruption. *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, **6** : 431–471. Doi:10.1016/s1873-0140(05)80019-0
- Hiramatsu, N., Todo, T., Sullivan, C.V., Schilling, J., Reading, B.J., Matsubara, T., Ryu, Y.W., Mizuta, H., Luo, W., Nishimiya, O., Wu, M., Mushirobira, Y., Yilmaz, O., & Hara, A., 2015.** Ovarian yolk formation in fishes: Molecular mechanisms underlying formation of lipid droplets and vitellogenin-derived yolk proteins. *General and Comparative Endocrinology*, **221** : 9–15. Doi:10.1016/j.ygcen.2015.01.025
- Holden, A.V., 1973.** Effects of pesticides on fish. In environmental pollution by pesticides. Edition Edwards, C.A., Plenum Press, New York, London, 213-253p.
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., & Carnevali, O., 2020.** Oxidative Stress and Antioxidant Defense in Fish: The Implications of Probiotic, Prebiotic, and Synbiotics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 1–20. Doi:10.1080/23308249.2020.1795616
- Hou, L., Chen, S., Chen, H., Ying, G., Chen, D., Liu, J., Liang, Y., Wu, R., Fang, X., Zhang, C., & Xie, L., 2019.** Rapid masculinization and effects on the liver of female western mosquitofish (*Gambusia affinis*) by norethindrone. *Chemosphere*, **216** : 94–102. Doi:10.1016/j.chemosphere.2018.10.130
- Howgate, P., 2004.** Tainting of farmed fish by geosmin and 2-methyl-iso-borneol: a review of sensory aspects and of uptake/deposition. *Aquaculture*, **234 (1-4)** : 155–181. Doi:10.1016/j.aquaculture.2003.09.032
- Htun-Han, M., 1978.** The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the North Sea: gonosomatic index, hepatosomatic index and condition factor. *Journal of Fish Biology*, **13** : 369–378. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1978.tb03445.x>
- Huang, G., Liu, Y., Liang, Y., Shi, W., Hu, L., Tian, F., Chen, J., & Ying, G., 2016.** Multibiomarker responses as indication of contaminant effects in *Gambusia affinis* from impacted rivers by municipal effluents. *Science of Total Environment*, **563-564** : 273–281. Doi:10.1016/j.scitotenv.2016.04.127



- Huang, G.Y., Liu, Y.S., Liang, Y.Q., Shi, W.J., Yang, Y.Y., Liu, S.S., Hu, L.X., Chen, H.X., Xie, L.T., & Ying, G.G., 2019.** Endocrine disrupting effects in western mosquitofish *Gambusia affinis* in two rivers impacted by untreated rural domestic wastewaters. *Science of Total Environment*, **683** : 61-70. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.231
- Hubbs, C., 2000.** Survival of *Gambusia affinis* in a Hostile Environment. *The Southwestern Naturalist*, **45 (4)** : 521. Doi:10.2307/3672601
- Huberman, A., 2000.** Shrimp endocrinology. A review. *Aquaculture*, **191 (1-3)** : 191–208. Doi:10.1016/s0044-8486(00)00428-2
- Hurlbert, S.H., & Mulla, M.S., 1981.** Impacts of mosquitofish (*Gambusia affinis*) predation on plankton communities. *Hydrobiologia*, **83 (1)** : 125–151. Doi:10.1007/bf02187157
- Huuskonen, S., & Lindström-Seppä, P., 1995.** Hepatic cytochrome P4501A and other biotransformation activities in perch (*Perca fluviatilis*): the effects of unbleached pulp mill effluents. *Aquatic Toxicology*, **31 (1)** : 27-41.

I

- Ibrahim, R.E., El-Houseiny, W., Behairy, A., Mansour, M.F., & Abd-Elhakim, Y.M., 2019.** Ameliorative effects of *Moringa oleifera* seeds and leaves on chlorpyrifos-induced growth retardation, immune suppression, oxidative stress, and DNA damage in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, **505** : 225–234. Doi:10.1016/j.aquaculture.2019.02.050
- Iheanacho, S.C., & Odo, G.E., 2020.** Neurotoxicity, oxidative stress biomarkers and haematological responses in African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to polyvinyl chloride microparticles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **232** : 108741. Doi:10.1016/j.cbpc.2020.108741
- Ioannides, C., 2002.** Xenobiotic Metabolism: An Overview, In : Enzyme Systems that Metabolise Drugs and Other Xenobiotics, John Wiley & Sons, Ltd, Baffins Lane, Chichester, Royaume-Uni. 578p. Doi:10.1002/0470846305



J

- Jacques, A., Jacques, B., & Jean, P.Q., 2001.** Biologie des poissons d'eau douce Européens. *Collection Aquaculture-Pisciculture*, 543-553.
- Jameel, M., Jamal, K., Alam, M.F., Ameen, F., Younus, H., & Siddique, H.R., 2020.** Interaction of thiamethoxam with DNA: Hazardous effect on biochemical and biological parameters of the exposed organism. *Chemosphere*, 126875. Doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126875
- Jarvinen, A.W., Hoffman, M.J., & Thorslund, T.W., 1977.** Long-Term Toxic Effects of DDT Food and Water Exposure on Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **34 (11)** : 2079–2088. Doi:10.1139/f77-276
- Jebali, J., Khedher, S.B., Sabbagh, M., Kamel, N., Banni, M., & Boussetta, H., 2013.** Cholinesterase activity as biomarker of neurotoxicity: utility in the assessment of aquatic environment contamination. *Revista de Gestão Costeira Integrada*, **13 (4)** : 525–537. Doi:10.5894/rgci430
- Jenkins, J.A., 2004.** Fish Bioindicators of Ecosystem Condition at the Calcasieu Estuary, Louisiana. National Wetlands Research Center, USGS Open-File Report 2004-1323, Lafayette,47p.<https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.231.3175&rep=rep1&type=pdf>
- Jeschke, P., Nauen, R., & Beck, M.E., 2013.** Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a milestone for modern crop protection. *Angewandte Chemie International Edition*, **52** : 9464-9485.
- Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., & Elbert, A., 2011.** Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59 (7)** : 2897–2908. Doi:10.1021/jf101303g
- Jia, X.Y., & Shi, C.L., 2010.** Reactive oxygen species generation and protein oxidative damage in the liver of *Rana nigromaculata* exposed to cadmium. *Acta Scientiae Circumstantiae*, **30 (1)** : 186–191.



- Jiang, H., Zhou, R., Yang, Y., Chen, B., Cheng, Z., Zhang, M., Li, J., Zhang, G., & Zou, S., 2018.** Characterizing the antibiotic resistance genes in a river catchment: influence of anthropogenic activities. *Journal of Environmental Sciences*, **69** : 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2017.08.009>
- Johnsen, P.B., Lloyd, S.W., Vinyard, B.T., & Dionigi, C.P., 1996.** Effects of Temperature on the Uptake and Depuration of 2-Methylisoborneol (MIB) in Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **27** (1) : 15–20. Doi:10.1111/j.1749-7345.1996.tb00589.x
- Johnson, D.W., 1973.** Pesticide residues in fish. In: Environmental pollution by pesticides. Edition Edwards, C.A., Plenum Press, London. 182-212p.
- Jokanović, M., Kosanović, M., & Maksimović, M., 1996.** Interaction of organophosphorus compounds with carboxylesterases in the rat. *Archives of Toxicology*, **70** (7) : 444-450. Doi:10.1007/s002040050297
- Jordan, D.S., & Evermann, B.W., 1896.** The Fishes of North and Middle America. A Descriptive Catalogue of the Species of Fish-Like Vertebrates Found in the Waters of North America, North of the Isthmus of Panama Part I. *Bulletin of the United States National Museum*. No. 47. Government Printing Office, Washington, D.C. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.46755>
- Jordan, D.S., & Gilbert, C.H., 1882.** Synopsis of the fishes of North America. *Bulletin of the United States National Museum*. Volume III (No. 16). Government Printing Office, Washington, D.C. <https://doi.org/10.5479/si.03629236.16.i>
- Jourdan, J., Miensen, F.W., Zimmer, C., Gasch, K., Herder, F., Schleucher, E., Plath, M., & D. Bierbach., 2014.** On the natural history of an introduced population of guppies (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) in Germany. *BioInvasions Records*, **3** (3) : 175-184. Doi:10.3391/bir.2014.3.3.07
- Jyot, G., & Singh, B., 2017.** Development and validation of an HPLC method for determination of thiamethoxam and its metabolites in cotton leaves and soil. *Journal of AOAC International*, **100** : 796-803. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0206>



Jyotsna, Vijayakumar, P., Ravi, M., Sudhakaran, R., Mekata, T., & Rajaswaminathan, T., 2020. Development and characterization of a skin cell line (SGA) from the mosquitofish *Gambusia affinis* and its susceptibility to fish Betanodavirus. *Aquaculture*, **520** : 734778. Doi:10.1016/j.aquaculture.2019.734778

K

Kah, O., 1986. Central regulation of reproduction in teleosts. *Fish Physiology and Biochemistry*, **2 (1-4)** : 25–34. doi:10.1007/bf02264071

Kalavathy, K., Siva Kumar, A.A., & Chandran, R., 2001. Toxic effects of the pesticide dimethoate on the fish, *Sarotherodon mossambicus*. *Journal of Biological Research*, **2** : 27-32.

Karami, A., Goh, Y.-M., Jahromi, M.F., Lazorchak, J.M., Abdullah, M., & Courtenay, S.C., 2016. Diploid and triploid African catfish (*Clarias gariepinus*) differ in biomarker responses to the pesticide chlorpyrifos. *Science of The Total Environment*, **557-558** : 204–211. Doi:10.1016/j.scitotenv.2016.03.030

Karczmar, A., 1998. Anticholinesterases: dramatic aspects of their use and misuse. *Neurochemistry International*, **32** : 401-411.

Karkman, A., Do, T.T., Walsh, F., & Virta, M.P.J., 2018. Antibiotic-resistance genes in waste water. *Trends in Microbiology*, **26 (3)** : 220–228. Doi:10.1016/j.tim.2017.09.005

Kavitha, P., & Venkateswara, J.R., 2007. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **87 (2)** : 182–188. Doi:10.1016/j.pestbp.2006.07.008

Keith, P., & Allardi, J., 2001. Atlas Des poissons d'eau douce de France. *Patrimoines Naturels*, **47** : 387p.

Kellar, K.J., 2006. Overcoming inhibitions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103** :13263–13264.

Kerstant, M., 1985. Age, growth, maturity and mortality estimates of horse mackerel *Trachurus trachurus* from the western West of Great Britain and Ireland in 1984. *Arch. Fishwiss*, **36** : 115-154.



- Ketterman, A.J., Saisawang, C., & Wongsantichon, J., 2011.** Insect glutathione transferases. *Drug Metabolism Reviews*, **43** (2) : 253–265. Doi:10.3109/03602532.2011.552911
- Khaironizam, M.Z., & Zakaria-Ismail, M., 2013.** Spawning period and fecundity of *Neolissochilus soroides* (Duncker, 1904) (Pisces, Teleostei, Cyprinidae) from a small Malaysian stream. *Turkish Journal of Zoology*, **37** : 65-72.
- Khatir, Z., Leitão, A., & Lyons, B.P., 2020.** The biological effects of chemical contaminants in the Arabian/Persian Gulf: A review. *Regional Studies in Marine Science*, **33** : 100930. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100930>
- Khazri, A., Sellami, B., Dellali, M., Corcellas, C., Eljarrat, E., Barceló, D., & Mahmoudi, E., 2015.** Acute toxicity of cypermethrin on the freshwater mussel *Unio gibbus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **115** : 62–66. Doi:10.1016/j.ecoenv.2015.01.028
- Khazri, A., Sellami, B., Hanachi, A., Dellali, M., Eljarrat, E., Beyrem, H., & Mahmoudi, E., 2016.** Neurotoxicity and oxidative stress induced by permethrin in gills of the freshwater mussel *Unio ravoisieri*. *Chemistry and Ecology*, **33** (1) : 88–101. Doi:10.1080/02757540.2016.1248948
- Kim, J.-H., Kim, S.K., & Hur, Y.B., 2020.** Toxic effects of waterborne nitrite exposure on antioxidant responses, acetylcholinesterase inhibition, and immune responses in olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, reared in bio-floc and seawater. *Fish & Shellfish Immunology*, **97** : 581–586. Doi:10.1016/j.fsi.2019.12.059
- Kim, Y.H., & Lee, S.H., 2018.** Invertebrate acetylcholinesterases: Insights into their evolution and non-classical functions. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **21** (1) : 186–195. Doi:10.1016/j.aspen.2017.11.017
- Klarich, K.L., Pflug, N.C., DeWald, E.M., Hladik, M.L., Kolpin, D.W., Cwiertny, D.M., & LeFevre, G.H., 2017.** Occurrence of Neonicotinoid Insecticides in Finished Drinking Water and Fate during Drinking Water Treatment. *Environmental Science & Technology Letters*, **4** (5) : 168–173. Doi:10.1021/acs.estlett.7b00081



- Klingelfus, T., Lirola, J.R., Oya Silva, L.F., Disner, G.R., Vicentini, M., Nadaline, M.J.B., Robles, J.C.Z., Trein, L.M., Voigt, C.L., Silva de Assis, H.C., Leme, D.M., & Cestari, M.M., 2017.** Acute and long-term effects of trophic exposure to silver nanospheres in the central nervous system of a Neotropical fish *Hoplias intermedius*. *NeuroToxicology*, **63** : 146-154.
- Kocamaz, D., & Oruc, E., 2020.** Effect of Thiamethoxam and λ Cyhalothrin, Administered Individually and in Mixture on the Endocrine Function and Antioxidant Defense of Gonads of *Oreochromis niloticus*. *Pakistan Journal of Zoology*, **52 (3)** : 1085-1093. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20181014161054>
- Köktürk, M., Alak, G., & Atamanalp, M., 2019.** The effects of n-butanol on oxidative stress and apoptosis in zebra fish (*Danio rerio*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 108636. Doi:10.1016/j.cbpc.2019.108636
- Köktürk, M., Alak, G., & Atamanalp, M., 2020.** The effects of n-butanol on oxidative stress and apoptosis in zebra fish (*Danio rerio*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **227 C** : 108636. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108636>
- Korkmaz, V., Güngördü, A., & Ozmen, M., 2018.** Comparative evaluation of toxicological effects and recovery patterns in zebrafish (*Danio rerio*) after exposure to phosalone-based and cypermethrin-based pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **160** : 265–272. Doi:10.1016/j.ecoenv.2018.05.055
- Koya, Y., & Kamiya, E., 2000.** Environmental regulation of annual reproductive cycle in the mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Journal of Experimental Zoology*, **286 (2)** : 204-11. Doi: 10.1002/(SICI)1097-010X(20000201)286:23.0.CO;2-G
- Koya, Y., Inoue, M., Naruse, T., & Sawaguchi, S., 2000.** Dynamics of oocyte and embryonic development during ovarian cycle of the viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*. *Fisheries Science*, **66 (1)** : 63–70. Doi:10.1046/j.1444-2906.2000.00009.x
- Koya, Y., Itazu, T., & Inoue, M., 1998.** Annual reproductive cycle based on histological changes in the ovary of the female mosquitofish, *Gambusia affinis*, in central Japan. *Ichthyological Research*, **45 (3)** : 241–248. Doi:10.1007/bf02673922



- Krumholz, L.A., 1948.** Reproduction in the Western Mosquitofish, *Gambusia affinis affinis* (Baird & Girard), and Its Use in Mosquito Control. *Ecological Monographs*, **18 (1)** : 1–43. Doi:10.2307/1948627
- Kumaresan, V., Pasupuleti, M., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Arshad, A., Nurul Amin, S.M., Yusoff, F. Md, & Arockiaraj, J., 2018.** A comparative transcriptome approach for identification of molecular changes in *Aphanomyces invadans* infected *Channa striatus*. *Molecular Biology Reports*, **45 (6)** : 2511-2523. Doi: 10.1007/s11033-018-4418-y
- Kuntz, A., 1913.** Notes on the habits, morphology of the reproductive organs, and embryology of the viviparous fish (*Gambusia affinis*). Bulletin of the United States Bureau of Fisheries. **33** : 177–190. <https://spo.nmfs.noaa.gov/sites/default/files/pdf-content/fish-bull/fb33.7.pdf>

L

- Landa, J., & Antolínez, A., 2018.** Weight–length relationships, weight conversion factors and somatic indices from two stocks of black anglerfish (*Lophius budegassa*) and white anglerfish (*L. piscatorius*) in north-eastern Atlantic waters. *Regional Studies in Marine Science*, **23** : 87-96. Doi:10.1016/j.rsma.2017.03.002
- Landeka, N., 2015.** New data on the taxonomic status and distribution of *Gambusia sp.* in Croatia and Bosnia and Herzegovina. *Periodicum Biologorum*, **117 (3)** : 415–424. Doi:10.18054/pb.2015.117.3.3143
- Lanzing, W.J.R., & Wright, R.G., 1982.** The ultrastructure of the eye of the mosquitofish *Gambusia affinis*. *Cell and Tissue Research*, **223 (2)** : 431–443. Doi:10.1007/bf01258500
- Larno, V., Laroche, J., Launey, S., Flammarion, P., & Devaux, A., 2001.** Responses of Chub (*Leuciscus cephalus*) Populations to Chemical Stress, Assessed by Genetic Markers, DNA Damage and Cytochrome P4501A Induction. *Ecotoxicology*, **10 (3)** : 145–158. Doi:10.1023/a:1016637809483



- Larsson, A., Forlin, L., Grahn, O., Landner, L., Lindesjoo, E., & Sandstrom, O., 2000.** “Guidelines for interpretation and biological evaluation of biochemical, physiological and pathological alterations in fish exposed to pulp mill effluents,” In: Ruoppa M, Paasivirta J, Lehtinen K-J, Ruoanala S, editors. Proceedings, 4th International Conference on Environmental Impact of the Pulp and Paper Industry, 12-15 June . Helsinki, Finland: Finnish Environment Institute, 185-189.
- LeCren, E.D., 1951.** The Length-Weight Relationship and Seasonal Cycle in Gonad Weight and Condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). *The Journal of Animal Ecology*, **20 (2)** : 201. Doi:10.2307/1540
- Lee, F., Simon, K.S., & Perry, G.L.W., 2017.** Increasing agricultural land use is associated with the spread of an invasive fish (*Gambusia affinis*). *Science of The Total Environment*, **586** : 1113–1123. Doi:10.1016/j.scitotenv.2017.02.101
- Lee, J., Ji, K., Lim Kho, Y., Kim, P., & Choi, K., 2011.** Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74 (5)** : 1216–1225. Doi:10.1016/j.ecoenv.2011.03.014
- Leonardos, I.D., Kagalou, I., Tsoumani, M., & Economidis, P.S., 2008.** Fish fauna in a Protected Greek lake: biodiversity, introduced fish species over a 80-year period and their impacts on the ecosystem. *Ecology of Freshwater Fish*, **17 (1)** : 165–173. Doi:10.1111/j.1600-0633.2007.00268.x
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.-G., Ahn, B.W., Shartiel, S., & Stadtman, E.R., 1990.** [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, **186** : 464–478. Doi:10.1016/0076-6879(90)86141-h
- Levine, R.L., Williams, J.A., Stadtman, E.P., & Shacter, E., 1994.** [37] Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, **233** : 346–357. Doi:10.1016/s0076-6879(94)33040-9
- Lewis, W.M., 1970.** Morphological Adaptations of Cyprinodontoids for Inhabiting Oxygen Deficient Waters. *Copeia*, **1970 (2)** : 319. Doi:10.2307/1441653



- Li, D., Liu, T., Pan, L., Hu, F., & Jin, Q., 2020.** Bioaccumulation and oxidative damage of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in Manila clam *Ruditapes philippinarum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **197** : 110558. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110558>
- Li, H., Zhang, R., Sun, F., & Zhang, Y., 2020.** Evaluation of toxicological responses and promising biomarkers of topmouth gudgeon (*Pseudorasbora parva*) exposed to fipronil at environmentally relevant levels. *Environmental Science and Pollution Research*, **27** : 24081–24089. Doi:10.1007/s11356-020-08555-0
- Li, Z.-H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P., & Randak, T., 2011.** Acute toxicity of carbamazepine to juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects on antioxidant responses, hematological parameters and hepatic EROD. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **74 (3)** : 319–327. Doi:10.1016/j.ecoenv.2010.09.008
- Lionetto, M.G., Caricato, R., & Giordano, M.E., 2019.** Pollution Biomarkers in Environmental and Human Biomonitoring. *The Open Biomarkers Journal*, **9 (1)** : 1-9. Doi: 10.2174/1875318301909010001
- Liu, S., Zhou, A., Xie, S., Sun, D., Zhang, Y., Sun, Z., Chen, Y., & Zou, J., 2020.** Immune-related genes expression analysis of Western mosquitofish (*Gambusia affinis*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, **102** : 92-100. Doi:10.1016/j.fsi.2020.04.009
- Liu, X.X., Cao, H., & Jia, X.Y., 2011.** Oxidative damage of cadmium to protein in the viscera tissues of *Cyprinus carpio* var color. *Asian Journal of Ecotoxicology*, **6** : 595–599.
- Liu, Y., Chen, X., & Qin, J.-H., 2015.** Acute toxicity effects of cadmium on *Gambusia affinis*. *Journal of Safety and Environment*, **3** : 079.
- Lloyd, L.N., Arthington, A.H., & Milton, D.A., 1986.** The mosquitofish-a valuable mosquito-control agent or a pest? in: *The ecology of exotic plants and animals: some Australian case studies*. John Wiley and Sons Brisbane Australia, 6-25p.



- Louiz, I., Ben-Attia, M., & Ben-Hassinea, O., 2009.** Gonadosomatic index and gonad histopathology of *Gobius niger* (Gobiidea, Teleost) from Bizerta lagoon (Tunisia): evidence of reproduction disturbance. *Fisheries Research*, **100** : 266-273.
- Louiz, I., Palluel, O., Ben-Attia, M., Aït-Aïssa, S., & Ben Hassine, O.M., 2018.** Liver histopathology and biochemical biomarkers in *Gobius niger* and *Zosterisessor ophiocephalus* from polluted and non-polluted Tunisian lagoons (Southern Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin*, **128** : 248-258. Doi:10.1016/j.marpolbul.2018.01.028
- Lowerre-Barbieri, S.K., Gantias, K., Saborido-Rey, F., Murua, H., & Hunter, J.R., 2011.** Reproductive Timing in Marine Fishes: Variability, Temporal Scales, and Methods. *Marine and Coastal Fisheries*, **3 (1)** : 71–91. Doi:10.1080/19425120.2011.556932
- Łuczyńska, J., Paszczyk, B., & Łuczyński, M.J., 2018.** Fish as a bioindicator of heavy metals pollution in aquatic ecosystem of Pluszne Lake, Poland, and risk assessment for consumer's health. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **153** : 60-67. Doi:10.1016/j.ecoenv.2018.01.057

M

- Maglio, V.J., & Rosen, D.E., 1969.** Changing preferences for substrate colour by reproductively active mosquito fish, *Gambusia affinis* (Baird and Girard) (Poeciliidae: Atheriniformes). *American Museum Novitates*, **2397** : 1–39.
- Majumder, R., & Kaviraj, A., 2018.** Acute and sublethal effects of organophosphate insecticide chlorpyrifos on freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Drug and Chemical Toxicology*, **42 (5)** : 487-495. Doi:10.1080/01480545.2018.1425425
- Martínez, M., Rodríguez-Graña, L., Santos, L., Denicola, A., & Calliari, D., 2020.** Long-term exposure to salinity variations induces protein carbonylation in the copepod *Acartia tonsa*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **526** : 151337. Doi:10.1016/j.jembe.2020.151337



- Martínez-Morcillo, S., Rodríguez-Gill, J.L., Fernández-Rubio, J., Rodríguez-Mozaz, S., Míguez-Santiyán, M.P., Valdes, M.E., Barceló, D., & Valcárcel, Y., 2020.** Presence of pharmaceutical compounds, levels of biochemical biomarkers in seafood tissues and risk assessment for human health: Results from a case study in North-Western Spain. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **223** : 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.10.011>
- Matthiessen, P., Allen, Y.T., Bamber, S., Craft, J., Hurst, Y.T., Hutchinson, T., Feist, S.W., Katsiadaki, I., Kirby, M.F., Robinson, C., Scott, A.P., Thain, J.E., & Thomas, K.V., 2002.** The impact of estrogenic and androgenic contamination on marine organisms in the United Kingdom – summary of the EDMAR programme. *Marine Environmental Research*, **5** (3–5) : 645-649. [http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136\(02\)00135-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0141-1136(02)00135-6)
- Matthiessen, P., Wheeler, J.R., & Weltje, L., 2018.** A review of the evidence for endocrine disrupting effects of current-use chemicals on wildlife populations. *Critical Reviews in Toxicology*, **48** : 3. <http://dx.doi.org/10.1080/10408444.2017.1397099>
- McClure, C.M., Smalling, K.L., Blazer, V.S., Sperry, A.J., Schall, M.K., Kolpin, D.W., Phillips, P.J., Hladik, M.L., & Wagner, T., 2020.** Spatiotemporal variation in occurrence and co-occurrence of pesticides, hormones, and other organic contaminants in rivers in the Chesapeake Bay Watershed, United States. *Science of the Total Environment*, **728** : 138765. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138765>
- McDonagh, B., Tyther, R., & Sheehan, D., 2005.** Carbonylation and glutathionylation of proteins in the blue mussel *Mytilus edulis* detected by proteomic analysis and Western blotting: Actin as a target for oxidative stress. *Aquatic Toxicology*, **73** (3) : 315–326. Doi:10.1016/j.aquatox.2005.03.020
- Meffe, G.K., 1987.** Embryo Size Variation in Mosquitofish: Optimality vs Plasticity in Propagule Size. *Copeia*, **1987** (3) : 762. Doi:10.2307/1445671
- Meffe, G.K., 1990.** Offspring Size Variation in Eastern Mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae) from Contrasting Thermal Environments. *Copeia*, **1990** (1) : 10. Doi:10.2307/1445816



- Meffe, G.K., & Snelson, F.F., 1989.** An ecological overview of Poeciliid fishes. In: Meffe, G.K. and Snelson F.F. (eds.), *Ecology and Evolution of Livebearing Fishes (Poeciliidae)*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 13–31p. <http://www.nativefishlab.net/library/textpdf/20086.pdf>
- Menezes, C., Leitemperger, J., Murussi, C., de Souza Viera, M., Adaime, M.B., Zanella, R., & Loro, V.L., 2016.** Effect of diphenyl diselenide diet supplementation on oxidative stress biomarkers in two species of freshwater fish exposed to the insecticide fipronil. *Fish Physiology and Biochemistry*, **42 (5)** : 1357–1368. Doi:10.1007/s10695-016-0223-5
- Menezes, C.C., Fonseca, M.B., Loro, V.L., Santi, A., Cattaneo, R., Clasen, B., Pretto, A., & Morsch, V.M., 2010.** Roundup Effects on Oxidative Stress Parameters and Recovery Pattern of *Rhamdia quelen*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **60 (4)** : 665–671. Doi:10.1007/s00244-010-9574-6
- Mesquita, C.S., Oliveira, R., Bento, F., Geraldo, D., Rodrigues, J.V., & Marcos, J.C., 2014.** Simplified 2,4-dinitrophenylhydrazine spectrophotometric assay for quantification of carbonyls in oxidized proteins. *Analytical Biochemistry*, **458** : 69–71. Doi:10.1016/j.ab.2014.04.034
- Mikula, P., Blahova, J., Kruzikova, K., Havelkova, M., Nemethova, D., Hulak, M., & Svobodova, Z., 2009.** Effects of the herbicide LASSO MTX (alachlor 42% W/V) on biometric parameters and liver biomarkers in the common carp (*Cyprinus carpio*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **93 (1)** : 13–17. Doi:10.1016/j.pestbp.2008.07.010
- Miller, R.R., Minckley, W.L., & Norris, S.M., 2005.** *Freshwater fishes of México*. University of Chicago Press, Chicago, 490p.
- Miranda, T., Smith, J., Suthers, I., Mazumder, D., Cruz, D., Schilling, H., Searle, K., & Vergés, A., 2019.** Convictfish on the move: variation in growth and trophic niche space along a latitudinal gradient. *ICES Journal of Marine Science*, **76** : 2404–2412.
- Møller, I.M., Rogowska-Wrzesinska, A., & Rao, R.S.P., 2011.** Protein carbonylation and metal-catalyzed protein oxidation in a cellular perspective. *Journal of Proteomics*, **74 (11)** : 2228–2242. Doi:10.1016/j.jprot.2011.05.004



- Monteiro, H.R., Pestana, J.L.T., Novais, S.C., Leston, S., Ramos, F., Soares, A.M.V.M., Devreese, B., & Lemos, M.F.L., 2019.** Assessment of fipronil toxicity to the freshwater midge *Chironomus riparius*: molecular, biochemical, and organismal responses. *Aquatic Toxicology*, **216** : 105292. Doi:10.1016/j.aquatox.2019.105292
- Moraes, B., Menezes, C., Leitemperger, J., do Amaral, A.M.B., Loro, V.L., & Clasen, B., 2020.** Comparative Study on Diet Added with Organic and Inorganic Selenium Forms Provided to Carps Exposed to Fipronil Insecticide. *Water, Air, & Soil Pollution*, **231 (3)** : 116. Doi:10.1007/s11270-020-4448-7
- Morrison, K.R., Ngo, V., Cardullo, R.A., & Reznick, D.N., 2017.** How fish eggs are preadapted for the evolution of matrotrophy. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **284 (1867)** : 20171342. Doi:10.1098/rspb.2017.1342
- Morrissey, C.A., Mineau, P., Devries, J.H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C., & Liber, K., 2015.** Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*, **74** : 291–303. Doi:10.1016/j.envint.2014.10.024
- Mukti, A.T., Sari, Y.G.P., Agusdinata, G.S.R., Satyantini, W.H., Mubarak, A.S., Luqman, E.M., & Widjiati., 2020.** The effects of laserpuncture on gonadal maturity and sperm quality of male striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Theriogenology*, **147** : 102-107. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.030>
- Mulvey, M., Newman, M.C., Chazal, A., Keklak, M.M., Heagler, M.G., & Hales, L.S., 1995.** Genetic and demographic responses of mosquitofish (*Gambusia holbrooki* girard 1859) populations stressed by mercury. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **14 (8)** : 1411–1418. Doi:10.1002/etc.5620140818
- Mundhe, A.Y., Bhilwade, H., & Pandit, S.V., 2016.** Genotoxicity and oxidative stress as biomarkers in fresh water mussel, *Lamellidens marginalis* (Lam.) exposed to monocrotophos. *Indian Journal of Experimental Biology*, **54** : 822-828. <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/38282/1/IJEB%2054%2812%29%20822-828.pdf>



- Muñoz, S., Méndez, L., Dasilva, G., Torres, J.L., Ramos-Romero, S., Romeu, M., Nogués, M.R., & Medina, I., 2018.** Targeting hepatic protein carbonylation and oxidative stress occurring on diet-induced metabolic diseases through the supplementation with fish oils. *Marine Drugs*, **16** (10) : 353. Doi: 10.3390/md16100353
- Murussi, C.R., Costa, M.D., Leitemperger, J.W., Flores-Lopes, F., Menezes, C.C., Loebens, L., de Avila, L.A., Rizzetti, T.M., Adaime, M.B., Zanella, R., & Loro, V.L., 2016.** Acute exposure to the biopesticide azadirachtin affects parameters in the gills of common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **180** : 49–55. Doi:10.1016/j.cbpc.2015.12.003

N

- Narra, M.R., Rajender, K., Reddy, R.R., Murty, U.S., & Begum, G., 2017.** Insecticides induced stress response and recuperation in fish: Biomarkers in blood and tissues related to oxidative damage. *Chemosphere*, **168** : 350–357. Doi:10.1016/j.chemosphere.2016.10.066
- Nebert, D.W., & Vasiliou, V., 2004.** Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Human genomics*, **1** : 460-464.
- Neves, R.A.F., Nascimento, S.M., & Santos, L.S., 2020.** Sublethal fish responses to short-term food chain transfer of DSP toxins: The role of somatic condition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **524** : 151317. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2020.151317>
- Nnadi, J., Dimelu, I., Nwani, S., Madu, J., Atama, C., Attamah, G., Okwor, J.I. & Nwani, C., 2018.** Biometric variations and oxidative stress responses in juvenile *Clarias gariepinus* exposed to Termex®. *African Journal of Aquatic Science*, **43** (1) : 27–34. Doi:10.2989/16085914.2018.1445615
- Norazmi-Lokman, N.H., Purser, G.J., & Patil, J.G., 2016.** Gravid Spot Predicts Developmental Progress and Reproductive Output in a Livebearing Fish, *Gambusia holbrooki*. *PLOS ONE*, **11** (1) : e0147711. Doi:10.1371/journal.pone.0147711



Nwani, C.D., Ekwueme, H.I., Ejere, V.C., Onyeke, C.C., Chukwuka, C.O., Peace, O.S., & Nwadinigwe, A.O., 2015. Physiological effects of paraquat in juvenile African catfish *Clarias gariepinus* (Burchel 1822). *Journal of Coastal Life Medicine*, **3** (1) : 35-43. Doi: 10.12980/JCLM.3.2015JCLM-2014-0113

Nyström, T., 2005. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. *The EMBO Journal*, **24** (7) : 1311–1317. Doi:10.1038/sj.emboj.7600599

O

Odum, H.T., & Caldwell, D.K., 1955. Fish Respiration in the Natural Oxygen Gradient of an Anaerobic Spring in Florida. *Copeia*, **1955** (2) : 104. Doi:10.2307/1439312

Ogamba, E.N., & Seiyaboh, E.I., & Gijo, A.H., 2014. Organosomatic Index and Behavioural Responses of *Clarias Gariepinus* to Dichlorvos. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, **9** (2) : 43-46. <https://pdfs.semanticscholar.org/8faf/23fa60b10d3866adfbbc976e1b824fe088bf.pdf>

Ogino, Y., Miyagawa, S., Katoh, H., Prins, G.S., Iguchi, T., & Yamada, G., 2011. Essential functions of androgen signaling emerged through the developmental analysis of vertebrate sex characteristics. *Evolution & Development*, **13** (3) : 315–325. Doi:10.1111/j.1525-142x.2011.00482.x

Okumah, M., Chapman, P., Martin-Ortega, J., & Novo, P., 2019. Mitigating agricultural diffuse pollution: uncovering the evidence base of the awareness–behaviour–water quality pathway. *Water*, **11** (1) : 29. DOI: 10.3390/w11010029

Olsson, P.E., Kling, P., Petterson, C., & Silversand, C., 1995. Interaction of cadmium and oestradiol-17 β on metallothionein and vitellogenin synthesis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biochemical Journal*, **307** (1) : 197–203. Doi:10.1042/bj3070197

Olurin, K.B. & Aderibigbe, O.A., 2006. Length-weight relationship and condition factor of pond reared juvenile *Oreochromis niloticus*. *World Journal of Zoology*, **1** : 82-85.

Omicinski, C.J., Vanden Heuvel, J.P., Perdew, G.H., & Peters, J.M., 2011. Xenobiotic metabolism, disposition, and regulation by receptors: from biochemical phenomenon to predictors of major toxicities. *Toxicological Science*, **120** : 49-75. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfq338x>.



- Oni, S.K., Olayemi, J.Y., & Adegboye, J.D., 1983.** Comparative physiology of three ecologically distinct fresh water fishes, *Alestes nurse* (Ruppell), *Synodontis schall* (Bloch), *S. Schneider* and *Tilapia zilli* (Gervais). *Journal of Fish Biology*, **22** : 105-109.
- Oruç, E.Ö., 2010.** Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in *Oreochromis niloticus* exposed to chlorpyrifos. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **96** (3) : 160–166. Doi:10.1016/j.pestbp.2009.11.005
- Ou, R., Wu, X., Ku, P., Wang, L., Su, T., Liang, X., & Nie, X., 2015.** Cloning of cat, gapdh and gst genes of *Gambusia affinis* and its application in ecotoxicology. *Asian Journal of Ecotoxicology*, **10** (3) : 83-92.

P

- Painefilú, J.C., Pascual, M.M., Bieczynski, E., Laspoumaderes, C., González, C., Villanueva, S.S.M., & Luquet, C.M., 2020.** Ex vivo and in vivo effects of arsenite on GST and ABCC2 activity and expression in the middle intestine of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **225 C** : 108566. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108566>
- Pala, A., & Serdar, O., 2018.** Seasonal Variation of Acetylcholinesterase Activity as a Biomarker in Brain Tissue of *Capoeta umbla* in Pülümür Stream. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, **4** (2) : 98-102. Doi:10.17216/LimnoFish.407339
- Pan, X., Liu, Y., Zhou, K., Mu, X., Zheng, S., Liu, C., & Hu, Y., 2019.** Tissue expression and bioinformatics analysis of the vitellogenin gene of Asian arowana (*Scleropages formosus*). *Journal of Applied Ichthyology*, **35** (1) : 970- 977. DOI: [10.1111/jai.13927](https://doi.org/10.1111/jai.13927)
- Pandian, T., 2013.** Endocrine sex differentiation in Fish. 1ère edition, CRC Press. 318p.
- Pandit, D.N., Priyanka., & Gupta, M.L., 2019.** Hepato-Somatic Index, Gonado-Somatic Index and Condition Factor of *Anabas testudineus* as Bio-Monitoring Tools of Nickel and Chromium Toxicity. *International Journal of Innovations in Engineering and Technology*, **12** (3) : 25-28. <http://dx.doi.org/10.21172/ijiet.123.05>



- Pang, N., Fan, X., Fantke, P., Zhao, S., & Hu, J., 2020.** Dynamics and dietary risk assessment of thiamethoxam in wheat, lettuce and tomato using field experiments and computational simulation. *Environmental Pollution*, **256** : 113285. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113285>
- Paquet-Walsh, A., Bertolo, A., Landry, C., Deschamps, L., & Boily, M., 2019.** Interactive effects of neonicotinoids and natural ultraviolet radiation on yellow perch (*Perca flavescens*) larvae. *Science of The Total Environment*, **685** : 690–701. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.113.
- Parker, G.A., Ramm, S.A., Lehtonen, J., & Henshaw, J.M., 2017.** The evolution of gonad expenditure and gonadosomatic index (GSI) in male and female broadcast-spawning invertebrates. *Biological Reviews*, **93** (2) : 693–753. Doi:10.1111/brv.12363
- Parlak, V., 2018.** Evaluation of apoptosis, oxidative stress responses, AChE activity and body malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to deltamethrin. *Chemosphere*, **207** : 397–403. Doi:10.1016/j.chemosphere.2018.05.112
- Parrino, V., Minutoli, R., Giuseppe, L.P., Surfaro, D., & Fazio, F., 2020.** Environmental assessment of the pesticides in *Parablennius sanguinolentus* along the Western Calabrian coast (Italy). *Regional Studies in Marine Science*, **36** : 101297. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101297>
- Parvez, S., & Raisuddin, S., 2005.** Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20** (1) : 112–117. Doi:10.1016/j.etap.2004.11.002
- Pascal, M., Lorvelec, O., & Vigne, J. D., 2006.** Invasions biologiques et extinctions : 11 000 ans d'histoire des vertébrés de France. Editions Belin et Quae. 1^{ère} édition, Paris, France. 350p.
- Patil, V.K., & David, M., 2013.** Oxidative stress in freshwater fish, *Labeo rohita* as a biomarker of malathion exposure. *Environmental Monitoring and Assessment*, **185** (12) : 10191–10199. Doi:10.1007/s10661-013-3323-z
- Pereira, J.J., Ziskowski, J., Mercaldo-Allen, R., Kuropat, C., Luedke, D., & Gould, E., 1992.** Vitellogenin in Winter Flounder (*Pleuronectes americanus*) from Long Island Sound and Boston Harbor. *Estuaries*, **15** (3) : 289-297. Doi:10.2307/1352777



- Pérez-López, A., Núñez-Nogueira, G., Álvarez-González, C.A., De la Rosa-García, S., Uribe-López, M., Quintana, P., & Peña-Marín, E.S., 2020.** Effect of salinity on zinc toxicity (ZnCl₂ and ZnO nanomaterials) in the mosquitofish (*Gambusia sexradiata*). *Environmental Science and Pollution Research*, **27** : 22441–22450. Doi:10.1007/s11356-020-08851-9
- Pham, B., Miranda, A., Allinson, G., & Nugegoda, D., 2017.** Evaluating the non-lethal effects of organophosphorous and carbamate insecticides on the yabby (*Cherax destructor*) using cholinesterase (AChE, BChE), Glutathione S-Transferase and ATPase as biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **143** : 283–288. Doi:10.1016/j.ecoenv.2017.05.035
- Piner, P., & Üner, N., 2012.** In vivo acetylcholinesterase inhibition in the tissues of spinosad exposed *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **34** (2) : 473–477. Doi:10.1016/j.etap.2012.06.012
- Pires, M.N., Arendt, J., & Reznick, D.N., 2010.** The evolution of placentas and superfetation in the fish genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae: subgenera *Micropoecilia* and *Acanthophaelus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, **99** (4) : 784–796. Doi:10.1111/j.1095-8312.2010.01391.x
- Podduturi, R., Petersen, M.A., Vestergaard, M., Hyldig, G., & Jørgensen, N.O.G., 2021.** Case study on depuration of RAS-produced pikeperch (*Sander lucioperca*) for removal of geosmin and other volatile organic compounds (VOCs) and its impact on sensory quality. *Aquaculture*, **530** : 735754. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735754>
- Poey, F., 1854.** Los Guajacones, peces de aqua dulce. Memorias de Cuba I, 382p.
- Pollux, B.J.A., Pires, M.N., Banet, A.I., & Reznick, D.N., 2009.** Evolution of Placentas in the Fish Family Poeciliidae: An Empirical Study of Macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **40** (1) : 271–289. Doi:10.1146/annurev.ecolsys.110308.120209
- Pope, K.L., & Kruse, C.G., 2001.** Assessment of fish condition data. In: Guy, C., Brown, M. (Eds.), *Statistical Analyses of Freshwater Fisheries Data*. American Fisheries Society Publication, Bethesda, MD, 51–56p.



- Praveenraj, J., Ezhil Praveena, P., Bhuvaneswari, T., Navaneeth Krishnan, A., & Jithendran, K.P., 2018.** Experimental infection of Betanodavirus in freshwater fish *Gambusia affinis* (Baird and Girard, 1853)—a potential infection model for viral encephalopathy and retinopathy. *Aquaculture International*, **26** (2) : 617–627. Doi:10.1007/s10499-018-0241-7
- Prosser, R.S., de Solla, S.R., Holman, E.A.M., Osborne, R., Robinson, S.A., Bartlett, A.J., Maisonneuve, F.J., & Gillis, P.L., 2016.** Sensitivity of the early-life stages of freshwater mollusks to neonicotinoid and butenolide insecticides. *Environmental Pollution*, 218 : 428–435. Doi:10.1016/j.envpol.2016.07.022
- Prysiashniuk, N., Grynevych, N., Slobodeniuk, O., Kuzmenko, O., Tarasenko, L., Bezv O., Khomiak, O., Horchanok, A., Gutyj, B., Kulyaba, O., Sachuk, R., Boiko, O., & Magrelo, N., 2019.** Monitoring of morphological parameters of Cyprinidae liver. *Ukrainian Journal of Ecology*, **9** (3) : 162-167. <https://www.ujecology.com/articles/monitoring-of-morphological-parameters-of-cyprinidae-liver.pdf>
- Pyke, G.H., 2005.** A Review of the Biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **15** (4) : 339–365. Doi:10.1007/s11160-006-6394-x
- Pyke, G.H., 2008.** Plague minnow or mosquitofish? A review of the biology and impacts of introduced *Gambusia* species. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. **39** : 171-191. Doi:10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.17345

Q

- Qadri, H., & Bhat, R.A., 2020.** The Concerns for Global Sustainability of Freshwater Ecosystems. *The Concerns for Global Sustainability of Freshwater Ecosystems*, 1-13. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8277-2_1
- Qi, S., Wang, C., Chen, X., Qin, Z., Li, X., & Wang, C., 2013.** Toxicity assessments with *Daphnia magna* of Guadipyr, a new neonicotinoid insecticide and studies of its effect on acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase (GST), catalase (CAT) and chitobiase activities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **98** : 339–344. Doi:10.1016/j.ecoenv.2013.09.013



- Qi, S., Wang, D., Zhu, L., Teng, M., Wang, C., Xue, X., & Wu, L., 2018.** Neonicotinoid insecticides imidacloprid, guadipyr, and cycloxaprid induce acute oxidative stress in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **148** : 352–358. Doi:10.1016/j.ecoenv.2017.10.042
- Quoy, J.R.C., & Gaimard, P., 1824.** Voyage au tour du monde pendant les années : 1817, 1818, 1819 et 1820 : zoologie. Pillet Ainé, imprimeur-librairie, rue christine, N5, Paris, France, 68p. [https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=-ZXkAAAAMAAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=\(Quoy+and+Gaimard,+1824\)&ots=aolshDTQFR&sig=psC6FPuqJOUcJnMhWbBOKFnsphM&redir_esc=y#v=onepage&q=\(Quoy%20and%20Gaimard%2C%201824\)&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=-ZXkAAAAMAAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=(Quoy+and+Gaimard,+1824)&ots=aolshDTQFR&sig=psC6FPuqJOUcJnMhWbBOKFnsphM&redir_esc=y#v=onepage&q=(Quoy%20and%20Gaimard%2C%201824)&f=false)

R

- Radwan, M.A., & Mohamed, M.S., 2013.** Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **95** : 91–97. Doi:10.1016/j.ecoenv.2013.05.019
- Ramesh, M., Narmadha, S., & Poopal, R.K., 2015.** Toxicity of furadan (carbofuran 3% g) in *Cyprinus carpio*: Haematological, biochemical and enzymological alterations and recovery response. Beni-Suef University. *Journal of Basic and Applied Sciences*, **4** (4) : 314–326. [Doi:10.1016/j.bjbas.2015.11.008](https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2015.11.008)
- Rao, J., Begum, G., Pallela, R., Usman, P., & Rao, R., 2005.** Changes in Behavior and Brain Acetylcholinesterase Activity in Mosquito Fish, *Gambusia affinis* in Response to the Sub-Lethal Exposure to Chlorpyrifos. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **2** (3) : 478–483. Doi:10.3390/ijerph2005030013
- Reading, B.J., & Sullivan, C.V., 2011.** The reproductive organs and processes| Vitellogenesis in Fishes. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 635–646. Doi:10.1016/b978-0-12-374553-8.00257-4
- Rees, B.E., 1958.** Attributes of the mosquito fish in relation to mosquito control. *Proceedings California Mosquito Control Association*. **26** : 71-75
- Regmi, B., Douglas, M.R., Anthonysamy, W.J.B., Douglas, M.E., & Leberg, P.L., 2016.** Salinity and hydrological barriers have little influence on genetic structure of the mosquitofish in a coastal landscape shaped by climate change. *Hydrobiologia*, **777** (1) : 209–223. <http://dx.doi.org/10.1007/s10750-016-2786-7>.



- Ren, Q., Zhang, T., Li, S., Ren, Z., Yang, M., Pan, H., Xu, S., Qi, L., & Chon, T.-S., 2016.** Integrative Characterization of Toxic Response of Zebra Fish (*Danio rerio*) to Deltamethrin Based on AChE Activity and Behavior Strength. *BioMed Research International*, **2016** : 1–10. Doi:10.1155/2016/7309184
- Rhee, J.-S., Kim, B.-M., Jeong, C.-B., Park, H. G., Leung, K. M. Y., Lee, Y.-M., & Lee, J.-S., 2013.** Effect of pharmaceuticals exposure on acetylcholinesterase (AChE) activity and on the expression of AChE gene in the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **158 (4)** : 216–224. Doi:10.1016/j.cbpc.2013.08.005
- Ríos, V., Guzmán-Guillén, R., Moreno, I., Prieto, A., Puerto, M., Jos, A., & Cameán, A., 2014.** Influence of Two Depuration Periods on the Activity and Transcription of Antioxidant Enzymes in Tilapia Exposed to Repeated Doses of Cylindrospermopsin under Laboratory Conditions. *Toxins*, **6 (3)** : 1062–1079. Doi:10.3390/toxins6031062
- Rodrigues, E.T., Alpendurada, M.F., Ramos, F., & Pardal, M.Â., 2018.** Environmental and human health risk indicators for agricultural pesticides in estuaries. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **150** : 224–231. Doi:10.1016/j.ecoenv.2017.12.047
- Rodrigues, S., Antunes, S. C., Correia, A. T., & Nunes, B., 2018.** Oxytetracycline effects in specific biochemical pathways of detoxification, neurotransmission and energy production in *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **164** : 100–108. Doi:10.1016/j.ecoenv.2018.07.124
- Rohonczy, J.L.M., Koprivnikar, J., Waltho, N., & Robinson, S.A., 2020.** The Effects of the Commercially Formulated Neonicotinoids Imidacloprid and Thiamethoxam on the Survival of Infectious Stages of Two Trematode Parasites. *Water, Air, & Soil Pollution*, **231 (3)** : 125. Doi:10.1007/s11270-020-04510-4
- Rosen, D.E., & Mendelson, J.R., 1960.** The Sensory Canals of the Head in Poeciliid Fishes (Cyprinodontiformes), with Reference to Dentitional Types. *Copeia*, **1960 (3)** : 203. Doi:10.2307/1439657



S

- Salaberria, I., Hansen, B.H., Asensio, V., Olsvik, P.A., Andersen, R.A., & Jenssen, B.M., 2009.** Effects of atrazine on hepatic metabolism and endocrine homeostasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, **234** (1) : 98–106. Doi:10.1016/j.taap.2008.09.023
- Salbego, J., Pretto, A., Gioda, C.R., de Menezes, C.C., Lazzari, R., Radünz Neto, J., Baldisserotto, B., & Loro, V.L., 2010.** Herbicide Formulation with Glyphosate Affects Growth, Acetylcholinesterase Activity, and Metabolic and Hematological Parameters in Piava (*Leporinus obtusidens*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **58** (3) : 740–745. Doi:10.1007/s00244-009-9464-y
- Salbego, J., Seben, D., Sippert, L.R., Gressler, L.T., Arruda da Cunha, J., Zanella, R., Vaucher de, R.A., Marchesan, E., Baldisserotto, B., Loro, V.L., & Golombieski, J.I., 2020.** Toxicological response of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after acute exposure to a commercial insecticide containing thiamethoxam. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **55** (8) : 749-755. Doi:10.1080/03601234.2020.1782115
- Salgado, L.D., Meister, L., Marques, A.E., Kramer, R.D., Garrido de Oliveira, F., Moretto, S.L., Alves de Lima, B., Prodocimo, M.M., Cestari, M.M., Rodrigues de Azevedo, J.C., Silva de Assis, H.C., 2019.** Integrated assessment of sediment contaminant levels and biological responses in sentinel fish species *Atherinella brasiliensis* from a sub-tropical estuary in south Atlantic. *Chemosphere*, **219** : 15-27.
- Samanta, P., Pal, S., Mukherjee, A.K., & Ghosh, A.R., 2014.** Biochemical effects of glyphosate-based herbicide, Excel Mera 71 on enzyme activities of acetylcholinesterase (AChE), lipid peroxidation (LPO), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST) and protein content on teleostean fishes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **107** : 120–125. Doi:10.1016/j.ecoenv.2014.05.025
- Sandamalika, W.M.G., Priyathilaka, T.T., Lee, S., Yang, H., & Lee, J., 2019.** Immune and xenobiotic responses of glutathione S-Transferase theta (GST- θ) from marine invertebrate disk abalone (*Haliotis discus discus*): With molecular characterization and functional analysis. *Fish & Shellfish Immunology*, **91** : 159–171. Doi:10.1016/j.fsi.2019.04.004



- Sandstrom, O., Larsson, A., Andersson, J., Appelberg, M., Bignert, A., Ek, H., Forlin, L., & Olsson, M., 2005.** Three decades Swedish experience stresses the need of integrated long-term monitoring in marine coastal areas. *Water Quality Research Journal of Canada*, **40 (3)** : 233-250. Doi:10.2166/wqrj.2005.030
- Sanghvi, T., Ni, N., Mayersohn, M., & Yalkowsky, S., 2003.** Predicting Passive Intestinal Absorption Using A Single Parameter. *QSAR & Combinatorial Science*, **22 (2)** : 247–257. Doi:10.1002/qsar.200390019
- Saravanan, M., Nama, S.E., Eom, H.J, Lee, D.H., & Rhee, J.S., 2019.** Long-term exposure to waterborne nonylphenol alters reproductive physiological parameters in economically important marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **216 C** : 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.11.009>
- Saravanan, N., Uma, T., & Jothi Narendiran, N., 2016.** Effect of cypermethrin on estradiol and vitellogenin in the tissues of *Esomus danricus*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **4 (5)** : 524-528.
- Sathyamoorthi, A., Kumaresan, V., Palanisamy, R., Pasupuleti, M., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., Marimuthu, K., Nurul Amin, S.M., Arshad, A., Yusoff, F.Md., & Arockiaraj, J., 2019.** Therapeutic cationic antimicrobial peptide (CAP) derived from fish aspartic proteinase Cathepsin D and its antimicrobial mechanism. *International Journal for Peptide Research & Therapeutics*, **25** : 93-105. <https://doi.org/10.1007/s10989-017-9652-y>
- Savolainen, K., 2001.** Understanding the Toxic Actions of Organophosphates. *Handbook of Pesticide Toxicology*, **2** : 1013–1041. Doi:10.1016/b978-012426260-7.50053-7
- Sayed, A.E.-D.H., Abd-Elkareem, M., & Abou Khalil, N.S., 2019.** Immunotoxic effects of 4-nonylphenol on *Clarias gariepinus*: cytopathological changes in hepatic melanomacrophages. *Aquatic Toxicology*, **207** : 83-90. Doi:10.1016/j.aquatox.2018.12.002
- Sayed, A.E.-D.H., Mahmoud, U.M., & Mekkawy, I.A., 2012.** Reproductive biomarkers to identify endocrine disruption in *Clarias gariepinus* exposed to 4-nonylphenol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **78** : 310–319. Doi:10.1016/j.ecoenv.2011.11.041.



- Schram, E., van Kooten, T., van de Heul, J.W., Schrama, J.W., Verreth, J.A.J., & Murk, A.J., 2017.** Geosmin depuration from European eel (*Anguilla anguilla*) is not affected by the water renewal rate of depuration tanks. *Aquaculture Research*, **48 (9)** : 4646–4655. Doi:10.1111/are.13287
- Schwarzbacherová, V., Wnuk, M., Deregowska, A., Holečková, B., & Lewinska, A., 2019.** In vitro exposure to thiacloprid-based insecticide formulation promotes oxidative stress, apoptosis and genetic instability in bovine lymphocytes. *Toxicology in Vitro*, **61** : 104654. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.104654>
- Seal, W.P., 1910.** Fishes in their relation to the mosquito problem. Paper presented before the Fourth International Fishery Congress held at Washington, U.S.A., September 22 to 26, 1908. *Bulletin of the Bureau of Fisheries*, **28 (683)** : 831-838. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.36233>
- Seale, A., 1905.** Report of Mr. Alvin Seale of the United States Fish Commission, on the introduction of top-minnows to Hawaii from Galveston, Texas. *The Hawaiian Forester and Agriculturist*, **2 (11)** : 364-367.
- Self, J.T., 1940.** Notes on the Sex Cycle of *Gambusia affinis affinis*, and on Its Habits and Relation to Mosquito Control. *American Midland Naturalist*, **23 (2)** : 393. Doi:10.2307/2420672
- Severo, E.S., Marins, A.T., Cerezer, C., Costa, D., Nunes, M., Prestes, O.D., Zanella, R., & Loro, V.L., 2020.** Ecological risk of pesticide contamination in a Brazilian river located near a rural area: A study of biomarkers using zebrafish embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **190** : 110071. Doi:10.1016/j.ecoenv.2019.110071
- Shakir, H.A., Mirza, M.R., Khan, A.M., & Abid, M., 2008.** Weight-length and condition factor relationship of sperata sarwari (singhari), from mangla lake, Pakistan. *Journal of Animal and Plant Sciences*, **18 (4)** : 158-160. <https://pdfs.semanticscholar.org/b2e0/2c0bf287429535f217697b929180ed1d4fd3.pdf>
- Shao, S., Hu, Y., Cheng, J., & Chen, Y., 2018.** Research progress on distribution, migration, transformation of antibiotics and antibiotic resistance genes (ARGs) in aquatic environment. *Critical Reviews in Biotechnology*, **38** : 1-14. <https://doi.org/10.1080/07388551.2018.1471038>



- Shaw, J.P., Moore, M.N., Readman, J.W., Mou, Z., Langston, W.J., Lowe, D.M., Frickers, P.E., Al-Moosawi, L., Pascoe, C., & Beesley, A., 2019.** Oxidative stress, lysosomal damage and dysfunctional autophagy in molluscan hepatopancreas (digestive gland) induced by chemical contaminants. *Marine Environmental Research*, 104825. Doi:10.1016/j.marenvres.2019.104825
- Silveyra, G.R., Canosa, I.S., Rodríguez, E.M., & Medesani, D.A., 2017.** Effects of atrazine on ovarian growth, in the estuarine crab *Neohelice granulata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **192** : 1–6. Doi:10.1016/j.cbpc.2016.10.011
- Silveyra, G.R., Canosa, I.S., Zanitti, M., Rodríguez, E.M., & Medesani, D.A., 2020.** Interference of an atrazine commercial formulation with the endocrine control of ovarian growth exerted by the eyestalks. *Environmental Science and Pollution Research*, **27** : 965–973. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07043-4>
- Silveyra, G.R., Silveyra, P., Vatnick, I., Medesani, D.A., & Rodríguez, E.M., 2018.** Effects of atrazine on vitellogenesis, steroid levels and lipid peroxidation, in female red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquatic Toxicology*, **197** : 136-142. Doi: 10.1016/j.aquatox.2018.02.017
- Simonato, J.D., Mela, M., Doria, H.B., Guiloski, I.C., Randi, M.A., Carvalho, P.S.M., Meletti, P.C., Silva de Assis, H.C., Bianchini, A., & Martinez, C.B.R., 2016.** Biomarkers of waterborne copper exposure in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Aquatic Toxicology*, **170** : 31-41. Doi:10.1016/j.aquatox.2015.11.012
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, N., Gibbons, D.W., Giorgio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D.P., Krupke, C.H., Liess, M., Long, E., McField, M., Mineau, P., Mitchell, E.A.D., Morrissey, C.A., Noome, D.A., Pisa, L., Settele, J., Stark, J.D., Tapparo, A., Van Dyck, H., Van Praagh, J., Van der Sluijs, J.P., Whitehorn, P.R., & Wiemers, M., 2015.** Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, **22** (1) : 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
- Singh, A., & Zutshi, B., 2020.** Photoperiodic effects on somatic growth and gonadal maturation in Mickey Mouse platy, *Xiphophorus maculatus* (Gunther, 1866). *Fish Physiology and Biochemistry*, **46** : 1483–1495. Doi:10.1007/s10695-020-00806-8



- Singh, N., & Gupta, P.K., 2014.** Reproductive biology of eastern mosquito fish *Gambusia holbrooki* (Girard) (Poeciliidae) in a sub-tropical Lake, Lake Nainital (India). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **3 (4)** : 19-31. <https://www.ijcmas.com/vol-3-4/Nirmal%20Singh%20and%20P.%20K.%20Gupta.pdf>
- Singh, N., & Gupta, P.K., 2016.** *Gambusia holbrooki*: A case study in India with special reference to Lake Nainital. *International Journal of Fisheries and Aquaculture Sciences*. **6 (1)** : 33-48. http://www.irphouse.com/ijfas16/ijfasv6n1_04.pdf
- Singh, S., Tiwari, R.K., & Pandey, R.S., 2018.** Evaluation of acute toxicity of triazophos and deltamethrin and their inhibitory effect on AChE activity in *Channa punctatus*. *Toxicology Reports*, **5** : 85–89. Doi:10.1016/j.toxrep.2017.12.006
- Singh, U., Tiwari, R.K., & Pandey, R.S., 2019.** Physicochemical Characteristics of Fertilizer Industry Effluent and its Toxicological Impact on the Activity of Acetylcholinesterase (AChE) in Freshwater Teleosts *Heteropneustes fossilis* and *Labeo rohita*. *Croatian Journal of Fisheries*, **77 (2)** : 77–86. Doi:10.2478/cjf-2019-0008
- Smit, M.G.D., Bechmann, R.K., Hendriks, A.J., Skadsheim, A., Larsen, B.K., Baussant, T., Bamber, S., & Sanni, S., 2009.** Relating biomarkers to whole-organism effects using species sensitivity distributions: a pilot study for marine species exposed to oil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **28 (5)** : 1104. Doi:10.1897/08-464.1
- Soares, R.M., Cagido, V.R., Ferraro, R.B., Meyer, J.R.F., Rocco, P.R.M., Zin, W.A., & Azevedo, S.M.F.O., 2007.** Effects of microcystin-LR on mouse lungs. *Toxicon*, **50 (3)** : 330-338. Doi:10.1016/j.toxicon.2007.04.003
- Sobjak, T.M., Romão, S., Cazarolli, S.H., Sampaio, S.C., Remor, M.B., & Guimarães, A.T.B., 2018.** Evaluation of the antioxidant system and neurotoxic effects observed in *Rhamdia branneri* (Teleostei: heptapteridae) sampled from streams of the lower Iguazu River basin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **155** : 162–170. Doi:10.1016/j.ecoenv.2018.02.063



- Soladoye, O.P., Juárez, M.L., Aalhus, J.L., Shand, P., & Estévez, M., 2015.** Protein Oxidation in Processed Meat: Mechanisms and Potential Implications on Human Health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **14 (2)** : 106–122. Doi:10.1111/1541-4337.12127
- Soltani, N., Chouahda, S., & Smagghe, G., 2008.** Evaluation of halofenozide against prey mosquito larvae *Culex pipiens* and the predator fish *Gambusia affinis*: impact on growth and enzymatic activities. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, **73 (3)** : 659-666.
- Sopinka, N.M., Donaldson, M.R., O'Connor, C.M., Suski, C.D., & Cooke, S.J., 2016.** Stress Indicators in Fish. *Biology of Stress in Fish - Fish Physiology*, **35** : 405–462. Doi:10.1016/b978-0-12-802728-8.00011-4
- Spillmann, C.J., 1961.** Faune de France : poissons d'eau douce. Editions chevalier : Fédération Française des sociétés de sciences Naturelles. Paris, France, 303p.
- Srikanth, K., Pereira, E., Duarte, A.C., & Ahmad, I., 2013.** Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish-a review. *Environmental Science and Pollution Research*, **20** : 2133-2149. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1459-y>
- Srivastava, P.K., Singh, V.P., Singh, A., Tripathi, D.K., Singh, S., Prasad, S.M., & Chauhan, D.K., 2020.** Pesticides in Crop Production: Physiological and Biochemical Action. 1^{ère} édition, John Wiley & Sons (Wiley), Hoboken, USA, 312p. Doi:10.1002/9781119432241
- Stara, A., Pagano, M., Capillo, G., Fabrello, J., Sandova, M., Vazzana, I., Zuskova, E., Velisek, J., Matozzo, V., & Faggio, C., 2020.** Assessing the effects of neonicotinoid insecticide on the bivalve mollusc *Mytilus galloprovincialis*. *Science of The Total Environment*, **700** : 134914. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134914
- Stearns, S.C., 1983a.** A Natural Experiment in Life-History Evolution: Field Data on the Introduction of Mosquitofish (*Gambusia affinis*) to Hawaii. *Evolution*, **37 (3)** : 601. Doi:10.2307/2408273
- Stearns, S.C., 1983b.** The genetic basis of differences in life-history traits among six populations of mosquitofish (*Gambusia affinis*) that shared ancestors in 1905. *Evolution*, **37 (3)** : 618–627. Doi:10.1111/j.1558-5646.1983.tb05578.x



- Stockwell, C. A., Mulvey, M., & Vinyard, G.L., 1996.** Translocations and the Preservation of Allelic Diversity. *Conservation Biology*, **10 (4)** : 1133–1141. Doi:10.1046/j.1523-1739.1996.10041133.x
- Stoyanova, S., Georgieva, E., Velcheva, I., Iliev, I., Vasileva, T., Bivolarski, V., Tomov, S., Nyeste, K., Antal, L., & Yancheva, V., 2020.** Multi-Biomarker Assessment in Common Carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758) Liver after Acute Chlorpyrifos Exposure. *Water*, **12 (6)** : 1837. Doi:10.3390/w12061837
- Sturve, J., Hultman, M.T., Wassmur, B., & Almroth, B.C., 2017.** Determining oxidative stress and EROD activity in dab (*Limanda limanda*) in the North and Baltic Seas. *Marine Environmental Research*, **124** : 46–53. Doi:10.1016/j.marenvres.2016.10.008
- Sumon, K.A., Rico, A., Ter Horst, M.M.S., Van den Brink, P.J., Haque, M.M., & Rashid, H., 2016.** Risk assessment of pesticides used in rice-prawn concurrent systems in Bangladesh. *Science of The Total Environment*, **568** : 498–506. Doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.014
- Sundin, J., Jutfelt, F., Thorlacius, M., Fick, J., & Brodin, T., 2019.** Behavioural alterations induced by the anxiolytic pollutant oxazepam are reversible after depuration in a freshwater fish. *Science of The Total Environment*, **665** : 390–399. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.02.049
- Süß, A., Bischoff, G., Mueller, A.C.W., & Buhr, L., 2006.** Chemisch-biologisches Monitoring zu Pflanzenschutzmittelbelastungen und Lebensgemeinschaften in Gräben des Alten Landes*). *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, **58 (2)** : 28-42.

T

- Tabassum, H., Ashafaq, M., Khan, J., Shah, M. Z., Raisuddin, S., & Parvez, S., 2016b.** Short term exposure of pendimethalin induces biochemical and histological perturbations in liver, kidney and gill of freshwater fish. *Ecological Indicators*, **63** : 29–36. Doi:10.1016/j.ecolind.2015.11.044
- Tabassum, H., Khan, J., Salman, M., Raisuddin, S., & Parvez, S., 2016a.** Propiconazole induced toxicological alterations in brain of freshwater fish *Channa punctata* Bloch. *Ecological Indicators*, **62** : 242–248. Doi:10.1016/j.ecolind.2015.11.001



- Taillebois, E., Cartereau, A., Jones, A.K., & Thany, S.H., 2018.** Neonicotinoid insecticides mode of action on insect nicotinic acetylcholine receptors using binding studies. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **151** : 59-66. Doi:10.1016/j.pestbp.2018.04.007
- Tang, T., Liu, X., Wang, P., Fu, W., & Ma, M., 2017.** Thiamethoxam seed treatment for control of rice thrips (*Chloethrips oryzae*) and its effects on the growth and yield of rice (*Oryza sativa*). *Crop Protection*, **98** : 136–142. Doi:10.1016/j.cropro.2017.03.024
- Teló, G.M., Senseman, S.A., Marchesan, E., Camargo, E.R., Jones, T., & McCauley, G., 2015.** Residues of Thiamethoxam and Chlorantraniliprole in Rice Grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63 (8)** : 2119–2126. Doi:10.1021/jf5042504
- Terofal, F., 1987.** Les Poissons d'eau douce. Editions Solar, Paris. France. 287p.
- Tesovnik, T., Zorc, M., Ristanić, M., Glavinić, U., Stevanović, J., Narat, M., & Stanimirović, Z., 2020.** Exposure of honey bee larvae to thiamethoxam and its interaction with *Nosema ceranae* infection in adult honey bees. *Environmental Pollution*, **256** : 113443. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113443>
- Thany, S.H., Lenaers, G., Raymond-Delpech, V., Sattelle, D.B., & Lapied, B., 2007.** Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, **28 (1)** : 14–22. Doi:10.1016/j.tips.2006.11.006
- Theodorakis, C.W., & Shugart, L.R., 1997.** Genetic ecotoxicology II: population genetic structure in mosquitofish exposed in situ to radionuclides . *Ecotoxicology*, **6 (6)** : 335–354. Doi:10.1023/a:1018695231565
- Thibault, R.E., & Schultz, R.J., 1978.** Reproductive adaptations among viviparous fishes (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Evolution*, **32 (2)** : 320–333. Doi:10.1111/j.1558-5646.1978.tb00648.x
- Tian, X., Hong, X., Yan, S., Li, X., Wu, H., Lin, A., & Yang, A., 2020.** Neonicotinoids caused oxidative stress and DNA damage in juvenile Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **197** : 110566. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110566>



- Toke, Y.Y., & Aung, N.N., 2020.** Estimation of Length-weight relationship and Condition factor of freshwater Commercial fish *Channa striata* (Bloch., 1793) from Pantanaw environs, Ayeyarwady region. *Banmaw University Research Journal*, **11 (1)** : 227-303. <http://www.bmwuni.edu.mm/wp-content/uploads/2020/06/Vol-11-Zool-1.pdf>
- Toni, C., Ferreira, D., Kreutz, L.C., Loro, V.L., & Barcellos, L.J.G., 2011.** Assessment of oxidative stress and metabolic changes in common carp (*Cyprinus carpio*) acutely exposed to different concentrations of the fungicide tebuconazole. *Chemosphere*, **83 (4)** : 579–584. Doi:10.1016/j.chemosphere.2010.12.022
- Topal, A., Alak, G., Ozkaraca, M., Yeltekin, A.C., Comaklı, S., Acil, G., Kokturk, M., & Atamanalp, M., 2017.** Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, **175** : 186–191. Doi:10.1016/j.chemosphere.2017.02.047
- Trac, L.N., Andersen, O., & Palmqvist, A., 2016.** Deciphering mechanisms of malathion toxicity under pulse exposure of the freshwater cladoceran *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **35 (2)** : 394–404. Doi:10.1002/etc.3189
- Tsukimura, B., 2001.** Crustacean Vitellogenesis: Its Role in Oocyte Development. *American Zoologist*, **41 (3)** : 465–476. Doi:10.1668/00031569(2001)041[0465:cvirio]2.0.co;2
- Turner, C.L., 1941.** Morphogenesis of the gonopodium in *Gambusia affinis affinis*. *Journal of Morphology*, **69 (1)** : 161-185. Doi:10.1002/jmor.1050690107

U

- Uedeme-Naa, B., & Deekae, S.N., 2016.** Organosomatic index and condition factors of *Clarias gariepinus* juvenile exposed to chronic levels of linear alkyl benzene sulphonate. *Scientia Agriculturae*, **16 (3)** : 104-107. Doi: 10.15192/PSCP.SA.2016.16.3.104107
- Ullah, S., Li, Z., Zuberi, A., Arifeen, M.Z.U., & Baig, M.M.F.A., 2019.** Biomarkers of pyrethroid toxicity in fish. *Environmental Chemistry Letters*, **17** : 945–973. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00852-y>
- Ulrich, W., Robert, E., Dixon, D.P., & Felix, M., 2002.** Probing the diversity of the Arabidopsis glutathione S-transferase gene family. *Plant Molecular Biology*, **49 (5)** : 515-532.



- Uribe, M.C., De la Rosa Cruz, G., García Alarcón, A., Campuzano Caballero, J.C., & Guzmán Bárcenas, M.G., 2019.** Structures Associated with Oogenesis and Embryonic Development during Intraovarian Gestation in Viviparous Teleosts (Poeciliidae). *Fishes*, **4 (2)** : 35. Doi:10.3390/fishes4020035
- Uribe, M.C., Grier, H.J., De la Rosa-Cruz G., & Garcia-Alarcón A., 2009.** Modifications in Ovarian and Testicular Morphology Associated with Viviparity in Teleosts, in *Reproductive Biology and Phylogeny of Fishes (Agnathans and Bony Fishes) Phylogeny, Reproductive System, Viviparity, Spermatozoa*. 1st Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 802p. <https://doi.org/10.1201/9781482280609>
- Utarabhand, P., & Bunlipatanon, P., 1996.** Plasma vitellogenin of grouper (*Epinephelus malabaricus*): Isolation and properties. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Pharmacology Toxicology & Endocrinology*, **115** : 101-110. [https://doi.org/10.1016/S07428413\(96\)00055-2](https://doi.org/10.1016/S07428413(96)00055-2)

V

- Valbonesi, P., Sartor, G., & Fabbri, E., 2003.** Characterization of cholinesterase activity in three bivalves inhabiting the North Adriatic Sea and their possible use as sentinel organisms for biosurveillance programmes. *Science of The Total Environment*, **312 (1-3)** : 79–88. Doi:10.1016/s0048-9697(03)00227-4
- Van Dine, D.L., 1907.** The introduction of top-minnows into the Hawaiian Islands. *Hawaii Agricultural Experiment Station Press bulletin*, **20** : 1–10.
- Vasconcelos, R.P., Reis-Santos, P., Fonseca, V.F., Ruano, M., Tanner, S., Costa, M.J., & Cabral, H.N., 2009.** Juvenile fish condition in estuarine nurseries along the Portuguese coast. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **82 (1)** : 128–138. Doi:10.1016/j.ecss.2009.01.002
- Velisek, J., Stara, A., Zuskova, E., Kubec, J., Buric, M., & Kouba, A., 2018.** Chronic toxicity of metolachlor OA on growth, ontogenetic development, antioxidant biomarkers and histopathology of early life stages of marbled crayfish. *Science of The Total Environment*, **643** : 1456–1463. Doi:10.1016/j.scitotenv.2018.06.309
- Vidal, O., García-Berthou, E., Tedesco, P.A., & García-Marín, J.L., 2010.** Origin and genetic diversity of mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) introduced to Europe. *Biological Invasions*, **12 (4)** : 841–851. Doi:10.1007/s10530-009-9505-5



- Vidhya, V., Sreeja, S.J., Nair, S.G., & Radhakrishnan Nair, C., 2019.** Growth response variations induced by the action of selected insecticide, lambda-cyhalothrin in the fish, *etroplus suratensis*. *Journal of Information and Computational Science*, **9 (12)** : 732-752. <http://www.joics.org/gallery/ics-1966.pdf>
- Vieira, C.E.D., Costa, P.G., Lunardelli, B., Oliveira, L.F., Cabrera, L.C., Risso, W.E., Primel, E.G., Meletti, P.C., Fillmann, G., & Martinez, C.B.R., 2016.** Multiple biomarker responses in *Prochilodus lineatus* subjected to short-term in situ exposure to streams from agricultural areas in Southern Brazil. *Science of Total Environment*. **542** : 44-56. Doi:10.1016/j.scitotenv.2015.10.071
- Vieira, C.E.D., Pérez, M.R., Acayaba, R.D., Raimundo, C.C.M., & dos Reis Martinez, C.B., 2018.** DNA damage and oxidative stress induced by imidacloprid exposure in different tissues of the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, **195** : 125–134. Doi:10.1016/j.chemosphere.2017.12.077
- Vignet, C., Cappello, T., Fu, Q., Lajoie, K., De Marco, G., Clerandau, C., Mottaz, H., Maisano, M., Hollender, J., Schirmer, K., & Cachot, J., 2019.** Imidacloprid induces adverse effects on fish early life stages that are more severe in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) than in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, **225** : 470-478. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.002>

W

- Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., & Peakall, D.B., 2006.** Principles of Ecotoxicology. 3th Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 344p.
- Walker, W.F., 1987.** Functional Anatomy of the Vertebrates. An Evolutionary Perspective. Saunders College Publishing, Philadelphia, PA, 781p.
- Walton, W.E., 2007.** Larvivorous fish including Gambusia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **23 (sp2)** : 184–220. [http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[184:LFIG\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[184:LFIG]2.0.CO;2)



- Wan, M.T., & Chou, C.C., 2015.** Class 1 integrons and the antiseptic resistance gene (qacED1) in municipal and swine slaughterhouse wastewater treatment plants and wastewater-associated methicillin-resistant *staphylococcus aureus*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **12** : 6249-6260. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606249>
- Wang, H., Zhana, J., Gao, L., Yu, G., Komarneni, S., & Wang, Y., 2020.** Kinetics and mechanism of thiamethoxam abatement by ozonation and ozone-based advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, **390** : 122180. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122180>
- Wang, X., Martínez, M.A., Wu, Q., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M.R., Anadón, A., & Yuan, Z., 2016.** Fipronil insecticide toxicology: oxidative stress and metabolism. *Critical Reviews in Toxicology*, **46** (10) : 876–899. Doi:10.1080/10408444.2016.1223014
- Weber, L.P., Higgins, P.S., Carlson, R.I., & Janz, D.M., 2003.** Development and validation of methods for measuring multiple biochemical indices of condition in juvenile fishes. *Journal of Fish Biology*, **63** (3) : 637–658. Doi:10.1046/j.1095-8649.2003.00178.x
- Wei, F., Wang, D., Li, H., Xia, P., Ran, Y., & You, J., 2020.** Toxicogenomics provides insights to toxicity pathways of neonicotinoids to aquatic insect, *Chironomus dilutus*. *Environmental Pollution*, **260** : 114011. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114011>
- Wei, K., & Yang, J., 2015.** Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **113** : 446–453. Doi:10.1016/j.ecoenv.2014.12.032
- Wei, Y., Zhang, J., Zhang, D., Tu, T., & Luo, L., 2014.** Metal concentrations in various fish organs of different fish species from Poyang Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **104** : 182–188. Doi:10.1016/j.ecoenv.2014.03.001
- West, G., 1990.** Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, **41** : 199–222. <https://doi.org/10.1071/MF9900199>



- Wilder, M.N., Okumura, T., & Tsutsui, N., 2010.** Reproductive Mechanisms in Crustacea Focusing on Selected Prawn Species: Vitellogenin Structure, Processing and Synthetic Control. *Aqua-BioScience Monographs*, **3 (3)** : 73–110. Doi:10.5047/absm.2010.00303.0073
- Winkler, P., 1979.** Thermal Preference of *Gambusia affinis affinis* as Determined under Field and Laboratory Conditions. *Copeia*, **1** : 60. Doi:10.2307/1443729
- Wong, C.M., Marcocci, L., Liu, L.L., & Suzuki, Y.J., 2010.** Cell Signaling by Protein Carbonylation and Decarbonylation. *Antioxidants & Redox Signaling*, **12 (3)** : 393–404. Doi:10.1089/ars.2009.2805
- Wooten, M.C., Scribner, K.T., & Smith, M.H., 1988.** Genetic Variability and Systematics of *Gambusia* in the Southeastern United States. *Copeia*, **2** : 283–289. <http://dx.doi.org/10.2307/1445867>
- Wu, H., Gao, C., Guo, Y., Zhang, Y., Zhang, J., & Ma, E., 2014.** Acute toxicity and sublethal effects of fipronil on detoxification enzymes in juvenile zebrafish (*Danio rerio*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **115** : 9–14. Doi:10.1016/j.pestbp.2014.07.010

X

- Xie, Y.-P., Fang, Z.-Q., Hou, L.-P., & Ying, G.-G., 2010.** Altered development and reproduction in western mosquitofish (*Gambusia affinis*) found in the Hanxi River, southern China. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **29 (11)** : 2607–2615. Doi:10.1002/etc.321
- Xing, H., Wang, J., Li, J., Fan, Z., Wang, M., & Xu, S., 2010.** Effects of atrazine and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and Carboxylesterase in brain and muscle of common carp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **30 (1)** : 26–30. Doi:10.1016/j.etap.2010.03.009
- Xing, H., Wu, H., Sun, G., Zhang, Z., Xu, S., & Li, S., 2013.** Alterations in activity and mRNA expression of acetylcholinesterase in the liver, kidney and gill of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **35 (1)** : 47–54. Doi:10.1016/j.etap.2012.11.004



Y

- Yamamoto, I., & Casida, J.E., (Eds.), 1999.** Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. Edition illustrée, Springer Science & Business Media, 2012, 300p.https://books.google.dz/books?id=HnL8CAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=fr&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Yan, L-J., Levine, R.L., & Sohal, R.S., 1997.** Oxidative damage during aging targets mitochondrial aconitase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **94 (21)** : 11168-11172.
<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.94.21.11168><https://doi.org/10.1073/pnas.94.21.11168>
- Yan, S.H., Wang, J.H., Zhu, L.S., Chen, A.M., & Wang, J., 2015.** Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebrafish (*Danio Rerio*) livers. *Environmental Toxicology*, **31 (12)** : 2006–2015. Doi:10.1002/tox.22201
- Yang, C., Lim, W., & Song, G., 2020.** Review: Mediation of oxidative stress toxicity induced by Pyrethroid pesticides in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **234** : 108758. Doi:10.1016/j.cbpc.2020.108758
- Yeom, D.-H., Lee, S.-A., Kang, G.S., Seo, J., & Lee, S.-K., 2007.** Stressor identification and health assessment of fish exposed to wastewater effluents in Miho Stream, South Korea. *Chemosphere*, **67 (11)** : 2282–2292. Doi:10.1016/j.chemosphere.2006.09.071
- Yhasmine, W., 2013.** Cypermethrin toxic effect on enzyme activities in freshwater fish (*Cyprinus carpio*). *Progrès de l'aquaculture et de la gestion des pêches*, **1 (9)** : 94-97.
- Yi, X., Ding, H., Lu, Y., Liu, H., Zhang, M., & Jiang, W., 2007.** Effects of long-term alachlor exposure on hepatic antioxidant defense and detoxifying enzyme activities in crucian carp (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, **68 (8)** : 1576–1581. Doi:10.1016/j.chemosphere.2007.02.035
- Yilmaz, O., Patinote, A., Nguyen, T., & Bobe, J., 2018.** Multiple vitellogenins in zebrafish (*Danio rerio*): quantitative inventory of genes, transcripts and proteins, and relation to egg quality. *Fish Physiology and Biochemistry*, **44 (6)** : 1509-1525. Doi:10.1007/s10695-018-0524-y



Yim, U.H., Hong, S.H., Shim, W.J., & Oh, J.R., 2005. Levels of Persistent Organochlorine Contaminants in Fish from Korea and Their Potential Health Risk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **48 (3)** : 358–366. Doi:10.1007/s00244-004-0085-1

Yuan, J., Guo, J., Wang, H., Guo, A., Lian, Q., & Gu, Z., 2019. Acute toxicity of cypermethrin on the juvenile of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Chemosphere*, **237** : 124468. Doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124468

Z

Zaidi, N., & Soltani, N., 2010. Chronic toxicity of flucycloxuron in the mosquitofish, *Gambusia affinis*: acetylcholinesterase and catalase activities and pattern of recovery. *Annals of Biological Research*, **1 (4)** : 210-217.

Zaidi, N., & Soltani, N., 2011. Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control*, **59 (2)** : 106-113.

Zaidi, N., & Soltani, N., 2013. Laboratory evaluation of environmental risk assessment of pesticides for mosquito control: toxicity of dimilin on a larvivorous fish, *Gambusia affinis*. *Advances in Environmental Biology*, **7 (4)** : 605-613.

Zaidi, N., Farine, J.P., & Soltani, N., 2013. Experimental Study on Diflubenzuron: Degradation in Freshwater and Bioconcentration in Mosquitofish Following Chronic Exposure. *Journal of Environmental Protection*, **4** : 188-194.

Zamri, Z., Arshad, A., Amin, S.M.N., Rahman, M.A., & Al Khayat, J.A., 2016. Sex ratio, gonad development and fecundity of *Miyakella nepa* (Crustacea, Stomatopoda) of Pantai Remis coastal waters of Malaysia. *Journal of Environment Biology*, **37** : 677-683.

Zeza, D., Bisegna, A., Angelozzi, G., Merola, C., Conte, A., Amorena, M., & Perugini, M., 2020. Impact of Endocrine Disruptors on Vitellogenin Concentrations in Wild Brown Trout (*Salmo trutta trutta*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **105** : 218–223. Doi:10.1007/s00128-020-02916-8

Zhang, C., Wang, J., Zhang, S., Zhu, L., Du, Z., & Wang, J., 2017. Acute and subchronic toxicity of pyraclostrobin in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, **188** : 510–516. Doi:10.1016/j.chemosphere.2017.09.025



- Zhang, H., & Zhao, L., 2017.** Influence of sublethal doses of acetamiprid and halosulfuron-methyl on metabolites of zebra fish (*Brachydanio rerio*). *Aquatic Toxicology*, **191** : 85–94. Doi:10.1016/j.aquatox.2017.08.002
- Zhang, H.-J., Zhou, Q.-W., Zhou, G.-C., Cao, Y.-M., Dai, Y.-J., Ji, W.-W., Shang, G.-D., & Yuan, S., 2012.** Biotransformation of the Neonicotinoid Insecticide Thiacloprid by the Bacterium *Variovorax boronicumulans* Strain J1 and Mediation of the Major Metabolic Pathway by Nitrile Hydratase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60** (1) : 153–159. Doi:10.1021/jf203232u
- Zhang, J., Liu, L., Ren, L., Feng, W., Lv, P., Wu, W., & Yan, Y., 2017.** The single and joint toxicity effects of chlorpyrifos and beta-cypermethrin in zebrafish (*Danio rerio*) early life stages. *Journal of Hazardous Materials*, **334** : 121–131. Doi:10.1016/j.jhazmat.2017.03.055
- Zheng, S., Chen, B., Qiu, X., Chen, M., Ma, Z., & Yu, X., 2016.** Distribution and risk assessment of 82 pesticides in Jiulong River and estuary in South China. *Chemosphere*, **144** : 1177–1192. Doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.050
- Zhou, Z., Wang, B., Zeng, S., Gong, Z., Jing, F., & Zhang, J., 2020.** Glutathione S-transferase (GST) genes from marine copepods *Acartia tonsa*: cDNA cloning and mRNA expression in response to 1,2-dimethylnaphthalene. *Aquatic Toxicology*, **224** : 105480. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105480>
- Zhu, Y.G., Zhao, Y., Li, B., Huang, C.L., Zhang, S.Y., Yu, S., Chen, Y.S., Zhang, T., Gillings, M.R., & Su, J.Q., 2017.** Continental-scale pollution of estuaries with antibiotic resistance genes. *Nature Microbiology*, **2** (4) : 16270. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.270>
- Zúñiga-Vega, J.J., Macías-García, C., & Johnson, J.B., 2010.** Hypotheses to explain the evolution of superfetation in viviparous fishes. En: Uribe, MC; Grier, HJ (eds.). *Viviparous Fishes II*. New Life Publications, Florida. 241-253p.



ANNEXE 1 : Données Statistiques

Tableau 25 : Taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	38,25 \pm 1,32 ^a A	38,25 \pm 1,32 ^a A	38,25 \pm 1,32 ^a A	38,25 \pm 1,32 ^a A	-	-	-	-
1	34,75 \pm 0,85 ^a A	37,25 \pm 2,25 ^a A	37,75 \pm 1,44 ^a A	33,75 \pm 0,85 ^a A	-	-	-	-
7	37 \pm 1 ^a A	39,25 \pm 0,75 ^a A	40 \pm 1,08 ^a A	39,25 \pm 2,46 ^a A	38 \pm 0,71 ^a A	38 \pm 0,71 ^a A	41,5 \pm 0,65 ^a A	41,5 \pm 1,5 ^a A
14	37,25 \pm 2,02 ^a A	37 \pm 2,12 ^a A	37,5 \pm 1,19 ^a A	38,5 \pm 2,06 ^a A	36,5 \pm 0,65 ^{ab} A	34,5 \pm 0,65 ^a A	38,25 \pm 0,75 ^{ab} A	35,5 \pm 0,65 ^b A
21	39,25 \pm 2,18 ^a A	39,5 \pm 1,44 ^a A	40,75 \pm 0,48 ^a A	37,5 \pm 1,32 ^a A	34 \pm 0,91 ^b A	36,75 \pm 0,85 ^a A	37,25 \pm 0,48 ^b A	35,5 \pm 0,48 ^b A
28	42 \pm 1,78 ^{ab} A	42,5 \pm 0,5 ^a A	40,75 \pm 1,44 ^a A	42 \pm 1,41 ^{ab} A	34,5 \pm 1,85 ^{ab} A	36,5 \pm 1,32 ^a A	37,75 \pm 1,65 ^{ab} A	36 \pm 0,58 ^b A

Tableau 26 : Poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	427,1 \pm 30,06 ^a A	427,1 \pm 30,06 ^a A	427,1 \pm 30,06 ^a A	427,1 \pm 30,06 ^a A	-	-	-	-
1	408,5 \pm 25,76 ^a A	403,6 \pm 33,06 ^a A	400 \pm 39,94 ^a A	401,8 \pm 6,75 ^a A	-	-	-	-
7	392,1 \pm 36,86 ^a A	401,9 \pm 17,16 ^a A	385,5 \pm 39,6 ^a A	393,2 \pm 45,65 ^a A	572,1 \pm 9,60 ^a A	580,8 \pm 10,22 ^a A	599,8 \pm 5,44 ^a A	587,8 \pm 5,26 ^a A
14	379,6 \pm 35,62 ^a A	386 \pm 22,04 ^a A	378,1 \pm 26,98 ^a A	379,3 \pm 45,44 ^a A	585,4 \pm 12,11 ^a A	591,5 \pm 10,70 ^a A	607,9 \pm 8,05 ^a A	616 \pm 10,15 ^a A
21	405,7 \pm 7,78 ^a A	397,7 \pm 31,51 ^a A	414,5 \pm 19,98 ^a A	387,1 \pm 21,88 ^a A	581,2 \pm 7,77 ^a A	601,2 \pm 6,24 ^a A	610,3 \pm 6,55 ^a A	611,2 \pm 5,02 ^a A
28	405,2 \pm 29,65 ^a A	393,6 \pm 10,77 ^a A	392,9 \pm 9,96 ^a A	385,3 \pm 9,10 ^a A	591,7 \pm 12,01 ^a A	606,7 \pm 6,47 ^a A	612,9 \pm 6,28 ^a A	605,6 \pm 4,19 ^a A



Tableau 27 : Taille totale (mm) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reprod durant les phases de traitement et de dépuraton (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuraton			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	42 \pm 1,08 ^a A	42 \pm 1,08 ^a A	42 \pm 1,08 ^a A	42 \pm 1,08 ^a A	-	-	-	-
1	31,5 \pm 0,29 ^b A	32,5 \pm 1,26 ^b A	31,75 \pm 1,18 ^b A	34,5 \pm 0,87 ^b A	-	-	-	-
7	35,75 \pm 1,25 ^c A	36,25 \pm 0,48 ^b A	34,25 \pm 0,48 ^b A	34,25 \pm 0,48 ^b A	40,25 \pm 1,25 ^a A	39 \pm 1,23 ^a A	41,25 \pm 0,48 ^a A	41,5 \pm 1,50 ^a A
14	38,75 \pm 1,03 ^{ac} A	36 \pm 1,08 ^b A	36,25 \pm 0,48 ^{cb} A	35,5 \pm 0,29 ^b A	37,75 \pm 0,85 ^a A	38 \pm 0,71 ^a A	38 \pm 0,71 ^{ab} A	36,25 \pm 0,48 ^b A
21	39 \pm 0,58 ^{ac} A	36,25 \pm 0,48 ^b A	38 \pm 0,82 ^{cb} A	39 \pm 1,29 ^{bc} A	31,75 \pm 0,63 ^b A	32 \pm 0,82 ^b A	34,75 \pm 1,70 ^b A	35,5 \pm 0,65 ^b A
28	42 \pm 1,23 ^a A	40,5 \pm 0,65 ^a A	43,5 \pm 0,96 ^d A	43,25 \pm 1,32 ^d A	34,5 \pm 1,85 ^{ba} A	36,5 \pm 1,32 ^a A	37,75 \pm 1,65 ^{ab} A	36 \pm 0,58 ^b A

Tableau 28 : Poids total (mg) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reprod durant les phases de traitement et de dépuraton (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuraton			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	388,2 \pm 0,47 ^a A	388,2 \pm 0,47 ^a A	388,2 \pm 0,47 ^a A	388,2 \pm 0,47 ^a A	-	-	-	-
1	389,5 \pm 0,26 ^a A	389,1 \pm 0,21 ^a A	388,2 \pm 0,88 ^a A	387,9 \pm 0,42 ^a A	-	-	-	-
7	388,4 \pm 0,33 ^a A	388,8 \pm 0,32 ^a A	388 \pm 0,41 ^a A	389 \pm 0,69 ^a A	385,1 \pm 0,41 ^a A	385,8 \pm 0,11 ^a A	386,1 \pm 0,26 ^a A	385 \pm 0,21 ^a A
14	388,7 \pm 0,27 ^a A	387,9 \pm 0,39 ^a A	387,9 \pm 0,51 ^a A	388,5 \pm 0,37 ^a A	385,3 \pm 0,23 ^a A	385 \pm 0,19 ^a A	385,6 \pm 0,23 ^a A	385,5 \pm 0,29 ^a A
21	389 \pm 0,26 ^a A	388,3 \pm 0,50 ^a A	387,6 \pm 0,87 ^a A	388,1 \pm 0,42 ^a A	385,5 \pm 0,29 ^a A	385,7 \pm 0,17 ^a A	386 \pm 0,21 ^a A	385,5 \pm 0,29 ^a A
28	388,1 \pm 0,14 ^a A	388,8 \pm 0,14 ^a A	387,9 \pm 0,13 ^a A	387,7 \pm 0,25 ^a A	385,8 \pm 0,23 ^a A	385,6 \pm 0,23 ^a A	385,7 \pm 0,18 ^a A	385,5 \pm 0,29 ^a A



Tableau 29 : Rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	19,97 \pm 1,73a A	19,97 \pm 1,73a A	19,97 \pm 1,73a A	19,97 \pm 1,73a A	-	-	-	-
1	17,92 \pm 1,40a A	18,39 \pm 2,08a A	20,42 \pm 3,37a A	21,7 \pm 2,68a A	-	-	-	-
7	20,26 \pm 3,46a A	22,5 \pm 2,84a A	25,42 \pm 3,46a A	21,09 \pm 3,29a A	22,68 \pm 0,95a A	24,01 \pm 1,58a A	21,63 \pm 0,78a A	25,86 \pm 0,86a A
14	19,18 \pm 0,92a A	23,5 \pm 2,68a A	23,87 \pm 3,75a A	23,87 \pm 0,84a A	23,11 \pm 0,58a A	23,38 \pm 0,92a A	24,12 \pm 1,55a A	23,4 \pm 1,18a A
21	26,93 \pm 4,48a A	29,14 \pm 4,31a A	27,09 \pm 0,40a A	29,63 \pm 1,39a A	26,13 \pm 1,14a A	24,98 \pm 1,66a A	23,03 \pm 1,75a A	26,37 \pm 0,77a A
28	23,59 \pm 3,69a A	24,19 \pm 2,51a A	25,56 \pm 0,63a A	29,86 \pm 1,64a A	26,3 \pm 1,39a A	23,12 \pm 1,28a A	22,29 \pm 0,81a A	23,66 \pm 1,31a A

Tableau 30 : Rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	0,13 \pm 0,034a A	0,13 \pm 0,034a A	0,13 \pm 0,034a A	0,13 \pm 0,034a A	-	-	-	-
1	0,14 \pm 0,017a A	0,16 \pm 0,023a A	0,15 \pm 0,029a A	0,11 \pm 0,013a A	-	-	-	-
7	0,15 \pm 0,035a A	0,12 \pm 0,017a A	0,16 \pm 0,039a A	0,12 \pm 0,032a A	0,31 \pm 0,003a A	0,30 \pm 0,002a A	0,31 \pm 0,005a A	0,31 \pm 0,003a A
14	0,15 \pm 0,021a A	0,17 \pm 0,030a A	0,13 \pm 0,026a A	0,12 \pm 0,006a A	0,32 \pm 0,005a A	0,32 \pm 0,002a A	0,31 \pm 0,002a A	0,31 \pm 0,012a A
21	0,12 \pm 0,017a A	0,11 \pm 0,043a A	0,14 \pm 0,034a A	0,09 \pm 0,017a A	0,31 \pm 0,001a A	0,32 \pm 0,003a A	0,32 \pm 0,002a A	0,31 \pm 0,005a A
28	0,14 \pm 0,038a A	0,13 \pm 0,028a A	0,14 \pm 0,014a A	0,07 \pm 0,025a A	0,32 \pm 0,001a A	0,31 \pm 0,003a A	0,32 \pm 0,008a A	0,31 \pm 0,004a A



Tableau 31 : Indice de condition (K) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	1,13 \pm 0,05 ^a A	1,13 \pm 0,05 ^a A	1,13 \pm 0,05 ^a A	1,13 \pm 0,05 ^a A	-	-	-	-
1	0,95 \pm 0,03 ^a A	1,01 \pm 0,07 ^a A	1,08 \pm 0,07 ^a A	1,00 \pm 0,07 ^{ab} A	-	-	-	-
7	1,17 \pm 0,06 ^a A	1,06 \pm 0,05 ^a A	1,07 \pm 0,04 ^a A	0,95 \pm 0,06 ^{ab} A	0,85 \pm 0,05 ^a A	1,01 \pm 0,03 ^a B	0,91 \pm 0,03 ^a AB	0,89 \pm 0,04 ^a AB
14	1,09 \pm 0,07 ^a A	1,12 \pm 0,08 ^a A	1,07 \pm 0,06 ^a A	1,19 \pm 0,04 ^a A	0,87 \pm 0,05 ^a A	0,98 \pm 0,03 ^a A	0,86 \pm 0,01 ^a A	0,87 \pm 0,05 ^a A
21	1,19 \pm 0,02 ^a A	1,03 \pm 0,06 ^a AB	1,09 \pm 0,12 ^a AB	0,86 \pm 0,02 ^b B	0,89 \pm 0,05 ^a A	0,89 \pm 0,01 ^a A	0,89 \pm 0,02 ^a A	0,92 \pm 0,03 ^a A
28	1,17 \pm 0,11 ^a A	0,95 \pm 0,08 ^a AB	1,05 \pm 0,02 ^a AB	0,89 \pm 0,06 ^{ab} B	0,97 \pm 0,01 ^a A	0,94 \pm 0,06 ^a A	0,94 \pm 0,01 ^a A	0,90 \pm 0,04 ^a A

Tableau 32 : Rapport gonado-somatique (RGS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reprod durant les phases de traitement et de déuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de déuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	2,71 \pm 0,02 ^a A	2,71 \pm 0,02 ^a A	2,71 \pm 0,02 ^a A	2,71 \pm 0,02 ^a A	-	-	-	-
1	2,92 \pm 0,06 ^b A	2,88 \pm 0,07 ^a A	2,93 \pm 0,02 ^b A	2,94 \pm 0,04 ^b A	-	-	-	-
7	2,12 \pm 0,04 ^c A	2,22 \pm 0,02 ^b A	2,08 \pm 0,05 ^c A	2,22 \pm 0,02 ^c A	1,71 \pm 0,01 ^a A	1,79 \pm 0,03 ^a A	1,82 \pm 0,01 ^a A	1,77 \pm 0,03 ^a A
14	1,78 \pm 0,06 ^d A	1,82 \pm 0,03 ^c A	1,75 \pm 0,06 ^d A	1,90 \pm 0,02 ^d A	1,69 \pm 0,01 ^a A	1,77 \pm 0,04 ^a A	1,71 \pm 0,04 ^a A	1,78 \pm 0,01 ^a A
21	1,42 \pm 0,03 ^e A	1,37 \pm 0,01 ^d A	1,47 \pm 0,04 ^e A	1,40 \pm 0,01 ^e A	1,73 \pm 0,02 ^a A	1,77 \pm 0,05 ^a A	1,70 \pm 0,01 ^a A	1,76 \pm 0,07 ^a A
28	1,12 \pm 0,03 ^f A	1,05 \pm 0,05 ^e A	1,05 \pm 0,02 ^f A	1,07 \pm 0,06 ^f A	1,78 \pm 0,03 ^a A	1,81 \pm 0,05 ^a A	1,70 \pm 0,02 ^a A	1,77 \pm 0,01 ^a A



Tableau 33 : Rapport hépato-somatique (RHS) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	0,32 \pm 0,007a A	0,32 \pm 0,007a A	0,32 \pm 0,007a A	0,32 \pm 0,007a A	-	-	-	-
1	0,20 \pm 0,004b A	0,20 \pm 0,003b A	0,19 \pm 0,003b A	0,20 \pm 0,008b A	-	-	-	-
7	0,18 \pm 0,002c A	0,17 \pm 0,005c A	0,16 \pm 0,006c A	0,17 \pm 0,003c A	0,30 \pm 0,017a A	0,34 \pm 0,025a A	0,36 \pm 0,012a A	0,29 \pm 0,024a A
14	0,12 \pm 0,002d A	0,12 \pm 0,001d A	0,13 \pm 0,002d A	0,13 \pm 0,003d A	0,32 \pm 0,028a A	0,31 \pm 0,017a A	0,34 \pm 0,012a A	0,33 \pm 0,011a A
21	0,11 \pm 0,003d A	0,12 \pm 0,003d A	0,12 \pm 0,002d A	0,11 \pm 0,003e A	0,33 \pm 0,016a A	0,35 \pm 0,017a A	0,35 \pm 0,015a A	0,32 \pm 0,006a A
28	0,14 \pm 0,002e A	0,13 \pm 0,002d A	0,13 \pm 0,002d A	0,13 \pm 0,002d A	0,32 \pm 0,022a A	0,32 \pm 0,012a A	0,34 \pm 0,011a A	0,32 \pm 0,009a A

Tableau 34 : Indice de condition (K) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	0,94 \pm 0,04a A	0,94 \pm 0,04a A	0,94 \pm 0,04a A	0,94 \pm 0,04a A	-	-	-	-
1	0,99 \pm 0,02ab A	0,91 \pm 0,04a A	0,96 \pm 0,02a A	0,93 \pm 0,04a A	-	-	-	-
7	1,13 \pm 0,02b A	1,15 \pm 0,03b A	1,20 \pm 0,05b A	1,14 \pm 0,02b A	0,74 \pm 0,05a A	0,68 \pm 0,04a A	0,82 \pm 0,06a A	0,85 \pm 0,03a A
14	0,97 \pm 0,02ab A	1,00 \pm 0,03ab A	0,99 \pm 0,05ab A	1,01 \pm 0,05ab A	0,71 \pm 0,05a A	0,73 \pm 0,04a A	0,75 \pm 0,06a A	0,82 \pm 0,03a A
21	0,97 \pm 0,05a A	0,98 \pm 0,02ab A	0,97 \pm 0,04ab A	0,92 \pm 0,03a A	0,88 \pm 0,04a A	0,76 \pm 0,06a A	0,73 \pm 0,06a A	0,85 \pm 0,05a A
28	1,11 \pm 0,04b A	1,09 \pm 0,05b A	1,04 \pm 0,04ab A	0,98 \pm 0,04a A	0,83 \pm 0,06a A	0,83 \pm 0,04a A	0,83 \pm 0,06a A	0,82 \pm 0,02a A



Tableau 35 : Activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	13,82 \pm 0,40a A	13,82 \pm 0,40a A	13,82 \pm 0,40a A	13,82 \pm 0,40a A	-	-	-	-
1	13,73 \pm 0,08a A	12,30 \pm 0,44b B	11,58 \pm 0,50b BC	10,92 \pm 0,33b C	-	-	-	-
7	12,90 \pm 0,47ab A	9,96 \pm 0,30c B	10,11 \pm 0,08c B	10,17 \pm 0,07b B	1,17 \pm 0,01a A	1,17 \pm 0,01a A	1,17 \pm 0,01a A	1,17 \pm 0,01a A
14	11,85 \pm 0,34b A	10,00 \pm 0,13c B	9,85 \pm 0,16cd B	9,51 \pm 0,14bc B	1,28 \pm 0,05a A	1,69 \pm 0,08b B	1,96 \pm 0,05b BD	2,22 \pm 0,03b D
21	10,84 \pm 0,32b A	9,45 \pm 0,37c B	8,49 \pm 0,43d B	8,33 \pm 0,44c B	2,71 \pm 0,10b A	3,13 \pm 0,07c B	3,88 \pm 0,26c C	6,60 \pm 0,17c D
28	10,82 \pm 0,31b A	7,83 \pm 0,41d B	6,17 \pm 0,38e C	6,15 \pm 0,44d C	7,64 \pm 0,08c A	8,99 \pm 0,11d B	10,10 \pm 0,03d C	11,20 \pm 0,10d D

Tableau 36 : Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuration (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuration			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	0,05 \pm 0,003a A	0,05 \pm 0,003a A	0,05 \pm 0,003a A	0,05 \pm 0,003a A	-	-	-	-
1	0,04 \pm 0,005a A	0,04 \pm 0,004a A	0,04 \pm 0,004a A	0,05 \pm 0,001a A	-	-	-	-
7	0,04 \pm 0,005a A	0,04 \pm 0,003a A	0,04 \pm 0,001a A	0,04 \pm 0,006a A	0,40 \pm 0,027a A	0,31 \pm 0,017a B	0,26 \pm 0,005a C	0,25 \pm 0,002a C
14	0,04 \pm 0,006a A	0,21 \pm 0,028b B	0,23 \pm 0,023b B	0,24 \pm 0,009b B	0,23 \pm 0,005b A	0,17 \pm 0,011b B	0,13 \pm 0,002b C	0,12 \pm 0,002b C
21	0,04 \pm 0,005a A	0,25 \pm 0,015bc B	0,36 \pm 0,029c C	0,37 \pm 0,034c C	0,11 \pm 0,00c A	0,08 \pm 0,004c AB	0,06 \pm 0,002c B	0,05 \pm 0,002c B
28	0,04 \pm 0,003a A	0,27 \pm 0,024c B	0,37 \pm 0,035c C	0,44 \pm 0,017d D	0,04 \pm 0,001d A	0,04 \pm 0,001d A	0,03 \pm 0,002d A	0,02 \pm 0,002d A



Tableau 37 : Taux des protéines carbonylées (PCo) des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	51,20 \pm 0,47a A	51,20 \pm 0,47a A	51,20 \pm 0,47a A	51,20 \pm 0,47a A	-	-	-	-
1	54,60 \pm 1,59a A	52,52 \pm 2,94a A	54,50 \pm 2,01a A	57,95 \pm 1,75a A	-	-	-	-
7	56,20 \pm 1,17ab A	54,30 \pm 3,66a A	55,00 \pm 1,18a A	66,89 \pm 2,56b B	9,99 \pm 0,33a A	23,36 \pm 0,91a A	26,84 \pm 0,32a A	29,82 \pm 0,79a B
14	58,55 \pm 3,71ab A	67,89 \pm 1,36b B	73,90 \pm 0,84b B	73,60 \pm 1,12bc B	7,46 \pm 0,29b A	15,11 \pm 0,27a B	17,93 \pm 0,53b C	22,25 \pm 0,30b D
21	59,13 \pm 1,22ab A	69,50 \pm 0,85b B	74,93 \pm 1,26b B	75,86 \pm 0,63c B	5,87 \pm 0,37b A	12,91 \pm 0,54b B	13,02 \pm 0,36c B	13,97 \pm 0,32c B
28	63,78 \pm 4,82b A	72,14 \pm 1,10b B	78,27 \pm 0,44b B	78,81 \pm 1,29c B	3,96 \pm 0,32c A	11,00 \pm 0,26c B	11,11 \pm 0,37d B	12,48 \pm 0,32c B

Tableau 38 : Taux des vitellines ovariennes des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	0,61 \pm 0,04a A	0,61 \pm 0,04a A	0,61 \pm 0,04a A	0,61 \pm 0,04a A
1	0,61 \pm 0,04a A	0,58 \pm 0,03a A	0,56 \pm 0,03a A	0,51 \pm 0,04a A
7	0,58 \pm 0,01a A	0,55 \pm 0,03a A	0,50 \pm 0,04ab A	0,49 \pm 0,04a A
14	0,40 \pm 0,02b A	0,40 \pm 0,02b A	0,38 \pm 0,04b A	0,33 \pm 0,01b A
21	0,36 \pm 0,03b A	0,32 \pm 0,04bc A	0,32 \pm 0,05bc A	0,28 \pm 0,01b A
28	0,31 \pm 0,04b A	0,24 \pm 0,03c AB	0,22 \pm 0,04c AB	0,13 \pm 0,03c B



Tableau 39 : Activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	19,24 \pm 0,23a A	19,24 \pm 0,23a A	19,24 \pm 0,23a A	19,24 \pm 0,23a A	-	-	-	-
1	18,29 \pm 0,28a A	14,42 \pm 0,15b B	13,28 \pm 0,41b C	11,71 \pm 0,14b D	-	-	-	-
7	18,25 \pm 0,59a A	10,43 \pm 0,03c B	9,96 \pm 0,13c B	8,78 \pm 0,14c C	17,91 \pm 0,55a A	6,73 \pm 0,27a B	7,50 \pm 0,20a B	7,97 \pm 0,38a B
14	18,72 \pm 0,42a A	7,63 \pm 0,07d B	7,26 \pm 0,05d B	6,90 \pm 0,13d B	16,59 \pm 0,23a A	8,64 \pm 0,08b B	9,41 \pm 0,18b B	9,50 \pm 0,24b B
21	19,35 \pm 0,36a A	5,87 \pm 0,11e B	5,40 \pm 0,04e B	4,85 \pm 0,10e B	17,36 \pm 0,62a A	11,34 \pm 0,18c B	12,76 \pm 0,29c BC	14,04 \pm 0,26c C
28	18,56 \pm 0,57a A	4,04 \pm 0,12f B	3,79 \pm 0,03f B	3,23 \pm 0,15f B	17,16 \pm 0,61a A	15,62 \pm 0,17d B	16,80 \pm 0,19d AB	19,60 \pm 0,83d B

Tableau 40 : Activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	2,28 \pm 0,024a A	2,28 \pm 0,024a A	2,28 \pm 0,024a A	2,28 \pm 0,024a A	-	-	-	-
1	1,30 \pm 0,044a A	2,50 \pm 0,027a A	2,53 \pm 0,074ab A	3,14 \pm 0,099a A	-	-	-	-
7	1,82 \pm 0,072a A	3,42 \pm 0,043a A	3,46 \pm 0,098ab A	3,90 \pm 0,085a A	1,00 \pm 0,001a A	5,04 \pm 0,002a B	10,10 \pm 0,208a C	20,08 \pm 0,006a D
14	2,61 \pm 0,059a A	4,50 \pm 0,029a AB	5,06 \pm 0,096b B	11,97 \pm 0,099b C	1,00 \pm 0,001a A	4,03 \pm 0,003b B	9,07 \pm 0,210b C	11,16 \pm 0,009b D
21	1,56 \pm 0,040a A	4,97 \pm 0,095ab B	7,99 \pm 0,080c C	25,98 \pm 0,239c D	1,01 \pm 0,002a A	3,02 \pm 0,001c B	4,11 \pm 0,171c C	6,12 \pm 0,002c D
28	1,84 \pm 0,031a A	6,43 \pm 0,065b B	22,30 \pm 0,189d C	27,72 \pm 0,176d D	1,01 \pm 0,002a A	2,38 \pm 0,101d B	2,38 \pm 0,095d B	2,05 \pm 0,002d B



Tableau 41 : Taux des protéines carbonylées (PCo) des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant les phases de traitement et de dépuración (Moyenne \pm SEM, n=4 ; pour chaque temps d'exposition, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$). Les moyennes suivies d'une lettre minuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les temps ; Les moyennes suivies par la même lettre majuscule ne sont pas significativement différentes ($p>0,05$) entre les traitements.

	Phase de traitement				Phase de dépuración			
	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹	Témoins	TMX 10 mg.L ⁻¹	TMX 20 mg.L ⁻¹	TMX 40 mg.L ⁻¹
0	5,64 \pm 0,04 ^a A	5,64 \pm 0,04 ^a A	5,64 \pm 0,04 ^a A	5,64 \pm 0,04 ^a A	-	-	-	-
1	5,97 \pm 0,09 ^a A	18,54 \pm 0,23 ^b B	17,92 \pm 0,16 ^b C	19,39 \pm 0,29 ^b D	-	-	-	-
7	5,08 \pm 0,12 ^{ac} A	20,38 \pm 0,21 ^c B	21,66 \pm 0,12 ^c C	20,38 \pm 0,21 ^c D	4,83 \pm 0,13 ^a A	22,69 \pm 0,17 ^a B	23,98 \pm 0,19 ^a C	32,96 \pm 0,22 ^a D
14	3,96 \pm 0,08 ^b A	21,15 \pm 0,03 ^d B	22,97 \pm 0,06 ^d C	30,27 \pm 0,29 ^d D	4,19 \pm 0,13 ^b A	20,41 \pm 0,18 ^b B	20,85 \pm 0,17 ^b B	28,22 \pm 0,21 ^b C
21	4,98 \pm 0,08 ^c A	22,74 \pm 0,09 ^e B	23,80 \pm 0,25 ^e C	32,50 \pm 0,19 ^e D	5,18 \pm 0,12 ^a A	14,09 \pm 0,26 ^c B	17,12 \pm 0,10 ^c C	21,03 \pm 0,10 ^c D
28	5,54 \pm 0,09 ^{ac} A	23,36 \pm 0,10 ^e B	25,21 \pm 0,26 ^f C	35,04 \pm 0,08 ^f D	4,77 \pm 0,14 ^{ab} A	13,83 \pm 0,08 ^c B	15,12 \pm 0,10 ^d C	19,02 \pm 0,18 ^d D



ANNEXE 2 : Description des Données

Statistiques

Période de Reproduction

Tableau 1 : Description statistique des données de la taille totale des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	38,083	0,995	2,438	34,750	37,750	42,000
TMX 10 mg. L ⁻¹	38,958	0,820	2,009	37,000	38,750	42,500
TMX 20 mg. L ⁻¹	39,167	0,615	1,506	37,500	39,125	40,750
TMX 40 mg. L ⁻¹	38,21	1,09	2,68	33,75	38,38	42,00

Tableau 2 : Description statistique des données de la taille totale des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	35,750	0,924	1,848	34,000	35,500	38,000
TMX 10 mg. L ⁻¹	36,438	0,724	1,449	34,500	36,625	38,000
TMX 20 mg. L ⁻¹	38,688	0,959	1,919	37,250	38,000	41,500
TMX 40 mg. L ⁻¹	37,13	1,46	2,93	35,50	35,75	41,50

Tableau 3 : Description statistique des données du poids total des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	403,02	6,55	16,05	379,60	405,43	427,10
TMX 10 mg. L ⁻¹	401,65	5,71	13,98	386,03	399,80	427,10
TMX 20 mg. L ⁻¹	399,66	7,49	18,36	378,10	396,41	427,10
TMX 40 mg. L ⁻¹	395,63	7,03	17,21	379,30	390,15	427,10

Tableau 4 : Description statistique des données du poids total des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	582,60	4,11	8,22	572,10	583,30	591,70
TMX 10 mg. L ⁻¹	595,05	5,70	11,39	580,80	596,35	606,70
TMX 20 mg. L ⁻¹	607,72	2,83	5,66	599,80	609,10	612,90
TMX 40 mg. L ⁻¹	605,15	6,16	12,32	587,80	608,40	616,00

Tableau 5 : Description statistique des données du RGS des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	21,31	1,36	3,34	17,92	20,12	26,93
TMX 10 mg. L ⁻¹	22,95	1,53	3,74	18,39	23,00	29,14
TMX 20 mg. L ⁻¹	23,72	1,19	2,92	19,97	24,64	27,09
TMX 40 mg. L ⁻¹	24,36	1,78	4,37	19,97	22,79	29,86



Tableau 6 : Description statistique des données du RGS des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuraton.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	24,555	0,963	1,926	22,680	24,620	26,300
TMX 10 mg. L ⁻¹	23,873	0,414	0,828	23,120	23,695	24,980
TMX 20 mg. L ⁻¹	22,767	0,534	1,068	21,630	22,660	24,120
TMX 40 mg. L ⁻¹	24,822	0,755	1,511	23,400	24,760	26,370

Tableau 7 : Description statistique des données du RHS des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,13874	0,00570	0,01397	0,11828	0,13961	0,15455
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,13685	0,00959	0,02350	0,10747	0,13051	0,16527
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,14014	0,00525	0,01285	0,12530	0,13916	0,15778
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,10485	0,00919	0,02252	0,06632	0,11226	0,12807

Tableau 8 : Description statistique des données du RHS des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuraton.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,31827	0,00261	0,00522	0,31300	0,31805	0,32400
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,31260	0,00353	0,00706	0,30280	0,31415	0,31930
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,31483	0,00215	0,00430	0,30950	0,31490	0,32000
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,30990	0,00105	0,00210	0,30800	0,30940	0,31280

Tableau 9 : Description statistique des données de K des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	1,1191	0,0369	0,0904	0,9506	1,1525	1,1935
TMX 10 mg. L ⁻¹	1,0486	0,0282	0,0691	0,9462	1,0430	1,1319
TMX 20 mg. L ⁻¹	1,0813	0,0111	0,0272	1,0531	1,0750	1,1319
TMX 40 mg. L ⁻¹	1,0036	0,0536	0,1313	0,8586	0,9747	1,1880

Tableau 10 : Description statistique des données de K des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuraton.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,8961	0,0258	0,0515	0,8546	0,8801	0,9695
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,9517	0,0261	0,0523	0,8877	0,9550	1,0090
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,8997	0,0153	0,0306	0,8646	0,8982	0,9380
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,8977	0,0106	0,0213	0,8719	0,8977	0,9236



Tableau 10 : Description statistique des données de l'ACHé des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	12,325	0,554	1,357	10,819	12,373	13,819
TMX 10 mg. L ⁻¹	10,558	0,876	2,145	7,829	9,978	13,819
TMX 20 mg. L ⁻¹	10,00	1,07	2,61	6,17	9,98	13,82
TMX 40 mg. L ⁻¹	9,81	1,05	2,58	6,14	9,83	13,82

Tableau 11 : Description statistique des données de l'ACHé des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	3,20	1,52	3,04	1,17	2,00	7,64
TMX 10 mg. L ⁻¹	3,74	1,80	3,59	1,17	2,41	8,99
TMX 20 mg. L ⁻¹	4,28	2,02	4,05	1,17	2,92	10,10
TMX 40 mg. L ⁻¹	5,30	2,29	4,59	1,17	4,41	11,20

Tableau 12 : Description statistique des données de la GST des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,04011	0,00258	0,00631	0,03620	0,03834	0,05280
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,1437	0,0461	0,1130	0,0360	0,1292	0,2747
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,1831	0,0652	0,1597	0,0394	0,1419	0,3698
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,1975	0,0732	0,1792	0,0374	0,1458	0,4419

Tableau 13 : Description statistique des données de la GST des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,1936	0,0794	0,1587	0,0396	0,1669	0,4008
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,1488	0,0603	0,1205	0,0357	0,1256	0,3083
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,1213	0,0517	0,1034	0,0276	0,0980	0,2615
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,1100	0,0512	0,1023	0,0200	0,0850	0,2500

Tableau 14 : Description statistique des données des PCo des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	57,24	1,76	4,30	51,20	57,38	63,78
TMX 10 mg. L ⁻¹	61,26	3,90	9,55	51,20	61,09	72,14
TMX 20 mg. L ⁻¹	64,63	5,01	12,28	51,20	64,45	78,27
TMX 40 mg. L ⁻¹	67,39	4,44	10,88	51,20	70,25	78,81



Tableau 15 : Description statistique des données des P_{Co} des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	6,82	1,27	2,55	3,96	6,66	9,98
TMX 10 mg. L ⁻¹	15,59	2,72	5,44	11,00	14,01	23,36
TMX 20 mg. L ⁻¹	17,22	3,51	7,02	11,11	15,48	26,84
TMX 40 mg. L ⁻¹	19,63	4,02	8,04	12,48	18,11	29,82

Tableau 16 : Description statistique des données des taux de vitelline des femelles adultes de *G. affinis* en période de reproduction durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,4777	0,0555	0,1360	0,3090	0,4898	0,6091
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,4514	0,0616	0,1509	0,2445	0,4751	0,6091
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,4318	0,0610	0,1495	0,2246	0,4389	0,6091
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,3930	0,0719	0,1761	0,1314	0,4099	0,6091



ANNEXE 2 : Description des Données Statistiques

Période de Repos

Tableau 17 : Description statistique des données de la taille totale des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	38,17	1,64	4,02	31,50	38,88	42,00
TMX 10 mg. L ⁻¹	37,25	1,41	3,44	32,50	36,25	42,00
TMX 20 mg. L ⁻¹	37,63	1,84	4,51	31,75	37,13	43,50
TMX 40 mg. L ⁻¹	38,08	1,60	3,93	34,25	37,25	43,25

Tableau 18 : Description statistique des données de la taille totale des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	36,06	1,86	3,72	31,75	36,13	40,25
TMX 10 mg. L ⁻¹	36,38	1,55	3,09	32,00	37,25	39,00
TMX 20 mg. L ⁻¹	37,94	1,33	2,66	34,75	37,88	41,25
TMX 40 mg. L ⁻¹	37,31	1,40	2,81	35,50	36,13	41,50

Tableau 19 : Description statistique des données du poids total des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	388,65	0,217	0,532	388,10	388,55	389,50
TMX 10 mg. L ⁻¹	388,52	0,185	0,454	387,90	388,55	389,10
TMX 20 mg. L ⁻¹	387,97	0,0919	0,225	387,60	387,95	388,20
TMX 40 mg. L ⁻¹	388,23	0,189	0,463	387,70	388,15	389,00

Tableau 20 : Description statistique des données du poids total des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	385,43	0,149	0,299	385,10	385,40	385,80
TMX 10 mg. L ⁻¹	385,52	0,180	0,359	385,00	385,65	385,80
TMX 20 mg. L ⁻¹	385,85	0,119	0,238	385,60	385,85	386,10
TMX 40 mg. L ⁻¹	385,38	0,125	0,250	385,00	385,50	385,50

Tableau 21 : Description statistique des données du RGS des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	2,012	0,290	0,710	1,123	1,949	2,920
TMX 10 mg. L ⁻¹	2,007	0,298	0,730	1,045	2,018	2,878
TMX 20 mg. L ⁻¹	1,999	0,295	0,723	1,053	1,914	2,928
TMX 40 mg. L ⁻¹	2,039	0,299	0,731	1,068	2,061	2,938



Tableau 22 : Description statistique des données du RGS des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,1786	0,0322	0,0789	0,1050	0,1596	0,3220
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,1762	0,0319	0,0782	0,1153	0,1479	0,3220
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,1766	0,0310	0,0758	0,1195	0,1488	0,3220
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,1771	0,0318	0,0780	0,1105	0,1501	0,3220

Tableau 23 : Description statistique des données du RHS des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,31437	0,00524	0,01048	0,30000	0,31625	0,32500
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,32750	0,00968	0,01936	0,30500	0,32750	0,35000
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,34625	0,00525	0,01051	0,33500	0,34625	0,35750
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,31750	0,00866	0,01732	0,29250	0,32250	0,33250

Tableau 24 : Description statistique des données du RHS des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	1,0161	0,0322	0,0788	0,9370	0,9820	1,1250
TMX 10 mg. L ⁻¹	1,0116	0,0367	0,0900	0,9142	0,9907	1,1450
TMX 20 mg. L ⁻¹	1,0160	0,0388	0,0951	0,9370	0,9824	1,1960
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,9852	0,0343	0,0840	0,9186	0,9569	1,1420

Tableau 25 : Description statistique des données de K des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	0,7881	0,0402	0,0805	0,7050	0,7850	0,8775
TMX 10 mg. L ⁻¹	0,7494	0,0305	0,0610	0,6825	0,7438	0,8275
TMX 20 mg. L ⁻¹	0,7831	0,0261	0,0522	0,7275	0,7863	0,8325
TMX 40 mg. L ⁻¹	0,8325	0,0101	0,0202	0,8150	0,8325	0,8500

Tableau 26 : Description statistique des données de K des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	1,7237	0,0185	0,0371	1,6900	1,7150	1,7750
TMX 10 mg. L ⁻¹	1,7857	0,0102	0,0205	1,7700	1,7800	1,8130
TMX 20 mg. L ⁻¹	1,7315	0,0290	0,0580	1,6950	1,7065	1,8180
TMX 40 mg. L ⁻¹	1,7697	0,00582	0,0116	1,7550	1,7705	1,7830



Tableau 27 : Description statistique des données de l'ACHé des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	18,735	0,191	0,468	18,250	18,640	19,350
TMX 10 mg. L ⁻¹	10,35	2,39	5,86	4,04	9,03	19,71
TMX 20 mg. L ⁻¹	9,90	2,40	5,87	3,79	8,61	19,71
TMX 40 mg. L ⁻¹	9,20	2,43	5,95	3,23	7,84	19,71

Tableau 28 : Description statistique des données de l'ACHé des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	17,255	0,273	0,545	16,590	17,260	17,910
TMX 10 mg. L ⁻¹	10,58	1,93	3,85	6,73	9,99	15,62
TMX 20 mg. L ⁻¹	11,62	2,04	4,08	7,50	11,09	16,80
TMX 40 mg. L ⁻¹	12,78	2,61	5,23	7,97	11,77	19,60

Tableau 29 : Description statistique des données de la GST des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	1,901	0,195	0,479	1,300	1,828	2,613
TMX 10 mg. L ⁻¹	4,015	0,649	1,589	2,283	3,957	6,430
TMX 20 mg. L ⁻¹	7,27	3,13	7,66	2,28	4,26	22,30
TMX 40 mg. L ⁻¹	12,50	4,76	11,66	2,28	7,93	27,72

Tableau 30 : Description statistique des données de la GST des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	1,0065	0,00176	0,00351	1,0030	1,0065	1,0100
TMX 10 mg. L ⁻¹	3,616	0,583	1,166	2,375	3,526	5,035
TMX 20 mg. L ⁻¹	6,41	1,88	3,75	2,38	6,59	10,10
TMX 40 mg. L ⁻¹	9,85	3,88	7,77	2,05	8,64	20,08



Tableau 31 : Description statistique des données de la PCo des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de traitement.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	4,745	0,205	0,410	4,193	4,801	5,183
TMX 10 mg. L ⁻¹	17,75	2,24	4,48	13,83	17,25	22,69
TMX 20 mg. L ⁻¹	19,27	1,97	3,94	15,12	18,98	23,98
TMX 40 mg. L ⁻¹	25,31	3,23	6,45	19,02	24,63	32,96

Tableau 32 : Description statistique des données des PCo des femelles adultes de *G. affinis* en période de repos durant la phase de dépuración.

Variable	Moyenne	SEM	SD	Minimum	Médiane	Maximum
Témoins	5,193	0,289	0,708	3,958	5,306	5,970
TMX 10 mg. L ⁻¹	18,63	2,69	6,60	5,64	20,77	23,36
TMX 20 mg. L ⁻¹	19,53	2,96	7,24	5,64	22,31	25,21
TMX 40 mg. L ⁻¹	23,87	4,49	11,00	5,64	25,32	35,04



ANNEXE 3 : Valorisation Scientifique

Publications catégorie (B) (01) :

CHEGHIB, Y., CHOUAHDA, S., & SOLTANI, N., 2020. Side-effects of a neonicotinoid insecticide (actara®) on a non-target larvivorous fish *Gambusia affinis* : Growth and biomarker responses. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, **46 (2)** : 167-172. Doi: 10.1016/j.ejar.2019.12.007

Communication internationale (14)

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2020. Ffet d'un insecticide néonicotinoïde "thiaméthoxame" sur les indices métriques chez les femelles adultes de *Gambusia affinis* en période de reproduction. *Journnée d'étude zones humides & changements climatiques 1^{ère} édition*, Souk-Ahras (Algérie) 25 Février 2020 (communication affichée).

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2019. Environmental risk of a neonicotinoid insecticide: chronic growth toxicity in *Gambusia affinis*. *international biodiversity & ecology sciences symposium (BIOECO2019)*, Istanbul (Turkey) 26-28 Septembre 2019 (communication affichée).

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2018. Effet d'un insecticide néonicotinoïde sélectif sur la croissance, les indices métriques et le taux des vitellines d'une espèce non visée *Gambusia affinis*. *6ème Congrès Franco-Tunisien de Zoologie, 6ème Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et 119èmes Journées Annuelles de la SZF*, Paris (France) 21-23 Novembre 2018 (communication orale).

CHOUAHDA Salima, **CHEGHIB Yasmine**, BERGHICHE Hinda & SOLTANI Nouredine, 2018. Mesure de deux biomarqueurs de pollution chez les femelles de *Gambusia affinis* exposées au thiaméthoxame en période de reproduction. *6ème Congrès Franco-Tunisien de Zoologie, 6ème Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et 119^{èmes} Journées Annuelles de la SZF*, Paris (France) 21-23 Novembre 2018 (communication affichée).

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2018. Aspect toxicologique d'un Néonicotinoïde sur le taux des vitellines, l'activité enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) et l'Acétylcholinestérase (AChE) chez les femelles adultes de *Gambusia affinis*. *2^{ème} Colloque International Biosciences 2018 « Génie enzymatique et production de métabolites »*, Oran (Algérie) 28-29 Octobre 2018 (communication orale).

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2018. Evaluation de l'Effet Toxicologique d'un Insecticide Néonicotinoïde l'ACTARA sur la Reproduction des femelles adultes *Gambusia affinis* : Indices Métriques et Taux de Vitellines. *1^{er} colloque international « Bio-ressources Economie Bleue et Verte »*, Hammamet (Tunisie) 26-29 Avril 2018 (communication affichée).



- CHOUAHDA Salima, **CHEGHIB Yasmine** & SOLTANI Nouredine, 2017. Impact of a Neonicotinoid Insecticide Thiamethoxam on Metric Indexes and Enzymatic Activity of Glutathione S-Transferase in Adult Females of a Mosquitofish *Gambusia affinis*. *Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI)*, Sousse (Tunisie) 20-25 Novembre 2017 (communication affichée).
- CHEGHIB Yasmine**, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2017. Chronic Toxicity of Neonicotinoid « Thiamethoxam » in adult females of mosquitofish *Gambusia affinis* : Ovarian Vitelline, Metric Indices and Enzymatic Activity of Glutathione S-transferase. 3^{ème} *Colloque d'Ecophysiologie Animale*, Strasbourg (France) 06-08 Novembre 2017 (communication orale).
- CHEGHIB Yasmine**, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2017. Impact d'un insecticide Néonicotinoïde sur les Indices Métriques et l'Activité Enzymatique de la Glutathion S-transférase chez les adultes femelles *Gambusia affinis* en période de Repos et de Reproduction. 3^{ème} *Colloque International Francophone en Environnement et Santé*, Dunkerque (France) 23-25 Octobre 2017 (communication affichée).
- CHOUAHDA Salima, **CHEGHIB Yasmine** & SOLTANI Nouredine, 2017. Evaluation of a neonicotinoid insecticide against the mosquitofish *Gambusia affinis* : impact on metric indices and enzymatic activity of Glutathion S-transferase. *19th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region*. Rome (Italy), 04-06 October 2017 (communication affichée).
- CHEGHIB Yasmine**, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2017. Impact d'un Néonicotinoïde (Thiaméthoxame) sur les indices métriques et l'Activité Enzymatique de la Glutathion S-Transférase (GST) chez les femelles d'un poisson Culiçiphage *Gambusia affinis*. 28^{ème} *Congrès International de l'ATSB*, Yasmine – Hammamet (Tunisie), 21-24 Mars 2017 (communication affichée).
- RAMDANI Mohamed Said, **CHEGHIB Yasmine**, MAAMCHA-DAAS Ouided, Tarek DAAS & Scaps Patrick, 2016. Impact du Stress Environnemental sur la Biodiversité des Annélides Polychètes et sur la Reproduction de *Perinereis cultrifera* dans le Littoral EST d'Algérie. 10^{ème} *Congrès Maghrébin des Sciences de la Mer et du 5^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie*, Fès, (Maroc), 8 -10 décembre 2016 (Prix de la meilleure communication affichée).
- RAMDANI Mohamed Said, **CHEGHIB Yasmine** & MAAMCHA-DAAS Ouided, 2016. Effet de la pollution marine sur la reproduction des femelles de *Perinereis cultrifera* (Annelide, Polychete) dans le littoral EST d'Algérie. 6^{ème} *Congrès International de Biotechnologie et valorisation des Bio-Ressources*, Hammamet (Tunisie), 24-27 Mars 2016 (communication affichée).



CHEGHIB Yasmine, RAMDANI Mohamed Said & MAAMCHA- DAAS Ouided, 2016.
Impact du stress environnemental sur l'ovogenèse et la vitellogenèse de *Perinereis cultrifera* (Annélides, Polychète) dans le littoral EST d'Algérie. 6^{ème} colloque international sciences et environnement, Bizerte (Tunisie), 21-23 Mars 2016 (communication affichée).

Communications Nationales (01)

CHEGHIB Yasmine, CHOUAHDA Salima & SOLTANI Nouredine, 2018. Réponses de deux biomarqueurs chez les femelles adultes de *Gambusia affinis* : exposition chronique a un insecticide Néonicotinoïde ACTARA. *Séminaire National Biologie Environnement et Santé SNBES 2018*, Skikda (Algérie), 08-09 Octobre 2018 (communication orale).

Tâches pédagogiques

Chargée travaux Pratiques :

- **Les Méthodes d'Etude des Hormones** Master 2 Biologie du Développement.
- **Analyses Statistiques** Minitab 16 et Prisme, Master 2 Biologie Du Développement.
- **Embryologie** licence Biologie Animale.

Travaux Dirigés :

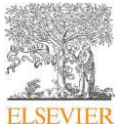
- **Zoologie** 2^{ème} Année Biologie Tronc Commun.

Assistante encadrement Master 2 :

- Ecotoxicologie Animale.
- Biologie du développement.



HOSTED BY



Contents lists available at ScienceDirect

Egyptian Journal of Aquatic Research

journal homepage: www.sciencedirect.com/locate/ejar

Side-effects of a neonicotinoid insecticide (actara®) on a non-target larvivorous fish *Gambusia affinis*: Growth and biomarker responses

Yasmine Cheghib, Salima Chouahda [†], Nouredine Soltani

Laboratory of Applied Animal Biology, University Badji Mokhtar of Annaba, 23000 Annaba, Algeria.



article info

Article history:

Received 1 November 2019
Revised 17 December 2019
Accepted 26 December 2019
Available online 23 January 2020

Keywords:

Toxicity
Actara
Fish
Gambusia affinis
Metric indices
Biomarkers

abstract

Actara® 25 WG belongs to neonicotinoids, which is the most widely used insecticide class for controlling various insect pests in the world. The present study was aimed to assess the potential hazards of this insecticide on the mosquitofish *Gambusia affinis* following a chronic exposure. The female adults were collected during the reproduction period and exposed to various concentrations (10, 20 and 40 mg L⁻¹) during 28 days. The effect of actara was investigated on morphometric and selected biomarker measurements. Results showed that the compound was found to affect significantly the condition factor at days 21 and 28 of exposure with the highest concentration. However, the treatment had no effect on hepato-somatic and gonado-somatic indices. Biochemical analyses revealed an increase in glutathione S-transferase activity and carbonylated protein content, and a decrease in acetylcholinesterase activity for the three tested concentrations while the vitellin level was reduced only for the highest concentration. Thus, this product can pose side-effects on this non-target freshwater fish.

© 2019 National Institute of Oceanography and Fisheries. Hosting by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Neonicotinoid insecticides as agonists in nicotinic acetylcholine receptors, causing excitation, paralysis and death of the target insect (Moens, De Clercq, & Tarry, 2010). Thiamethoxam is the first commercially available second generation neonicotinoid and belongs to the subclass of thianicotinyls (Maiefisch et al., 2001) and is also one of the most commonly used pesticides in the neonicotinoid group (Simon-Delso et al., 2015).

The main side effect of the misuse use of these insecticides is observed on the natural enemies of mosquitoes such as Odonata, beetles and fishes in water pools. Consequently, evaluating the ecological and ecotoxicological risks linked to chemical contamination is becoming a major issue (Vellinger et al., 2012). *Gambusia affinis* (Baird & Girard, 1853) (Pisces, Poeciliidae) are widespread and extensively used against mosquitoes in the world (Walton, 2007; Zaidi & Soltani, 2013). In addition, *G. affinis* possesses an important key role in ecosystem and has been considered as a representative of secondary consumers in aquatic ecosystems. Furthermore, this species is characterized by high reproductive

potential, and the possibility of pre-natal embryo exposure (Annabi, Kessabi, Kerkeni, Said, & Messaoudi, 2012).

Biomarkers of environmental stress are now generally accepted as useful tools in assessment of the impact of xenobiotics on aquatic organisms (Lam, 2009). The glutathione S-transferase (GSTs) are a family of dimeric multifunctional enzymes involved in phase-II detoxification processes (Fraichard et al., 2018) and are used as biomarkers of exposure to several groups of pollutants (Hyne & Maher, 2003; Zhou, Zhang, Fu, Shi, & Jiang, 2008). Carbonylated proteins (CPs) represent a marker of global protein oxidation (Weber, Davies, & Grune, 2015; Alomari et al., 2018) and acetylcholinesterase (AChE) is a very important enzyme in the nervous system because it hydrolyzes acetylcholine in synaptic functions (Rodríguez-Fuentes, Soto, & Luna-Ramírez, 2013).

G. affinis has been the subject of intensive studies covering several aspects (Venkateswara Rao, 2005; Smith & Sargent, 2006; Huang et al., 2016). The data obtained provides an experimental basis for studying the side effects of insecticides on non-target organisms. Few studies were conducted on this product in contrast to imidacloprid. Therefore, the objectives of the present study were to assess the potential hazards following a chronic exposure of *G. affinis* females adults sampled during the reproductive period to actara on growth by measuring some morphometric indices. In addition, selected biomarkers (GST, CPs, AChE, Vitellin) were also determined to obtain additional information on the toxicity of this product.

Peer review under responsibility of National Institute of Oceanography and Fisheries.

[†] Corresponding author at: Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Science, Badji-Mokhtar University Annaba 23000, Algeria.
E-mail address: chouahda_s@yahoo.fr (S. Chouahda).

<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.007>

1687-4285/© 2019 National Institute of Oceanography and Fisheries. Hosting by Elsevier B.V.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Materials and methods

Fish maintenance and treatment

Female adults were collected in April 2017 in Chbaïta Mokhtar (36°46'00.51"N and 7°44'54.30"E) located at El Tarf (Northeast Algeria). The sampling area water is far from any anthropogenic activities (dwelling, factories and crop fields). Under natural conditions, the rivers and lakes were contaminated by leaching of insecticides used by water surface. Therefore an exposure through water was chosen. The assays were conducted in aquariums of 80-liter (90 30 30 cm) with continuous aerated and dechlorinated water, and under laboratory conditions (Photoperiod 14L:10D, Temperature 16.33 ± 0.66 °C, pH 7.66 ± 0.53, Dissolved Oxygen 14.52 ± 6.65%, Salinity 242.00 ± 33.57 mg.L⁻¹). The exposed control adult females (body weight 399.9 ± 15.6 mg; length 38.6 ± 3.4 mm). In each experiment, untreated fishes were also used as controls.

Actara® 25WG (25% active ingredient, water-dispersible granules), a commercial formulation of thiamethoxam, was added to farmed water containing adult females during the reproductive phase. Based on the LC₅₀-24 h = 84.7 mg.L⁻¹ obtained in preliminary tests using different concentrations (20, 70, 80, 85, 95, 100 mg.L⁻¹) *G. affinis* were exposed to three concentrations of thiamethoxam 10, 20 and 40 mg.L⁻¹ for 28 days (for each concentration, three aquariums each containing 30 fish were used). This duration could be considered as a chronic exposure (Bartlett et al., 2019).

Morphometric measurements

The fishes were randomly collected from the control and the treated series. Then they were anesthetized in 0.04% MS-222 (3-aminobenzoic acid ethyl ester methane sulfonate salt). Their standard length (L), body weight (BW), liver weight (LW) and gonad weight (GW) were measured. The hepato-somatic index (HSI = HW/BW*100) and gonadal-somatic index (GSI = GW/BW*100) were determined according to Bougis (1952) while the condition factor (CF = BW/L³*100) was calculated following Le Cren (1951).

Biomarkers assays

The activity of GST was measured in liver according to the method of Habig, Pabst, and Jakoby (1974). The reaction solution contained 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5), 1 mM GSH, 1 mM CDNB and 10 mL sample volume. The enzymatic activity of acetylcholinesterase measured from the head of fish was determined following the procedure of Ellman, Courtney, Andres, and Featherstone (1961). The reaction solution consisted of 5,5'-dithio-bis-[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) with NaHCO₃ as a cofactor and with acetylcholine iodide (ASCh) as a substrate. The reaction solution contained 0.1 M Tris/HCl buffer (pH 7). Protein concentrations determined according to Bradford (1976) were used to normalize enzyme activities.

The carbonylated protein content was determined in entire digestive tract using the method of Levine et al. (1990). The absorbance was read at 370 nm and content calculated using a molar extinction coefficient of 22.000/M/cm and expressed as nmol/mg proteins.

The vitellin content was measured following the procedure of Fabre, Descamps, and Baert (1990). Briefly, each ovary was placed in 500 µL of Tris-HCl-NaCl and homogenized by ultrasound. After centrifugation (5000 rpm for 10 min), three distinct layers were separated and the intermediate layer containing the vitellin was

removed and stored (20 °C) until analysis. The quantification was made according to Bradford (1976) using Coomassie G 250 (BBC) brilliant blue as a reagent and bovine serum albumin as a standard. The absorbance was read at 595 nm and the results expressed in µg/mg of ovaries.

Data analysis

Statistical analyses were performed using Prism version 7 for Windows (GraphPad software, La Jolla, CA, USA, www.Graphpad.com) and p < 0.05 was considered to be a statistically significant difference. Data have been expressed by the mean ± standard deviation (m ± SD). Two-way analysis of variance (ANOVA) and a Tukey post-hoc analysis HSD test were used to evaluate differences between control and treated series.

Results

Effect on metric indices

Results are summarized in Tables 1–3. Two-way ANOVA indicate no significant effect of time (F_{5,72} = 0.63; p = 0.6747), treatment (F_{3,72} = 2.14; p = 0.1023) and time × treatment interaction (F_{15,72} = 0.38; p = 0.9810) on the HSI (Table 1). For GSI the statistical analysis revealed a significant effect of time (F_{5,72} = 6.48; p < 0.0001) and no significant effects of treatment (F_{3,72} = 1.50; p = 0.2213) and time × treatment interaction (F_{15,72} = 0.38; p = 0.9805) (Table 2). The variation of condition factor during the exposure period shows a significant decrease at day 21 and day 28 of treatment only with the highest concentration (40 mg.L⁻¹) of actara as compared to control series. Two-way ANOVA revealed a significant effect of time (F_{5,72} = 2.79, p = 0.0230) and treatment (F_{3,72} = 3.82; p = 0.0134) and no significant effect of time × treatment interaction (F_{15,72} = 1.79; p = 0.0521).

Effect on biomarkers

The activity of GST increased significantly (p < 0.0001) starting day 14 for the 3 different tested concentrations (Fig. 1). The biggest activity was observed at day 28 for the 40 mg.L⁻¹ concentration. Two-way ANOVA reveals a highly significant time effect (F_{5,72} = 201.8, p < 0.0001) treatment effect (F_{3,72} = 121.9; p < 0.0001) and time/treatment interaction (F_{15,72} = 27.16, p < 0.0001).

The level of carbonyl proteins was determined in the digestive tract at different times during the exposure period. An induction of CP levels was recorded starting day 7 for the highest concentration (40 mg.L⁻¹) (Fig. 2). Two-way ANOVA indicated significant effects of time (F_{5,72} = 87.68, p < 0.0001), treatment (F_{3,72} = 30.74, p < 0.0001) and time/treatment interaction (F_{15,72} = 4.52, p < 0.0001).

AChE activity was determined in the fish brain at various time (days 0, 1, 7, 14, 21 and 28) during the exposure period. A significant (p < 0.0001) inhibition of AChE activity was recorded starting day 1 for the three tested concentrations (Fig. 3). ANOVA reveals significant effect of time (F_{5,72} = 149.7; p < 0.0001), treatment (F_{3,15} = 64.82; p < 0.0001) and time/treatment interaction (F_{15,72} = 4.70; p < 0.0001).

The ovarian vitellin was determined at different exposure times in the ovaries of fish collected during the reproduction period. As shown in Fig. 4, a significant (p < 0.0001) decrease in the rate of vitellin was observed over the duration of exposure period. There is a decrease in both treated and control females over time due to the end of the vitellogenesis period. Two-way ANOVA reveals significant effects of time (F_{5,72} = 77.37; p < 0.0001) and treatment



Table 1
Effect of actara on HSI of *G. affinis* during the exposure periods ($m \pm SD$; $n = 4$); for each exposure time.

Time (days)	Control	10 mg.L ⁻¹	20 mg.L ⁻¹	40 mg.L ⁻¹
0	0.13 ± 0.07a A	0.13 ± 0.07 a A	0.13 ± 0.07 a A	0.13 ± 0.07 a A
1	0.14 ± 0.03 a A	0.16 ± 0.05 a A	0.15 ± 0.06 a A	0.11 ± 0.03 a A
7	0.15 ± 0.07 a A	0.12 ± 0.03 a A	0.16 ± 0.08 a A	0.12 ± 0.06 a A
14	0.15 ± 0.04 a A	0.17 ± 0.06 a A	0.13 ± 0.05 a A	0.12 ± 0.01 a A
21	0.12 ± 0.03 a A	0.11 ± 0.09 a A	0.14 ± 0.07 a A	0.09 ± 0.03 a A
28	0.14 ± 0.08 a A	0.13 ± 0.06 a A	0.14 ± 0.03 a A	0.07 ± 0.05 a A

The averages followed by the same lowercase letter are not significantly different ($p > 0.05$) between times; the averages followed by the same capital letter are not significantly different ($p > 0.05$) between treatments.

Table 2
Effect of actara on GSI of *G. affinis* during the exposure period ($m \pm SD$; $n = 4$); for each exposure time.

Time (days)	Control	10 mg.L ⁻¹	20 mg.L ⁻¹	40 mg.L ⁻¹
0	19.97 ± 3.46 a A	19.97 ± 3.46 a A	19.97 ± 3.46 a A	19.97 ± 3.46 a A
1	17.92 ± 2.80 a A	18.39 ± 4.15 a A	20.42 ± 6.73 a A	21.70 ± 5.37 a A
7	20.26 ± 6.91 a A	22.50 ± 5.68 a A	25.42 ± 6.92 a A	21.09 ± 6.59 a A
14	19.18 ± 1.84 a A	23.50 ± 5.35 a A	23.87 ± 7.51 a A	23.87 ± 1.67 a A
21	26.93 ± 8.95 a A	29.14 ± 8.63 a A	27.09 ± 0.80 a A	29.63 ± 2.77 a A
28	23.59 ± 7.37 a A	24.19 ± 5.01 a A	25.56 ± 1.27 a A	2.86 ± 3.27 a A

Table 3
Effect of actara on condition factor of *G. affinis* during the exposure periods ($m \pm SD$; $n = 4$); for each exposure time.

Time (days)	Control	10 mg.L ⁻¹	20 mg.L ⁻¹	40 mg.L ⁻¹
0	1.13 ± 0.09 a A	1.13 ± 0.09 a A	1.13 ± 0.09 a A	1.13 ± 0.09 a A
1	0.95 ± 0.07 a A	1.01 ± 0.13 a A	1.08 ± 0.15 a A	1.0 ± 0.14 a A
7	1.17 ± 0.12 a A	1.06 ± 0.09 a A	1.07 ± 0.08 a A	0.95 ± 0.12 a A
14	1.09 ± 0.13 a A	1.11 ± 0.15 a A	1.07 ± 0.12 a A	1.19 ± 0.07 a A
21	1.19 ± 0.04 a A	1.03 ± 0.13 a AB	1.09 ± 0.23 a AB	0.86 ± 0.05 ab B
28	1.17 ± 0.21 a A	0.95 ± 0.15 a AB	1.05 ± 0.05 a AB	0.11 ab B

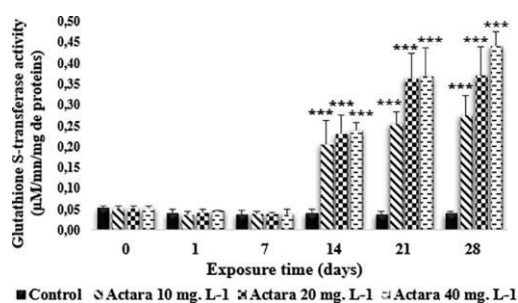


Fig. 1. Effect of actara® on glutathione S-transferase activity (IM/mn/mg of proteins) in the females of *G. affinis* ($m \pm SD$, $n = 4$). Asterisks above treated series indicated significant difference with controls of the same time (*: significant difference at $p < 0.05$; **: significant difference at $p < 0.01$; ***: significant difference at $p < 0.001$).

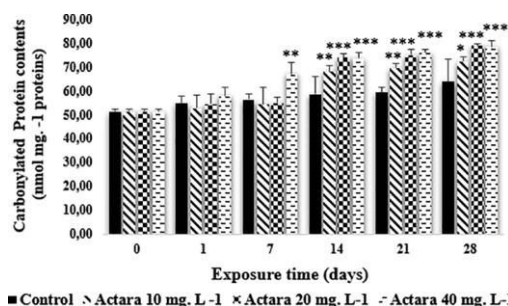


Fig. 2. Effect of actara® on carbonylated protein contents (nmol.mg⁻¹ protéines) in the females of *G. affinis* ($m \pm SD$, $n = 4$). Asterisks above treated series indicated significant difference with controls of the same time (*: significant difference at $p < 0.05$; **: significant difference at $p < 0.01$; ***: significant difference at $p < 0.001$).



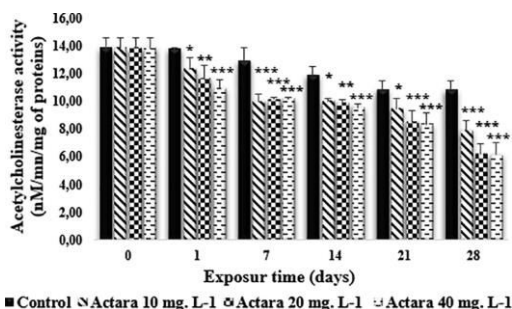


Fig. 3. Effect of actara® on acetylcholinesterase activity (LM/mn/mg of proteins) in the females of *G. affinis* and heated with time ($m \pm SD$, $n = 4$). Asterisks above treated series indicated significant difference with controls of the same time (*: significant difference at $p < 0.05$; **: significant difference at $p < 0.01$; ***: significant difference at $p < 0.001$).

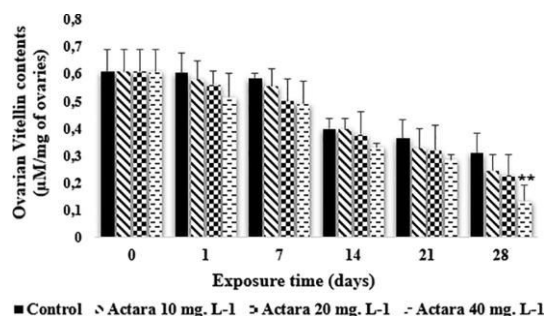


Fig. 4. Effect of actara® on ovarian vitellin contents (LM/mg of ovaries) in the females of *G. affinis* ($m \pm SD$, $n = 4$). Asterisks above treated series indicated significant difference with controls of the same time (*: significant difference at $p < 0.05$; **: significant difference at $p < 0.01$; ***: significant difference at $p < 0.001$).

effect ($F_{3,72} = 6.37$; $p = 0.0007$) and no significant effect of time/treatment interaction ($F_{15,72} = 0.53$, $p = 0.9115$).

Discussion

Pesticides can exert their impact on vertebrates either directly, through their toxicity, or indirectly, for example, by reducing their food supply. Direct effects may be the result of several different exposure pathways: through ingestion of the formulated product (Avery, Fischer, & Primus, 1997; Prosser & Hart, 2005), through uptake via the skin following a spray event (Mineau, 2011) or by eating contaminated prey. Neonicotinoids are the most widely used insecticides in the world. They are preferentially toxic to insects while displaying a low toxicity toward vertebrates and this selective toxicity has resulted in the rapid and ubiquitous use of these compounds. However, neonicotinoids have been detected in agricultural surface waters and are known to cause adverse effects in non-target aquatic organisms (Bartlett et al., 2019). They are agonists of the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) and disrupt the normal functioning of the central nervous system (Goulson, 2013).

Effect on morphometric measurements

A report provides an overview and highlights some of the important advances in our knowledge on mosquitofish (Walton, 2007). The HSI is used in fisheries science as a marker of energy

reserves in the liver (Cerdá, Calman, LaFleur, & Limesand, 1996). The GSI is one of the most important parameters of the fish biology, which gives a detailed idea regarding the reproductive status of the fish species (Sindhe & Kulkarni, 2004; Kaur, Singh, & Hassan, 2018). Moreover, the CF is a quantitative and integrative bioindicator, reflecting the physiological status of fish and the food availability conditions (Le Cren, 1951) and is sensible to stress in natural environment (Barrilli, Rocha, Negreiros, & Verani, 2015). The results obtained showed that the tested product had no significant effect on both HSI and GSI in female adults of *G. affinis*. More recently flucycloxuron, a chitin synthesis inhibitor, was found less toxic to *G. affinis* than conventional insecticides (Zaidi & Soltani, 2011). On the other hand, a significant decrease of CF has been recorded in adult females of *G. affinis* exposed to actara. During the study period of the effects Termex® (imidacloprid 35.50% SC) in the African catfish *Clarias gariepinus* the condition factor decreased was greater at 6.00 mg L⁻¹ concentration on days 21 and 28 (Nnadi et al., 2018).

Effect on biomarkers

GST and AChE activity and CP rate were measured in fish exposed to actara for 28 days in order to obtain information on the detoxification system and the neurotoxic property, respectively. Our results show an induction in GST activity starting day 14 during the exposure period. A significant increase in GST activity has been recorded in some studies involving exposure of the teleost fish *Cyprinus carpio* to carbofuran (Clasen et al., 2014). Induction of GST activity has also been observed in several animal species treated with actara. In a crustacean species *Palaemon adspersus*, Berghiche, Touati, Chouahda, and Soltani (2018) reported a significant increase in GST activity following an acute exposure to actara. The activities of GST was increased by 45.4–48.2% compared to control levels after treatment with titanium dioxide nanoparticles on red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Abd El-Atti, Desouky, Mohamadien, & Said, 2019).

CPs are a marker of overall protein oxidation because they are generated by multiple reactive oxygen species in blood, tissues and cells (Weber et al., 2015). They were used as a biomarker of oxidative stress induced by some chemical substances such as pesticides. The current experiment revealed that exposure of females of *G. affinis* to actara induces a significant increase in CPs levels from the 7th day of exposure. Abdel-Halim and Massoud (2014) show that the herbicide thiobencarb acts as an oxidative stressor in aquatic organisms; in fact, the oxidative protein induced by thiobencarb in whole body tissues at sublethal concentration in *G. affinis*. Wei and Yang (2015) have observed an increase in the level of CPs in the gills of crayfish species *Procambarus clarkii* exposed to beta-cypermethrin while Patil and David (2013) have found similar effects in gill, liver and kidney tissue of freshwater edible fish, *Labeo rohita* exposed to lethal and sublethal concentrations of malathion, the responses observed varied according to the concentrations and the exposure times.

As a key enzyme that hydrolyzes the neurotransmitter acetylcholine in cholinergic synapses of both vertebrates and invertebrates, AChE is strongly inhibited by organophosphate, carbamate, pesticides and pyrethroids at low concentrations (De la Torre, Ferrari, & Salibián, 2002). In the present study a significant inhibition of enzymatic activity of AChE was recorded in adult *G. affinis* females from day 1 until the last day of treatment (day 28) for the three tested concentrations. A similar inhibition was also reported in *G. affinis* exposed to chlorpyrifos (Venkateswara Rao et al., 2005). Moreover, Zaidi and Soltani (2011) demonstrated that diflubenzuron and flucycloxuron added to rearing water of *G. affinis* females induced significant inhibition of specific AChE activity with flucycloxuron at the highest concentration.



Györi et al. (2017) demonstrated that four neonicotinoids (ac- etamid, clothianidin, thiacloprid and thiamethoxam) are all able

to inhibit AChE activity *in vitro* in *Electrophorus electricus*, a fresh- water fish in a manner dependent on concentration. Qi et al. (2018) showed that AChE activity was inhibited in planktonic crustacean *Daphnia magna* by two new neonicotinoid insecticides: cycloxaprid and guadipyr.

In order to analyze the probable adverse effect of actara on reproduction, the vitellin levels were also determined in adult females sampled during the reproductive period. Yolk is a biomarker of defense against toxic exposures (Lechenault, 1968). In *G. affinis*, as in all ovoviparous Poeciliidae, the single ovary has in its center a cavity called an ovarian chamber. The duration of gestation is quite variable; it is about 25 days in the case of short pregnancies and 35 days for the longest. The vitellogenesis duration is about 8 days. About ten days after parturition, the ovary contains embryos at different stages of development (Chambolle, 1970). Our results show that actara added to water during the reproduction season of *G. affinis* adult females affect the vitellin process. At the beginning of treatment, adult females of *G. affinis* were at the initial stages of reproduction period. After 28 days of exposure to the insecticide, vitellogenesis was almost completed; this explains the decrease in ovarian vitellin content in both treated and control fish. Another explanation is that a reduction in liver's function alters the traffic, the release or the production of vitellogenin. It is known in the females; the liver is involved in gonad development and ensures the supply of VTG reserves for eggs from developing embryos (Annabi et al., 2012).

Conclusion

The adult females of *G. affinis* appear susceptible to actara applications during the reproduction period as indicated by morphometric and selected biomarker measurements in these results. Thus, this product may present potential risks for this non-targeted freshwater fish widely used against mosquitoes worldwide. Further experiments on the impact of actara on reproduction are needed like histological study of ovaries and the expression of the vitellogenin gene.

Acknowledgements

This research was supported by the National Fund for Scientific Research of Algeria (Laboratory of Applied Animal Biology to Pr. N. Soltani) and the Ministry of Higher Education and Scientific Research of Algeria.

References

- Abd El-Atti, M., Desouky, M.M.A., Mohamadien, A., Said, R.M., 2019. Effects of titanium dioxide nanoparticles on red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*: Bioaccumulation, oxidative stress and histopathological biomarkers. Egyptian Journal of Aquatic Research 45, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.01.001>.
- Abdel-Halim, K.Y., Massoud, S.A., 2014. Oxidative stress and protein carbonylation induction in Mosquito Fish *Gambusia affinis* as biomarkers of Thiobencarb exposure. Sci-Afric Journal of Scientific Issues Research and Essays 2, 348–353.
- Alomari, E., Bruno, S., Ronda, L., Paredi, G., Bettati, S., Mozzarelli, A., 2018. Protein carbonylation detection methods: A comparison. DIB 19, 2215–2220. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.06.088>.
- Annabi, A., Kessabi, K., Kerkeni, A., Said, K., Messaoudi, I., 2012. Influence of cadmium exposure on growth and fecundity of freshwater mosquitofish *Gambusia affinis*. In situ and in vivo studies. Biological Trace Element Research 148, 345–355. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9372-2>.
- Avery, M.L., Fischer, D.L., Primus, T.M., 1997. Assessing the hazard to granivorous birds feeding on chemically treated seeds. Pesticide Science 49, 362–366. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199704\)49:4<362::AID-PS540>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199704)49:4<362::AID-PS540>3.0.CO;2-W).
- Baird, S.F., Girard, C.F., 1853. Descriptions of new species of fishes collected by Mr. John H. Clark, on the U. S. and Mexican Boundary Survey, under Lt. Col. Jas. D. Graham. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 6, 387–390.
- Barrilli, G.H.C., Rocha, O., Negreiros, N.F., Verani, J.R., 2015. Influence of environmental quality of the tributaries of the Monjolinho River on the relative condition factor (Kn) of the local ichthyofauna. Biota Neotropica 15. <https://doi.org/10.1590/1676-06032015010714>.
- Bartlett, A.J., Hedges, A.M., Intinib, K.D., Brown, L.R., Maisonneuve, F.J., Robinson, S.A., de Sollab, S.R., 2019. Acute and chronic toxicity of neonicotinoid and butenolide insecticides to the freshwater amphipod, *Hyalella azteca*. Ecotoxicology and Environment Safety 175, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.038>.
- Berghiche, H., Touati, K., Chouahda, S., Soltani, N., 2018. Impact of the neonicotinoid insecticide, Actara®, on the shrimp *Palaemon adspersus*: Biomarkers measurement. ASTRJ, 533–534. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70548-4_162.
- Bougis, P., 1952. Recherches biométriques sur le rouget (*Mullus barbatus L.* et *Mullus surmuletus L.*). Archives de Zoologie Expérimentale et Générale 89, 59–174.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- Cerdá, J., Calman, B.G., LaFleur Jr., G.J., Limesand, S., 1996. Pattern of vitellogenesis and follicle maturational competence during the ovarian follicular cycle of *Fundulus heteroclitus*. General and Comparative Endocrinology 103, 24–35. <https://doi.org/10.1006/gcen.1996.0090>.
- Chambolle, P., 1970. Modalités du développement et analyse des facteurs physiologiques de la reproduction chez *Gambusia sp.* (Poisson Téléstéen); recherches descriptives et expérimentales. Thèse 3ème cycle. Univ. Bordeaux I, p. 192.
- Clasen, B., Leitemperger, J., Murussi, C., Pretto, A., Menezes, C., Dalabona, F., Loro, V.L., 2014. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. Ecotoxicology and Environment Safety 101, 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.012>.
- De la Torre, F.R., Ferrari, L., Salibián, A., 2002. Freshwater pollution biomarker: Response of brain acetylcholinesterase activity in two fish species. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 131 (3), 271–280. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00014-5](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00014-5).
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology 7, 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).
- Fabre, M.C., Descamps, M., Baert, J.L., 1990. Identification and partial characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulata* Latreille (Myriapoda Chilopoda). In: 8th international conference on myriapodology, Innsbruck, Austria. Ber. nat.-ined. Verein Innsbruck, pp. 117–121.
- Fraichard, S., Gonzalez, D., Grassein, P., Delarue, P., Senet, P., Nicolai, A., Neiers, F., 2018. Data on the expression of GSTE1 and GSTE7 in *Drosophila* chemosensory organs after isothiocyanate exposure. DIB 20, 254–257. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.062>.
- Goulson, D., 2013. An overview of the environmental risk posed by neonicotinoid insecticides. Journal of Applied Ecology 50, 977–987. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>.
- Györi, J., Farkas, A., Stolyar, O., Székács, A., Mörtl, M., Vehovszky, Á., 2017. Inhibitory effects of four neonicotinoid active ingredients on acetylcholine esterase activity. Acta Biologica Hungarica 68, 345–357. <https://doi.org/10.1556/018.68.2017.4.1>.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry 249, 7130–7139.
- Huang, G.-Y., Liu, Y.-S., Chen, X.-W., Liang, Y.-Q., Liu, S.-S., Yang, Y.-Y., Ying, G.-G., 2016. Feminization and masculinization of western mosquitofish (*Gambusia affinis*) observed in rivers impacted by municipal wastewaters. Scientific Reports 6, 20884. <https://doi.org/10.1038/srep20884>.
- Hyne, R.V., Maher, W.A., 2003. Invertebrate biomarkers: Links to toxicosis that predict population decline. Ecotoxicology and Environment Safety 54, 366–374.
- Kaur, S., Singh, P., Hassan, S.S., 2018. Studies on Gonado-somatic index (GSI) of selected fishes of River Sutlej, Punjab. Journal of Entomology and Zoology Studies 6, 1274–1279.
- Lam, P.K.S., 2009. Use of biomarkers in environmental monitoring. Ocean Coast Management 52, 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2009.04.010>.
- Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationship and seasonal change in gonad weight and condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). Journal of Animal Ecology 20, 201. <https://doi.org/10.2307/1540>.
- Lechenault, H., 1968. Etude cytochimique et ultrastructurale de l'ovocyte d'*Eisenia foetida* (Sav.). Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 90, 96–112. <https://doi.org/10.1007/BF00496705>.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shatliel, S., Stadtman, E.R., 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods Enzymol 186, 464–478. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-h](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-h).
- Maienfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Dettwiler, H., Haettenschwiler, J., Walti, M., 2001. The discovery of thiamethoxam: A second-generation neonicotinoid. Pest Management Science 57, 165–176. [https://doi.org/10.1002/1526-4998\(200102\)57:2<165::aid-ps289>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/1526-4998(200102)57:2<165::aid-ps289>3.0.co;2-g).



- Mineau, P., 2011. Barking up the wrong perch: Why we should stop ignoring non-dietary routes of pesticide exposure in birds. *Integrated Environmental Assessment and Management* 7, 297–305. <https://doi.org/10.1002/ieam.174>.
- Moens, J., De Clercq, P., Tarry, L., 2010. Side effects of pesticides on the larvae of the hoverfly *Episyrphus balteatus* in the laboratory. *Phytoparasitica* 39, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12600-010-0127-3>.
- Nnadi, J., Dimelu, I., Nwani, S., Madu, J., Atama, C., Attamah, G., Nwani, C., 2018. Biometric variations and oxidative stress responses in juvenile *Clarias gariepinus* exposed to Termex®. *African Journal of Aquatic Science* 43 (1), 27–34. <https://doi.org/10.2989/16085914.2018.1445615>.
- Patil, V.K., David, M., 2013. Oxidative stress in freshwater fish, *Labeo rohita* as a biomarker of malathion exposure. *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 10191–10199. <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3323-z>.
- Prosser, P., Hart, A.D.M., 2005. Assessing potential exposure of birds to pesticide-treated seeds. *Ecotoxicology* 14, 679–691. <https://doi.org/10.1007/s10646-005-0018-4>.
- Qi, S., Wang, D., Zhu, L., Teng, M., Wang, C., Xue, X., Wu, L., 2018. Neonicotinoid insecticides imidacloprid, guadipyr, and cycloxyprid induce acute oxidative stress in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environment Safety* 148, 352–358. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.042>.
- Rodriguez-Fuentes, G., Soto, M., Luna-Ramirez, K., 2013. Characterization of cholinesterases in the damselfish Sergeant major *Abudefduf saxatilis*. *Ecotoxicology and Environment Safety* 96, 99–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.031>.
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L., Bonmatin, J., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D., Krupke, C., Liess, M., Long, E., Mcfield, M., Mineau, P., Mitchell, E., Morrissey, C., Noome, D., Pisa, L., Settele, J., Stark, J., Tapparo, A., Van Dyck, H., Van Praagh, J., Van der Sluijs, J., Whitehorn, P., Wiemers, M., 2015. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>.
- Sindhe, V.R., Kulkarni, R.S., 2004. Gonadosomatic and hepatosomatic indices of freshwater fish *Notopterus notopterus* (pallas) in response to some heavy metal exposure. *Journal of Environment Biology* 25, 365–368.
- Smith, C.C., Sargent, R.C., 2006. Female fitness declines with increasing female density but not male harassment in the western mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Animal Behaviour* 71, 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.06.003>.
- Vellinger, C., Felten, V., Sornom, P., Rousselle, P., Beisel, J.-N., Usseglio-Polatera, P., 2012. Behavioural and physiological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium and arsenate at three temperatures: Individual and combined effects. *PLoS ONE* 7, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039153> e39153.
- Venkateswara Rao, J., Begum, G., Pallela, R., Usman, P.K., Nagaswara Rao, R.N., 2005. Changes in behavior and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* in response to the sub-lethal exposure to chlorpyrifos. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2, 478–483. <https://doi.org/10.3390/ijerph2005030013>.
- Walton, W.E., 2007. Larvivorous fish including *Gambusia*. *Journal of the American Mosquito Control* 23, 184–220. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[184:ifig2.0.co;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[184:ifig2.0.co;2).
- Weber, D., Davies, M.J., Grune, T., 2015. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: Focus on sample preparation and derivatization conditions. *Redox Biology* 5, 367–380. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.06.005>.
- Wei, K., Yang, J., 2015. Oxidative damage induced by copper and beta-cypermethrin in gill of the freshwater crayfish *Procambarus clarkia*. *Ecotoxicology and Environment Safety* 113, 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.12.032>.
- Zaidi, N., Soltani, N., 2011. Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: Chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biological Control* 59, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.001>.
- Zaidi, N., Soltani, N., 2013. laboratory evaluation of environmental risk assessment of pesticides for mosquito control: Toxicity of dimilin on a larvivorous fish, *Gambusia affinis*. *Advances in Environmental Biology* 7, 605–613.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta* 606, 135–150. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>.

