

## IMPACT DU CADMIUM ET DU HALOFENOZIDE SUR LES INDICES METRIQUES DES FEMELLES ADULTES D'UN POISSON CULICIPHAGE, *Gambusia affinis*

Reçu le 14/04/2007 – Accepté le 18/04/2009

### Résumé

Les Moustiques sont des agents de nuisance et des vecteurs de maladies pour l'homme. De ce fait, ils présentent une importance médicale et environnementale certaine. Ils sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels. Cependant, les effets secondaires de ces insecticides conventionnels ou les impératifs environnementaux ont encouragé la recherche de méthodes alternatives comme l'usage de composés plus sélectifs comme les régulateurs de croissance des insectes et l'utilisation d'agents biologiques. La pollution des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds tels que le cadmium, le cuivre, le plomb et le zinc, est un problème écologique important. Chez les organismes aquatiques, les métaux lourds s'accumulent à des taux élevés pouvant déclencher un stress environnemental oxydant chez des espèces non visées comme les Poissons. L'objet de notre étude est d'évaluer l'impact de deux xénobiotiques, un métal lourd (Cadmium) et un nouvel insecticide efficace contre les moustiques (Halofenozide), sur les indices métriques des femelles adultes d'un poisson larvifère, *G. affinis* (Bairds & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae), considéré comme un agent culiciphage de référence. Les indices métriques mesurés sont : l'indice de condition (K), le rapport gonado-somatique (RGS) et le rapport hépato-somatique (RHS). Les résultats montrent que les deux xénobiotiques ne présentent aucune différence significative au cours du temps sur le poids et la longueur des poissons, tandis que les deux xénobiotiques provoquent une réduction très hautement significative ( $p < 0,001$ ) du rapport hépato-somatique (RHS) après 60 jours du traitement. Le rapport gonado-somatique (RGS) chez les femelles traitées avec le cadmium ne présente aucun effet significatif ( $p > 0,05$ ), alors que l'halofenozide induit une diminution du RGS hautement significative ( $p < 0,01$ ) seulement avec la CL 90. Enfin, le cadmium provoque une diminution significative ( $p < 0,05$ ) à la dose 1 µg/l et hautement significative ( $p < 0,01$ ) à la dose 5 µg/l de l'indice de condition après 60 jours de traitement, tandis que l'halofenozide réduit les valeurs de K significativement ( $p < 0,05$ ) avec la CL50 et provoque une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) avec la CL90 après 60 jours d'exposition. Les deux xénobiotiques ont des effets significatifs sur les indices métriques, mais ces effets sont plus marqués sur le RHS.

**Mots clés :** Cadmium, Halofenozide, *Gambusia affinis*, Indices métriques.

### Abstract

Mosquitoes play an important role in global disease transmission. They are generally controlled by conventional insecticides. However, these conventional neurotoxins possess strong secondary effects on the environment. In this context, there is search for alternative methods like the use of selective insecticides such as the insect growth regulators (IGRs) and biological agents as *Gambusia affinis* (Bairds & Girard, 1853) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). Pollution of aquatic ecosystems by heavy metals such as cadmium, copper, lead and zinc is a significant ecological problem. Among these pollutants, heavy metals accumulate at high levels in aquatic organisms and are able to cause an oxidative stress in several species like fishes. This study aimed the evaluation of the impact of two xenobiotics, a trace heavy metal (cadmium) and a new potent insecticide (halofenozide) against the mosquitoes, on growth and metric indices in a larvivor fish, *G. affinis* under laboratory conditions. The two xenobiotics were tested separately. The index of condition (K), the gonado-somatic ratio (GSR) and the hepato-somatic ratio (HSR) were measured respectively. The results show that the growth does not change significantly during the experimentation, in treated series. However, the two xenobiotics cause a very high significant reduction ( $p < 0.001$ ) in the hepato-somatic ratio (HSR) after 60 days of treatment. The comparison of treated series with control reveals that cadmium has not significant effects ( $p > 0.05$ ) in gonado-somatic ratio (GSR), whereas the halofenozide induces a high significant reduction of GSR ( $p < 0.01$ ) with the LC90. Cadmium causes a significant reduction ( $p < 0.05$ ) in the index of condition at 1 µg/l, and a high significant reduction ( $p < 0.01$ ) at 5 µg/l after 60 days of treatment. Halofenozide reduces significantly ( $p < 0.05$ ) the K with the two tested concentrations. Conclusively, the two xenobiotics affect the metric indices, but the effects recorded are more marked on the HSR.

**Keywords:** Cadmium, Halofenozide, *Gambusia affinis*, Growth, Metric indices.

### ملخص

يعتبر البعوض من أهم الحشرات الضارة و الناقلة للأمراض بالنسبة للإنسان. لهذا فهو ذو أهمية طبية و بيئية أكيدة. لمراقبة انتشار البعوض يتم استعمال مبيدات الحشرات في الوسط المدني و لكن استعمالها يسبب عدة أضرار على صحة الإنسان و البيئة. وهذا الضرر مرتبط بطريقة تأثيرها. وعلى هذا الأساس شجعت الدراسات والبحوث طرق جديدة للمكافحة مثل استعمال مبيدات نوعية فعالة ضد البعوض أو استعمال عوامل بيولوجية مثل السمك (Bairds & Girard, 1853) (*Gambusia affinis*) (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). إن تلوث الوسط البيئي المائي بالمعادن الثقيلة مثل cadmium, copper, lead and zinc, يعتبر مشكلة بيئية هامة جدا. ومن أهم الملوثات التي تنرسب عند الكائنات البحرية الغير مستهدفة تشكل المعادن الثقيلة أعلى نسبة بحيث تعمل على تحريض نظام الأكسدة لدى بعض الأسماك مثل *Gambusia affinis*. يهدف هذا العمل إلى دراسة مدى تأثير نوعين من الملوثات, مبيد حشرات جديد (هالوفينوزيد) و معدن ثقيل (الكاديوم) على المعاملات المترية لدى إناث *G. affinis* تم إضافة المبيد بتركيزين على التوالي ( 12,6 و 28,6 ميكروغرام/لتر) أما الكاديوم فقد أضيف بتركيز 1 و 5 ميكروغرام/لتر. تم وزن الأسماك, المبيض و الكبد كما تم قياس طول الأسماك كل 15 يوم طيلة مدة التجربة. المعاملات المترية التي استعملت هي: معامل الشرط (K), العلاقة RHS والعلاقة RGS. مكتنتنا النتائج المتحصل عليها أن كلا من الهالوفينوزيد و الكاديوم لهما تأثير على جميع المعاملات المترية لكن هذه التأثيرات سجلت أكثر على العلاقة RHS.

**الكلمات المفتاحية:** كاديوم, هالوفينوزيد, *Gambusia affinis*, نمو, المعاملات المترية

La pollution ponctuelle est le résultat des rejets non traités. Elle est, la plupart du temps, associée aux industries, villes, exploitations agricoles ou élevages, rejetant une grande variété de produits chimiques dont beaucoup sont toxiques pour la faune. La pollution des écosystèmes aquatiques par les métaux lourds est un problème écologique important [13]. Parmi les métaux qui peuvent s'accumuler dans les poissons, le cadmium (Cd) est le plus toxique et le plus persistant dans l'environnement.

Les moustiques sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels qui ont causé des effets secondaires. La prise de conscience progressive des dangers pour l'environnement de l'usage abusif de ces insecticides a beaucoup contribué à augmenter l'intérêt porté aux composés alternatifs plus spécifiques et moins toxiques, comme les régulateurs de croissance des insectes. Récemment, une nouvelle classe de régulateurs de croissance a été développée; il s'agit des dérivés de la benzoylhydrazine, composés à structure non-astéroïdale qui miment l'action de l'hormone de mue. Le composé le plus récent de cette gamme est L'halofenozide (RH-0345), dernier représentant de cette classe à récemment tester contre les larves des moustiques [4]. La lutte biologique étant une alternative à la lutte chimique, des Invertébrés et Vertébrés ainsi que des agents entomopathogènes ont été utilisés dans la lutte contre les moustiques. Parmi eux, *Gambusia affinis* est un poisson larvinaire très connu [3].

La présence de ces deux xénobiotiques dans le milieu pourrait avoir des retombées sur ce poisson prédateur des larves de moustiques. C'est pourquoi, l'objet de cette étude est d'évaluer en laboratoire l'effet d'un insecticide sélectif (halofenozide) et d'un métal lourd (cadmium) abondant dans la région d'Annaba [15,2].

## MATERIEL ET METHODES

### Elevage des poissons

*Gambusia affinis* est un poisson d'eau douce qui présente un dimorphisme sexuel se manifestant par une différence de taille très nette. Les femelles adultes de taille ( $41 \pm 2,49$  mm) et de poids ( $553 \pm 28,6$  mg) récoltées pendant la période de repos ont été élevées dans des aquariums d'une capacité de 50 L à 70 L dont le fond a été recouvert d'une mince couche de sable surmonté de galets soigneusement lavés. L'eau utilisée est celle du robinet, mais exposée au préalable à l'air libre pendant au moins 24h, pour la débarrasser de l'hypochlorite de sodium. Les aquariums ont été munis de pompes à air (Rena 301 : 220 V, 6 Watts 5 l/mn), de filtre (Rena 225 : 220 V, 50 HZ, 5 l/mn, 3Watts) et de diffuseurs. Une nourriture abondante à base de crevettes et de poissons déshydratés commercialisée sous le nom de (Tetramin<sup>R</sup>, Allemagne) est fournie quotidiennement. Les paramètres physico-chimiques de l'eau d'élevage, mesurés chaque semaine durant les deux mois de l'expérience, sont les suivants: température:  $21,03 \pm 0,31$  °C; salinité:  $242,00 \pm 33,57$  psi ; pH:  $7,49 \pm 0,05$  ; et oxygène dissous:  $3,50 \pm 0,42$  mg/L.

### Traitements

L'halofenozide est le dernier représentant de la benzoylhydrazine. Il a été aimablement fourni par la compagnie Röhm & Haas (Spring House, PA, USA) sous forme d'une formulation commerciale (23 % EC : émulsion concentrée). Il mime l'action de l'hormone de mue. L'insecticide a été additionné dans l'eau d'élevage des poissons à deux concentrations finales 12,58 et 28,58 µg/l correspondant respectivement aux CL50 et CL90 obtenues sur les larves de *Culex pipiens* [4]. Le cadmium (Cd) a été utilisé sous forme de CdCl<sub>2</sub> (Chlorure de cadmium) à deux doses de 1 µg/l et 5 µg/l selon des essais précédemment réalisés [20].

### Mesure des indices métriques

Le poids et la longueur totale des poissons ainsi que les poids des hépatopancreas et des ovaires ont été déterminés à différents temps durant les deux mois de l'expérience (n = 4). Les rapports ganado-somatiques (RGS) et hépatosomatiques (RHS) sont déterminés selon la formule de [5], tandis que l'indice de condition (K) est mesuré selon [12].

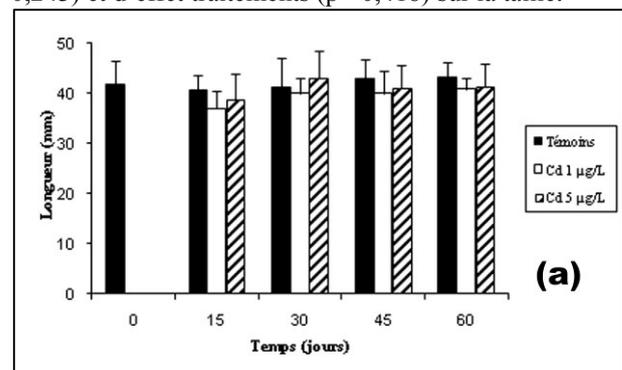
### Analyses statistiques

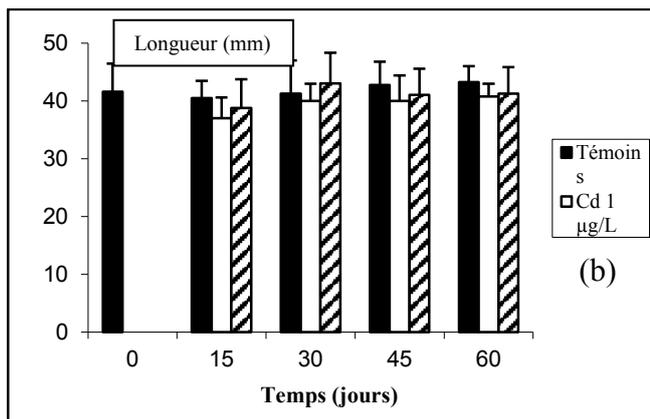
Les données sont représentées sous forme de moyennes ( $\pm$  l'écart-type) établies sur des échantillons indépendants. Chaque échantillon comprend quatre poissons femelles prélevées à différents temps à partir des séries témoins et traitées. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance à deux critères de classification (traitement, temps), modèle (croisé et fixe). Dans le cas de différences significatives, le test de Dunnett permet de comparer les séries traitées avec le témoin. Les données ont été traitées à l'aide du logiciel d'analyse statistique MINITAB, version 12.21 (PA State College, USA).

## RESULTATS

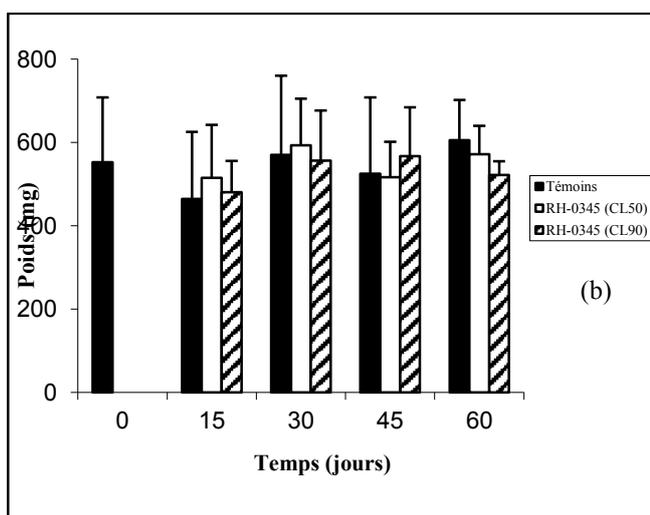
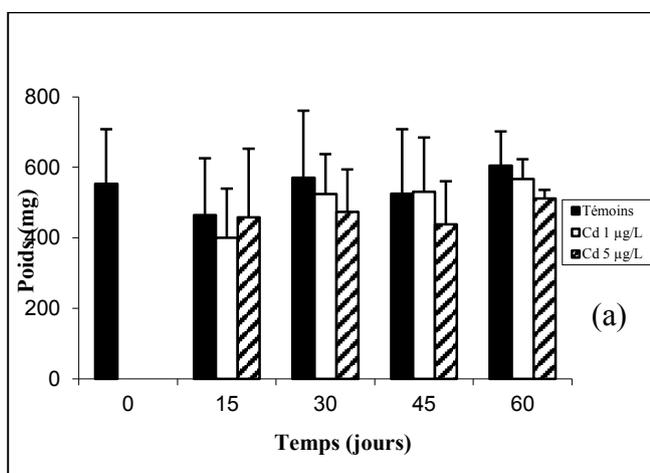
### Effet du traitement sur le poids et la longueur des femelles

Les résultats relatifs à l'effet du cadmium et de l'halofenozide sur le poids et la taille des poissons femelles sont représentés par les figures 1 et 2. L'analyse de la variance à deux critères de classification des données concernant le poids révèle qu'il n'y pas d'effets temps ( $p=0,313$ ) et d'effet traitement ( $p= 0,332$ ). Le traitement statistique montre également l'absence d'effets temps ( $p= 0,243$ ) et d'effet traitements ( $p= 0,418$ ) sur la taille.





**Figure 1 :** Evolution de la longueur (mm) des adultes femelles de *G. affinis* au cours d'une exposition continue au cadmium (a) et à l'halofenozide (b) ( $m \pm s$ ;  $n = 4$ ).

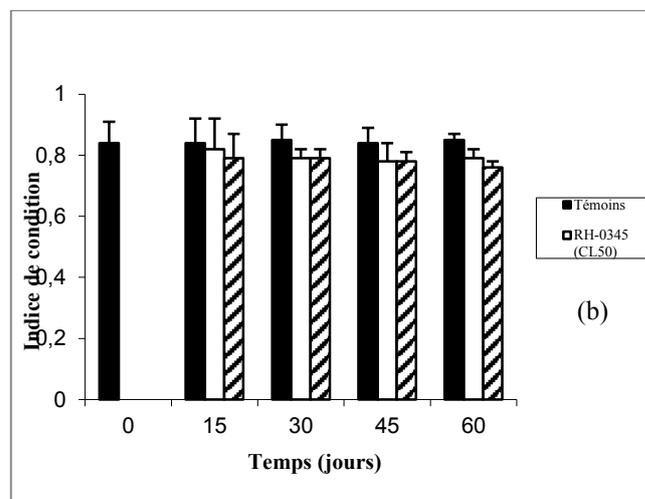
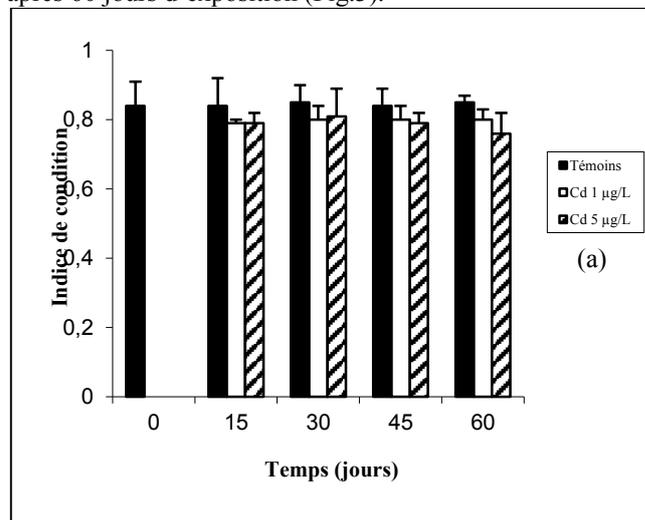


**Figure 2.** Evolution du poids (mg) des adultes femelles de *G. affinis* au cours d'une exposition continue au cadmium (a) et à l'halofenozide (b) ( $m \pm s$ ;  $n = 4$ ).

### Effet du traitement sur l'indice de condition

Les données concernant l'indice de condition sont représentées dans la figure 3. L'analyse statistique révèle seulement un effet traitement hautement significatif ( $p =$

0,006) sur l'indice de condition. La comparaison des séries traitées avec le témoin montre que le cadmium provoque une diminution significative de l'indice de condition ( $p = 0,0364$ ) à la concentration de 1 µg/l et hautement significative ( $p = 0,007$ ) à la concentration de 5 µg/l après 60 jours de traitement, tandis que l'halofenozide réduit significativement les valeurs de K ( $p = 0,039$ ) avec la CL50 et hautement significativement ( $p = 0,0024$ ) avec la CL90 après 60 jours d'exposition (Fig.3).

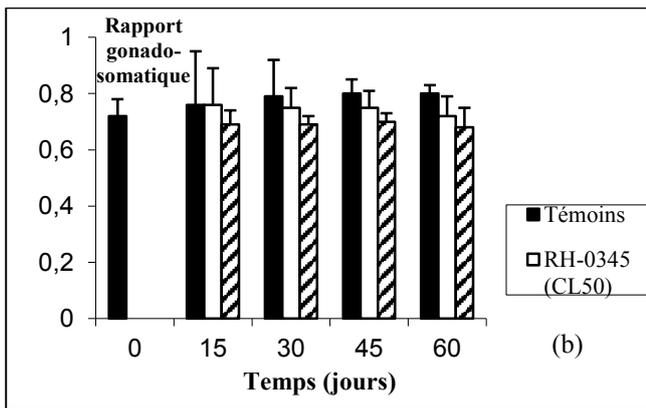
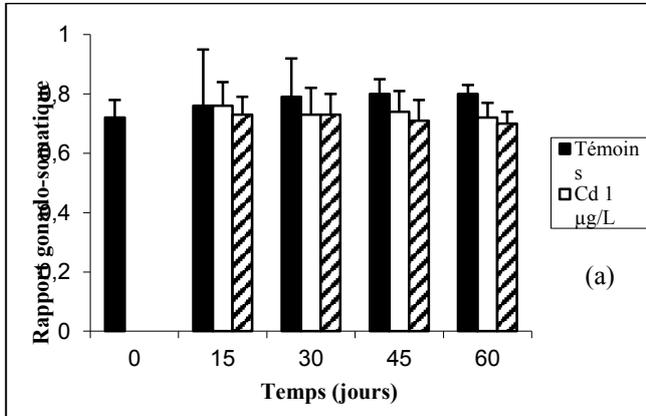


**Figure 3 :** Evolution de l'indice de condition des adultes femelles de *G. affinis* au cours d'une exposition continue au cadmium (a) et à l'halofenozide (b) ( $m \pm s$ ,  $n = 4$ ).

### Effet du traitement sur les rapports gonado- et hépato-somatiques

L'analyse de la variance à deux critères de classification (temps, traitement) indique seulement un effet traitement significatif ( $p < 0,05$ ) sur le RGS. La comparaison des séries traitées avec le témoin avec le test de Dunnett révèle que le cadmium n'a pas d'effet significatif sur le RGS ( $p > 0,05$ ), alors que l'halofenozide induit une diminution hautement significative ( $p < 0,01$ ) du RGS seulement avec la CL 90 (Fig. 4). Concernant, le

rapport hépato-somatique, l'analyse statistique montre qu'il y a un effet temps ( $p=0,048$ ) et un effet traitement très hautement significatifs ( $p=0,000$ ). La comparaison des séries traitées avec le témoin indique que les deux xénobiotiques provoquent une réduction très hautement significative ( $p<0,001$ ) après 60 jours du traitement (Fig. 5).



**Figure 4 :** Evolution du rapport gonado-somatique des adultes femelles de *G. affinis* au cours d'une exposition continue au cadmium (a) et à l'halofenozide (b) ( $m \pm s$ ,  $n = 4$ ).

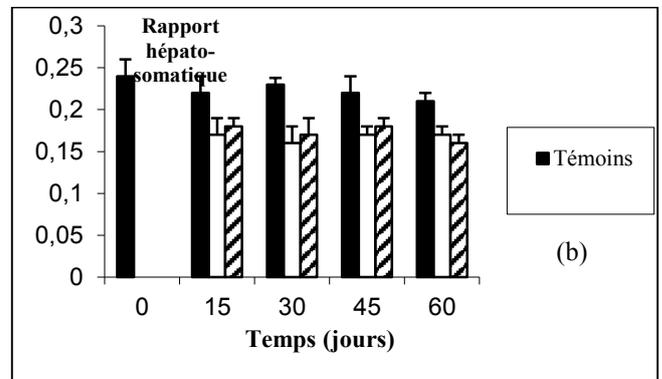
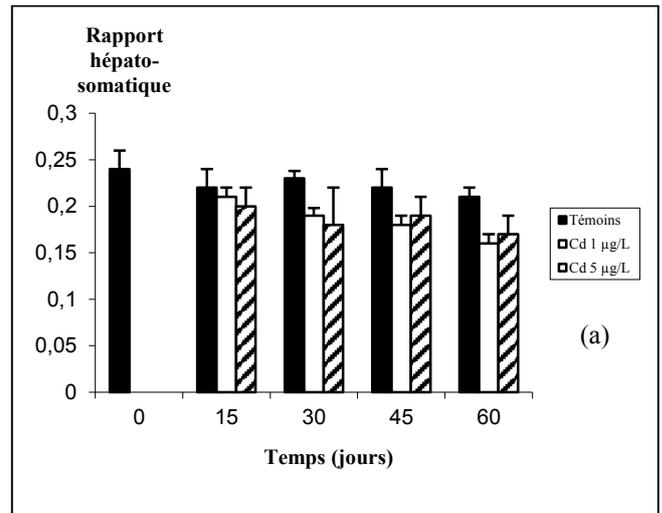
## DISCUSSION

La croissance est un élément essentiel d'aptitude et a un impact sur le succès des populations naturelles [6, 21]. Elle peut être affecté par les xénobiotiques [10]. Enfin, elle est considérée comme indicateur de pollution chez les invertébrés aquatiques [19].

Dans cette étude, le halofenozide et le cadmium administrés séparément dans l'eau d'élevage de *G. affinis* provoquent une réduction significative des indices métriques des femelles adultes ; par contre, ils n'ont aucun effet sur la croissance pondérale et linéaire des femelles. Nos résultats sont en accord avec ceux de [20] sur *G. affinis* traités au diflubenzuron, un régulateur de croissance des insectes inhibiteur de la synthèse de la chitine. Les variations de l'indice de condition peuvent aider à localiser dans le temps, l'émission des œufs tout en traduisant l'état physiologique des femelles, en particulier [9]. Les

modifications du rapport hépato-somatique (RHS) et du rapport gonado-somatique (RGS) au cours du temps, permettent de suivre les cycles hépatiques et sexuels et précisent le rôle du foie et de la gonade au cours de la croissance [18].

Nos résultats indiquent que l'halofenozide et le cadmium ont un effet sur les indices métriques, confirmant les travaux antérieurs réalisés par [22] sur la même espèce. En effet, cet auteur a enregistré une réduction significative de l'indice de condition chez les femelles adultes de *G. affinis* après traitement avec le DFB. Par contre, [9], ont signalé que le traitement des femelles de *G. affinis* avec le perchlorate n'a aucun effet que sur le RHS. Selon [7], le perchlorate de sodium augmente le RGS chez les femelles de *G. holbrooki*. Enfin, la mortalité chronique due au cadmium peut provoquer une réduction de la taille du foie des poissons [14]. Des études antérieures ont montré que le RH-0345 affecte la maturation des ovocytes avec une réduction dans leur nombre par paire d'ovaire. Il réduit également la taille et le volume de l'ovocyte ainsi que le poids des ovaires chez un lépidoptère *Ephestia kuehniella* [11]. Chez les larves de *L. decenlimata* le halofenozide provoque des mues prématurées suivies d'une inhibition de l'exuviation [16]. Enfin, cet insecticide perturbe également le développement et la croissance ovarienne chez *T. molitor* *in vivo* [1] et *in vitro* [17].



**Figure 5 :** Evolution du rapport hépato-somatique des adultes femelles de *G. affinis* au cours d'une exposition continue au cadmium (a) et à l'halofenozide (b) ( $m \pm s$ ,  $n = 4$ ).

## CONCLUSION

Les données obtenues sur l'impact du halofenozide et du cadmium sur la croissance et les indices métriques de *G. affinis*, un poisson culiciphage non ciblé, suggèrent des effets secondaires sur les indices métriques et traitement des effets plus marqués sur le rapport hépato-somatique.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le professeur A. Tahar (Laboratoire de Biométrie, Université d'Annaba) pour l'analyse statistique des données. Les recherches ont été réalisées dans le cadre du projet ANDRS n° 01/07/08/01/096 (Pr. N. Soltani).

## REFERENCES

- [1]- Amrani L., Zerguine K., Farine J.P., Smaghe G., Soltani-Mazouni N., "Imidazole derivative KK-42 reduces ecdysteroid titers and interferes with reproductive process in adult females of *Tenebrio molitor*", *Pest. Biochem. Physiol.*, **80**, (2004), 163-172.
- [2]- Beldi H., Gimbert F., Maas S., Scheifler R. & Soltani N., "Seasonal Variations Of Cd, Cu, Pb And Zn In The Edible Mollusc *Donax Trunculus* (Mollusca, Bivalvia) From The Gulf Of Annaba, Algeria", *African Journal Of Agricultural Research* Vol **1(3)**, (2006), pp. 85-90.
- [3]- Bendali F., Djebbar F. & Soltani N., "Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire", *Parasitica*, **57(4)**, (2002), pp. 255-265.
- [4]- Boudjelida H., Bouaziz A., Soin T., Smaghe G. & Soltani N., "Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*", *Pest. Biochem. Physiol.*, **83** (2/3), (2005), pp. 115-123.
- [5]- Boujis P., "Recherche biométriques sur les Rougets (*Mullus barbatus* L., *Mullus surmuletus* L.)", *Arch. Zool. Expér. Gén. Fr.*, **89(2)**, (1952), pp. 57-174.
- [6]- Burrows M.T. & Hughes R.N., "Variation in growth and consumption among individuals and populations of dogwhelks, *Nucella lapillus*: a link between foraging behaviour and fitness". *Journal of Animal Ecology*, **59**, (1990), pp. 724-742.
- [7]- Chad C., Smith & Craig Sargent R., "Female fitness declines with increasing female density but not male harassment in the western mosquitofish, *Gambusia affinis*", *Animal Behavior*, **71**, (2006), pp. 401-407.
- [8]- Deniel C., "La reproduction des poissons plats (Téléostéens, pleuronectiformes) en Baie de Douarnenez. I-cycles sexuels fécondité des Arnoglosses, *Arnoglossus thori*, *A. laterna*, *A. imperialis* (Bothidae)", *Cahier de Biologie Marine*, Tome XXIV, (1983), pp. 231-252.
- [9]- Drardja-Beldi H. & Soltani N., "Laboratory evaluation of dimilin on growth and glutathione activity in mosquitofish, a non-target species", *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*, **68(4a)**, (2003), pp. 299-304.
- [10]- Folker-Hansen P., Krogh P.H. & Holmstrup M., "Effect of dimethoate on body growth of representatives of the soil-living mesofauna", *Ecotoxicol. Environ. Saf*, **33**, (1996), pp. 207-216.
- [11]- Hami M., Taïbi F., Smaghe G. & Soltani-Mazouni N., "Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the mediterranean flour moth", *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*, **70/4**, (2005), pp. 767-772.
- [12]- Le Cren E.D., The length-weight relationship and seasonal cycle in goad weight and condition in the perch. *J. Anim. Ecol.*, **20** (1951), pp. 201-219.
- [13]- Rayms-Keller A., Olson K.E., Mc Gaw M., Oray C., Carlson J.O. & Beaty B.J., "Effects of heavy metals on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **39**, (1998), pp. 41-47.
- [14]- Ricard A.C., Daniel C., Anderson P. & Hontela A., "Effects of subchronic exposure to cadmium chloride on endocrine and metabolic functions in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*", *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **34**, (1998), pp. 377-381.
- [15]- Semadi A. & Deruelle S., "Lead pollution monitoring by transplanted lichens in Annaba area (Algeria)", *Rev. Poll. Atmos.*, pp. 86-102.
- [16]- Smaghe G., Nakagawa Y., Carton b., Kamel Mourad A., Fujita T. & Tirry L., "Comparative ecdysteroid action of ring-substituted dibenzoylhydrazine in *Spodoptera exigua*", *Archives of insect Biochemistry and Physiology*, **41**, (1999), pp. 42-53.
- [17]- Soltani N., Smaghe G. & Soltani-Mazouni N., "Evaluation of the ecdysteroid agonist RH-0345 on the hormonal production by tegumental explants and ovaries application", *Med. Fac. Landbouww, Univ Ghent*, **63(2b)**, (1998), pp. 547-554.
- [18]- Stequert B., "Contribution à l'étude de croissance et de la reproduction du bar (*Dicentrarchus labrax* L.) dans le réservoir à poissons du bassin d'Areachon", Rapport D.E.A, Université de Bordeaux I, (1971), 54p.
- [19]- Widdows J., Nasci C. & Fossato V.U., "Effects of pollution on the scope for growth of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the venice lagoon", Italy. *Mar. Environ. Research*, **43**, (1997), pp. 69-79.
- [20]- Williams D.R & Giesy J.P., "Relative importance of food and water source to cadmium uptake by *Gambusia affinis* (Poecillidae)", *Environmental Research*, **16**, (1978), pp. 326-332.

- [21]- Wo K.T., Lam P.K.S. & Wu R.S.S., "A comparison of growth biomarkers for assessing sublethal effects of cadmium on marine gastropod, *Nassarius festivus*", *Marine Pollution Bulletin*, **39**, (1999), pp. 165-173.
- [22]- Zaïdi N., "Effets secondaires d'un insecticide sélectif (Dimilin) sur un organisme non ciblé, *Gambusia affinis*: croissance, activités enzymatiques et analyse par CLHP des résidus". Mémoire de Magistère, Université d'Annaba. Algérie, (2005), pp 63.