

---

## Travail de fin d'études

**Auteur** : Ntemunyi Ntata, Cédric

**Promoteur(s)** : 8792

**Faculté** : Faculté des Sciences

**Diplôme** : Master de spécialisation en gestion des ressources aquatiques et aquaculture

**Année académique** : 2021-2022

**URI/URL** : <http://hdl.handle.net/2268.2/16041>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

Facultés des Sciences

*Département de Biologie, Ecologie et Evolution*

Bi

Master de Spécialisation en Gestion des Ressources Aquatiques et  
Aquaculture



Effet d'une exposition précoce à la perméthrine sur la reproduction de  
*Nothobranchius furzeri* Jubb, 1971

Travail de fin d'étude présenté et défendu en vue de l'obtention du diplôme de Master en Gestion des  
ressources Aquatiques et Aquacultures

Par : Ntemunyi Ntata Cédric

Promoteur : Prof. Frédéric Silvestre

Encadrant: Antoine Wittorski

Année Académique: 2021-2022

## **In memorium**

En mémoire de mon père N'Tata qui aurait pu voir et entendre le progrès de son fils

## **Dédicace**

Je dédie ce travail à ma fille Emmyriella N'tata Musengie de m'avoir permis de sentir la force du lien entre un papa et sa fille et avec qui chaque jour est un apprentissage.

## Remerciements

Le présent travail est le couronnement de notre formation en master de spécialisation en Gestion des Ressources Aquatiques et Aquacultures. Son aboutissement est fait avec les concours des plusieurs personnes à qui nous voulons témoigner notre gratitude.

Nos remerciements se dirigent à l'Académie de Recherche et Enseignement Supérieur (ARES), pour avoir financé notre formation et séjours en Belgique. Nous adressons également nos remerciements à l'équipe du PACODEL (Uliege) pour l'attention et le temps accordés durant la formation, afin de rendre paisible notre séjour en Belgique.

Merci à l'équipe de coordination de notre programme de formation (GeRAA), pour leur soutien et accompagnement tout au long de ladite formation. Nous citons ici, les Professeurs Patrick Kestemont et Michel Ovidio, Dr Carole rougeot, Dr Valérie Cornet.

Nous exprimons notre sincère gratitude au professeur Frédéric silvestre pour avoir accepté de diriger cette étude. Il a été disponible et compréhensif à notre égard. Nous remercions également Antoine Wittorski d'avoir accepté l'encadrement de ce travail.

Nous pensons à toute l'équipe du LEAP (laboratoire d'évolution et d'adaptation physiologiques) qui ont soutenu ce travail particulièrement au Dr Antony, Eva Minocci et Gaël Fassiau pour leur accompagnement et le temps consacré. Qu'ils se sentent honoré pour leurs assistances lors de la réalisation de ce travail.

Merci au corps professoral et administratif de la faculté des sciences de l'Université de Liège et de Namur, pour les efforts fournis et le soutien apporté durant toute la formation.

Nos pensées et considérations vont évidemment aux collègues de promotion, pour leurs encouragements et esprit de fraternité. Particulièrement, nous remercions Emmanuel Cishibandji, Aubin Tokpon, Abdouraman Dossou Yovo, Floriane Nyamsi, Florette Woukeng de m'avoir fait vivre normalement dans mes habitudes et de m'avoir aidé à gérer les stressés par des moments des partages fraternelles.

Merci à Franck Katumbwe, Kidinda Laurent, Esoma bienvenue pour leurs conseils et soutiens scientifiques tout au long de la réalisation de cette étude ; sans oublier mes amis Germain Tshimbalanga, et Jeanot Kitengie pour leur soutien moral.

Merci aux professeurs Innocent Tshibangu, August Chocha, Florence Kampemba et Yannick Useni de m'avoir assisté dans la vie. Enfin, nous remercions notre famille N'Tata et ma tendre mère pour leur amour et soutien moral qu'elle n'a jamais cessé de nous témoigner. Que la famille Kasongo Kayeye se sente honoré à travers ce travail.

A tous, nous disons merci.

# Table des Matières

<b><i>In memorium</i></b>	<b><i>i</i></b>
<b><i>Dédicace</i></b>	<b><i>ii</i></b>
<b><i>Remerciements</i></b>	<b><i>iii</i></b>
<b><i>Table des Matières</i></b>	<b><i>iv</i></b>
<b><i>Résumé</i></b>	<b><i>v</i></b>
<b><i>Abstract</i></b>	<b><i>vii</i></b>
<b><i>Chapitre 1. Introduction bibliographique</i></b>	<b><i>1</i></b>
<b>1.1. Présentation de <i>Nothobranchius furzeri</i></b>	<b>1</b>
<b>1.2. Usage des Pesticides</b>	<b>3</b>
1.2.1. Définitions et typologies	3
1.2.2. Demande mondiale des pesticides	3
1.2.3. Risques humains et environnementaux associés aux pesticides	4
1.2.4. Etude des cas des pesticides modèles : les pyréthroides	5
1.2.5. Toxicité des pesticides	7
1.2.6. Toxicité reproductive des pesticides chez les poissons	8
<b>1.3. Mécanisme Épigénétique</b>	<b>10</b>
1.3.1. Méthylation de l'ADN	11
<b>1.4. Hypothèses</b>	<b>12</b>
<b>1.5. Objectifs</b>	<b>12</b>
<b><i>Chapitre 2. Méthodologie</i></b>	<b><i>13</i></b>
<b>2.1. Milieu et poissons d'expériences</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Dispositif expérimental et entretien des poissons</b>	<b>13</b>
2.2.1. Solution d'exposition	13
2.2.3. Exposition à la perméthrine	14
2.2.1. Entretien des poissons	15
2.2.4. Reproduction des <i>N. furzeri</i>	16
<b>2.3. Évaluation du succès de la reproduction de <i>N. furzeri</i></b>	<b>16</b>
<b>2.4. Analyses statistiques</b>	<b>17</b>
<b><i>Chapitre 3. Résultats</i></b>	<b><i>18</i></b>
<b>3.1. Effet de d'exposition à la perméthrine sur le nombre d'œufs pondus</b>	<b>18</b>
<b>3.2. Effet de la perméthrine sur le taux de fécondation</b>	<b>19</b>
<b>3.3. Effet de la Perméthrine sur le Taux de Viabilité</b>	<b>20</b>
<b>4. Discussion</b>	<b>22</b>
<b>4.1. Effet de la perméthrine sur le succès de la reproduction de <i>N. furzeri</i> exposé au stade larvaire</b>	<b>22</b>
<b>4.2. Implications écologiques et évolutives de notre étude</b>	<b>25</b>
<b><i>Conclusion</i></b>	<b><i>27</i></b>
<b><i>Bibliographies</i></b>	<b><i>28</i></b>

## Liste des figures

- Figure 1. Mâles adultes de couleur (A) rouge et (B) jaune et (C) femelle de *Nothobranchius furzeri* de couleur terne (Cellerino et al., 2016). \_\_\_\_\_ 2
- Figure 2. Chronologie de l'expérience sur l'exposition à la perméthrine de *N. furzeri* au stade précoce. J = jours après éclosion ; S = semaines. \_\_\_\_\_ 15
- Figure 3. Présentation d'un œuf fécondé, un œuf non fécondé et un œuf viable à 48h de *N. furzeri*. (A) les œufs observés le jour de la collecte ; (f) : œuf fécondé de *N. furzeri* avec une structure typique à double couche, (nf) : Œuf non fécondé dépourvu d'espace péritellin ; (B) Un œuf Viable de *N. furzeri* observé à 48 heures \_\_\_\_\_ 17
- Figure 4. Effet de la Perméthrine sur le nombre d'œufs Pondus /femelle/Frai. Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 ug/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 ug/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16). \_\_\_\_\_ 18
- Figure 5. Le nombre d'œufs cumulées en fonction des conditions d'expositions. Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine \_\_\_\_\_ 19
- Figure 6. Effet d'une exposition au stade larvaire de *N. furzeri* le taux de fécondation (%) en fonction des différentes concentrations d'exposition. Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16) \_\_\_\_\_ 20
- Figure 7. Effet d'une exposition précoce à la Perméthrine sur le taux de viabilité (%) des œufs à 48 heures post-ponte. Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16) \_\_\_\_\_ 21

## Résumé

La pollution due aux pesticides présente une sérieuse menace sur l'environnement, avec des conséquences sur le fonctionnement des organismes, notamment sur leur reproduction. Ces conséquences peuvent être aggravées par une exposition précoce des larves aux pesticides, en raison de leur sensibilité et ainsi réduire la plasticité physiologique. Ce travail a été initié pour évaluer les effets d'une exposition des larves de *N. furzeri* à la perméthrine sur le succès de la reproduction. Ainsi, les larves de *N. furzeri* ont été exposées pendant les 7 premiers jours post-éclosion à la perméthrine (C0 : 0µg/l ; C1 : 100µg/l et C2 : 10µg/l). Les larves ainsi exposées à la perméthrine ont été élevées dans l'eau du système sans trace de la perméthrine jusqu'à l'âge adulte, stade à partir duquel des couples ont été formés en fonction des conditions pour la reproduction. Après 12 semaines de reproduction, les résultats obtenus ont montré des pontes de 22, 11 et 9 œufs respectivement pour C0, C1 et C2, suggérant d'une réduction du nombre moyens d'œufs pondus par frai de près de la moitié pour les individus exposés à la perméthrine. En termes des pontes cumulées, des baisses de l'ordre de 43,6% (C1) et 46,4% (C2) ont été observées par rapport au témoin (C0). Néanmoins, des similarités ont été observés en ce qui concerne le taux de fécondation et la viabilité des œufs à 48 heures. Nos résultats soulignent qu'une exposition à la perméthrine de *N. furzeri* au stade larvaire réduit les chances des multiplications des espèces se trouvant dans un environnement contaminé. Ainsi, la pérennité de *N. furzeri* pourrait être compromise dans un contexte de pollution à la perméthrine due à la réduction de la ponte.

**Mots clés : Killifish, Stade larvaire, Pyréthriinoïdes**



## Abstract

### **Effect of early exposure to permethrin on the reproduction of *Nothobranchius furzeri* Jubb,1971**

Pesticide pollution is a threat to the environment as it affects the functioning of organisms, in particular their reproduction. This effect can be aggravated by early exposure of the larvae to pesticides, due to their sensitivity and reduce physiological plasticity. This study aimed at assessing the effects of exposure of *N. furzeri* larvae to permethrin on reproductive success. The larvae of *N. furzeri* were exposed to permethrin (C0: 0µg/L; C1: 100µg/L and C2: 10µg/L) during the first 7 days post-hatching. Thereafter, larvae were raised in normal water without a trace of permethrin until adulthood, from which stage pairs were formed depending on the conditions for reproduction. After 12 weeks of reproduction, we found clutches of 22, 11, and 9 eggs respectively for C0, C1 and C2, suggesting a reduction in the average number of eggs laid per spawning by almost half for individuals exposed to permethrin. In terms of cumulative egg laying, reductions of around 43.6% (C1) and 46.4% (C2) were observed compared to the control (C0). Nevertheless, similarities were observed with regard to the impregnation rate and the viability of the eggs at 48 hours. Our results underline that exposure of *N. furzeri* to permethrin at the larval stage reduces the chances of multiplication of species found in a contaminated environment. Hence, the survival of *N. furzeri* could be compromised by permethrin pollution due to reduced egg laying

**Keys words: Killifish, Larval Stage, Pyrethroids**

## Chapitre 1. Introduction bibliographique

### 1.1. Présentation de *Nothobranchius furzeri*

Depuis quelques années, plusieurs voies moléculaires et facteurs contrôlant la durée de vie d'organismes modèles invertébrés et de souris ont été identifiés ; ainsi que les mécanismes physiologiques (Terzibasi et al., 2007). Cependant, la durée de vie des animaux modèles disponibles est un frein au développement des études biologiques (Evason et al., 2005; Wood et al., 2004). De toute évidence, un vertébré à vie courte, mais qui montre l'expression de marqueurs typiques liés à l'âge des vertébrés était hautement souhaitable. Pour un poisson à courte durée de vie, les avantages en tant que modèle dans les études de vieillissement sont entre autres le séquençage de l'entièreté du génome de *N. furzeri* et la publication d'outils de manipulation génétique en open source renforçant ainsi l'intérêt de l'utilisation de cette espèce en laboratoire (Reichard et al., 2022; Reichard & Polačik, 2019; Terzibasi et al., 2007).

*Nothobranchius furzeri* est actuellement le vertébré à la durée de vie la plus courte (4 à 6 mois dans ) pouvant être élevé en captivité dans les conditions optimales de laboratoire (Di Cicco et al., 2011). Il est actinoptérygien téléostéen du clade cyprinodonte et appartient à l'ordre de cyprinodontiforme. Les cyprinodontiformes sont de petits poissons qui occupent régulièrement des habitats marginaux et qui sont souvent inhospitaliers pour les autres poissons téléostéens (Taylor et al., 2008). *N. furzeri* fait partie de la famille de Nothobranchiidae, qu'il partage avec une dizaine d'autres genres de killifish africains. L'espèce partage le sous-ordre des Aplocheiloidei avec entre autres la famille des Rivulidae qui comporte plusieurs espèces de killifish sud-américains (Costa, 2018; Murphy & Collier, 1996). Cette espèce appartient au genre *Nothobranchius* dont plus de 60 espèces ont été décrites dans des mares temporaires situées dans toute l'Afrique orientale et centrale (Cellerino et al., 2016; Genade et al., 2005). Compte tenu de la diversité spécifique au sein de ce genre, plusieurs sous-genres ont été mis en évidence, comme le sous genre *Nothobranchius* dont fait partie *N. furzeri* (Costa, 2018). Cependant, deux souches différentes de killifish turquoise sont connues et il s'agit de GRZ (GRZ pour le parc national Gona Re Zhou au Zimbabwe) et MZM (MZM pour le Mozambique) (Reichard & Polačik, 2019). Une durée de vie extrêmement courte a été décrite chez GRZ de *N. furzeri* en captivité, suscitant ainsi un intérêt dans la recherche (Valdesalici & Cellerino, 2003). Cette durée de vie est en moyenne de 9 et 12 semaines comparativement aux souches MZM vivant en moyenne entre 21 et 28 semaines (Di Cicco et al., 2011).

Compte tenu d'une courte durée de vie, d'une maturité sexuelle rapide, le *N. furzeri* est devenu un système de modèle expérimental passionnant pour la recherche sur le vieillissement (Astre et al., 2022). Ainsi, plusieurs applications lui ont été appliquées dans la recherche biomédicale, écotoxicologique, évolutive (Reichard et al., 2022) et la pharmacologie du vieillissement (Terzibasi et al., 2007).

Cette espèce a été décrite comme un nouveau modèle puissant pour combler le fossé entre les invertébrés à courte durée de vie et les modèles de vertébrés à longue durée de vie (Brunet, 2020). Il est actuellement un modèle de plus en plus populaire pour la recherche sur les vertébrés et la physiologie de base, y compris pour les réponses aux stimuli stressants (Henderson & Small, 2019).

Le killifish turquoise est un poisson de petite taille allant de 3 à 15 cm de longueur totale, généralement < 7 cm, avec un dimorphisme sexuel et un dichromatisme marqués (Cellerino et al., 2016; Valdesalici & Cellerino, 2003). Les mâles de plusieurs espèces, y compris *N. furzeri*, se présentent sous deux formes de couleur ou plus qui peuvent être sympatriques ou allopatriques. Chez *N. furzeri*, des couleurs rouges et jaunes sont présentes, généralement visible à la nageoire caudale pour différencier des mâles ; alors que les femelles sont des couleurs ternes (Figure 1).



Figure 1. Mâles adultes de couleur (A) rouge et (B) jaune et (C) femelle de *Nothobranchius furzeri* de couleur terne (Cellerino et al., 2016).

Le *N. furzeri* comme toutes les espèces de *Nothobranchius* a un système d'accouplement polygynandreuX. Les mâles et les femelles changent souvent de partenaire pour chaque acte de frai, bien qu'un couple effectue souvent plusieurs (2-8) pontes en succession rapide, sans changer de partenaire (Cellerino et al., 2016). Un seul œuf est pondu au cours de chaque événement de ponte. Les épisodes de frai sont répétés pendant la journée et chaque femelle de *N. furzeri* pond généralement de 20 à 50 œufs par jour (Blažek et al., 2013; Reichard & Polačik, 2019). Avec une nourriture abondante, un frai pouvant atteindre 291 œufs a été enregistré chez *N. furzeri* et même 583 œufs chez le *N. kadleci* étroitement apparenté. Les œufs sont pondus

sur un substrat particulier (formé de boues et de sables) correspondant au sol de son habitat. Une fois pondus, les œufs restent dans le substrat après assèchement de la mare et peuvent rester en diapause (jusqu'à 10 mois) jusqu'au remplissage de la mare l'année d'après (Reichard et al., 2009). La diapause embryogénique consiste à l'arrêt du développement de l'embryon à un stade de développement spécifique, pour une période donnée, reportant la fin du développement à une période ultérieure (Renfree & Shaw, 2000).

Le *Nothobranchius*, y compris *N. furzeri*, se nourrit principalement de macro invertébrés et semble avoir un régime alimentaire opportuniste et dépend en grande partie de la disponibilité des proies (Polačik & Reichard, 2010). Une étude sur la sélectivité alimentaire chez quatre populations sauvages de *N. furzeri* a indiqué qu'ils préféraient se nourrir de petits crustacés (Cladocère, Copépode, Ostracode etc.). Cependant, en laboratoire, plusieurs types d'alimentation leur conviennent comme des larves des *Chironomus* et *Chaoborus* ou encore des individus *Tubifex sp.*, *Artémia salina* et *Daphnia sp.* (Cellerino et al., 2016).

Pour cette étude, le choix de cette espèce a été faite sur base de sa courte espérance de vie, allant de trois à six mois (Valdesalici & Cellerino, 2003) et aussi sur le fait que cette espèce atteint sa maturité sexuelle le plus rapidement possible entre 5 à 6 mois post-éclosion et se reproduit tout au long de sa période de vie (Polačik et al., 2016). Ceci, nous permettrait de visualiser efficacement l'impact de la perméthrine sur la reproduction des poissons exposés au stade précoce surtout en rapport avec le temps comme facteur limitant pour ces genres d'études.

## **1.2. Usage des Pesticides**

### **1.2.1. Définitions et typologies**

Le terme « pesticides » est défini comme toute entité chimique qui a la capacité de tuer les différents types de ravageurs, y compris les rongeurs, les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, etc. et désormais classée en conséquence comme rodenticides, insecticides, fongicides et herbicides (Pundir et al., 2019). Les pesticides sont classés en 4 catégories principales sur base de leur composition chimique. Il s'agit des composés organochlorés, organophosphorés, carbamates, pyréthrines (Rajmohan et al., 2020); bien que les composés pyrétrinoïdes soient rapporté comme cinquième catégorie (Pundir et al., 2019).

### **1.2.2. Demande mondiale des pesticides**

Ainsi, des milliards des tonnes des pesticides synthétiques sont épandus dans le monde chaque année pour la protection des cultures et la lutte antiparasitaire dans les milieux agricoles et

résidentiels (Khan et al., 2021). La demande mondiale devrait augmenter de 3,4 % par an pour atteindre 94,7 milliards de dollars en 2025 (Freedonia Group, 2021). L'accent mis sur les cultures de rente destinées à l'exportation, les efforts pour embellir les espaces publics urbains et les campagnes de santé publique pour éliminer les moustiques et autres vecteurs de maladies soutiennent cette tendance (Rani et al., 2022). ...

### **1.2.3. Risques humains et environnementaux associés aux pesticides**

Bien que les pesticides permettent l'augmentation rapide de la production alimentaires mondiales, ces produits sont associés à un certain nombre de risques humains et environnementaux (Hedlund et al., 2020) ; il peut s'agir de l'empoisonnements mortels, soit par contact direct avec le produit chimique, soit indirectement par contact avec des objets contaminés ; ou soit l'utilisation disproportionnée de ces composés pesticides affecte les plantes et les animaux de toute la structure écologique et peut donc entraîner la perte d'espèces non ciblées (Rajmohan et al., 2020). Ainsi, les préoccupations de l'impact environnemental (par exemple, l'impact sur les espèces non ciblées et la qualité de l'eau) et les pressions environnementales (par exemple la résistance aux pesticides) ont soutenus le développement des composés pyréthroïdes considérés comme des produits de plus grande valeur, plus sûrs et plus efficaces et moins problématiques pour l'environnement (Moore & Waring, 2001; Tang et al., 2018a).

Les organochlorés présentent dans l'environnement un problème d'élimination en raison de leur persistance dans la nature d'autant plus qu'ils ont le potentiel de s'accumuler dans le tissu adipeux (X. Wang et al., 2008) et sont donc décrits comme ayant caractéristiques mutagènes, tératogènes ou cancérigènes (Y. Zhang et al., 2018). Quant aux organophosphorés, nous avons par exemple des effets sur la fonction mitochondriale provoquant un stress oxydatif cellulaire et des problèmes aux systèmes nerveux et endocriniens ont été signalés en plus des effets génotoxiques (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016), ils peuvent se liées chimiquement à l'enzyme acétylcholinestérase de telle sorte à maintenir des muscles dans un état de contraction prolongée et le système nerveux dans un état d'excitation soutenue d'où leur potentielle toxicité pour une grande variété d'espèces non ciblées, y compris les humains (Mahajan et al., 2022). De plus, la toxicité des carbamates sur les mammifères est très élevée bien qu'ils ne soient pas aussi persistants que les organochlorés (Ortiz-Hernández et al., 2011), ils sont nocifs pour le système nerveux et ont des effets mutagènes, tératogènes et cancérigènes, entraînant pour les humains et l'environnement des menaces potentielles (H. Guo et al., 2022). En somme, l'utilisation des organochlorés, des organophosphorés, des carbamates a été interdite, ou soit

leur utilisation a été réduite dans plusieurs pays du monde compte tenu de leur toxicité élevées chez les mammifères (Rani et al., 2022). Cependant, la faible toxicité des insecticides pyréthrinoïdes synthétiques pour les mammifères a encouragé leur utilisation en agriculture intensive (Cycoń & Piotrowska-Seget, 2016; Moore & Waring, 2001; Saillenfait et al., 2016). C'est depuis 1980 qu'ils sont utilisés dans le monde entier et sont devenus l'un des trois principaux types de pesticides les plus utilisés (Tang et al., 2018b), et leur marché mondial est évalué à 1911,5 millions de dollars américains en 2020 et selon les projections, son marché devrait atteindre une valeur de 2258 millions de dollars américains d'ici 2026 (MarketResearch, 2021).

#### **1.2.4. Etude des cas des pesticides modèles : les pyréthroïdes**

Les pyréthroïdes sont une classe d'insecticides organiques synthétiques dérivés des pyréthrines (Tang et al., 2018b). Ils sont une classe d'esters lipophiles, avec un alcool et une fraction acide dérivés des extraits de pyrèthre de fleurs de chrysanthème connus sous le nom de pyréthrine trouvés au Kenya (Hassaan & El Nembr, 2020; Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). Il affecte le système nerveux central, entraînant une forte affinité pour les canaux  $\text{Na}^+$ , ce qui entraîne une augmentation du temps d'ouverture des canaux sodiques pouvant entraîner une dépolarisation complète de la membrane cellulaire, bloquant ainsi l'activité neuronale (Ortiz-Hernández et al., 2011). Utilisés dans le monde entier depuis les années 1980, ils sont devenus l'un des trois principaux types de pesticides les plus utilisés et leur marché mondial est évalué en 2016 à 1 633,03 millions de dollars (Tang et al., 2018). Sa part de marché a représenté près de 25 % du marché total des insecticides dans le monde et ce ratio pourra augmenter d'avantage (Q. Zhang et al., 2017). Sur la base de leur structure moléculaire, ils peuvent être divisés en pyréthrinoïdes agricoles (alpha-, à toxicité moyenne) et en pyréthrinoïdes urbains (ne contenant pas d'alpha-, à faible toxicité), qui sont principalement utilisés pour la lutte antiparasitaire agricole et non agricole, respectivement (Tang et al., 2018). Les pyréthrinoïdes jouent également un rôle essentiel dans la production des parfums anti-moustiques et shampooings qui sont les produits de soins personnels. Ils sont cependant largement utilisés en milieu urbain dans les maisons et représentant plus de 80 % du marché total des insecticides de santé publique.

Les pyréthroïdes tels que la perméthrine, la cyperméthrine ou le fenvalérate, s'utilisent à des fins agricoles et dans les résidences partout dans le monde (Imai et al., 2014). Bien qu'important et à faibles toxicité, l'utilisation intensive de ces pesticides affecte négativement l'ensemble de l'écosystème et ses résidus ont été détectés au-delà des limites autorisées dans les chaînes alimentaires, sol, air, surface et eaux souterraines (Ortiz-Hernández et al., 2011; Shalaby &

Abdou, 2010). Cependant, Lu et al. ont rapporté qu'environ 10 % seulement des pesticides appliqués atteignent les organismes cibles, ce qui entraîne 90% de leur dépôt dans des zones non ciblées (Lu et al., 2021). Ainsi, comparés aux pesticides traditionnels, les pesticides pyréthroïdes ont moins de potentiel de pollution de l'environnement, mais peuvent pénétrer dans les organismes par les chaînes alimentaires et sont très toxiques pour les organismes aquatiques ce qui a des effets nocifs à long terme sur les milieux aquatiques (Tang et al., 2018).

En examinant les concentrations des pyréthroïdes et leurs métabolites dans des divers environnements (sols, eaux et sédiments et les organismes, Tang et al. (2018) ont signalé un total 31 pyréthroïdes et 8 métabolites ; parmi lesquels, la perméthrine était le deuxième pyréthroïde le plus fréquemment détecté.

La perméthrine est un insectifuge et insecticide pyréthroïde synthétique utilisé pour une variété d'applications : agriculture, habillement, applications humaines et vétérinaires (Blanc et al., 2020). Selon l'étude d'Olutona et al., au Nigéria la présence de perméthrine a été détecté non seulement dans les produits agrochimiques mais aussi dans les produits de soins personnels provenant de l'élimination des déchets domestiques dans un ruisseau ; cependant une concentration de 375,70 µg/g de trans-perméthrine a été rapporté (Olutona et al., 2016). Ainsi, les concentrations de 800 mg/kg ont été signalés dans les environnements résidentiels, suivies 6410 ng/g dans les sédiments, alors que d'autres milieux les niveaux étaient beaucoup plus faibles (Tang et al., 2018).

Les pyréthroïdes ont été détectés dans l'environnement intérieur en Allemagne à une concentration maximale de 800 µg/g, avec des niveaux de résidus beaucoup plus importants dans les échantillons de poussière que dans les échantillons d'air (Tang et al., 2018). De plus, des résidus ont également été détectés dans des environnements résidentiels à Washington (USA) : 2,22 ng/cm<sup>2</sup> de trans-Perméthrine (Stout II et al., 2009), alors qu'ils ont rarement été signalés en Afrique.

Au fur et à mesure de l'utilisation croissante de ces pesticides, ils ont été fréquemment détectés dans l'environnement aquatique (Ensminger et al., 2011; Shahsavari et al., 2012; Q. Zhang et al., 2017). Dans les conditions normales, la concentration la plus élevée (29,72 µg/l) signalée se trouvait dans la rivière des Perles au sud de la Chine (W. Wang et al., 2013). Par contre, en Californie, des concentrations de 13 000 µg/l de la trans -perméthrine ont été détecté dans les bassins versants côtiers au Sud (Delgado-Moreno et al., 2011). Les concentrations inhabituellement élevées que les auteurs avaient justifiées par un épisode unique due à la dérive de l'application, au nettoyage de l'équipement de pulvérisation ou à l'élimination inappropriée des déchets de pulvérisation. Les concentrations allant de 20 à 150 ng/l dans les eaux de

ruissellement urbaines et agricoles ainsi que dans les eaux pluviales ont été signalé (Blanc et al., 2020; Weston & Lydy, 2010). Cependant, la perméthrine a tendance à se dégrader rapidement dans l'eau et à se lier aux sédiments, par conséquent, les concentrations environnementales peuvent être sous-estimées (Kuivila et al., 2012; Weston et al., 2005).

Compte tenu de l'omniprésence des Pyréthroides dans les systèmes aquatiques, les risques écologiques potentiels de ces pesticides suscitent de vives inquiétudes depuis de nombreuses années sur les organismes aquatiques et bien aussi sur les humains.

### **1.2.5. Toxicité des pesticides**

Il existe une association entre l'exposition aux produits chimiques pendant les périodes critiques du développement et le risque accru de maladies cardiovasculaires, neurologiques plus tard dans la vie (Schug et al., 2013). Une exposition à long terme et à faible dose aux pyréthrinoïdes peut provoquer des maladies chroniques et avoir des effets toxiques sur les systèmes nerveux, immunitaire, cardiovasculaire et génétique des organismes, induisant une tératogénicité, une cancérogénicité et une mutagénicité (Xin, 2009). Une étude de l'effet de l'exposition à la cyperméthrine sur les érythrocytes périphériques de *Catla catla* (Sharma & Jindal, 2022), a mis au point une augmentation dose-dépendante du pourcentage de dommages de l'ADN, de la fréquence des micronoyaux et des anomalies érythrocytaires. En plus des effets génotoxique, le potentiel mutagène de la perméthrine administrée par voie intrapéritonéale chez la souris dans des conditions artificielles par l'utilisation du dosage du micronoyau dans le sang périphérique de ces animaux a été renseigné (Roma et al., 2012). Une étude sur le poisson zèbre (Paravani et al., 2018) a mis en évidence des modifications très importantes des couches de structure de la rétine, une altération de l'expression de deux protéines impliquées dans les voies de réparation de l'ADN et l'apoptose cellulaire ( $\gamma$ -H2AX et caspase-3), des dommages à l'ADN, ainsi comme altération de l'activité et de l'expression génique des enzymes antioxydantes. De plus, l'analyse de l'expression génique de SOD et CAT a également été utilisée pour détecter la toxicité et surveiller les effets des polluants chimiques (Shedder et al., 2006; Woo et al., 2009). Par ailleurs, Koureas et al. ont fourni des preuves que l'exposition aux pyréthrinoïdes est associée à des effets nocifs sur le système reproducteur masculin (Koureas et al., 2012).

Cette brève littérature a révélé le potentiel génotoxique des formulations commerciales de pyréthroïde et leurs effets délétères potentiels sur les organismes aquatiques non ciblés. Cependant, en ce qui nous concerne, nous allons développer la toxicité reproductive chez les organismes aquatiques.



### 1.2.6. Toxicité reproductive des pesticides chez les poissons

Chez les poissons, le processus de reproduction est modulé par des interactions coordonnées entre les hormones stéroïdes le long de l'axe HPG et le foie (Villeneuve et al., 2008). Les gonadotrophines, telles que l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), sont sécrétées par l'hypophyse et régulent la production d'hormones stéroïdes sexuelles et le processus de gamétogenèse en se liant aux récepteurs des gonadotrophines, tels que FSHR et LHR (Clelland & Peng, 2009; Schulz et al., 2010). Les Enzymes stéroïdogènes, telles que la 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (HSD3B), la 17 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase (HSD17B) et L'aromatase P450 (CYP19) jouent un rôle prédominant dans la voie stéroïdogène (Ma et al., 2012). En tant que précurseur majeur du jaune d'œuf, la vitellogénine (Vtg) est principalement synthétisée dans le foie des poissons femelles matures et réagit à la stimulation par des produits chimiques œstrogéniques (Ma et al., 2012). Sur cette démarche physiologique de reproduction, les interférences des pesticides ont été signalées (Brander et al., 2016; Yang et al., 2020). Ils agissent sur différents paramètres dans divers organes des poissons, notamment le cerveau, le foie, les muscles, les reins et les gonades ; d'où leurs effets sur la reproduction.

Les résultats de Cao et al., ont montré que les pesticides avaient des effets néfastes sur la reproduction des poissons (F. Cao et al., 2016). Ils impactent la production d'œufs, le taux de fécondation, les hormones stéroïdes sexuelles et les concentrations de Vitellogénine, l'histologie gonadique et hépatique et les niveaux relatifs d'ARNm des gènes dans l'axes HPG. Des études ont suggéré que les pyréthroïdes sont une classe de produits chimiques qui ont des propriétés de perturbation endocrinienne qui peuvent interférer avec la biosynthèse, le métabolisme ou l'action des hormones, puis provoquer une reproduction anormale chez les poissons (Brander et al., 2016; N. Wang et al., 2016). Ils ont le potentiel de modifier la physiologie de la reproduction, le comportement et, finalement, le sex-ratio en laboratoire et dans les populations naturelles (Brander, 2013; Brander et al., 2016; Segner et al., 2013); ce qui rapporté comme pouvant participer à disparition d'une espèce (Kidd et al., 2007; Rempel & Schlenk, 2008).

Encore, Du et al., ont révélé que 9 de ces pyréthroïdes et leurs métabolites affectaient le système endocrinien et reproducteur par le biais des récepteurs ER et thyroïdiens (TR) (Du et al., 2010). Ils peuvent également interférer avec le système endocrinien et reproducteur via les récepteurs nucléaires hormonaux (Zhao et al., 2014). Des actions par l'intermédiaire du récepteur aux androgènes (AR) et de dommage du système reproducteur ont été signalés (Sun et al., 2007), y compris des perturbations du réseau hormonal via la liaison avec le récepteur des œstrogènes

(ER) dans les cellules trophoblastiques (Zhao et al., 2014). Des études antérieures ont également montré qu'une exposition aux pesticides peut influencer les niveaux d'hormones en interférant avec l'activation des récepteurs d'œstrogènes, d'androgènes et d'autres récepteurs hormonaux (Ewence et al., 2015). En plus, une altération de la production de protéines d'œuf (vitellogénine, choriogénine) a été signalé chez les poissons juvéniles (Brander et al., 2012). Un examen plus ciblé de l'expression génique par qPCR a démontré une régulation à la baisse d'un certain nombre de transcrits liés aux œstrogènes dont le *cyp19* réduisant ainsi le taux de reproduction chez le *Menidia beryllina* (œufs fécondés par femelle) (Brander et al., 2016). Cette réduction de la fécondité était cohérente avec les changements observés par les auteurs dans l'expression des gènes liés au système endocrinien.

L'étude sur le niveau moléculaire de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG) chez le poisson zèbre révélait que l'expression des gènes liés aux œstrogènes, en particulier le *vtg1* était significativement modifiée par une exposition aux pesticides (D. Guo et al., 2021). Les pesticides sont connus pour perturber l'expression des gènes NR qui contrôlent les boucles de rétroaction dans les axes HPG, HPT, HPA et le système de stress oxydatif, ce qui suggère une complexité dans la compréhension des défauts de développement des embryons/larves de poisson zèbre et qui donc serait en partie dus aux effets de perturbation endocrinienne des produits chimiques (Q. Zhang et al., 2017). Lu et al. ont rapporté la Cyperméthrine avait un impact négatif sur la capacité de reproduction du poisson (Lu et al., 2021). Ces auteurs ont observé une diminution de la production cumulée d'œufs des poissons Zèbres après 21 jours d'exposition. En plus, un retard dans le développement gonadique et une modification des niveaux de transcription des gènes liées à l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG) ont été observés ; ce qui correspond avec l'altération des niveaux d'hormones. Une altération significative de l'expression de plusieurs gènes stéroïdogènes clés sont à signaler dans le cas d'exposition aux pesticides (F. Cao et al., 2016). Les pesticides impactent la reproduction en jouant sur l'expression des gènes impliqués dans la reproduction et aussi sur l'histologie gonadique en jouant sur le stade de développement des gamètes. Il y a cependant, modification à la baisse des concentrations d'E2 et de T, la diminution du nombre d'ovocytes vitellogéniques tardifs et de spermatocytes matures et des niveaux de *lhb*, *lhr*, *fshb* et *lhb*. Ainsi, un impact majeur sur la régulation de la stéroïdogénèse et de la gamétogénèse (Cao et al., 2016), ce qui affecterait le GSI (Yu et al., 2014; Zucchi et al., 2014). En somme, cette perturbation des hormones stéroïdes sexuelles affecterait négativement la reproduction des poissons.

### 1.3. Mécanisme Épigénétique

Le terme épigénétique a été décrit pour la première fois par Waddington en 1942 pour décrire les mécanismes de régulation des gènes conduisant à des effets phénotypiques (O'Donnell & Glover, 2016; Susiarjo, 2016). Actuellement il est présenté comme l'ensemble des variations héréditaires d'expressions et d'activités géniques qui ne font pas intervenir de variations dans le code génétique (Calvanese et al., 2009; Kovalchuk, 2012). Dans ce contexte, le génome peut être vu comme un porteur d'informations tandis que l'épigénome comme le responsable de la bonne utilisation et de la stabilité de ces informations. Ces mécanismes contrôlent la spécificité spatio-temporelle de l'expression des gènes (Blanc et al., 2019). En tant que tels, ils sont des régulateurs clés de la différenciation cellulaire et la régulation stricte est essentielle pour le développement (Andersen et al., 2013; Cheedipudi et al., 2014). Dans la biologie et l'écologie évolutives, les effets de l'épigénétique sont des mécanismes dans lesquels le phénotype de la progéniture est affecté, indépendamment de l'héritage génétique. Ces effets sont considérés comme un mécanisme principal de la plasticité phénotypique (c'est-à-dire la variation des relations génotype-phénotype). Il a été suggéré qu'une telle variation induite par les parents dans le phénotype est adaptative (c'est-à-dire lorsque le phénotype résultant améliore la survie et la reproduction), appelée réponse adaptative prédictive (Gluckman et al., 2005).

Pendant les stades de vie, ces mécanismes entraînent une reprogrammation développementale au stade embryonnaire et postnatale qui est à l'origine d'un bon développement de l'individu ou de l'apparition des maladies ou des anomalies (Susiarjo, 2016). Cependant, une exposition à un stade précoce aux produits chimiques environnementaux peut entraîner des changements à long terme dans la physiologie et le comportement des adultes (Aluru, 2017). De ce qui précède, une exposition à un large éventail de produits chimiques environnementaux induit des changements épigénétiques dans divers organismes modèles (Feil & Fraga, 2012; Jacobs et al., 2017). Ces Modifications épigénétiques sont considérées comme des changements persistants dans l'expression des gènes qui se produisent sans modification de la séquence nucléotidique (Rosenfeld, 2010). Certains de ces effets sont hérités par les générations suivantes (Clark et al., 2019).

Ainsi, une question évidente concerne les mécanismes par lesquels les effets de l'environnement sont intégrés dans la machinerie moléculaire qui régule la transcription génomique (O'Donnell & Glover, 2016). L'épigénétique est donc apparue comme un domaine de recherche d'intérêt majeur au sein des sciences (éco)toxicologiques (Blanc et al., 2019); en outre, il a été suggéré pour servir de biomarqueur d'exposition cumulée pour les produits chimiques à courte demi-

vie (Ladd-Acosta, 2015). Ce mécanisme joue également un rôle crucial dans la médiation des changements phénotypiques induits par l'environnement (Blanc et al., 2019).

Il a été démontré qu'un certain nombre de produits chimiques affectent les schémas et les fonctions épigénétiques. Les quelques exemples sont des changements épigénétiques et des effets indésirables entraînés par une exposition aux produits tels que la Perméthrine (PER) (Bordoni et al., 2015), Méthoxychlor (MXC) (Manikkam et al., 2014). Il existe différentes informations épigénétiques encodées par notre épigénome. Parmi les plus importantes, nous retrouvons la méthylation d'ADN, le remodelage chromatinien, la transcription d'ARNs non-codants, la présence ou l'absence de protéines histones sur n'importe quelle séquence nucléotidique et les modifications post-traductionnelles, ainsi que l'existence de variants structurels et fonctionnels de ces protéines (Clark et al., 2019).

Pour ce qui nous concerne parmi les divers mécanismes épigénétiques, seule la méthylation de l'ADN sera développée dans la suite.

### **1.3.1. Méthylation de l'ADN**

La méthylation est impliquée dans de nombreux processus biologiques et que certaines de ces implications sont d'ordre épigénétique, indépendantes de l'expression du génome. La méthylation de l'ADN consiste en l'ajout d'un groupement méthyle (-CH<sub>3</sub>) aux cytosines liées par le phosphate aux guanines (CpG) dans la séquence linéaire de l'ADN (O'Donnell & Glover, 2016). Elle peut être méthylée à différents endroits, mais sa forme méthylée la plus connue et étudiée est la forme 5mC (5-méthylcytosine) de l'ADN (Klose & Bird, 2006).

Actuellement, ce mécanisme est considéré comme l'étude des modifications covalentes et non covalentes de l'ADN et des modifications des histones, ainsi que les divers mécanismes qui affectent finalement l'expression des gènes, conduisant à des changements phénotypiques (Aluru, 2017). Les groupes méthyle liés aux cytosines occupent le sillon principal de l'ADN et peuvent perturber la reconnaissance normale des facteurs de transcription et influencer la transcription (Lazarovici et al., 2013). La présence du groupe méthyle perturbe la liaison des facteurs de transcription et recrute des protéines contenant des domaines de liaison au méthyle qui sont généralement associées à des modifications répressives des histones (Susiarjo, 2016). Les protéines attirées lors de cette méthylation attirent, à leur tour, attirent tout un groupe de protéines qui forment un répresseur complexe, qui comprend des médiateurs actifs du silençage génique.

## 1.4. Hypothèses

Nous voulons vérifier l'hypothèse selon laquelle l'exposition des larves de *N. furzeri* aux fortes doses de la perméthrine entraînerait une perturbation partielle sur le succès de la reproduction à l'âge adulte matérialisée à travers la réduction de la performance des pontes des œufs. En raison de l'intervalle de temps relativement long qui sépare la période d'exposition et l'âge adultes, l'impact de la perméthrine sur la fécondation et la viabilité des œufs à 48 heures après ponte serait moins prononcé.

## 1.5. Objectifs

L'objectif général de ce travail d'évaluer le succès de la reproduction *N. furzeri* exposé à la perméthrine.

D'une manière spécifique, il s'agit de :

- Déterminer l'effet de la perméthrine sur le nombre moyen d'œufs pondus par frai ;
- Evaluer l'impact de l'exposition de *N. furzeri* au stade précoce à la perméthrine sur la fécondation et le taux de la viabilité des œufs à 48 heures.

## Chapitre 2. Méthodologie

Cette travail fait partie d'un projet sur les effets d'une exposition aux pyréthriinoïdes sur les phénotypes liés à la reproduction du poissons Killifish Turquoise (*Nothobranchius furzeri*) par des analyses physiologiques, comportementales et moléculaire. Ce projet dont le numéro d'agrément est KE20352 a pour objectif d'évaluer l'évolution des individus sur différents traits phénotypiques en lien avec la reproduction tels que le comportement de parade, la morphologie, la colorimétrie, la génétique et les mécanismes épigénétiques. En plus, il veut évaluer l'impact de cette exposition sur la qualité de la reproduction en occurrence du nombre d'œufs pondus, fécondés et viables à 48 heures post ponte.

Ce projet d'étude permettra de mettre en évidence des liens entre les effets observés et les mécanismes moléculaires sous-jacent, tels que l'expression géniques et/ou les modifications potentielles des marqueurs épigénétiques car elles peuvent expliquer des effets post exposition à l'âge adulte.

### 2.1. Milieu et poissons d'expériences

Les poissons de la lignée GRZ de l'espèce *N. furzeri* ont été utilisés pour réaliser cette étude. Ces poissons sont issus d'une reproduction des géniteurs élevés au laboratoire LEAP (Laboratory of Evolutionary and Adaptative Physiology (LEAP) à l'Université de Namur (UNamur - Belgique)). Le milieu d'élevage a été maintenu à  $600 \pm 100 \mu\text{S cm}^{-1}$  de conductivité, un pH de  $7,5 \pm 0,5$ , un cycle lumière/obscurité de 12 h : 12 h et une température de  $27 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Le milieu n'étant pas installé dans un système recirculé, l'entretien journalier consistait en un renouvellement journalier d'eau d'environ 50% du volume afin de minimiser la variabilité des paramètres physico-chimiques de l'eau. Cette expérience a été validée par le Comité d'éthique de la recherche de l'Université de Namur sous le numéro d'agrément KE20352.

### 2.2. Dispositif expérimental et entretien des poissons

#### 2.2.1. Solution d'exposition

Les solutions d'exposition ont été préparées par dilution de la solution mère à l'aide d'eau du système. Les concentrations d'exposition ont été choisies en tenant compte d'autres études réalisées au sein du laboratoire LEAP. Ces concentrations étaient fonction de celle signalée dans l'environnement ( $10 \mu\text{g/l}$ ) et à laquelle une multiplication à un facteur de 10 a été utilisé pour avoir une concentration 10 fois plus élevées afin d'élucider les vrais problèmes de la perméthrine sur la reproduction des poissons. Ainsi trois conditions expérimentales ont été

mises en place. Il s'agit de la condition témoin (C0) qui ne contenait que l'eau du système et DMSO à 0,001% (solvant utilisé dans d'autres traitement pour permettre l'assimilation de la molécule), Condition 1 (C1) contenant 100 µg/l de perméthrine et enfin la condition 2 qui contenait 10 µg/l ; une concentration proche des concentrations moyennes détectées dans l'environnement.

### **2.2.3. Exposition à la perméthrine**

Après éclosion, les larves des poissons ont été assignés aléatoirement à l'une des trois conditions expérimentales : une condition contrôle (C0) et deux autres conditions dans lesquelles les poissons étaient exposés pendant 7 jours à 10 µg/l (C2) et à 100 µg/l (C1) de perméthrine. Le milieu de traitement était renouvelé chaque jour jusqu'au jour 7 marquant la fin de l'exposition. Les larves ont été exposées dans des plaques multi puits constitués de puits de 10ml. Pour confirmer la concentration en perméthrine, des échantillons ont été prélevés dans l'eau d'exposition afin de confirmer la concentration exacte de l'exposition des larves, au début et à la fin de chaque test. La perméthrine a été extraite et les concentrations ont été évaluées par chromatographie (D. Wang et al., 2009).

Après les 7 jours d'exposition, les poissons ont été élevés dans l'eau normale du système pendant 3 semaines en groupe suivant chaque condition ; et ensuite ils ont été séparés pour continuer individuellement leur développement dans un bocal (3,3 litres) jusqu'à l'âge adulte 5 à 8 semaines. Cette configuration permettait toujours un contact social visuel entre les poissons tout en limitant le comportement agonistique pour assurer le bien-être des animaux. Pendant ce temps, les bassins ont été nettoyés deux fois par semaine (tous les lundis et vendredis) au cours desquels l'eau de tous les bassins a été renouvelée avec de l'eau reconstituée (renouvellement complet de l'eau). Néanmoins un renouvellement partiel allant de 30 à 50% était effectué chaque jour pour maintenir les paramètres physicochimiques de l'eau dans la gamme acceptable.

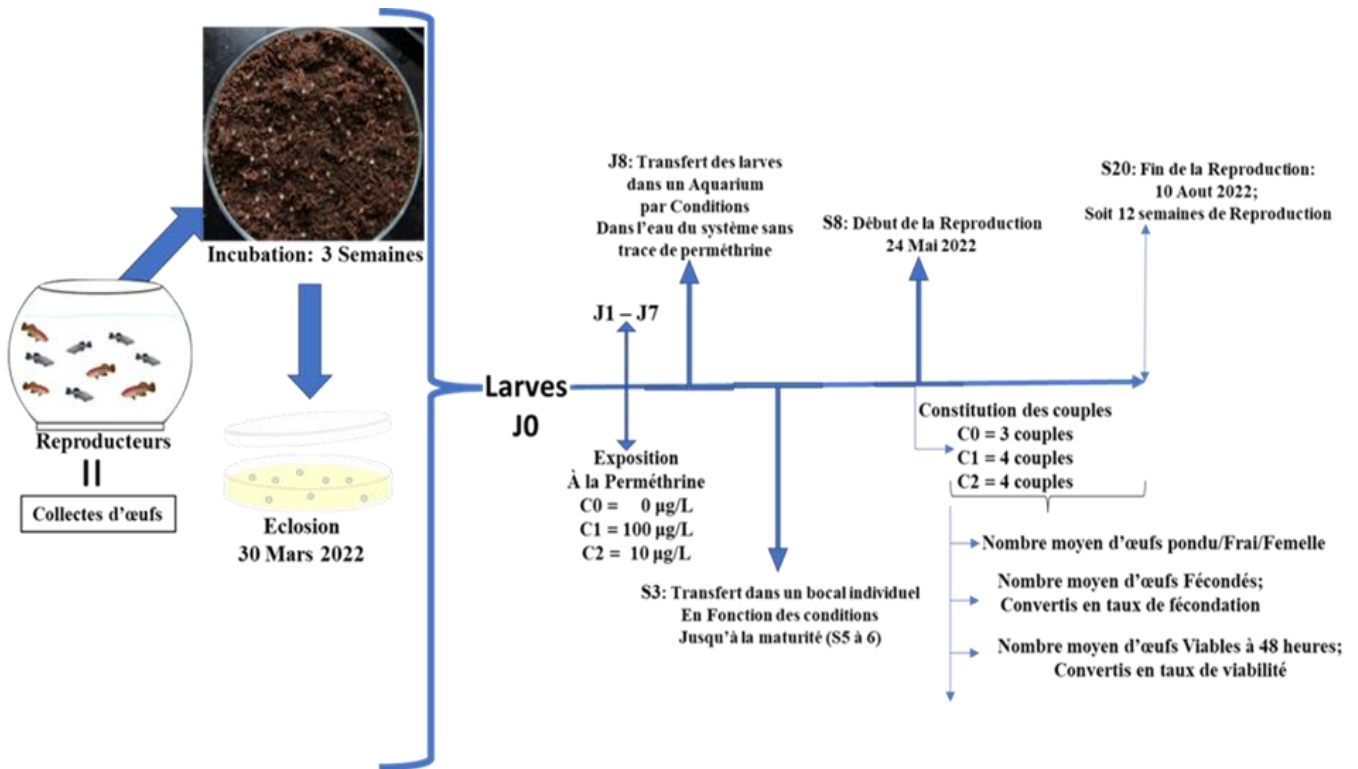


Figure 2. Chronologie de l'expérience sur l'exposition à la perméthrine de *N. furzeri* au stade précoce. J = jours après éclosion ; S = semaines.

### 2.2.1. Entretien des poissons

Après exposition, 29 poissons restants ont été suivis jusqu'à l'âge adulte pour étudier l'impact de l'étude sur le succès de la reproduction. Ces poissons ont été obtenus par éclosions des œufs des poissons issue de la souche GRZ présent au sein du laboratoire LEAP. Pour y arriver, les œufs ont été récoltés et éclos selon le protocole de Polačik et al. (Polačik et al., 2016) en date du 30 mars 2022. Sensé atteindre leurs maturités sexuelles à 5 ou 6 semaines, ces poissons ont été utilisés pour la reproduction à 8 semaines de leur âge soit le 24 mai 2022 après le premier test de reproduction. La reproduction s'est faite pendant 12 semaines jusqu'au 10 Aout 2022. En ce qui concerne l'alimentation des poissons, des larves ont été nourries à volonté deux fois par jour avec des *nauplii d'Artémia franciscana*. A partir de la 3ème semaine, leur alimentation a été supplémentée progressivement avec des vers de vases (larves de *Chironomus*) deux fois par jour. À partir de quatre semaines après l'éclosion, les poissons ont été nourris à volonté avec des larves de *Chironomus* une fois par jour en plus des Artémias



#### **2.2.4. Reproduction des *N. furzeri***

Les poissons adultes post exposition ont été utilisés dans la reproduction à 8 semaines d'âges. L'apparition de coloration nuptiale chez les mâles (Polačik & Reichard, 2010) ainsi que la première ponte d'œuf chez les femelles (Grégoir et al., 2018) ont été considérés comme critère de maturité. Pour les besoins de reproduction et en fonction de la disponibilité des poissons par condition, 3 couples ont été constitués dans la condition C0, alors que pour les conditions C1 et C2, il y avait 4 couples pour chacune des conditions. Notre protocole expérimental de reproduction a été adapté à partir des travaux de Polacik et al (2016) où les œufs récoltés ont été enregistrés par conditions. Et pour obtenir le nombre moyen d'œufs pondus par femelles, la collecte d'œufs a été divisé par le nombre des couples impliqués à chaque frai.

Notre protocole de reproduction a été adapté des travaux de Polacik et al., et de Reichard et al. (Polačik et al., 2016 ; Reichard et al., 2022). La préparation du milieu de reproduction s'est faite en ajoutant environ 2 cm des sables blancs au fond du bac de 3,3 litres rempli à environ 2,5 litres d'eau du système. Le mâle était placé dans le bac de reproduction à la veille de l'accouplement ; puis le jour d'après le couple était formé dans la matinée en amenant la femelle au mâle. Il est à noter que le frai était stimulé lorsque la lumière était allumée. Les couples formés étaient laissés ensemble au calme pendant 4 heures, temps nécessaire pour récoltés presque tous les ovules libérés et favorable pour le durcissement de l'enveloppe de l'œuf. Un tamis d'environ 1mm (Inférieur à 1,35 mm des tailles des œufs) de maillage a été utilisé pour tamiser le substrat de sable afin de récupérer les œufs.

Les poissons ont été couplés deux fois par semaines soit chaque mardi et mercredi pour permettre aux poissons de conserver leur capacité de reproduction.

#### **2.3. Évaluation du succès de la reproduction de *N. furzeri***

Le succès de la reproduction a été décomposée en quatre mesures différentes : le nombre moyen d'œufs pondus par frai par femelle, le nombre moyen cumulé d'œufs pondus sur l'ensemble de la période de la reproduction, le taux de fécondation par frai et enfin le taux de viabilité des œufs à 48 heures post ponte. Ainsi, les œufs collectés ont été comptés d'une manière générale par conditions et gardés dans une boîte de pétri. Pour les maintenir sains, une désinfection a été faite par un rinçage d'environ 5 min avec une solutions de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 1% suivi d'un autre rinçage au bleu de Méthylène (blanchissement d'œufs). Par la suite, ils ont été transférés dans une autre boîte de pétri et conservés dans une nouvelle solution à base de bleu de Méthylène.

Après tamisage et le blanchissement des œufs, une vérification et dénombrement des œufs fécondés ont été réalisés sous un stéréomicroscope. Selon Polacik et al., (2016) les œufs fécondés ont une structure à double couche avec un espace périvitellin (une couche entre le chorion et la membrane vitelline) (figure 3).

En revanche, après 12 h, les œufs monocouches et non fécondés commencent à se décomposer et acquièrent une coloration bleuâtre et plutôt opaque, ce qui fait qu'une évaluation à 48 heures après conservation des embryons était pertinente pour observer les œufs viables.

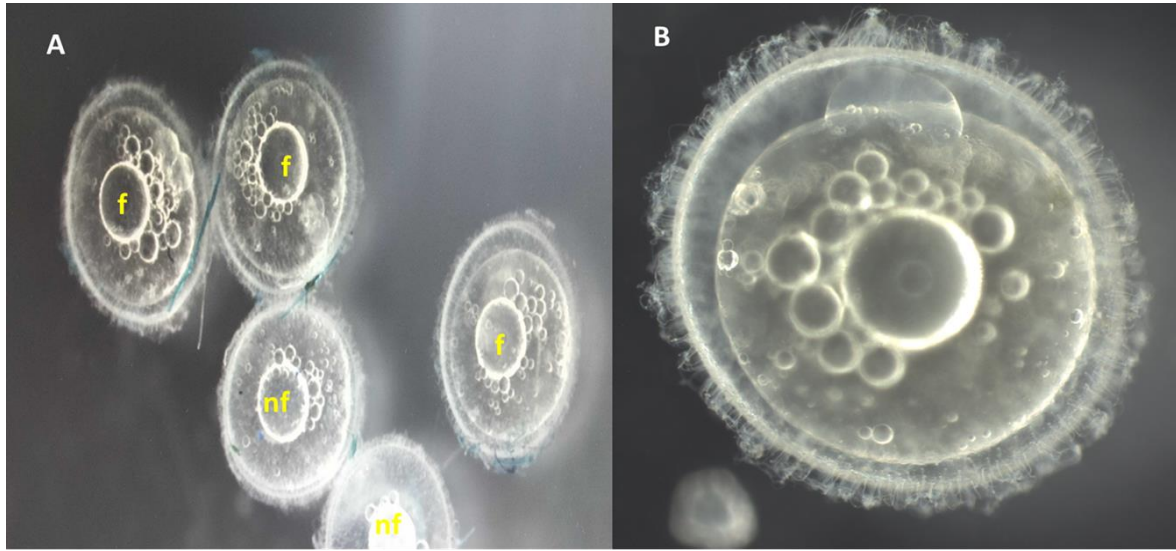


Figure 3. Présentation d'un œuf fécondé, un œuf non fécondé et un œuf viable à 48h de *N. furzeri*. (A) les œufs observés le jour de la collecte ; (f) : œuf fécondé de *N. furzeri* avec une structure typique à double couche, (nf) : Œuf non fécondé dépourvu d'espace périvitellin ; (B) Un œuf Viable de *N. furzeri* observé à 48 heures

#### 2.4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio sous R 4.2.1. Les données récoltées lors de notre étude ont été soumises à une analyse de la variance sur mesures répétées à un facteur pour comparer les moyennes des œufs pondus par frai et le taux de fécondations entre conditions expérimentales. Si des différences significatives existaient au seuil de comparaison de 5%, une analyse post hoc de TUKEY a été appliqué pour différencier les moyennes les traitements. Pour la validation des résultats d'analyses, les tests d'hypothèses de validation des données étaient appliqués, il s'agissait du test de normalité des données de Shapiro et du test de vérification d'homogénéités des données de Levene. Pour les données n'ayant pas respectés ces hypothèses, une alternative non paramétrique des mesures répétées de Friedman a été appliqué. Il s'agissait des données sur le taux de viabilité des œufs.

## Chapitre 3. Résultats

### 3.1. Effet de l'exposition à la perméthrine sur le nombre d'œufs pondus

Le nombre moyen d'œufs a varié de  $22,6 \pm 10,4$  ;  $11,3 \pm 10,7$  et  $9,6 \pm 4$  respectivement dans la condition témoin, dans la condition 1 et la condition 2 (Figure 4). Le test d'analyse de la variance sur mesure répétée a révélé qu'il existe des différences statistiquement significatives entre les conditions observées. Il s'avère qu'une exposition à la perméthrine pendant le stade précoce réduit significativement le nombre d'œufs produits par rapport au groupe témoins (Figure 4). En plus, aucune dose dépendante significative n'a été renseigné dans cette étude bien qu'une tendance soit visible. Il est donc visible que la présence de la perméthrine suffit pour induire des effets réducteurs sur la ponte.

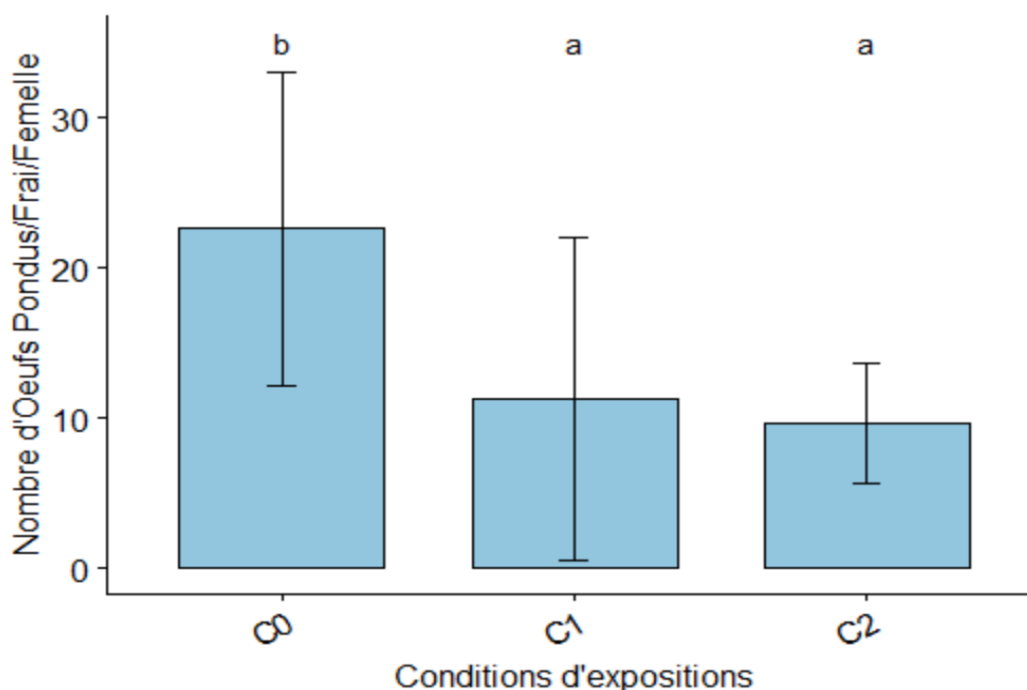


Figure 4. Effet de la Perméthrine sur le nombre d'œufs Pondus /femelle/Frai. *Légende.* C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16).

En ce qui concerne la ponte cumulée, l'exposition à la perméthrine a réduit les performances de reproduction de *N. furzeri* (Figure 5). Cette réduction est de l'ordre de 1,7 fois moins d'œufs produits dans la condition C1 et 2,14 fois moins dans la condition C2, comparativement au témoin. Ces nombres sont de l'ordre de 315 (C0), 176 (C1) et 168 (C2) œufs pondus sur l'ensemble de la période de reproduction.

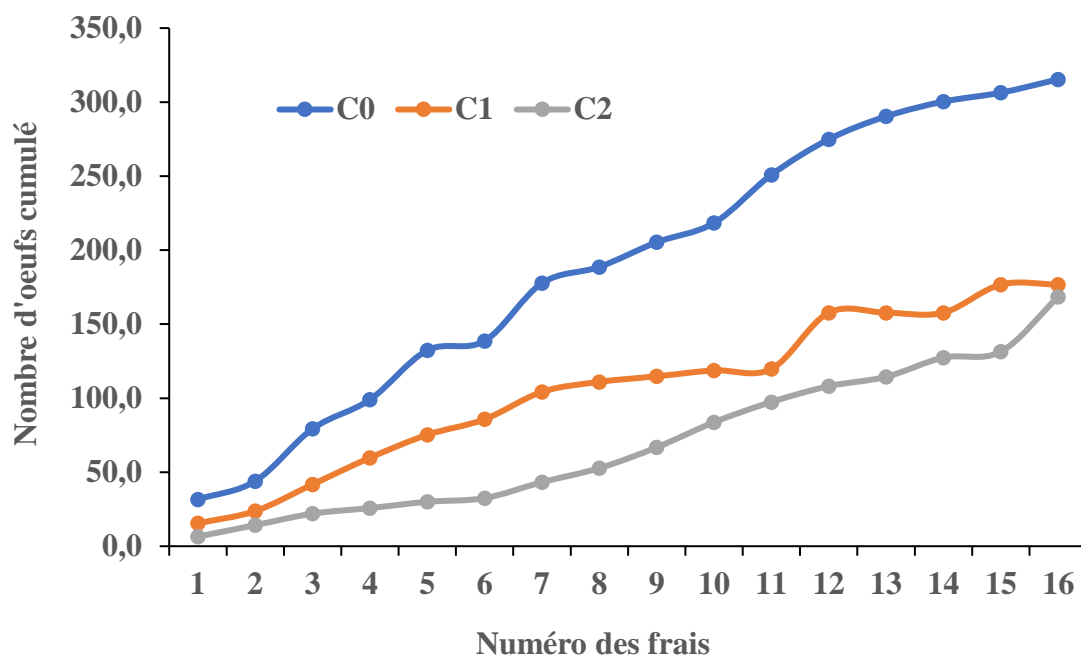


Figure 5. Le nombre d'œufs cumulé en fonction des conditions d'expositions. *Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Permethrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Permethrine*

### 3.2. Effet de la perméthrine sur le taux de fécondation

Les résultats sur la figure 6 montrent les effets de l'exposition à la Permethrine au stade larvaire de *N. furzeri* sur le taux de fécondation des œufs. Pour l'ensemble des conditions, les taux de fécondation moyen de l'ordre de 90,4% (C0), 95,2% (C1) et 90,06% (C2) ont été enregistré. Il ressort des analyses statistiques qu'il n'existe aucune différence significative entre le taux de fécondation des œufs.

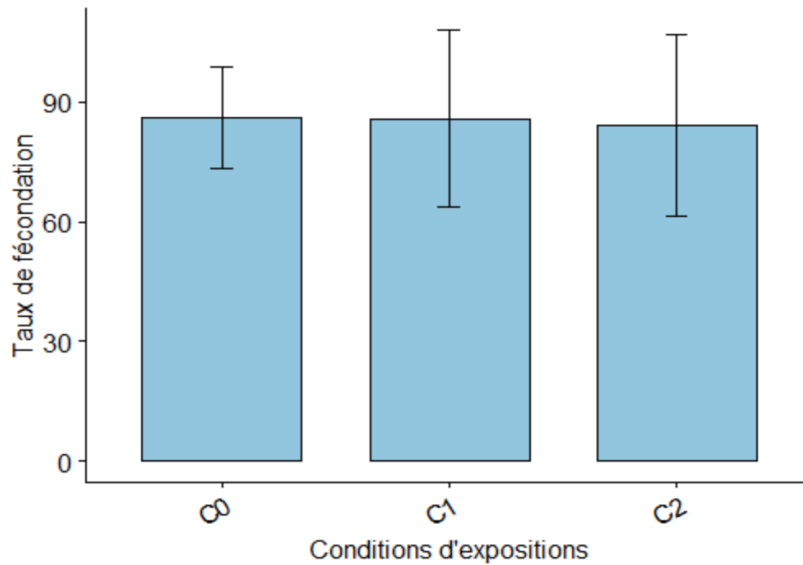


Figure 6. Effet d'une exposition au stade larvaire de *N. furzeri* le taux de fécondation (%) en fonction des différentes concentrations d'exposition. *Légende.* C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16)

### 3.3. Effet de la Perméthrine sur le Taux de Viabilité

Suivant les données sur la figure 7, le taux de viabilité varie de 56,2% (C0), 53,6% (C1 : 100µg/l) et 50,3% (C2 :10µg/l). Il ressort cependant des résultats de l'analyse de variance sur mesures répétées aucune différence significative entre conditions au seuil de 5% (0,05).

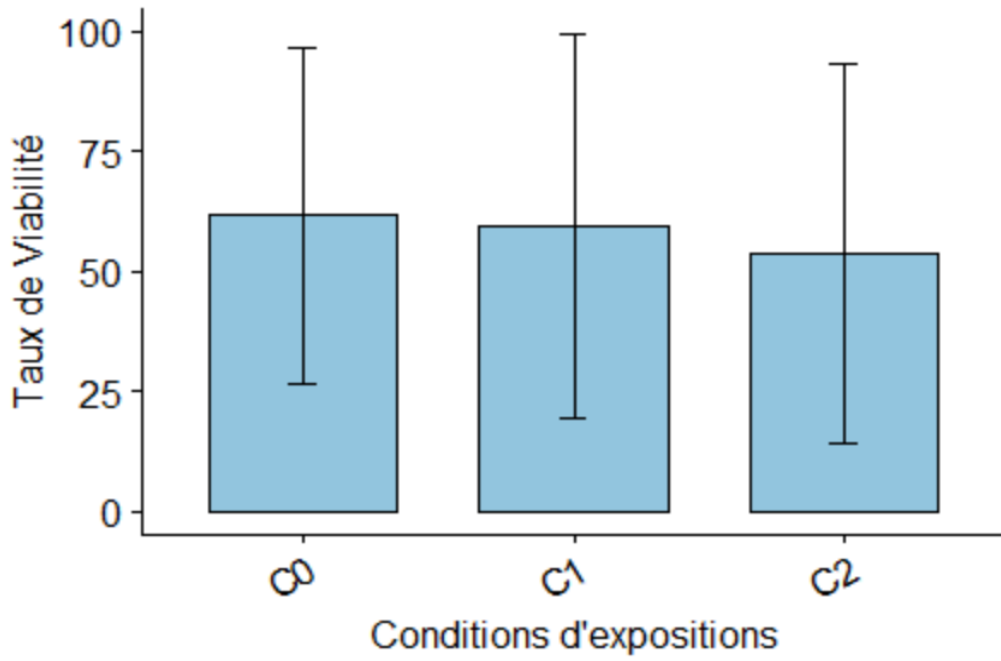


Figure 7. Effet d'une exposition précoce à la Perméthrine sur le taux de viabilité (%) des œufs à 48 heures post-ponte. *Légende. C0 = groupe témoin sans exposition ; C1 : groupe exposé à une dose de 100 µg/l de la Perméthrine ; C2 : groupe exposé à une dose de 10 µg/l de la Perméthrine ; barres sur les graphes représente les écarts types (n=16)*

## 4. Discussion

Les pesticides pyréthrinoïdes sont renseignés comme une classe des produits chimiques perturbateurs endocriniens (N. Wang et al., 2016) ; ils peuvent selon Zhang et al., interférer avec la biosynthèse, le métabolisme ou l'action des hormones, puis provoquer un contrôle sur la reproduction des organismes (Q. Zhang et al., 2017). En plus, ils peuvent présenter une toxicité pour le développement des organismes aquatiques en perturbant les gènes des récepteurs nucléaires (NR) (Tu et al., 2016). Cependant, selon Zhang et al., des connaissances sur la capacité pyréthrinoïdes particulièrement la perméthrine comme perturbateurs endocriniens de la reproduction sont encore limitées et doivent être explorées (Q. Zhang et al., 2017) surtout sur les organismes vivant exposés au bas âge et à des concentrations pertinentes pour l'environnement. En revanche, il a été signalé que, les organismes sont extrêmement sensibles aux polluants xénobiotiques au stade précoce de leur développement (N. Wang et al., 2016; Q. Zhang et al., 2017). Des études antérieures ont montré que les réponses des organismes vivant aux perturbateurs endocriniens variaient en fonction des stades de développement (Y. Y. Chen & Chan, 2016). Ainsi donc, Il existe une association entre l'exposition aux produits chimiques pendant les périodes critiques du développement et le risque de dysfonctionnement dans l'organisme plus tard dans la vie (Schug et al., 2013).

### 4.1. Effet de la perméthrine sur le succès de la reproduction de *N. furzeri* exposé au stade larvaire

Les résultats de notre étude montrent qu'une exposition précoce des *N. furzeri* entraîne des graves dommages sur le plan reproductif à l'âge adulte, dans ce sens que la simple présence de la perméthrine a conduit à une réduction de presque la moitié du nombre d'œufs pondus par rapport aux témoins. Ceci suggère que la perméthrine entraîne une toxicité pour la reproduction de *N. furzeri* en baissant sensiblement le nombre d'œufs pondus. Cette baisse peut être expliquée par le fait que les pesticides pyréthrinoïdes sont renseignés comme une classe des produits chimiques perturbateurs endocriniens (N. Wang et al., 2016); qui peuvent selon Zhang et al., interférer avec la biosynthèse, le métabolisme ou l'action des hormones, puis provoquer un contrôle sur la reproduction des organismes (Q. Zhang et al., 2017). Des études antérieures ont démontré que les pesticides de la famille des pyréthrinoïdes, comme la cyperméthrine et la bifenthrine, avaient également des effets néfastes sur la reproduction des poissons (F. Cao et al., 2016). Ces auteurs ont rapporté des baisses de ponte dans les groupes des poissons exposés. Par conséquent, il est raisonnable de supposer que la diminution de la capacité de reproduction causée par la perméthrine dans notre étude serait attribuée aux effets connus des pesticides sur

le développement gonadique des poissons ; qui selon Chen et al., un retard de développement des gonades se produit dans les lots des larves des poissons zèbres exposés aux perturbateurs endocriniens (J. Chen et al., 2017), ce qui rend les premiers stades de la vie plus sensibles à une exposition aux pesticides. Ceci pourrait être aussi le cas avec nos observations sur le *N. furzeri* suggérant qu'une exposition au stade larvaire à la perméthrine pourrait impacter le développement des gonades et entraîner ainsi des troubles de la reproduction à l'âge adulte. Les observations de Cao et al., expliquent la diminution de la capacité de reproduction des poissons exposés à l'azoxytrobine par un retardement du développement gonadique qu'entraîne cette molécule (F. Cao et al., 2016).

Une autre hypothèse alternative est que certains récepteurs nucléaires seraient supprimés ou leurs activités seraient baisser par une exposition à la perméthrine. Les observations de Zhang et al. ont rapporté que la perméthrine a supprimé l'expression de l'AR dans les larves de poisson zèbre, (Q. Zhang et al., 2017). Ceci a été signalé également par Sun et al., qui ont mis en évidence que la Perméthrine pouvait agir par l'intermédiaire du récepteur aux androgènes (AR) et ensuite endommager le système reproducteur (Sun et al., 2007). De plus, Du et al., a également révélé que la plupart des pyréthrinoïdes pourraient affecter le système endocrinien et reproducteur par le biais des récepteurs ER, AR et thyroïdiens (TR) (Du et al., 2010). Il a été renseigné que le nombre de récepteurs hormonaux nucléaires étaient des cibles potentielles pour les perturbateurs endocriniens (Goksøyr, 2006). Alors que ces récepteurs nucléaires (AR et ER), ont toutes leurs importances dans le mécanisme de reproduction et aussi dans le développement (Bookout et al., 2006). Il y a cependant une liaison entre ligand des hormones aux récepteurs stéroïdiens (ER par exemple) formant des homodimères qui initient et régulent l'expression des gènes cibles impliqués dans la reproduction (Goksøyr, 2006). Ceci fait que si ces récepteurs ont été supprimés ou leurs activités baissées chez les larves de *N. furzeri*, la coordination des processus de reproduction a été perturbée faisant en sorte que les flux d'informations régissant les mécanismes ne pouvaient plus permettre les recrutements des ovules, leurs croissances et ainsi que leurs maturations par rapport aux poissons non exposés. Parmi ces récepteurs, il y a les récepteurs des stéroïdes endocriniens (c'est-à-dire les corticostéroïdes, la progestérone, les androgènes et les œstrogènes) ; qui ensemble, jouent sur l'expression de gènes impliqués dans un large éventail de programmes de réponse reproductive (Q. Zhang et al., 2017). Pour y voir claire, des études sur l'activité des récepteurs nucléaires stéroïdiens chez les larves de *N. furzeri* exposés à la perméthrine serait un atout pour confirmer nos explications.

Cette baisse des activités des récepteurs aurait entraîné une réponse moléculaire étant donné qu'une réduction sur le niveau de ponte peut être attaché à des interférences dans les



mécanismes moléculaires comme renseignés par Lu et al., dans le mécanisme liée à la sécrétions d'hormones sexuelles et l'expressions des gènes liées à l'axe HPG dans les groupes des poissons modèles (poissons zèbres) exposé à la cyperméthrine (Lu et al., 2021). D'une part, il est pourtant connu que le développement gonadique est étroitement lié au niveau d'hormones stéroïdes sexuelles et de vitellogénine (VTG) qui eux aussi dépendent du niveau d'expressions des gènes d'intérêt impliqué dans la reproduction (J. Cao et al., 2019; Lubzens et al., 2010). D'autre part, il est connu que l'expression du VTG est étroitement liée à l'action des œstradiols, qui leur production dépend généralement de l'activité de l'aromatase qui est une enzyme produite par l'activité du gène CYP19 (cytochrome P-450) (Goksøyr, 2006). Ainsi, avec nos observations, une interférence dans l'expression des gènes d'intérêt pour la reproduction des poissons se serait produite lors du développement gonadique chez nos poissons. Une façon plus crédible serait d'analyser l'expression des gènes d'intérêt à la reproduction des poissons dont le CYP19.

Eu égard de ce qui précède, Blanc et al., ont signalé que les jeunes âges sont des périodes critiques qui, suites à des expositions peuvent entraîner des conséquences à long terme sur la santé (Blanc et al., 2020). Ces auteurs ont rapporté que les pesticides pyréthroides peuvent déclencher des changements épigénétiques pouvant conduire des changements physiologiques ou moléculaires à long terme, multigénérationnels et éventuellement transgénérationnels chez les poisson-zèbre. Ce constat nous permet d'émettre l'hypothèse que les effets observés dans notre étude s'expliqueraient en partie par un changement épigénétique. Ceci nous semble logique dans le sens que des changements épigénétiques ont également été proposés comme mécanisme pour expliquer le développement de troubles développementaux retardés dans la vie pour des espèces exposés à un âge précoce de la vie (Tran & Miyake, 2017); étant donné une plasticité cellulaire élevées à ce stade de vie (Stel & Legler, 2015). Par conséquent, il est possible que la perméthrine ait induit des changements épigénétiques dans les processus de mises en place des mécanismes de reproduction des *N. furzeri* et aussi que le développement précoce est une fenêtre critique pour l'exposition à la perméthrine et est suffisant pour provoquer des effets indésirables plus tard dans la vie.

La ponte cumulée dans notre étude était moins que celle obtenus avec des poissons témoins. Ceci suggère l'impact que peut avoir la Perméthrine sur la survie des *N. furzeri* dans le bas âge. Des explications sur la moyenne de productions d'œufs tiendraient pour expliquer cette baisse cumulée. Des diminutions des pontes cumulées ont été observées chez les poissons zèbres exposés à cyperméthrine, indiquant un impact négatif sur la capacité de reproduction des poissons (Lu et al., 2021). Après 21 jours d'exposition des poissons zèbres à l'âge adulte, Cao

et al. ont observé que la bêta-cyperméthrine entraîné une réduction marquée de la production cumulative d'œufs de 24,5 % et 34,6 % respectivement dans les groupes de 0,5 et 2,5 µg/L (F. Cao et al., 2016). Ces pourcentages de diminutions observés à l'âge adultes sont moins par rapport à 43,9% et 46,5% obtenus respectivement dans les groupes *N. furzeri* exposés à 10 µg/L et 100 µg/L de la perméthrine. Ces différences des pourcentages peuvent être liées soit à la différence des molécules utilisées bien qu'ils sont de la même famille des pesticides, soit par les doses utilisées ou soit encore par la différence d'âge d'exposition et de l'espèce. Sur ce, une étude d'exposition de *N. furzeri* au stade larvaire en comparaison d'une exposition à l'âge adulte serait important pour comprendre la période la plus critique d'exposition et aussi voir si les réponses sur la reproduction seront similaires.

Nos résultats ont également révélé que la perméthrine n'affecté par fécondation et la viabilité des œufs. Ce qui nous permet de supposer que l'exposition à bas âges ne réduisait pas la qualité des gamètes à l'âge adulte. On dirait cependant que les gamètes n'étant pas produits généralement à bas âge, une exposition précoce, jouerait sur l'ensemble des mécanismes impliqués dans le processus de formation des gamètes (expression génique, sécrétions d'hormones et leurs rétroactions etc.) et non dans leurs constitutions

#### **4.2. Implications écologiques et évolutives de notre étude**

Des analyses comportementales de la reproduction n'ont pas été abordées dans notre étude. Néanmoins elles ont toutes leurs importances pour expliquer la diminution des pontes chez le *N. furzeri*. Il a été renseigné que des poissons exposés aux perturbateurs endocriniens réduisaient leur comportement sexuel (Söffker & Tyler, 2012) ou une fréquence de collage aux femelles réduites (Brian et al., 2006). En revanche, il se serait produit lors de l'accouplement des poissons des baisses des parades nuptiales (comportements copulatoires) des *N. furzeri* mâles envers les femelles. Ce qui peut entraîner ainsi la baisse des pontes étant donné que ces poissons déposent leurs œufs qu'en présence d'un mâle proactif sexuellement (Polačik et al., 2016; Reichard et al., 2022). Une étude menée au sein du laboratoire LEAP (étude du projet KE20352 : données en cours de publication) a mis en évidence que les réserves énergétiques de *N. furzeri* étaient significativement impactés par une exposition précoce à la perméthrine aux mêmes concentrations. Il a été cependant constaté lors de cette étude qu'un individu exposé à la plus forte concentration montrait des vitesses de nages qui diminuent significativement plus rapidement que les individus contrôles. Sur ce, Il est établi que l'exposition à des contaminants chimiques peut entraîner l'évolution de la résistance physiologique (Medina et al., 2007). Ces

adaptations physiologiques qui se serait produit au moment de l'exposition des larves de *N. furzeri* auraient eu des effets négatifs sur le comportement et les histoires de vie comme expliquer par Saaristo et al. via la réallocation des ressources nécessaires à la croissance et à la reproduction (Saaristo et al., 2018). Par exemple, la sélection en laboratoire pour la résistance au cadmium chez le fondule (*Heterandria formosa*) a entraîné une diminution de la fécondité, de l'espérance de vie des femelles et de la taille de la couvée (Hamilton et al., 2017). L'altération de comportement se serait déroulé lors de l'exposition des larves de *N. furzeri*, soit en perturbant les capacités sensorielles par exemple, l'incapacité à détecter les signaux chimiques (van der Sluijs et al., 2011) ou les voies physiologiques régissant et soutenant le comportement reproducteurs (Saaristo et al., 2018).

Dans la nature, cette espèce vit dans un environnement très variable d'où sa stratégie de reproduction lui permettant de produire un grand nombre d'œufs enfin de maintenir sa perpétuité (Platzer & Englert, 2016). À la vue de nos résultats, une exposition au stade larvaire de *N. furzeri* à la perméthrine réduit sensiblement la canalisation phénotype de reproduction de l'espèce comparativement aux témoins non exposés.

En effet, la réduction drastique de la ponte entrainer par une exposition au stade larvaire de *N. furzeri* à la perméthrine peut entraîner une réduction de la population au fil du temps et entraîner donc une perte supplémentaire de la diversité génétique dans la nature, en limitant ainsi le potentiel adaptatif des populations, y compris les réponses comportementales adaptatives. Ceci aurait à son tour, des conséquences au niveau communautaire et peut altérer le fonctionnement de l'écosystème dans le sens qu'ils pourraient y avoir des nouvelles formes d'interactions écologiques, par exemple une réduction de la population de *N. furzeri* induirait un changement de proie en raison de changements dans le comportement prédateur (Weis & Candelmo, 2012), et en plus donc participer à l'érosion spécifique.

## Conclusion

L'objectif général de ce travail était d'évaluer le succès de la reproduction de *N. furzeri* exposé à la perméthrine. Il s'agissait d'une manière spécifique à (i) déterminer l'effet de la perméthrine sur le nombre moyen d'œufs pondus par frai et le nombre cumulé des œufs, et à (ii) évaluer l'impact de l'exposition de *N. furzeri* au stade précoce à la perméthrine sur la fécondation et le taux de la viabilité des œufs à 48 heures.

Nos résultats montrent que l'exposition des larves de *N. furzeri* aux doses de la perméthrine entraîne une perturbation partielle sur le succès de la reproduction à l'âge adulte matérialisée à travers la réduction de la performance des pontes des œufs. Nos résultats soulignent un effet dépressif de la perméthrine qui a induit une réduction du nombre moyens d'œufs pondus par frai de près de la moitié, observation fait aussi sur les pontes cumulées. En outre, en raison de l'intervalle de temps relativement long qui sépare la période d'exposition et l'âge adultes, l'impact de la perméthrine sur la fécondation et la viabilité des œufs à 48 heures après ponte a été moins prononcé, des différences non significatives ayant été notées sur ces deux paramètres. En conclusion, une exposition de *N. furzeri* au stade larvaire à la perméthrine impacte négativement le succès de la reproduction une fois arrivé à l'âge adulte. Les répercussions de la dégradation environnementale liée à la présence de la perméthrine risque de compromettre dangereusement la pérennité de de *N. furzeri* dans des environnements contaminés.

Néanmoins, il importe aussi d'améliorer la compréhension de la réponse moléculaire de *N. furzeri* à la perméthrine par l'évaluation des effets de l'exposition précoce sur les mécanismes épigénétiques autour des gènes d'intérêt impliqués dans la différenciation sexuelle et dans la reproduction d'une part. D'autre part, sur l'expression des gènes d'intérêts à la reproduction et en plus des études histologiques seront importantes pour déterminer comment l'exposition développementale à la perméthrine perturbe le développement des gonades et la gamétogénèse de *N. furzeri* à l'âge adulte.

## Bibliographies

- Aluru, N. (2017). Epigenetic effects of environmental chemicals : Insights from zebrafish. *Current Opinion in Toxicology*, 6, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.07.004>
- Andersen, I. S., Lindeman, L. C., Reiner, A. H., Østrup, O., Aanes, H., Aleström, P., & Collas, P. (2013). Epigenetic marking of the zebrafish developmental program. *Current topics in developmental biology*, 104, 85-112.
- Astre, G., Moses, E., & Harel, I. (2022). Chapter 11 - The African turquoise killifish (*Nothobranchius furzeri*) : Biology and research applications. In L. D'Angelo & P. de Girolamo (Éds.), *Laboratory Fish in Biomedical Research* (p. 245-287). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821099-4.00011-0>
- Blanc, M., Cormier, B., Hyötyläinen, T., Krauss, M., Scherbak, N., Cousin, X., & Keiter, S. H. (2020). Multi- and transgenerational effects following early-life exposure of zebrafish to permethrin and coumarin 47 : Impact on growth, fertility, behavior and lipid metabolism. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 205, 111348. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111348>
- Blanc, M., Rüegg, J., Scherbak, N., & Keiter, S. H. (2019). Environmental chemicals differentially affect epigenetic-related mechanisms in the zebrafish liver (ZF-L) cell line and in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 215, 105272. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105272>
- Blažek, R., Polačik, M., & Reichard, M. (2013). Rapid growth, early maturation and short generation time in African annual fishes. *EvoDevo*, 4(1), 24. <https://doi.org/10.1186/2041-9139-4-24>
- Bookout, A. L., Jeong, Y., Downes, M., Yu, R. T., Evans, R. M., & Mangelsdorf, D. J. (2006). Anatomical Profiling of Nuclear Receptor Expression Reveals a Hierarchical Transcriptional Network. *Cell*, 126(4), 789-799. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.06.049>
- Bordoni, L., Nasuti, C., Mirto, M., Caradonna, F., & Gabbianelli, R. (2015). Intergenerational effect of early life exposure to permethrin : Changes in global DNA methylation and in Nurr1 gene expression. *Toxics*, 3(4), 451-461.

- Brander, S. M. (2013). Thinking outside the box : Assessing endocrine disruption in aquatic life. *Monitoring water quality: Pollution assessment, analysis, and remediation*, 103-147.
- Brander, S. M., He, G., Smalling, K. L., Denison, M. S., & Cherr, G. N. (2012). The in vivo estrogenic and in vitro anti-estrogenic activity of permethrin and bifenthrin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(12), 2848-2855.
- Brander, S. M., Jeffries, K. M., Cole, B. J., DeCourten, B. M., White, J. W., Hasenbein, S., Fanguie, N. A., & Connon, R. E. (2016). Transcriptomic changes underlie altered egg protein production and reduced fecundity in an estuarine model fish exposed to bifenthrin. *Aquatic Toxicology*, 174, 247-260. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.014>
- Brian, J. V., Augley, J., & Braithwaite, V. (2006). Endocrine disrupting effects on the nesting behaviour of male three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. *Journal of fish biology*, 68(6), 1883-1890.
- Brunet, A. (2020). Old and new models for the study of human ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21(9), 491-493. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0266-4>
- Calvanese, V., Lara, E., Kahn, A., & Fraga, M. F. (2009). The role of epigenetics in aging and age-related diseases. *Ageing Research Reviews*, 8(4), 268-276. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2009.03.004>
- Cao, F., Zhu, L., Li, H., Yu, S., Wang, C., & Qiu, L. (2016). Reproductive toxicity of azoxystrobin to adult zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 219, 1109-1121. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.015>
- Cao, J., Wang, G., Wang, T., Chen, J., Wenjing, G., Wu, P., He, X., & Xie, L. (2019). Copper caused reproductive endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 211, 124-136. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.003>
- Cellerino, A., Valenzano, D. R., & Reichard, M. (2016). From the bush to the bench : The annual *Nothobranchius* fishes as a new model system in biology. *Biological Reviews*, 91(2), 511-533. <https://doi.org/10.1111/brv.12183>
- Cheedipudi, S., Genolet, O., & Dobрева, G. D. (2014). Epigenetic inheritance of cell fates during embryonic development. *Frontiers in genetics*, 5, 19.
- Chen, J., Saili, K. S., Liu, Y., Li, L., Zhao, Y., Jia, Y., Bai, C., Tanguay, R. L., Dong, Q., & Huang, C. (2017). Developmental bisphenol A exposure impairs sperm

- function and reproduction in zebrafish. *Chemosphere*, 169, 262-270. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.089>
- 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<sup>2+</sup> and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Chemosphere*, 147, 467-476. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.083>
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Chapter 22—Epigenetics and Epigenomics. In D. P. Clark, N. J. Pazdernik, & M. R. McGehee (Éds.), *Molecular Biology (Third Edition)* (p. 691-710). Academic Cell. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00022-7>
- Clelland, E., & Peng, C. (2009). Endocrine/paracrine control of zebrafish ovarian development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 312(1), 42-52. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.04.009>
- Costa, W. J. E. M. (2018). Comparative morphology, phylogeny and classification of African seasonal killifishes of the tribe Nothobranchiini (Cyprinodontiformes : Aplocheilidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 184(1), 115-135. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlx102>
- Cycoń, M., & Piotrowska-Seget, Z. (2016). Pyrethroid-Degrading Microorganisms and Their Potential for the Bioremediation of Contaminated Soils : A Review. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01463>
- Delgado-Moreno, L., Lin, K., Veiga-Nascimento, R., & Gan, J. (2011). Occurrence and Toxicity of Three Classes of Insecticides in Water and Sediment in Two Southern California Coastal Watersheds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9448-9456. <https://doi.org/10.1021/jf202049s>
- Di Cicco, E., Tozzini, E. T., Rossi, G., & Cellerino, A. (2011). The short-lived annual fish *Nothobranchius furzeri* shows a typical teleost aging process reinforced by high incidence of age-dependent neoplasias. *Experimental Gerontology*, 46(4), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.10.011>
- Ensminger, M., Bergin, R., Spurlock, F., & Goh, K. S. (2011). Pesticide concentrations in water and sediment and associated invertebrate toxicity in Del Puerto and Orestimba Creeks, California, 2007–2008. *Environmental monitoring and assessment*, 175(1), 573-587.

- Evason, K., Huang, C., Yamben, I., Covey, D. F., & Kornfeld, K. (2005). Anticonvulsant medications extend worm life-span. *science*, 307(5707), 258-262.
- Ewence, A., Brescia, S., Johnson, I., & Rumsby, P. C. (2015). An approach to the identification and regulation of endocrine disrupting pesticides. *Food and Chemical Toxicology*, 78, 214-220. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.011>
- Feil, R., & Fraga, M. F. (2012). Epigenetics and the environment : Emerging patterns and implications. *Nature reviews genetics*, 13(2), 97-109.
- Freedonia Group. (2021). *Global Pesticides*. <https://www.marketresearch.com/Freedonia-Group-Inc-v1247/Global-Pesticides-30079028/>
- Genade, T., Benedetti, M., Terzibasi, E., Roncaglia, P., Valenzano, D. R., Cattaneo, A., & Cellerino, A. (2005). Annual fishes of the genus *Nothobranchius* as a model system for aging research. *Aging Cell*, 4(5), 223-233. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2005.00165.x>
- Gluckman, P. D., Hanson, M. A., & Spencer, H. G. (2005). Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(10), 527-533. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.08.001>
- Goksøyr, A. (2006). Endocrine Disruptors in the Marine Environment : Mechanisms of Toxicity and their Influence on Reproductive Processes in Fish. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 69(1-2), 175-184. <https://doi.org/10.1080/15287390500259483>
- Grégoir, A. F., Thoré, E. S. J., Philippe, C., Pinceel, T., Brendonck, L., & Vanschoenwinkel, B. (2018). Squeezing out the last egg-annual fish increase reproductive efforts in response to a predation threat. *Ecology and Evolution*, 8(13), 6390-6398. <https://doi.org/10.1002/ece3.3422>
- Guo, D., Liu, W., Yao, T., Ma, M., Wang, Q., Qiu, J., & Qian, Y. (2021). Combined endocrine disruptive toxicity of malathion and cypermethrin to gene transcription and hormones of the HPG axis of male zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 267, 128864. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128864>
- Guo, H., Chen, A., Zhou, J., Li, Y., He, X., Chen, L., & Zhang, Y. (2022). Efficient Extraction and Determination of Carbamate Pesticides in Vegetables Based on a Covalent Organic Frameworks with Acylamide Sites. *Journal of Chromatography A*, 1664, 462799. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462799>



- Hamilton, P. B., Rolshausen, G., Uren Webster, T. M., & Tyler, C. R. (2017). Adaptive capabilities and fitness consequences associated with pollution exposure in fish. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712), 20160042. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0042>
- Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution : Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(3), 207-220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>
- Hedlund, J., Longo, S. B., & York, R. (2020). Agriculture, Pesticide Use, and Economic Development : A Global Examination (1990–2014). *Rural Sociology*, 85(2), 519-544. <https://doi.org/10.1111/ruso.12303>
- Henderson, D. W., & Small, B. C. (2019). Rapid acclimation of the cortisol stress response in adult turquoise killifish *Nothobranchius furzeri*. *Laboratory Animals*, 53(4), 383-393. <https://doi.org/10.1177/0023677218793441>
- Imai, K., Yoshinaga, J., Yoshikane, M., Shiraishi, H., Mieno, M. N., Yoshiike, M., Nozawa, S., & Iwamoto, T. (2014). Pyrethroid insecticide exposure and semen quality of young Japanese men. *Reproductive Toxicology*, 43, 38-44. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.10.010>
- Jacobs, M. N., Marczylo, E. L., Guerrero-Bosagna, C., & Rüegg, J. (2017). Marked for life : Epigenetic effects of endocrine disrupting chemicals. *Annual Review of Environment and Resources*, 42, 105-160.
- Khan, S., Anjum, R., & Bilal, M. (2021). Revealing chemical speciation behaviors in aqueous solutions for uranium (VI) and europium (III) adsorption on zeolite. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101503. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101503>
- Kidd, K. A., Blanchfield, P. J., Mills, K. H., Palace, V. P., Evans, R. E., Lazorchak, J. M., & Flick, R. W. (2007). Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(21), 8897-8901.
- Klose, R. J., & Bird, A. P. (2006). Genomic DNA methylation : The mark and its mediators. *Trends in Biochemical Sciences*, 31(2), 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.12.008>
- Koureas, M., Tsakalof, A., Tsatsakis, A., & Hadjichristodoulou, C. (2012). Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes.

- Toxicology Letters*, 210(2), 155-168.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.10.007>
- Kovalchuk, I. (2012). Transgenerational Epigenetic Inheritance in Animals. *Frontiers in Genetics*, 3. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00076>
- Kuivila, K. M., Hladik, M. L., Ingersoll, C. G., Kemble, N. E., Moran, P. W., Calhoun, D. L., Nowell, L. H., & Gilliom, R. J. (2012). Occurrence and potential sources of pyrethroid insecticides in stream sediments from seven US metropolitan areas. *Environmental science & technology*, 46(8), 4297-4303.
- Ladd-Acosta, C. (2015). Epigenetic signatures as biomarkers of exposure. *Current environmental health reports*, 2(2), 117-125.
- Lazarovici, A., Zhou, T., Shafer, A., Dantas Machado, A. C., Riley, T. R., Sandstrom, R., Sabo, P. J., Lu, Y., Rohs, R., Stamatoyannopoulos, J. A., & Bussemaker, H. J. (2013). Probing DNA shape and methylation state on a genomic scale with DNase I. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(16), 6376-6381. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216822110>
- Lu, J., Wu, Q., Yang, Q., Li, G., Wang, R., Liu, Y., Duan, C., Duan, S., He, X., Huang, Z., Peng, X., Yan, W., & Jiang, J. (2021). Molecular mechanism of reproductive toxicity induced by beta-cypermethrin in zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 239, 108894. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108894>
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., & Cerdà, J. (2010). Oogenesis in teleosts : How fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 367-389. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.022>
- Ma, Y., Han, J., Guo, Y., Lam, P. K. S., Wu, R. S. S., Giesy, J. P., Zhang, X., & Zhou, B. (2012). Disruption of endocrine function in in vitro H295R cell-based and in vivo assay in zebrafish by 2,4-dichlorophenol. *Aquatic Toxicology*, 106-107, 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.11.006>
- Mahajan, R., Verma, S., Chandel, S., & Chatterjee, S. (2022). Chapter 24—Organophosphate pesticide : Usage, environmental exposure, health effects, and microbial bioremediation. In S. Das & H. R. Dash (Éds.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation (Second Edition)* (p. 473-490). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85455-9.00013-8>

- Manikkam, M., Haque, M. M., Guerrero-Bosagna, C., Nilsson, E. E., & Skinner, M. K. (2014). Pesticide methoxychlor promotes the epigenetic transgenerational inheritance of adult-onset disease through the female germline. *PLoS one*, 9(7), e102091.
- MarketResearch, G. (2021). *Global Synthetic Pyrethroids Market Growth 2021-2026*. MarketResearch. <https://www.marketresearch.com/LP-Information-Inc-v4134/Global-Synthetic-Pyrethroids-Growth-14812096/>
- Medina, M. H., Correa, J. A., & Barata, C. (2007). Micro-evolution due to pollution : Possible consequences for ecosystem responses to toxic stress. *Chemosphere*, 67(11), 2105-2114. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.024>
- Moore, A., & Waring, C. P. (2001). The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquatic Toxicology*, 52(1), 1-12. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)00133-8](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(00)00133-8)
- Murphy, W. J., & Collier, G. E. (1996). Phylogenetic relationships within the aplocheiloid fish genus *Rivulus* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) : Implications for Caribbean and Central American biogeography. *Molecular biology and evolution*. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.MOLBEV.A025624>
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical pesticides and human health : The urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in public health*, 4, 148.
- Nillos, M. G., Chajkowski, S., Rimoldi, J. M., Gan, J., Lavado, R., & Schlenk, D. (2010). Stereoselective biotransformation of permethrin to estrogenic metabolites in fish. *Chemical Research in Toxicology*, 23(10), 1568-1575.
- O'Donnell, K. J., & Glover, V. (2016). Chapter 7 - Maternal Prenatal Stress and the Developmental Origins of Mental Health : The Role of Epigenetics. In C. S. Rosenfeld (Éd.), *The Epigenome and Developmental Origins of Health and Disease* (p. 103-126). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801383-0.00007-4>
- Olutona, G. O., Olatunji, S. O., & Obisanya, J. F. (2016). Downstream assessment of chlorinated organic compounds in the bed-sediment of Aiba Stream, Iwo, South-Western, Nigeria. *SpringerPlus*, 5(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1664-0>
- Ortiz-Hernández, M. L., Sánchez-Salinas, E., Olvera-Velona, A., & Folch-Mallol, J. L. (2011). *Pesticides in the environment : Impacts and their biodegradation as a strategy for residues treatment*.

- Paravani, E. V., Simoniello, M. F., Poletta, G. L., Zolessi, F. R., & Casco, V. H. (2018). Cypermethrin : Oxidative stress and genotoxicity in retinal cells of the adult zebrafish. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 826, 25-32.
- Platzer, M., & Englert, C. (2016). *Nothobranchius furzeri* : A Model for Aging Research and More. *Trends in Genetics*, 32(9), 543-552. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2016.06.006>
- Polačik, M., Blažek, R., & Reichard, M. (2016). Laboratory breeding of the short-lived annual killifish *Nothobranchius furzeri*. *Nature Protocols*, 11(8), 1396-1413. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.080>
- Polačik, M., & Reichard, M. (2010). Diet overlap among three sympatric African annual killifish species *Nothobranchius* spp. From Mozambique. *Journal of Fish Biology*, 77(3), 754-768.
- Pundir, C. S., Malik, A., & Preeti. (2019). Bio-sensing of organophosphorus pesticides : A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 140, 111348. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111348>
- Rajmohan, K. S., Chandrasekaran, R., & Varjani, S. (2020). A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. *Indian Journal of Microbiology*, 60(2), 125-138. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00841-x>
- Rani, R., Kumar, V., & Gupta, P. (2022). Chapter 16 - Plant growth-promoting rhizobacteria-assisted bioremediation of toxic contaminant : Recent advancements and applications. In S. Das & H. R. Dash (Éds.), *Microbial Biodegradation and Bioremediation (Second Edition)* (p. 327-341). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85455-9.00003-5>
- Reichard, M., Blažek, R., Dyková, I., Žák, J., & Polačik, M. (2022). Chapter 12—Challenges in keeping annual killifish. In L. D'Angelo & P. de Girolamo (Éds.), *Laboratory Fish in Biomedical Research* (p. 289-310). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821099-4.00001-8>
- Reichard, M., & Polačik, M. (2019). *Nothobranchius furzeri*, an « instant » fish from an ephemeral habitat. *ELife*, 8. <https://doi.org/10.7554/elife.41548>
- Reichard, M., Polacik, M., & Sedláček, O. (2009). Distribution, colour polymorphism and habitat use of the African killifish *Nothobranchius furzeri*, the vertebrate with

- the shortest life span. *Journal of Fish Biology*, 74(1), 198-212.  
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02129.x>
- Rempel, M. A., & Schlenk, D. (2008). Effects of environmental estrogens and antiandrogens on endocrine function, gene regulation, and health in fish. *International review of cell and molecular biology*, 267, 207-252.
- Renfree, M. B., & Shaw, G. (2000). Diapause. *Annual Review of Physiology*, 62, 353-375.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.62.1.353>
- Roma, G. C., De Oliveira, P. R., Araujo, A. M., Bechara, G. H., & Mathias, M. I. C. (2012). Genotoxic and mutagenic effects of permethrin in mice : Micronuclei analysis in peripheral blood erythrocytes. *Microscopy Research and Technique*, 75(12), 1732-1736. <https://doi.org/10.1002/jemt.22124>
- Rosenfeld, C. S. (2010). Animal models to study environmental epigenetics. *Biology of reproduction*, 82(3), 473-488.
- Saaristo, M., Brodin, T., Balshine, S., Bertram, M. G., Brooks, B. W., Ehlman, S. M., McCallum, E. S., Sih, A., Sundin, J., Wong, B. B. M., & Arnold, K. E. (2018). Direct and indirect effects of chemical contaminants on the behaviour, ecology and evolution of wildlife. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1885), 20181297.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1297>
- Saillenfait, A.-M., Ndiaye, D., & Sabaté, J.-P. (2016). The estrogenic and androgenic potential of pyrethroids in vitro. Review. *Toxicology in Vitro*, 34, 321-332.  
<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.02.020>
- Schug, T. T., Barouki, R., Gluckman, P. D., Grandjean, P., Hanson, M., & Heindel, J. J. (2013). PPTOX III: environmental stressors in the developmental origins of disease—Evidence and mechanisms. *Toxicological Sciences*, 131(2), 343-350.
- Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J.-J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 390-411.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013>
- Segner, H., Casanova-Nakayama, A., Kase, R., & Tyler, C. R. (2013). Impact of environmental estrogens on Yfish considering the diversity of estrogen signaling. *General and Comparative Endocrinology*, 191, 190-201.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.05.015>

- Shahsavari, A. A., Khodaei, K., Asadian, F., Ahmadi, F., & Zamanzadeh, S. M. (2012). Groundwater pesticides residue in the southwest of Iran-Shushtar plain. *Environmental Earth Sciences*, 65(1), 231-239.
- Shalaby, S., & Abdou, G. (2010). The influence of soil microorganisms and bio-or-organic fertilizers on dissipation of some pesticides in soil and potato tubers. *Journal of plant protection Research*.
- Sharma, R., & Jindal, R. (2022). In vivo genotoxic effects of commercial grade cypermethrin on fish peripheral erythrocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/em.22484>
- Shader, D. L., Williams, T. D., Lyons, B. P., & Chipman, J. K. (2006). Oxidative stress response of European flounder (*Platichthys flesus*) to cadmium determined by a custom cDNA microarray. *Marine Environmental Research*, 62(1), 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2006.03.001>
- Söffker, M., & Tyler, C. R. (2012). Endocrine disrupting chemicals and sexual behaviors in fish – a critical review on effects and possible consequences. *Critical Reviews in Toxicology*, 42(8), 653-668. <https://doi.org/10.3109/10408444.2012.692114>
- Stel, J., & Legler, J. (2015). The Role of Epigenetics in the Latent Effects of Early Life Exposure to Obesogenic Endocrine Disrupting Chemicals. *Endocrinology*, 156(10), 3466-3472. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1434>
- Stout II, D. M., Bradham, K. D., Egeghy, P. P., Jones, P. A., Croghan, C. W., Ashley, P. A., Pinzer, E., Friedman, W., Brinkman, M. C., Nishioka, M. G., & Cox, D. C. (2009). American Healthy Homes Survey : A National Study of Residential Pesticides Measured from Floor Wipes. *Environmental Science & Technology*, 43(12), 4294-4300. <https://doi.org/10.1021/es8030243>
- Sun, H., Xu, X.-L., Xu, L.-C., Song, L., Hong, X., Chen, J.-F., Cui, L.-B., & Wang, X.-R. (2007). Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay. *Chemosphere*, 66(3), 474-479. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.05.059>
- Susiarjo, M. (2016). Chapter 4 - Introduction to Epigenetic Mechanisms : The Probable Common Thread for Various Developmental Origins of Health and Diseases Effects. In C. S. Rosenfeld (Éd.), *The Epigenome and Developmental Origins of Health and Disease* (p. 49-62). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801383-0.00004-9>

- Tang, W., Wang, D., Wang, J., Wu, Z., Li, L., Huang, M., Xu, S., & Yan, D. (2018a). Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. *Chemosphere*, *191*, 990-1007. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.115>
- Tang, W., Wang, D., Wang, J., Wu, Z., Li, L., Huang, M., Xu, S., & Yan, D. (2018b). Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. *Chemosphere*, *191*, 990-1007. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.115>
- Taylor, D. S., Turner, B. J., Davis, W. P., & Chapman, B. B. (2008). A Novel Terrestrial Fish Habitat inside Emergent Logs. *The American Naturalist*, *171*(2), 263-266. <https://doi.org/10.1086/524960>
- Terzibasi, E., Valenzano, D. R., & Cellerino, A. (2007). The short-lived fish *Nothobranchius furzeri* as a new model system for aging studies. *Experimental Gerontology*, *42*(1-2), 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2006.06.039>
- Tran, N. Q. V., & Miyake, K. (2017). Neurodevelopmental Disorders and Environmental Toxicants: Epigenetics as an Underlying Mechanism. *International Journal of Genomics*, *2017*, e7526592. <https://doi.org/10.1155/2017/7526592>
- Tu, W., Xu, C., Jin, Y., Lu, B., Lin, C., Wu, Y., & Liu, W. (2016). Permethrin is a potential thyroid-disrupting chemical: In vivo and in silico evidence. *Aquatic Toxicology*, *175*, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.03.006>
- Valdesalici, S., & Cellerino, A. (2003). Extremely short lifespan in the annual fish *Nothobranchius furzeri*. *Proceedings. Biological Sciences*, *270 Suppl 2*, S189-191. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0048>
- van der Sluijs, I., Gray, S. M., Amorim, M. C. P., Barber, I., Candolin, U., Hendry, A. P., Krahe, R., Maan, M. E., Utne-Palm, A. C., Wagner, H.-J., & Wong, B. B. M. (2011). Communication in troubled waters: Responses of fish communication systems to changing environments. *Evolutionary Ecology*, *25*(3), 623-640. <https://doi.org/10.1007/s10682-010-9450-x>
- Villeneuve, D. L., Blake, L. S., Brodin, J. D., Cavallin, J. E., Durhan, E. J., Jensen, K. M., Kahl, M. D., Makynen, E. A., Martinović, D., & Mueller, N. D. (2008). Effects of a 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor, trilostane, on the fathead minnow reproductive axis. *Toxicological sciences*, *104*(1), 113-123.
- Wang, D., Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2009). Method development for the analysis of organophosphate and pyrethroid insecticides at low parts per trillion levels in water. *Talanta*, *78*(4), 1345-1351. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.02.012>

- Wang, N., Huang, M., Guo, X., & Lin, P. (2016). Urinary Metabolites of Organophosphate and Pyrethroid Pesticides and Neurobehavioral Effects in Chinese Children. *Environmental Science & Technology*, *50*(17), 9627-9635. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01219>
- Wang, W., Huang, C. J., Zhang, M. C., Zhou, Q., & Li, A. M. (2013). Study on status of regional water pollution by pesticides in China. *Environ Protec Sci*, *39*(5), 5-9.
- Wang, X., Wang, D., Qin, X., & Xu, X. (2008). Residues of organochlorine pesticides in surface soils from college school yards in Beijing, China. *Journal of Environmental Sciences*, *20*(9), 1090-1096. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62154-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62154-3)
- Weis, J. S., & Candelmo, A. (2012). Pollutants and fish predator/prey behavior : A review of laboratory and field approaches. *Current Zoology*, *58*(1), 9-20. <https://doi.org/10.1093/czoolo/58.1.9>
- Weston, D. P., Holmes, R. W., You, J., & Lydy, M. J. (2005). Aquatic toxicity due to residential use of pyrethroid insecticides. *Environmental Science & Technology*, *39*(24), 9778-9784.
- Weston, D. P., & Lydy, M. J. (2010). Urban and agricultural sources of pyrethroid insecticides to the Sacramento-San Joaquin Delta of California. *Environmental science & technology*, *44*(5), 1833-1840.
- Woo, S., Yum, S., Kim, D.-W., & Park, H.-S. (2009). Transcripts level responses in a marine medaka (*Oryzias javanicus*) exposed to organophosphorus pesticide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *149*(3), 427-432. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.10.100>
- Wood, J. G., Rogina, B., Lavu, S., Howitz, K., Helfand, S. L., Tatar, M., & Sinclair, D. (2004). Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, *430*(7000), 686-689.
- Xin, M. A. (2009). Research progress on analytical technique of pyrethroid pesticide residue. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*.
- Yang, C., Lim, W., & Song, G. (2020). Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *234*, 108758. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108758>
- Yu, L., Liu, C., Chen, Q., & Zhou, B. (2014). Endocrine disruption and reproduction impairment in zebrafish after long-term exposure to DE-71. *Environmental toxicology and chemistry*, *33*(6), 1354-1362.



- Zhang, Q., Zhang, Y., Du, J., & Zhao, M. (2017). Environmentally relevant levels of  $\lambda$ -cyhalothrin, fenvalerate, and permethrin cause developmental toxicity and disrupt endocrine system in zebrafish (*Danio rerio*) embryo. *Chemosphere*, *185*, 1173-1180. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.091>
- Zhang, Y., Qi, S., Xing, X., Yang, D., Devi, N. L., Qu, C., Liu, H.-X., Zhang, J.-Q., & Zeng, F.-M. (2018). Chapter 21—Legacies of Organochlorine Pesticides (OCPs) in Soil of China—A Review, and Cases in Southwest and Southeast China. In B. De Vivo, H. E. Belkin, & A. Lima (Éds.), *Environmental Geochemistry (Second Edition)* (p. 543-565). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63763-5.00022-7>
- Zhao, M., Zhang, Y., Zhuang, S., Zhang, Q., Lu, C., & Liu, W. (2014). Disruption of the hormonal network and the enantioselectivity of bifenthrin in trophoblast: Maternal–fetal health risk of chiral pesticides. *Environmental science & technology*, *48*(14), 8109-8116.
- Zucchi, S., Mirbahai, L., Castiglioni, S., & Fent, K. (2014). Transcriptional and physiological responses induced by binary mixtures of drospirenone and progesterone in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental science & technology*, *48*(6), 3523-3531.