

## Effets chroniques du Tihan 175 O-TEQ et de l'endosulfan sur la phase embryo-larvaire de *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)

Tachégnon Prudencio AGBOHESSI\*, Vincent ATCHOU et Ibrahim IMOROU TOKO

Université de Parakou, Faculté d'Agronomie, Laboratoire de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie  
Aquatique (LaRAEAq), BP 123 Parakou, Bénin

\* Correspondance, courriel : [agbohessip@yahoo.fr](mailto:agbohessip@yahoo.fr)

### Résumé

Le présent article porte sur les effets chroniques du Tihan 175 O-TEQ et de l'endosulfan (Thionex 350 EC), deux insecticides utilisés en cotonculture au Bénin, sur la phase embryo-larvaire de *Clarias gariepinus*. Les œufs de *C. gariepinus* fécondés artificiellement ont été incubés jusqu'au J5 post-fécondation dans des auges placées dans des aquariums contenant des solutions à différentes concentrations sub-léthales du Tihan ou d'endosulfan, la dose environnementale de chaque pesticide étant aussi testée. Au cours de l'exposition, les données collectées ont permis de calculer le taux de mortalité des embryons, le taux d'éclosion, le taux de survie des larves, les œufs non éclos mais avec embryons vivants et les anomalies au niveau des larves. Les résultats montrent que les mortalités les plus élevées des embryons et les œufs non éclos avec embryons vivants au terme de l'essai n'ont été enregistrés qu'avec les traitements en Tihan, cela serait lié à la facilité de passage du Tihan à travers le chorion (Facteur de Perméabilité (PF) > 70 %) qui le rend plus toxique aux embryons. Par contre, les traitements en endosulfan ont donné les taux de survie des larves les plus faibles, une immobilité et une perte de coordination des larves plus élevées indiquant la toxicité de cet insecticide aux larves. Les effets les plus accrus de l'endosulfan sur les larves ont été obtenus avec la dose environnementale montrant ainsi les dommages que subissent les poissons à ce stade de développement en milieu naturel. L'étude a montré une fois encore que les tests de toxicité sur la phase embryo-larvaire des poissons peuvent être utilisés pour déterminer les effets potentiels des polluants sur l'environnement.

**Mots-clés :** *Tihan, Thionex, effets chroniques, embryo-larvaire, Clarias gariepinus.*

### Abstract

**Chronic effects of Tihan 175 O-TEQ and endosulfan on *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) embryo-larval stage**

This article concerns the chronic effects of Tihan 175 O-TEQ and endosulfan (Thionex 350 EC), two insecticides used in cotton cultivation in Benin, on the embryo-larval phase of *Clarias gariepinus*. Artificially fertilized *C. gariepinus* eggs were incubated until post-fertilization day 5 in troughs placed in aquariums containing solutions at different sub-lethal concentrations of Tihan or endosulfan, the environmental dose of each pesticide being also tested. During the exposure, the collected data were used to calculate the embryo mortality rate, hatching rate, larval survival rate, unhatched eggs with live embryos and larval abnormalities.

The results show that the highest mortalities of embryos and unhatched eggs with live embryos at the end of the test were recorded only with Tihan treatments, this would be related to the ease of passage of Tihan through the chorion (Permeability Factor (PF) > 70 %) which makes it more toxic to embryos. In contrast, endosulfan treatments gave the lowest larval survival rates, higher immobility and loss of larval coordination, indicating endosulfan toxicity to larvae. The highest effects of endosulfan on larvae were obtained with the environmental dose, showing the damage to fish at this development stage in the wild. The study once again showed that fish embryo-larval toxicity tests can be used to determine the potential effects of pollutants on the environment.

**Keywords :** *Tihan, Thionex, chronic effects, embryo-larval, Clarias gariepinus.*

## 1. Introduction

Au Bénin, le secteur de la production cotonnière est le principal moteur de croissance de l'économie nationale. Il constitue la plus grande partie de la production primaire et des exportations du pays, car représente environ 80 % des recettes d'exportations officielles et contribue à hauteur de 39 % à la formation du produit intérieur brut agricole (PIBA) [1, 2]. Les principales zones de production cotonnière sont situées au nord du Bénin, notamment au niveau des départements du Borgou et de l'Alibori qui fournissent près de 50 à 70 % de la production nationale [3]. Le coton joue donc un rôle prépondérant dans l'économie du pays. Cependant, le coton produit au Bénin est majoritairement de type conventionnel, c'est-à-dire exigeant l'utilisation d'engrais minéraux (NPK, urée, etc) et de pesticides chimiques de familles diverses (Organochlorés, Organophosphorés, Pyréthrinoides, Néonicotinoides, Benzoyphenylurées, etc) en plusieurs combinaisons, afin de lutter contre les mauvaises herbes et les insectes ravageurs de cette culture. Ces ravageurs deviennent de plus en plus nombreux surtout avec le réchauffement climatique qui leur offre de nouvelles conditions favorables [4, 5]. La prolifération de ces bio-agresseurs entraîne une augmentation des doses de pesticides et autres produits chimiques utilisés dans les champs avec de nombreuses conséquences sur l'environnement [3]. Le réchauffement climatique synonyme d'une élévation de la température entraîne aussi surtout dans nos pays où la chaleur est à son comble, une accélération de la biodégradation de ces pesticides chimiques en des dérivées plus toxiques que les produits de départ [6]. La culture du coton se révèle alors être une « culture dévastatrice de l'environnement » puisque tous ces produits chimiques utilisés dans les champs finissent par se retrouver dans les écosystèmes aquatiques qui constituent leurs réceptacles finaux [7, 8]. Le Tihan 175 O-TEQ et l'endosulfan sont des insecticides agricoles qui avaient été recommandés et utilisés pour lutter contre les ravageurs du cotonnier au Bénin [9, 10]. A notre connaissance aucune étude n'a encore prouvé l'abandon total de ses pesticides par les producteurs surtout concernant l'endosulfan dont les cotonculteurs restent très attachés en raison de son effet létal immédiat sur les ravageurs du cotonnier [3]. L'endosulfan, une matière active de la famille des Organochlorés avec un  $\log K_{ow} = 3,55$  se bioaccumulerait dans les tissus adipeux des poissons [11]. Il altère la reproduction, le développement embryonnaire et la différenciation sexuelle [12, 13]. Les doses aiguës de cet insecticide engendrent une immobilité des larves de *C. gariepinus* [6]. Le Tihan, considéré moins dommageable à l'environnement, avait été recommandé en alternatif à l'endosulfan et efficace particulièrement contre le carpophage *Helicoverpa armigera*, l'acarien *Polyphagotarsonemus latus*, le phyllophage *Sylepta derogata* et *Aphis gossipii* [10]. Le Tihan 175 O-TEQ est un binaire acaricide constitué du flubendiamide (100 g/L) et du spirotétramate (75 g/L). Le flubendiamide est la première matière active qui fait partie du groupe des diamides de l'acide phtalique ou des benzenedicarboxiamides [10, 14]. Le flubendiamide lipophile a un potentiel de bioconcentration et de bioaccumulation dans le foie et les tissus graisseux des animaux. Il provoquerait à doses aiguës une réduction

de la queue et une immobilité des larves de *C. gariepinus* [6]. Le spirotétramate ou carbonate d'éthyle est un insecticide systémique à spectre limité classé dans la catégorie des dérivés de l'acide tétramique [10, 15]. Hydrosoluble, il provoquerait à doses aiguës une perte de coordination chez les larves de *C. gariepinus* [6]. Des études ont montré l'effet néfaste du Tihan et de l'endosulfan sur le système reproducteur, le statut hépatique et la croissance des poissons notamment de *C. gariepinus* exposés pendant 13 mois [13, 16, 17], mais à ce jour à notre connaissance, il n'y a pas encore de données publiées sur l'impact des doses sub-léthales de ces deux pesticides sur la phase embryo-larvaire de cette espèce. En effet, au nord du Bénin où se concentrent près des 70 % de la production nationale du coton, la période d'utilisation intense des pesticides dans les champs coïncide avec la période de reproduction de plusieurs espèces de poisson dont *C. gariepinus* dans les cours d'eau. Il est donc important d'étudier l'impact de l'endosulfan et du Tihan sur la phase embryo-larvaire de cette espèce. Il s'agit de déterminer l'effet d'une exposition chronique des œufs fécondés de *C. gariepinus* aux deux insecticides sur la survie des embryons, l'éclosion, la survie des larves et les anomalies engendrées par cette exposition.

## 2. Matériel et méthodes

### 2-1. Dispositif expérimental

Le test a été réalisé dans les locaux du Laboratoire de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie Aquatique (LaRAEAQ) de l'Université de Parakou au Bénin. Le dispositif expérimental utilisé (*Photo 1*) est constitué de 21 aquariums en plastique chacun de 5L de contenance, disposés sur une étagère en bois (*Photo 1a*). Dans chaque aquarium est posée une auge d'incubation (*Photo 1b*). Chaque aquarium a été muni d'un diffuseur d'air relié à un compresseur électronique (aérateur de marque Rietschle CH - 2114 Fleurier) pour l'oxygénation de l'eau 24 H/24.

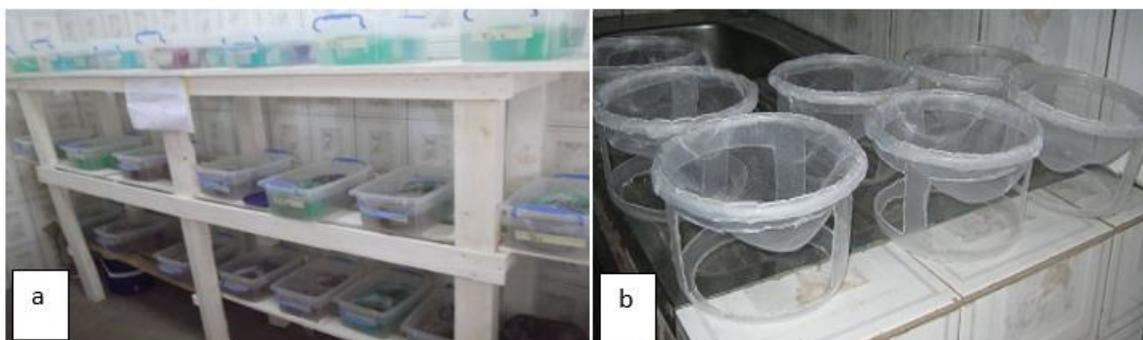


Photo 1 : Dispositif expérimental utilisé pour l'essai

### 2-2. Matériels chimiques et traitements appliqués

Les produits insecticides utilisés pour le test sont le Tihan 175 O-TEQ et le Thionex 350 EC (endosulfan) utilisés par les cotonculteurs dans le bassin cotonnier béninois. Ces produits ont été acquis auprès de la SDI (Société de Distribution des Intrants) basée à Cotonou (Bénin). Le Tihan est un liquide blanc laiteux et le Thionex un liquide jaune clair. L'eau qui a été utilisée pour la fabrication des solutions d'essai durant tout le test est l'eau de puits caractérisée par une concentration en nitrate de  $19,54 \pm 0,12$  mg/L et en nitrite de  $0,04 \pm 0,01$  mg/L. Les deux pesticides comme cela se fait en milieu paysan, ont été mélangés à l'eau sans aucun solvant. Les

solutions d'essai ont été préparées et utilisées immédiatement pour le test. L'exposition s'est réalisée en triplicat et en système semi-statique avec renouvellement à 75 % des solutions d'essai toutes les 48H selon les lignes directrices 203 et 210 de l'OECD [18, 19] avec quelques modifications. La  $LC50_{.96H-Tihan} = 8,79$  ppm et la  $LC50_{.96H-Thionex} = 0,22$  ppm pour les juveniles de *C. gariepinus* [6]. La  $LC-50_{.96H}$ , c'est la concentration du pesticide qui tue 50 % de la population exposée. Les concentrations testées dans la présente étude sont les concentrations sub-léthales fixées à partir de ces  $LC50_{.96H}$  déjà obtenues (1/20 et 1/10 de chacune de ces LC-50) et les concentrations environnementales de ces pesticides. La concentration environnementale est la moyenne obtenue après le dosage dans l'eau de chaque pesticide dans un certain nombre de sites sur la rivière Alibori, la principale rivière qui traverse le bassin cotonnier béninois et donc qui reçoit les effluents agricoles de ce bassin. La dose environnementale, 1/20 LC-50, et 1/10 LC-50 donnent respectivement pour le Tihan les concentrations TE = 0,23 ppb, T1 = 440 ppb et T2 = 880 ppb et pour le Thionex les concentrations EE = 29,40 ppb, E1 = 11 ppb et E2 = 22 ppb.

### 2-3. Matériel biologique

Le test a été réalisé avec les œufs fécondés de *C. gariepinus*. Les œufs fécondés qui ont servi pour la présente étude ont été obtenus chez deux couples de géniteurs de poids moyen  $800,10 \pm 55,92$  g pour les femelles et  $808,15 \pm 58,25$  g pour les mâles, après une reproduction artificielle. Les œufs fécondés de tous les couples ont été mélangés avant l'incubation pour éviter les biais génétiques. Les géniteurs ont été achetés à Royal Fish S.A. à Porto-Novo et transportés dans un vivier de 500 L jusqu'au laboratoire à Parakou où ils ont été acclimatés pendant 12 jours, conformément aux lignes directrices 234 de l'OCDE dans des tanks en plastique de 120 L chacun. Au cours de l'acclimatation, ils ont été nourris avec un aliment commercial pour Clarias (Coppens 8mm, 40 % de protéines) à raison de 2 % de leur biomasse par jour [20] jusqu'à 24H avant le début du test.

### 2-4. Suivi et entretien

Environ 100 œufs fécondés ( $\pm 1200$  mg) ont été prélevés du mélange d'œufs fécondés et étalés dans chaque auge déjà disposée dans un aquarium contenant une solution d'essai. Juste après cette opération, les œufs fécondés de chaque auge sont minutieusement comptés et toutes les 4H, les œufs morts (en apparence de couleur blanche), les œufs éclos, les œufs non éclos avec embryons vivants, les larves mortes, et d'autres anomalies telles que la perte de coordination des larves, les larves immobiles, les larves avec queue courbe ou courte, etc, sont dénombrés et relevés. Le test a duré 5 jours. Au cours de l'essai, la photopériode a été maintenue à LD 12 : 12. Dans chaque aquarium, la température ( $26,8 \pm 0,7$  °C), le pH ( $7,1 \pm 0,2$ ) et la concentration en oxygène dissous ( $6,1 \pm 0,9$  mg/L) ont été mesurés tous les matins. Les auges ont été retirées des aquariums au troisième jour de l'essai c'est-à-dire à jour 3 post-fécondation. C'est à partir de ce moment que les larves ont été nourries 5 fois par jour à satiété apparente jusqu'à la fin du test avec un aliment pour larves (Gemma 300 Nutreco). Les aliments non consommés sont retirés des aquariums lors des renouvellements des solutions d'essai. A jour 3 post-fécondation un certain nombre d'œufs non éclos qui ne sont pas encore blancs, sont minutieusement retirés et observés à la loupe afin de voir l'état des embryons dans ces œufs.

### 2-5. Paramètres étudiés

Au cours de l'essai les données collectées ont permis de calculer les paramètres suivants :

- Le taux de mortalité des embryons : C'est la proportion (%) d'embryons morts durant l'incubation.

$$TOE = \frac{100 \times Nom}{Nof} \quad (1)$$

*TOE étant le taux de mortalité des œufs embryonnés (%), Nom le nombre d'œufs oeillés morts durant l'incubation et Nof le nombre total d'œufs fécondés incubés.*

- Le Taux d'éclosion des œufs : C'est la proportion (%) d'œufs éclos durant l'incubation.

$$TE = \frac{100 \times Noe}{Nof} \quad (2)$$

*TE étant le taux d'éclosion (%) et Noe le nombre d'œufs éclos*

- Le Taux de survie des larves : C'est la proportion (%) de larves qui ont survécu à l'effet des pesticides jusqu'à la fin de l'essai.

$$TS = \frac{100 \times Ntl}{Nte} \quad (3)$$

*TS étant le taux de survie des larves (%), Ntl étant le nombre total de larves survivantes à J5 post-fécondation et Nte le nombre total de larves écloses jusqu'à J5 post-fécondation.*

- Le taux d'œufs non éclos : C'est la proportion (%) d'œufs non éclos mais dans lesquels les embryons ne sont pas morts. Ces œufs ne sont pas blancs.

$$Ton = \frac{100 \times Non}{Nof} \quad (4)$$

*Ton étant le taux d'œufs non éclos et Non le nombre d'œufs non éclos.*

- Le taux de larves à queue courte ou courbe : C'est la proportion (%) de larves écloses mais avec la queue courte ou courbe

$$Tlq = \frac{100 \times Nlq}{Nte} \quad (5)$$

*Tlq étant le taux de larves à queue courte ou courbe et Nlq le nombre total de larves à queue courte ou courbe*

- Le taux d'immobilité des larves : C'est la proportion de larves qui sont restées immobiles jusqu'à la fin de l'essai à J5 post- fécondation.

$$Tim = \frac{100 \times Nli}{Nte} \quad (6)$$

*Tim étant le taux d'immobilité des larves et Nte le nombre total de larves immobiles jusqu'à la fin de l'essai.*

- Le taux de larves ayant une perte de coordination : C'est la proportion (%) de larves qui nagent de façon déséquilibrée.

$$Tlp = \frac{100 \times Ntp}{Nte} \quad (7)$$

*Tlp étant le taux de larves qui lors des nages ont une perte de coordination, sont déséquilibrées et Ntp le nombre de larves avec perte de coordination.*

- Le facteur de perméabilité : Afin de mieux comprendre et mieux interpréter la toxicité de ces pesticides sur la phase embryon-larvaire, le Facteur de Perméabilité (PF) du chorion aux pesticides a été calculé par :

$$PF = 11,1 \times \log Kow + 3,97 \quad (8)$$

*Kow est le coefficient de partage octanol/eau du pesticide [19].*

## 2-6. Analyse statistique des données

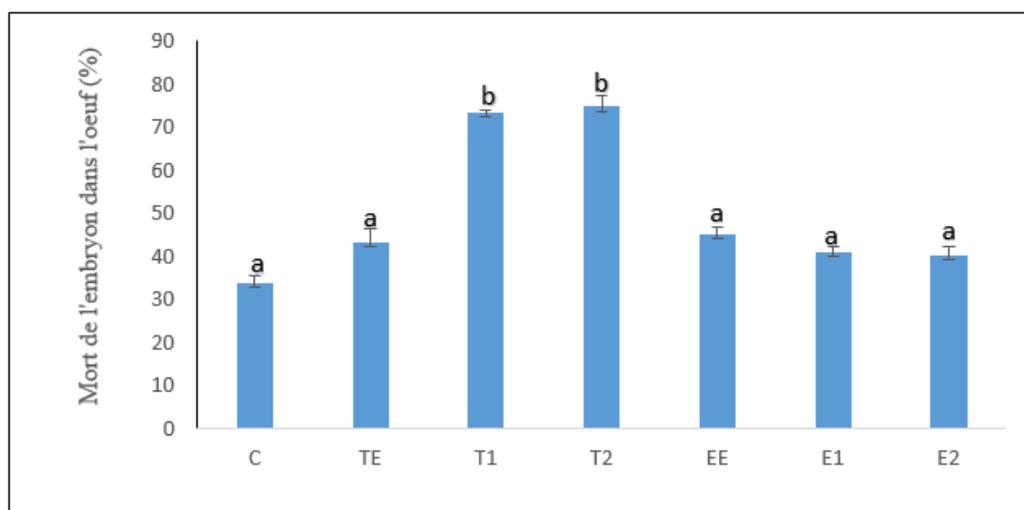
Le calcul des moyennes au niveau de chaque paramètre étudié et la construction des histogrammes ont été faits en utilisant le tableur Excel. La comparaison des moyennes de chaque paramètre étudié a été faite en utilisant l'analyse des Variances à un critère de classification (ANOVA I) et le test de Duncan a été utilisé pour la comparaison entre traitements d'une part et entre traitements et le contrôle, d'autre part. Le seuil de significativité a été fixé à 5 %. Toutes ces analyses ont été faites avec STATISTICA version 16.

## 3. Résultats

L'étude consiste à évaluer l'effet du Tihan et de l'endosulfan (Thionex) sur la phase embryo-larvaire du poisson-chat africain notamment sur les embryons, l'éclosion, la survie des larves et les différentes anomalies engendrées par chacun de ces deux pesticides.

### 3-1. Effet du Tihan et du Thionex sur les embryons

L'évolution des mortalités d'embryons en fonction du pesticide et de la concentration est présentée dans la **Figure 1**. Il ressort de cette figure que les taux de mortalités d'embryons les plus élevés ( $p < 0,05$ ) sont obtenus avec le Tihan ( $73,3 \pm 0,7$  et  $74,7 \pm 2,6$  %, respectivement pour T1 et T2). La plus faible mortalité d'embryons est enregistrée au niveau du lot témoin ( $33,7 \pm 1,7$  %) et statistiquement semblables ( $p > 0,05$ ) avec les taux de mortalité au niveau des traitements en Thionex (EE, E1, et E2) respectivement  $45,0 \pm 1,7$  %,  $40,8 \pm 1,4$  % et  $40,2 \pm 1,9$  %.

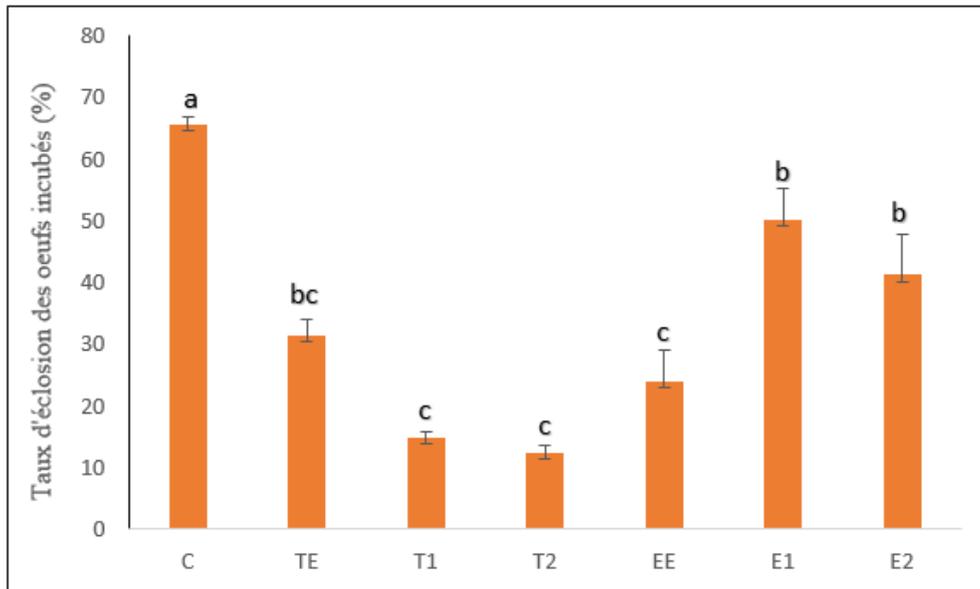


**Figure 1 :** Evolution de la mortalité des œufs embryonnés en fonction des pesticides et des doses appliquées

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

### 3-2. Effet du Tihan et du Thionex sur l'éclosion des larves

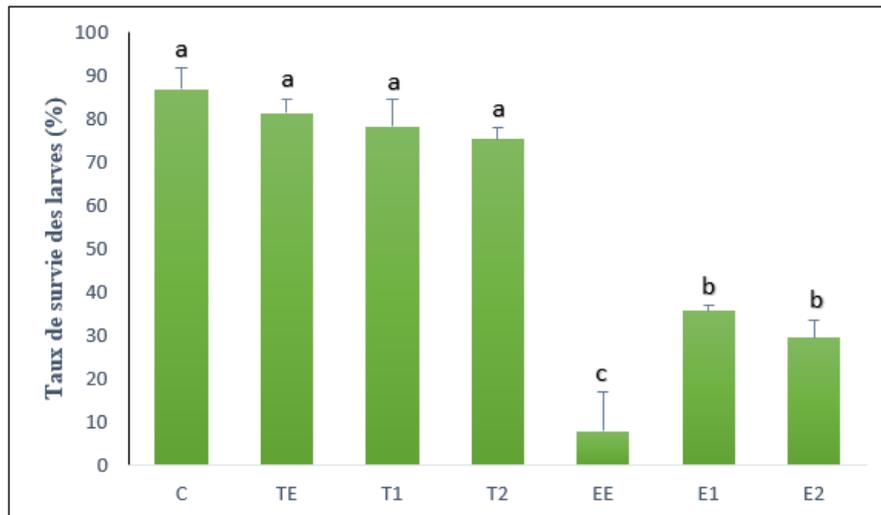
Le taux d'éclosion dans le lot témoin ( $65,5 \pm 1,2 \%$ ) est statistiquement plus élevé ( $p < 0,05$ ) que ceux de tous les traitements en Tihan ou en endosulfan (**Figure 2**). Les plus faibles éclosions ont été obtenues avec les traitements T1 et T2 ( $p < 0,05$ ) (respectivement  $15,0 \pm 0,7\%$  et  $12,4 \pm 1,2 \%$ ). Cependant, les traitements E1 et E2 du Thionex ont présenté des taux intermédiaires d'éclosion (respectivement  $50,2 \pm 4,9 \%$  et  $41,2 \pm 6,7 \%$ ), qui sont néanmoins supérieurs ( $p < 0,05$ ) aux taux d'éclosion obtenus avec les doses environnementales des deux pesticides testés, soit  $31,5 \pm 2,5 \%$  pour le Tihan, et  $24,0 \pm 5,1 \%$  pour le Thionex.



**Figure 2 :** Evolution du Taux d'éclosion des œufs incubés en fonction des pesticides et de la dose appliquée. Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

### 3-3. Effet du Tihan et du Thionex sur la survie des larves à J5 post-fécondation

La **Figure 3** présente les taux de survie des larves jusqu'au jour 5 post-fécondation. De l'analyse de cette figure, il ressort que la survie des larves au niveau de tous les traitements en Tihan est semblable statistiquement à celle obtenue au niveau du témoin ( $86,8 \pm 5,0 \%$ ) ( $p > 0,05$ ). Par contre les taux obtenus au niveau des traitements en endosulfan sont significativement faibles que ceux des traitements en Tihan et celui du témoin ( $p < 0,05$ ). La valeur la plus faible ( $7,91 \pm 9,1 \%$ ) est obtenue avec la dose environnementale qui est d'ailleurs la dose la plus forte d'endosulfan.



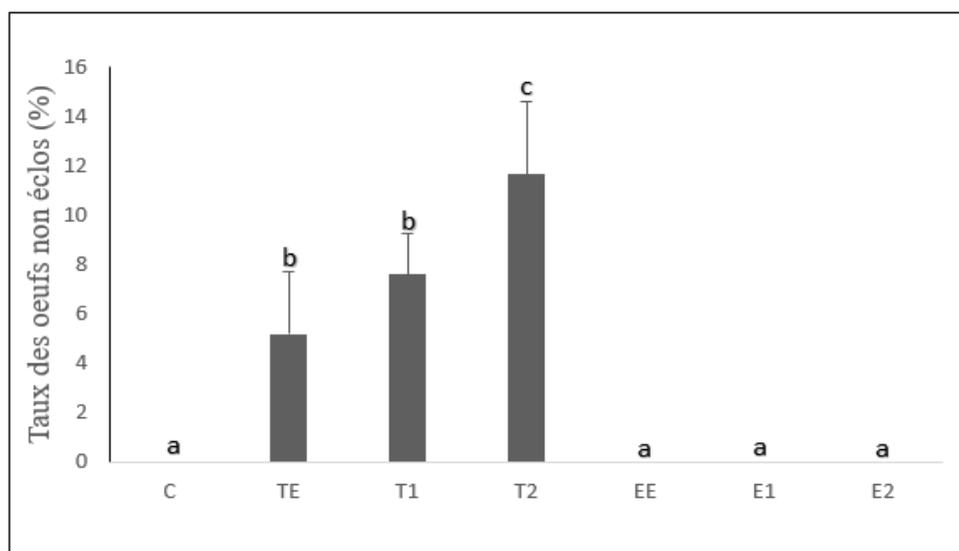
**Figure 3 :** Taux de survie cumulé des larves jusqu'au J5 post-fécondation

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

### 3-4. Anomalies causées par les pesticides testés

#### 3-4-1. Les œufs non éclos

Les taux d'œufs non éclos jusqu'au jour 5 post-fécondation par traitement et par pesticide sont représentés dans la **Figure 4**. Cette figure indique que les œufs non éclos avec embryons encore vivants n'ont été observés qu'au niveau des traitements en Tihan, les traitements en Thionex et les témoins ayant donné 0 %. Au niveau des traitements en Tihan, au fur et à mesure que les concentrations augmentent le taux d'œufs non éclos avec embryons vivants augmente aussi ( $p < 0,05$ ), le taux le plus faible étant obtenu en TE ( $5,17 \pm 2,53$  %) et le plus fort en T2 ( $11,63 \pm 2,92$  %).

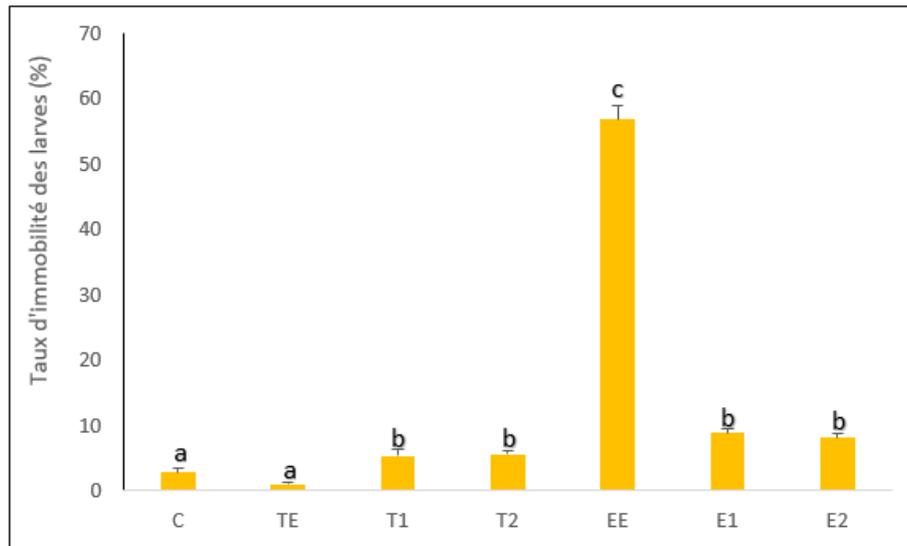


**Figure 4 :** Taux des œufs non éclos jusqu'à la fin de l'essai

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

**3-4-2. Taux d'immobilité des larves**

L'immobilité des larves a été observée au niveau des deux pesticides testés (**Figure 5**) mais beaucoup plus au niveau de l'endosulfan. Les taux les plus faibles ont été observés au niveau des témoins et de la dose environnementale en Tihan TE ( $2,83 \pm 0,75$  % et  $1,07 \pm 0,15$  % respectivement), le taux le plus élevé est obtenu au niveau de la dose environnementale en endosulfan EE ( $56,76 \pm 2,11$  %) ( $p < 0,05$ ). Les valeurs intermédiaires ont été observées en T1, T2, E1 et E2, respectivement  $5,37 \pm 1,02$  % ;  $5,57 \pm 0,59$  % ;  $8,80 \pm 0,61$  % et  $8,17 \pm 0,72$  % ( $p > 0,05$ ) mais la tendance est à une élévation des taux pour les traitements en endosulfan.

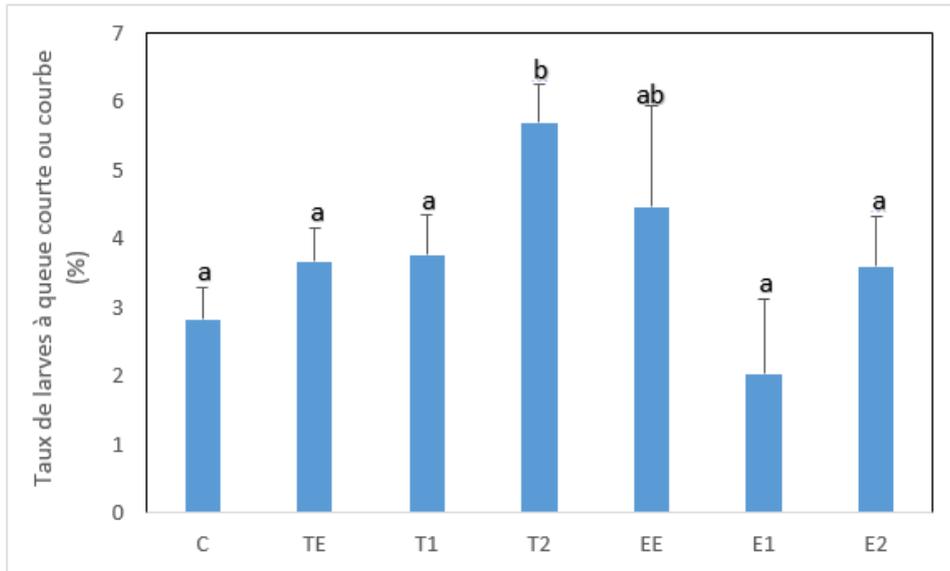


**Figure 5 :** Taux des larves immobiles jusqu'à la fin de l'essai

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

**3-4-3. Taux de larves à queue courte ou courbe**

Les larves à queue courte ou courbe ont été observées au niveau de tous les traitements y compris au niveau des témoins (**Figure 6**). Mais les forts taux ont été obtenus au niveau des traitements en pesticides notamment au niveau de la plus forte concentration en Tihan ( $5,70 \pm 0,56$  %) et de la plus forte concentration en endosulfan qui est la dose environnementale ( $4,46 \pm 1,47$  %) ( $p < 0,05$ ).

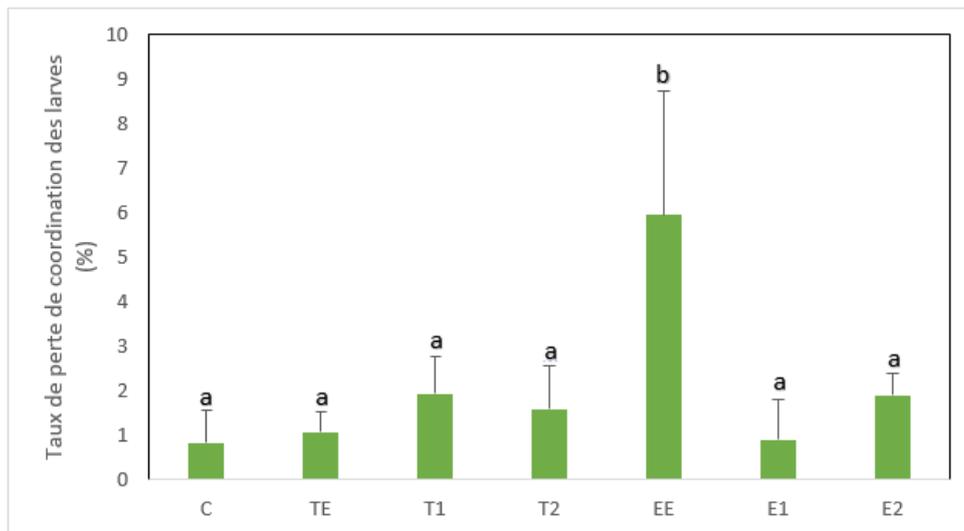


**Figure 6 :** Evolution des Taux des larves à queue courte ou courbe

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

#### 3-4-4. Taux de larves avec perte de coordination

Les larves ayant connu une perte d'équilibre ou de coordination ont été observées dans tous les traitements (**Figure 7**) mais beaucoup plus au niveau des traitements en endosulfan avec le taux le plus élevé ( $5,54 \pm 2,78$  %) au niveau de la plus forte concentration EE ( $p < 0,05$ ).



**Figure 7 :** Taux de perte de coordination des larves

Les valeurs sont exprimées en moyennes  $\pm$  écartype ( $n = 3$ ). Les traitements ne partageant pas la même lettre sont significativement différents au seuil de 5 %.

#### 4. Discussion

L'objectif de l'étude est de déterminer en milieu contrôlé les effets potentiels du Tihan 175 O-TEQ et de l'endosulfan (Thionex 350 EC) à doses sub-léthales sur la phase embryo-larvaire de *Clarias gariepinus*, étant donné que ces pesticides sont utilisés dans les champs pendant la période de reproduction de cette espèce en milieu naturel. Aussi les tests de toxicité sur les premiers stades de développement des poissons (embryons, larves, juvéniles) sont généralement utilisés pour prédire les dommages des polluants sur l'environnement. A ces stades, les poissons sont plus sensibles aux effets des toxiques sur l'environnement que les stades plus avancés [21]. Ainsi, des œufs de *C. gariepinus* artificiellement fécondés, ont été incubés dans des aquariums contenant différentes doses sub-léthales du Tihan ou du Thionex (endosulfan). De façon globale dans cette étude, les solutions de Tihan ont entraîné les plus fortes mortalités d'embryons et ces mortalités sont dose-dépendantes pour ce pesticide. Cela montre que les embryons de *C. gariepinus* sont plus sensibles au Tihan qu'au Thionex. Cette observation avait déjà été faite par [6] dans une étude de détermination de la toxicité aiguë du Tihan et du Thionex sur la phase embryo-larvaire de *C. gariepinus* et qui ont trouvé une  $CL_{50-48h}$  Tihan = 20 ppm <  $CL_{50-48h}$  Thionex = 56 ppm ; et par [13] chez des embryons de la même espèce issus de géniteurs exposés à ces deux pesticides.

Baucoup d'autres études ont également révélé la toxicité de certains pesticides sur les embryons de poisson. On peut citer entre autres, les travaux de [22] du buprofézine sur les embryons de *C. gariepinus*. Plusieurs théories parfois contradictoires sont émises pour expliquer ce phénomène. Selon la théorie de [23] la toxicité plus élevée du Tihan aux embryons de *C. gariepinus* serait liée à la nature biochimique du chorion et les propriétés écotoxicologiques des molécules qui constituent le Tihan et de l'endosulfan. Selon cette théorie, la capacité de passage d'un toxique à travers le chorion dépend de son Facteur de Perméabilité (PF) qui est fonction du log  $k_{ow}$  (coefficient de partage octanol-eau) de chaque pesticide. Le Tihan à travers le flubendiamide ayant un log  $k_{ow}$  > 4,2 a un PF > 70 % et le Thionex un log  $k_{ow}$  = 3,5 a un PF = 50 %. Le Tihan a donc un PF supérieur à celui du Thionex [6]. Il est donc évident que le Tihan pénètre plus facilement et plus rapidement dans les œufs de *C. gariepinus*, ce qui provoque une précipitation des protéines entraînant la mort de certains œufs ou embryons [17]. Cette nocivité du Tihan sur les œufs du poisson-chat africain *C. gariepinus* est donc liée à la présence des molécules de flubendiamide dans ce pesticide [6]. Selon une autre théorie, le chorion étant la membrane fœtale la plus externe entourant l'embryon, il est considéré comme une barrière contre l'entrée chimique et les substances particulièrement lipophiles et/ou de poids moléculaires élevés (environ 3000 g/mole et plus) ne peuvent pas avoir accès à l'embryon en raison de ce rôle protecteur [24 - 26]. Mais cette théorie est contraire à ce qui a été observé dans la présente étude et à ce qu'ont trouvé [26, 27] sur les embryons de *Danio rerio* exposés au difénoconazole et à l'abamectine.

Dans la présente étude, l'éclosion au niveau des solutions de pesticide est plus faible qu'au niveau des témoins. Cette observation avait aussi été faite par [22] lors de l'exposition des œufs fertilisés de *C. gariepinus* au buprofézine, et par [26] chez les œufs de *Danio rerio* exposés à l'abamectine et au difénoconazole. La réduction du taux d'éclosion a également été observée par [28] à des concentrations de 5 à 80 mg/L du mélange d'endosulfan et de la delthamétrine sur les œufs de *C. gariepinus*. L'éclosion est une période critique de l'embryogenèse qui dépend des phénomènes biochimiques et comportementaux, la digestion du chorion par des enzymes et le mouvement de l'embryon pour ouvrir le chorion. L'exposition aux polluants pourrait retarder l'éclosion, voire réduire le taux d'éclosion en affectant ces processus [6, 29]. [27] expliquent le retardement ou l'inhibition du processus d'éclosion par l'induction d'une fonction anormale de l'enzyme chorionase et/ou l'incapacité des embryons émergents à casser la coquille de l'œuf. La chorionase est une enzyme qui décompose les couches internes de la membrane de l'œuf [30]. Dans la présente étude, le taux plus bas observé au niveau des concentrations plus élevées en Tihan serait dû à la facilité de passage du Tihan à travers le chorion comme

l'ont aussi trouvé [6, 13]. C'est également cette facilité de pénétration du Tihan dans les œufs de *C. gariepinus* qui explique les œufs non éclos avec embryons vivants au niveau des traitements en Tihan. En effet, le Tihan ayant un PF élevé, les embryons ayant dépensé toutes leurs énergies pour faire face à cette agression n'ont certainement plus eu d'énergie pour casser la coquille, d'où les œufs non éclos avec embryons vivants obtenus [6, 31]. La survie des larves est observée jusqu'au J5 post-éclosion. Le taux de survie des larves dans la présente étude se révèle être très faible au niveau des traitements en endosulfan et diminue avec l'augmentation des concentrations avec le taux le plus faible observé au niveau de la dose environnementale. Le stade larvaire serait le plus sensible aux toxiques dû au manque de voie métabolique pleinement développée et de protection du chorion [32]. L'endosulfan est ainsi plus toxique aux larves que le Tihan qui a donné des taux de survie statistiquement semblables à celui des témoins. [22] ont rapporté que le buprofézine provoquait une réduction du taux de survie des larves de *C. gariepinus* à partir des concentrations de 5 mg/L. La mortalité des larves a également été observée chez *Heteropneutes fossilis* exposé au sumithion [33], chez *Mystus cavasius* soumis au cyperméthrine [34] et chez *Duttaphrynus melanostitus* contaminé au chlorpyrifos [35].

La perte de coordination et l'immobilité des larves sont des signes annonciateurs de la mort des larves. Dans la présente étude la perte de coordination ou d'équilibre des larves a été plus observée au niveau de la dose environnementale en endosulfan qui est la dose la plus élevée. La perte de coordination observée pourrait être liée à la neurotoxicité reconnue à l'endosulfan [36]. [6, 22] ont aussi observé la perte de coordination chez des larves de *C. gariepinus* soumises respectivement à l'endosulfan et au buprofézine. Des résultats similaires ont également été obtenus par [13] chez des larves de *C. gariepinus* issus de géniteurs exposés à l'endosulfan. L'immobilité des larves a été observée au niveau de tous les traitements en pesticides mais à des taux plus élevés au niveau des traitements en endosulfan surtout la dose environnementale où le taux le plus élevé a été obtenu. L'immobilité des larves serait due à l'insuffisance d'énergie au niveau de ces larves pour faire face au stress chimique engendré par la présence de pesticide ou aussi pourrait être le résultat de la neurotoxicité de l'endosulfan. Des résultats pareils ont été aussi obtenus par [6, 13] dans les mêmes conditions sur les larves de *C. gariepinus*. Les larves à queue courte ou courbe ont été observées au niveau des concentrations les plus élevées des deux pesticides testés. Les causes probables des déformations de la queue seraient l'apoptose dans la zone de la queue, la diminution du débit cardiaque et les modifications des fibres musculaires de la queue [29]. Des larves à queue courbe ou courte ont également été obtenues dans le cadre de l'exposition des embryons de *C. gariepinus* au buprofézine [22] et au cours de l'exposition des embryons de *D. melanostitus* au chlorpyrifos [35].

## 5. Conclusion

En somme la présente étude a révélé les effets toxiques du Tihan 175 O-TEQ et de l'endosulfan (Thionex 350EC) sur la phase embryo-larvaire de *Clarias gariepinus*. A doses sub-léthales le Tihan s'est montré plus toxique aux embryons avec un taux de mortalité et un taux d'œufs non éclos avec embryons vivants, élevés à cause de son Facteur de Perméabilité plus élevé. L'endosulfan s'est révélé plus toxique aux larves de *C. gariepinus* avec un taux de mortalité des larves plus élevé et causant plus de perte de coordination, d'immobilité des larves et des larves à queue courte ou courbe. Les effets les plus prononcés de l'endosulfan ont été obtenus à la dose environnementale. Cela montre les dommages que subissent les embryons et les larves des poissons en milieu naturel, vu que la reproduction de la majorité des poissons coïncide avec l'utilisation de ces pesticides dans les champs et donc la contamination des écosystèmes. Cette étude a montré une fois encore que les tests de toxicité sur la phase embryo-larvaire des poissons peuvent être utilisés pour déterminer les effets potentiels des polluants sur l'environnement.

## Références

- [1] - G. L. DJOHY, E. BOÏ WOSSO and N. E. KINZO, Variabilité climatique et production cotonnière dans la commune de Kandi au Nord Bénin. XXVIII<sup>e</sup> colloque de l'Association Internationale de Climatologie Liège (2015) 325 - 330
- [2] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, I. N'TCHA, F. GEAY, S. N. M. MANDIKI and P. KESTEMONT, Exposure to agricultural pesticides impairs growth, feed utilization and energy budget in African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *International Aquatic Research*, Vol 6, N<sup>o</sup>4, (2014) 229 - 243
- [3] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, A. J. YABI, J. F. C. DASSOUNDO-ASSOGBA and P. KESTEMONT, Caractérisation des pesticides chimiques utilisés en production cotonnière et impact sur les indicateurs économiques dans la Commune de Banikoara au nord du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (2011) 1828 - 1841
- [4] - GIEC, Changements climatiques 2014: Rapport de synthèse. Contribution des Groupes de travail I, II et III au cinquième Rapport d'évaluation du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat, Genève, Suisse, (2014) 161 p.
- [5] - L. K. AGBODJI, K. NEGLOH, K. LABARE, Un nouvel insecte majeur du Sorgho, *Poophilus costalis* au Togo : Dégâts et méthodes de lutte. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, Vol 19, N<sup>o</sup>2, (2017) 189 - 198
- [6] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, A. HOUNDJI, V. GILLARDIN, S. N. M. MANDIKI and P. KESTEMONT, Acute toxicity of agricultural pesticides to embryo-larval and juvenile African catfish *Clarias gariepinus*. *Archives of Environmental and Contamination and Toxicology* 64 (2013) 692 - 700
- [7] - L. LOGIER, Ecotoxicité comparative de l'oxyde de graphène et d'autres nanoparticules de carbone chez les organismes aquatiques modèles : d'une évaluation en condition monospécifiques vers l'étude d'une chaîne trophique expérimentale. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, (2017) 334 pages
- [8] - A. N. LAWANI, N. C. KELOME, M. AGASSOUNON DJIKPO TCHIBOZO, A. ADJAGODO, Effects of agricultural practices on the pollution of surface water in Benin Republic. *Larhyss Journal* 30(2017) 173 - 190
- [9] - AIC, Plan de campagne agricole cotonnière 2009 - 2010 et perspectives 2010 — 2011, Cotonou, *Presse de l'AIC*, (2009) 235 p.
- [10] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, E. Y. ATTAKPA and P. KESTEMONT, Synthèse des caractéristiques physico-chimiques et effets écotoxicologiques du Tihan 175 O-TEQ utilisé dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(5) (2012) 2280 - 2292
- [11] - PNUE (Programme des Nations Unies pour l'Environnement), Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants / Comité d'Etude des Polluants Organiques Persistants / Troisième Réunion : UNEP/POPS/ POPRC.3/5 Proposition Concernant l'Endosulfan. *Presse Locale*, Genève, (2007) 115 p.
- [12] - P. PALMA, V. L. PALMA, R. M. FERNANDES, A. M. V. M. SOARES and I. R. BARBOSA, Endosulfan sulphate interferes with reproduction, embryonic development and sex differentiation in *Daphnia magna*, *Ecotoxicology of Environmental Safety*, 72 (2009) 344 - 350
- [13] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, V. ATCHOU, R. TONATO, S. N. M. MANDIKI and P. KESTEMONT, Pesticide used in cotton production affect reproductive development, endocrine regulation, liver status and offspring fitness in African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology* 167 (2015) 157 - 172
- [14] - D. SATTELLE, D. CORDOVA and T. CHEEK, Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals, *Invertebrate Neuroscience* 8 (2008) 107 - 119

- [15] - E. BRUCK, A. ELBERT, R. FISCHER, S. KRUEGER, J. KUHNHOLD, A. M. KLUEKEN, R. NAUEN, J. F. NIEBES, U. RECKMANN and H. J. SCHNORBACK, Movento, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance, *Crops Protection* 28 (2009) 838 - 844
- [16] - T. P. AGBOHESSI, Impact des pesticides agricoles sur le développement et la régulation du système reproducteur, le statut hépatique et la croissance des poissons dans le bassin cotonnier béninois. Thèse de doctorat en Sciences Biologiques de l'Université de Namur (Belgique), (2014) 331 p.
- [17] - T. P. AGBOHESSI, I. IMOROU TOKO, A. OUEDRAOGO, T. JAUNIAUX, S. N. M. MANDIKI and P. KESTEMONT, Assessment of the health status of wild fish inhabiting a cotton basin of Benin (West Africa) highly impacted by pesticides, *Science of The Total Environment* 506-507 (2015) 567 - 584
- [18] - Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD guideline for testing of chemicals: fish acute toxicity test, OECD 203, Paris, France, (1992) 8 p.
- [19] - Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD guideline for testing of chemicals: fish early-life stage toxicity test. OECD 201, Paris, France, (1992) 20 p.
- [20] - H. HOGENDOORN, Growth and production of the African catfish, *Clarias lazera* (C&V), 3: Bioenergetics relations of body weight and feeding level, *Aquaculture* 35 (1983) 1 - 17
- [21] - J. VELISEK, A. STARA, J. MACHOVA and Z. SVOBODOVA, Effects of long-term exposure to simazine in real concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Ecotoxicology and Environment Safety*, 76 (2012) 79 - 86
- [22] - K. MARIMUTHU, N. MUTHU, R. XAVIER, J. AROCKIARAJ, M. A. RAHMAN and S. SUBRAMANIAM, Toxicity of Buprofezin on the Survival of Embryo and Larvae of African Catfish, *Clarias gariepinus* (Bloch). *Plos One* Vol 8, Issue 10 (October 2013) 1 - 6
- [23] - M. F. HELMSTETTER and R. W. ALDEN III, Passive trans-chorionic transport of toxicants in topically treated Japanese medaka (*Oryzias latipes*) eggs. *Aquatic Toxicology* 32 (1995) 1 - 13
- [24] - T. D. RAFTERY, G. M. ISALES, K. L. YOZZO and D. C. VOLZ, High-content screening assay for identification of chemicals impacting spontaneous activity in zebrafish embryos. *Environmental Science and Technology* 48(2014) 804 - 810
- [25] - K. E. PELKA, K. HENN, A. KECK, B. SAPEL and T. BRAUNBECK, Size does matter determination of the critical molecular size for the uptake of chemicals across the chorion of zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Aquatic Toxicology* 185(2017) 1 - 10
- [26] - A. L. M. SANCHES, M. A. DAAM, E. C. FREITAS, A. A. GODOY, G. MEIRELES, A. R. ALMEIDA, I. DOMINGUES and E. L. G. ESPINDOLA, Lethal and sublethal toxicity of abamectin and difenoconazole (individually and in mixture) to early life stages of zebrafish. *Chemosphere* 210 (2018) 531 - 538
- [27] - X. MU, T. CHAI, K. WANG, J. ZHANG, L. ZHU, X. LI and C. WANG, Occurrence and origin of sensitivity toward difenoconazole in zebrafish (*Danio rerio*) during different life stages. *Aquatic Toxicology* 160 (2015) 57 - 68
- [28] - A. A. MUMUMI and T. O. SOGBANMU, Embryotoxic, Developmental and Genotoxic Evaluations of a Endosulfan and Deltamethrin Mixture on the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). *West African Journal of Applied Ecology*, vol. 26, N°1, (2018) 1 - 10
- [29] - A. HAGENAARS, L. VERGAUWEN, W. De COEN and D. KNAPEN, Structure activity relationship assessment of four perfluorinated chemicals using a prolonged zebrafish early life stage test. *Chemosphere* 82 (2011) 762 - 772
- [30] - I. DOMINGUES, R. OLIVEIRA, C. MUSSO, M. CARDOSSO, A. M. V. M. SOARES and S. LOUREIRO, Prochloraz effects on biomarkers activity in zebrafish early life stages and adults. *Environment Toxicology* 28 (2011), 155 - 163

- [31] - I. VARO, F. AMAT, J. F. NAVARRO, M. BARREDA, E. PILARCH and R. SARRERRO, Assessment of the efficacy of *Artemia* sp. (Crustacea) cyst chorion as barrier to chlorpyrifos (organophosphorus pesticide) exposure. Effect on hatching and survival. *Science of The Total Environment* 366 (2006) 148 - 153
- [32] - Y. WANG, L. LV, Y. YU, G. YANG, Z. XU, Q. WANG and L. CAI, Single and joint toxic effects of five selected pesticides on the early life stages of zebrafish (*Denio rerio*). *Chemosphere* 170 (2017) 61 - 67
- [33] - M. SHAHJAHAN, M. F. KABIR, K. A. SUMON, L. R. BHOWMIK and H. RASHID, Toxicity of organophosphorus pesticide sumithion on larval stages of stinging catfish *Heteropneustes fossilis*. *Journal of Oceanology and Limnology* Vol. 35 No.1 (2017) 109 - 114
- [34] - M. H. ALI, K. A. SUMON, M. SULTANA and H. RASHID, Toxicity of cypermethrin on the embryo and larvae of Gangetic mystus, *Mystus cavasius*, *Environment Science Pollution Ressource* 25(2018)3193 - 3199
- [35] - M. KHARKONGOR, R. N. K. HOOROO and S. DEY, Effects of the insecticide chlorpyrifos, on hatching, mortality and morphology of *Duttaphrynus melanostictus* embryos. *Chemosphere* 210 (2018) 917 - 921
- [36] - M. H. SILVA and D. GAMMON, An assessment of the developmental, reproductive, and neurotoxicity of endosulfan. *Birth Defects Res B Development Reproductive Toxicology* Vol 86, N°1 (February 2009) 1 - 28