



**HAL**  
open science

# Analyse histologique des gonades, du foie, du rein et de l'état physiologique du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* exposé aux pesticides agricoles dans les retenues d'eau du Nord-Bénin

Rodrigue Orobiyi Edéya Pelebe

## ► To cite this version:

Rodrigue Orobiyi Edéya Pelebe. Analyse histologique des gonades, du foie, du rein et de l'état physiologique du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* exposé aux pesticides agricoles dans les retenues d'eau du Nord-Bénin. *Biologie animale*. 2016. dumas-02878839

**HAL Id: dumas-02878839**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02878839>**

Submitted on 23 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



République du Bénin (RB)

Université d'Abomey-Calavi (UAC)

Faculté des Sciences Agronomiques (FSA)



Ecole d'Aménagement et de Gestion de l'Environnement (EAGE)

Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture (LHA)

**Master Spécialisé en Aménagement des Pêches et  
Aquaculture (APAq)**

**Analyse histologique des gonades, du foie, du rein et de  
l'état physiologique du tilapia du Nil *Oreochromis  
niloticus* exposé aux pesticides agricoles dans les  
retenues d'eau du Nord-Bénin**



Soutenu par **Rodrigue Orobiyi Edéya PELEBE**, le 21 octobre 2016

**Superviseur**

**Dr Ibrahim IMOROU TOKO**

Maître de Conférences (UP)

**Co-superviseurs**

**Dr Ir. Antoine CHIKOU**

Maître de Conférences (UAC)

**Composition du jury**

**Dr Ir. Prudencio AGBOHESSI**

Assistant (UP)

**Président** : Prof Dr Ir. Philippe A. LALEYE

**Rapporteur** : Dr Ibrahim IMOROU TOKO

**Examineur** : Dr Ir. Giraud David AKELE

**3<sup>ème</sup> Promotion**

**Année académique 2015-2016**

## Page de garde

Les photos figurant sur la page de garde ont été prises sur le terrain en 2016, par l'auteur de ce mémoire. Leur présence a pour objectif de permettre à tout lecteur de mieux cerner le sujet abordé dans ce document. De gauche à droite, nous avons :

- Six (6) poches d'enclos et 6 poches d'happas installées dans la retenue d'eau du Centre Songhaï d'Atagara dans la commune de N'Dali. Cette retenue est le site de référence pour l'étude ;
- Un bidon de l'herbicide Adwuma Wura (glyphosate) dans la retenue d'eau de Batran dans la commune de Banikoara. Cette retenue est le site le plus pollué étudié ;
- Quelques individus d'*Oreochromis niloticus* pris en eau libre de la retenue d'eau de Batran ;
- Des portoirs dans lesquels sont déposés des tubes contenant des organes prélevés.

*«Il ne t'est jamais donné un rêve sans le  
pouvoir de le réaliser »*

*Richard Bach*

### **Certification**

Je soussigné **Dr Ibrahim IMOROU TOKO** (Maître de conférences), Enseignant-Chercheur à la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou, certifie que ce mémoire de **Master 2** a été entièrement rédigé, présenté et soutenu publiquement par **M. Rodrigue Orobiyi Edéya PELEBE** à la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université d'Abomey-Calavi. Egalement il a été corrigé conformément aux recommandations du jury. En foi de quoi, nous lui délivrons ce certificat pour servir et valoir ce que de droit.

**Dr Ibrahim IMOROU TOKO**

Maître de conférences (CAMES)

**Dédicace**

*A toute ma famille,*

*A Narold Prudence,*

*A Nadège Claire,*

*A tous ceux qui trouveront utile de lire le présent travail.*

## Remerciements

La présente étude a bénéficié du soutien matériel et financier du Projet AquaTox-Bénin intitulé « *Influence des pratiques phytosanitaires en milieu cotonnier sur l'agrosystème aquatique et la qualité sanitaire des poissons produits dans les retenues d'eau au nord Bénin* » et financé par l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur-Commission de la Coopération au Développement (ARES-CDD). Ce projet est piloté au Bénin par l'Unité de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie Aquatique de la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou.

Je remercie le Professeur **Patrick KESTEMEONT**, Coordonnateur belge du projet *AquaTox-Bénin*, pour l'intérêt incommensurable qu'il a porté à ce travail et pour ses orientations scientifiques de très grande valeur. Je tiens à remercier très sincèrement Docteur **Ibrahim IMOROU TOKO** (Maître de Conférences) et Docteur **Prudencio AGBOHESSI** respectivement, Coordonnateur local et Directeur scientifique du projet *AquaTox-Bénin* pour la confiance que vous me témoigniez depuis plus de trois ans et pour avoir lu et corrigé à maintes reprises ce mémoire. J'apprécie toujours votre patience, votre disponibilité à m'écouter, votre rigueur scientifique et vos qualités humaines qui font de vous des modèles à imiter. Docteur Prudencio, sachez que sans vos expériences en écotoxicologie aquatique et vos capacités techniques en histologie des poissons, ce travail n'aurait jamais connu un aboutissement heureux. Merci de m'avoir initié dans un domaine scientifique d'avenir qu'est l'écotoxicologie des milieux aquatiques. Je tiens également à remercier les honorables membres du jury qui avaient consacré leur temps à apprécier ce mémoire afin de lui donner une qualité scientifique de haut niveau. J'exprime mes sincères remerciements à l'équipe du Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture (LHA) de la Faculté des Sciences Agronomiques de l'Université d'Abomey-Calavi composée de nos principaux formateurs en Master Spécialisé en Aménagement des Pêches et Aquaculture (APAq). Merci au Docteur **Antoine CHIKOU** (Maître de Conférences) pour ses conseils qui ont été utiles au bon déroulement de ce travail. Je suis reconnaissant envers le Professeur **Philippe A. LALEYE**, Directeur du LHA et Coordonnateur du master **APAq** pour son souci de voir ses apprenants acquérir des compétences scientifiques et techniques de haute qualité. Que Docteur **Djiman LEDEROUN** reçoive mes remerciements pour ses contributions constructives lors de la rédaction de mon protocole de recherche. Merci à tous les doctorants du projet *AquaTox-Bénin* et particulièrement à la doctorante **Nicresse Léa GUEDEGBA** pour avoir encadré ce travail et m'avoir fourni plusieurs articles scientifiques qui m'ont été d'une utilité énorme. Je suis redevable à Monsieur **Honoré ZOCLANCLOUNON** technicien en histologie au laboratoire de Cytogénétique du Professeur **Anatole LALEYE** de la Faculté des Sciences de

Santé de l'Université d'Abomey-Calavi pour son assistance lors de la réalisation des coupes histologiques dans leur laboratoire érigé à l'Institut des Sciences Biomédicales et Appliquées de Cotonou (ISBA). Professeur **Anatole LALEYE**, merci à vous. Merci au doctorant **Hugues Aguin ELEGBE**, cher grand frère, sachez que vous avez été un maillon très incontournable dans ma formation scientifique. J'exprime également mes sentiments de gratitude envers tous ceux qui ont participé au suivi des infrastructures expérimentales et aux campagnes de prélèvement aussi bien sur le terrain qu'au laboratoire. Je pense particulièrement aux pêcheurs (**Toro et Seydou**) de Batran et à : **Ezékiel, doyen Alexis, Abdoulaye, Victoire, Edith, Laurence, Nassibath, Dorcas, Baudelaire, Jémis, Abdou, Urbain, Joël et Augustin**. Je remercie également **Franck GENTEN**, assistant en biologie à l'Université Libre de Bruxelles de m'avoir orienté dans ma recherche documentaire sur l'histologie des poissons. Que tous mes amis, particulièrement **Joël B. WOROU** et **Boris A. OLOU** sachent que nos causeries et discussions ont été toujours pour moi des sources de leçons, d'inspirations et de désir de mieux faire. Merci pour vos messages et appels de soutien lors de mes travaux de recherche sur le terrain. Je voudrais également dire un merci à tous mes condisciples de la troisième promotion du master **APAq** pour leur esprit de partage et leur franchise durant nos deux ans de formation. Je crois avec fermeté que la fin de cette formation sera pour nous le début de lourdes collaborations professionnelles afin de contribuer au développement du secteur Pêche et Aquaculture aussi bien au Bénin que dans la sous région ouest-africaine. Je ne peux finir ces remerciements sans dire merci à ma famille : ma mère **Sabitiou IDRISOU**, mon père **Babatoundé Ernest PELEBE**, mes frères et sœurs, leurs femmes, maris et leurs enfants. Je ne trouve pas de mots pour définir ce que je ressens pour vous si ce n'est que je suis très heureux de vous appartenir. Sachez que ce mémoire est le résultat de votre amour, de vos soutiens, des sacrifices que vous aviez consentis et de vos conseils très précieux. Votre satisfaction restera toujours mon principal désir. Papa et maman, que Dieu vous accorde santé et longue vie afin que vous puissiez jouir des fruits presque mûrs de l'arbre que vous avez tant arrosé avec soin et amour. Enfin, je remercie ma chérie pour son soutien indéfectible et sa détermination à m'accompagner dans mon rêve de vivre dans la recherche scientifique. Sois patiente, seules les études doctorales restent pour que notre rêve devienne pleinement réalité. Que Dieu réunisse nos chemins pour toute notre existence et qu'il nous aide à nous accepter davantage.

Avec un cœur rempli de joie, j'exprime ma profonde gratitude aux personnes oubliées. **Gloire à Dieu !** « *Les hommes se plaisent à penser qu'ils peuvent se débrouiller seuls, mais l'homme, le vrai, sait que rien ne vaut le soutien et les encouragements d'une bonne équipe* » *Tim Allen*



## Table des matières

Certification .....	iii
Dédicace .....	iv
Remerciements .....	v
Table des matières .....	vii
Liste des sigles, acronymes, abréviations et signes .....	xiii
Liste des figures .....	xvii
Liste des tableaux .....	xix
Liste des annexes .....	xx
Résumé .....	xxi
Abstract.....	xxii
Introduction .....	1
Partie 1: Synthèse bibliographique .....	5
Chapitre 1 : Effluents agricoles, pesticides et utilisation des pesticides au Bénin .....	6
1.1. Effluents agricoles .....	6
1.2. Pesticides.....	6
1.2.1. Définition.....	6
1.2.2. Classification des pesticides .....	6
1.2.2.1. Classification selon la nature.....	6
1.2.2.2. Classification selon les cibles visées .....	9
1.3. Utilisation des pesticides au Bénin .....	9
1.3.1. Historique de l'utilisation des pesticides au Bénin.....	9
1.3.2. Utilisation des pesticides au Nord-Bénin .....	10
Chapitre 2 : Le réseau hydrographique du Nord-Bénin .....	11
2.1. Bassin du fleuve Niger.....	11
2.2. Bassin de la Volta .....	12
2.3. Eléments de faune aquatique .....	14

Chapitre 3 : Contamination des écosystèmes aquatiques et impacts des pesticides agricoles .....	15
3.1. Contamination des écosystèmes aquatiques par les pesticides agricoles.....	15
3.2. Approches utilisées pour l'étude des impacts biologiques liés aux pesticides agricoles chez les poissons .....	15
3.2.1. Tests de laboratoire .....	16
3.2.2. Approches basées sur la manipulation en milieu naturel .....	16
3.2.2.1. Utilisation d'organismes autochtones.....	17
3.2.2.2. Expérimentations in situ .....	17
3.3. Choix des approches d'étude .....	18
3.4. Impacts des pesticides agricoles sur les poissons .....	18
Chapitre 4 : Quelques éléments de biologie des poissons Téléostéens et modèle biologique .....	20
4.1. Biologie de la reproduction chez les poissons Téléostéens .....	20
4.1.1. Appareil génital mâle : les testicules .....	20
4.1.1.1. Anatomie générale du testicule.....	20
4.1.1.2. Organisation testiculaire .....	20
4.1.1.3. Spermatogenèse .....	21
4.1.1.4. Cellules de Sertoli et cellules de Leydig .....	22
4.1.1.5. Stades de développement testiculaire .....	23
4.1.2. Appareil génital femelle : les ovaires .....	23
4.1.2.1. Anatomie générale et organisation de l'ovaire .....	23
4.1.2.2. Ovogenèse .....	24
4.1.2.3. Stades de développement ovarien.....	26
4.2. Systèmes digestif et urinaire des poissons Téléostéens .....	26
4.2.1. Appareil digestif .....	26
4.2.2. Appareil urinaire .....	27
4.3. Choix du modèle biologique .....	27
4.4. Description du modèle biologique de l'étude : <i>Oreochromis niloticus</i> .....	28

4.4.1. Position systématique .....	28
4.4.2. L'espèce dans son biotope.....	29
Partie 2 : Matériel et méthodes .....	30
Chapitre 5 : Matériel et méthodes.....	31
5.1. Milieu d'étude et infrastructures d'élevage .....	31
5.2. Matériel.....	33
5.2.1. Matériel animal .....	33
5.2.2. Matériel pour le suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau des retenues.....	34
5.2.3. Matériel lors des prélèvements d'organes et des mesures biométriques.....	34
5.2.4. Autres appareils et outils .....	35
5.3. Méthodes.....	36
5.3.1. Sortie exploratoire .....	36
5.3.2. Installation des infrastructures expérimentales et leur empoissonnement .....	37
5.3.3. Conduite de l'élevage.....	38
5.3.4. Campagnes de prélèvement.....	39
5.3.5. Traitement biologique des données .....	42
5.3.5.1. Analyse histologique des organes.....	42
5.3.5.1.1. Histologie des gonades .....	43
5.3.5.1.2. Histologie du foie et du rein.....	47
5.3.5.1.3. Prévalences des altérations .....	47
5.3.5.1.4. Evaluation de l'état de santé générale des poissons.....	47
5.3.5.2. Analyse de l'état physiologique des poissons .....	47
5.3.5.2.1. Caractéristiques morpho-physiologiques : indices biométriques chez tous les poissons.....	47
5.3.5.2.2. Paramètres de croissance des poissons élevés en infrastructures .....	48
5.3.6. Analyse statistique des données.....	49
Partie 3 : Résultats et discussion.....	50

Chapitre 6 : Résultats.....	51
6.1. Température et pH de l'eau des retenues d'eau .....	51
6.2. Analyse histologique des organes .....	51
6.2.1. Histologie du testicule .....	51
6.2.1.1. Développement des stades .....	51
6.2.1.2. Quelques micrographies des altérations .....	52
6.2.1.3. Prévalences (%) des altérations .....	54
6.2.2. Histologie de l'ovaire .....	54
6.2.2.1. Développement des stades .....	54
6.2.2.2. Quelques micrographies des altérations .....	55
6.2.2.3. Prévalences (%) des altérations .....	57
6.2.3. Histologie du foie .....	57
6.2.3.1. Quelques micrographies des altérations .....	57
6.2.3.2. Prévalences (%) des altérations .....	59
6.2.4. Histologie du rein .....	60
6.2.4.1. Quelques micrographies des altérations .....	60
6.2.4.2. Prévalences (%) des altérations .....	61
6.2.5. Indices moyens (I) obtenus après analyse semi-quantitative .....	62
6.3. Analyse de l'état physiologique des poissons.....	63
6.3.1. Indices biométriques des juvéniles d' <i>Oreochromis niloticus</i> achetés et empoisonnés dans les infrastructures .....	63
6.3.2. Indices biométriques des poissons prélevés en eau libre .....	63
6.3.2.1. Prélèvement de juin .....	63
6.3.2.2. Prélèvement d'août .....	64
6.3.2.3. Comparaison des indices biométriques entre les poissons du prélèvement de juin et ceux d'août.....	66

6.3.3. Indices biométriques des poissons prélevés dans les enclos et happas installés dans les retenues d'eau .....	66
6.3.3.1. Comparaison des indices biométriques entre enclos et happas de la retenue d'eau de Songhaï, milieu de référence .....	66
6.3.3.2. Comparaison des indices biométriques entre enclos et happas de la retenue d'eau de Batran, milieu le plus pollué par les pesticides.....	67
6.3.3.3. Comparaison des indices biométriques par infrastructure entre les deux retenues d'eau .....	68
6.3.3.3.1. Enclos.....	68
6.3.3.3.2. Happas.....	69
6.3.4. Paramètres de croissance des poissons élevés en enclos et en happas installés dans les retenues d'eau.....	70
Chapitre 7 : Discussion.....	72
7.1. Température et pH de l'eau des retenues d'eau .....	72
7.2. Histologie des organes et état physiologique des poissons.....	72
7.2.1. Histologie des organes .....	73
7.2.1.1. Stades de développement des gamètes .....	73
7.2.1.2. Altérations dans les gonades.....	74
7.2.1.3. Altérations dans le rein et le foie .....	75
7.2.2. Caractéristiques morpho-physiologiques des juvéniles empoisonnés et des poissons prélevés en eau libre .....	76
7.2.2.1. Indices biométriques chez les juvéniles empoisonnés .....	76
7.2.2.2. Indices biométriques chez les poissons prélevés en eau libre .....	77
7.2.2.2.1. Indice gonado-somatique .....	77
7.2.2.2.2. Indice hépato-somatique .....	78
7.2.2.2.3. Indice de condition.....	78
7.2.3. Caractéristiques morpho-physiologiques et paramètres de croissance des poissons prélevés dans les infrastructures expérimentales .....	79

7.2.3.1. Indices biométriques.....	79
7.2.3.2. Paramètres de croissance .....	80
Conclusion et suggestions .....	82
Références bibliographiques.....	83
Annexes .....	xxiii

## Liste des sigles, acronymes, abréviations et signes

<b>LISTE DES SIGLES, ACRONYMES, ABREVIATIONS ET SIGNES</b>
<b>ADN</b> : acide désoxyribonucléique
<b>AIC</b> : Association Interprofessionnelle de Coton
<b>alt</b> : altération
<b>APAq</b> : Aménagement des Pêches et Aquaculture
<b>APS</b> : acide périodique de Schiff
<b>AquaDeD</b> : Aquaculture et Développement Durable
<b>Aquatox-Bénin</b> : Projet Recherche-Développement «Influence des pratiques phytosanitaires en milieu cotonnier sur l'agrosystème aquatique et la qualité sanitaire des poissons produits dans les retenues d'eau au nord Benin
<b>ARES</b> : Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur
<b>CAMES</b> : Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur
<b>CDD</b> : Commission de la Coopération au Développement
<b>CEMAGREF</b> : Centre National de Machinisme Agricole, du Génie Rural, des Eaux et des Forêts
<b>CENAGREF</b> : Centre National de Gestion des Réserves de Faune
<b>CF</b> : coton fibre
<b>CIRAD</b> : Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique
<b>cm</b> : centimètre
<b>CMM</b> : Centres mélano-macrophagiques
<b>CNAC</b> : Comité National d'Agrément et de Contrôle des produits phytopharmaceutiques
<b>CRA</b> : Centre de Recherches Agricoles
<b>DDE</b> : dichloro-diphényléthane
<b>DDT</b> : dichloro-diphényltrichloroéthane
<b>DGE</b> : Direction Générale de l'Eau
<b>DNA</b> : deoxyribonucleic acid
<b>EAGE</b> : Ecole d'Aménagement et de Gestion de l'Environnement
<b>EC</b> : emulsiable concentrate
<b>ELISA</b> : Enzym-Linked Immunosorbent Assay
<b>EPAC</b> : Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi

<b>EROD</b> : ethoxyresorufin-O-deethylase
<b>FA</b> : Faculté d'Agronomie
<b>FAO</b> : Food and Agriculture Organization
<b>FSA</b> : Faculté des Sciences Agronomiques
<b>g</b> : gramme
<b>GMQ</b> : gain moyen quotidien individuel
<b>GP</b> : gain de poids moyen
<b>GPS</b> : Global Positioning System
<b>GTZ</b> : Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit
<b>ha</b> : hectare
<b>HCH</b> : hexachlorocyclohexane
<b>HE</b> : hématoxyline-éosine
<b>i.e.</b> : c'est-à-dire
<b>IFDC</b> : International Fertilizer Development Center
<b>I<sub>foie</sub></b> : indice foie
<b>IGS</b> : indice gonado-somatique
<b>IHS</b> : indice hépato-somatique
<b>INSAE</b> : Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique
<b>INRA</b> : Institut National de Recherche Agronomique
<b>INRAB</b> : Institut National de Recherche Agronomique du Bénin
<b>I<sub>org</sub></b> : indice de l'organe,
<b>I<sub>ovaire</sub></b> : Indice de l'ovaire
<b>I<sub>rein</sub></b> : indice du rein
<b>ISBA</b> : Institut des Sciences Biomédicales et Appliquées
<b>I<sub>testicule</sub></b> : indice du testicule
<b>I<sub>total</sub></b> : indice total
<b>K</b> : indice de condition
<b>km</b> : kilomètre
<b>km<sup>2</sup></b> : kilomètre carré



<b>Kow</b> : coefficient de partition octanol-eau
<b>l</b> : litre
<b>LHA</b> : Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture
<b>ln</b> : logarithme népérien
<b>LT</b> : longueur totale
<b>m</b> : mètre
<b>MAAF</b> : Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt de la France
<b>MAEP</b> : Ministère de l'Agriculture de l'Elevage et de la Pêche
<b>mg</b> : milligramme
<b>MS</b> : methane sulfate
<b>OBEPAB</b> : Organisation Béninoise pour la Promotion de l'Agriculture Biologique
<b>OMS</b> : Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONG</b> : Organisation Non Gouvernementale
<b>O-TEQ</b> : oil toxicity equivalence
<b>P</b> : poids corporel
<b>Pf</b> : poids du foie
<b>Pg</b> : poids des gonades
<b>pH</b> : potentiel-hydrogène
<b>Pmf</b> : poids moyen final
<b>Pmi</b> : poids moyen initial
<b>ppm</b> : par pour million
<b>Rp</b> : reaction pattern ou type d'altération
<b>Scy</b> : spermatoocyte
<b>Spd</b> : spermatide
<b>Spg</b> : spermatogonie
<b>UAC</b> : Université d'Abomey-Calavi
<b>UNA</b> : Université Nationale d'Agriculture
<b>UP</b> : Université de Parakou
<b>URAEaq</b> : Unité de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie Aquatique
<b>Spz</b> : spermatozoïde

<b>TCS</b> : taux de croissance spécifique
<b>TDS</b> : total dissolved solids
<b>X</b> : latitude
<b>Y</b> : longitude
: score d'occurrence d'une altération
: facteur d'importance d'une altération
: femelle
: mâle
<b>%</b> : pourcentage
<b>/</b> : par
<b>&lt;</b> : inférieur
<b>&gt;</b> : supérieur
<b>±</b> : plus ou moins
<b>°C</b> : degré Celsius
<b>µm</b> : micromètre
<b>µS</b> : micro Siemens

## Liste des figures

Figure 1 : Carte du Bénin montrant les bassins versants du pays (DGE, 2008).....	13
Figure 2 : Section transversale d'un lobule testiculaire (Billard <i>et al.</i> , 1982).....	21
Figure 3 : Etapes de la spermatogenèse (figure modifiée de Valente, 2008) .....	22
Figure 4 : Follicule ovarien composé d'un ovocyte I et de l'enveloppe folliculaire (Zona radiata, cellules folliculaires, membrane basale et thèque) (Bruslé et Quignard, 2004) .....	24
Figure 5 : Spécimen d' <i>Oreochromis niloticus</i> (Travaux de recherche, 2016) .....	29
Figure 6 : Dispositif montrant les infrastructures d'élevage d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	32
Figure 7 : Installation des infrastructures dans les retenues d'eau (A: montage des cadres à Batran ; B : montage des poches de filets à Batran ; C: installation des cadres dans l'eau à Songhai) (Travaux de recherche, 2016) .....	33
Figure 8 : Tanks utilisés pour le stockage des poissons (Travaux de recherche, 2016).....	33
Figure 9 : Appareil multi paramètres physico-chimiques (Travaux de recherche, 2016) .....	34
Figure 10 : Observation des lames au microscope optique (Travaux de recherche, 2016).....	35
Figure 11 : Appareil GPS (Global Positioning System) (Travaux de recherche, 2016) .....	36
Figure 12: Lot de douze bouches de distribution d'aliment à Batran (Travaux de recherche, 2016) .....	36
Figure 13 : Mesure de la longueur totale des poissons (Travaux de recherche, 2016) .....	38
Figure 14 : Prise des paramètres physico-chimiques de l'eau dans retenue de Batran (Travaux de recherche, 2016) .....	39
Figure 15 : Prélèvement d'organes chez <i>Oreochromis niloticus</i> (Travaux de recherche, 2016) ...	41
Figure 16 : Structures macroscopiques des organes (A) : foie ; (B) : rein ; (C) : ovaire gauche ; (D) : testicules (Travaux de recherche, 2016) .....	42
Figure 17 : Etapes de la réalisation des coupes histologiques : A : cassettes préparées ; B : déshydratation ; C : imprégnation en paraffine ; D : blocs de paraffine incluant les organes ; E : ruban coupé au microtome manuel ; F : étalement au moyen d'une plaque chauffante ; G : lames portant les coupes bien étalées (Travaux de recherche, 2016).....	43
Figure 18 : Pourcentages des différents stades des cellules du testicule .....	52
Figure 19 : Micrographies du testicule d' <i>Oreochromis niloticus</i> (40x, HE).....	52
Figure 20 : Pourcentages des différents stades de développement ovocytaire .....	55
Figure 21 : Micrographies (40x, HE) de l'ovaire d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	56
Figure 22 : Micrographies (40x, HE) du foie d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	58
Figure 23 : Micrographies (40x, HE) du rein d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	60

Figure 24 : Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres morpho-physiologiques d'*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre en juin.....64

Figure 25 : Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres morpho-physiologiques d'*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre en août.....65

## Liste des tableaux

Tableau I : Paramètres de qualité de l'eau du forage d'eau de l'URAEAg.....	37
Tableau II : Caractéristiques des stades de développement des cellules dans le testicule .....	44
Tableau III : Caractéristiques des stades de développement ovocytaires dans l'ovaire .....	45
Tableau IV : Valeurs moyennes de la température et du pH des retenues d'eau .....	51
Tableau V : Prévalences (%) des altérations dans le testicule d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	54
Tableau VI : Prévalences (%) des altérations dans l'ovaire d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	57
Tableau VII : Prévalences (%) des altérations dans le foie d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	59
Tableau VIII : Prévalences (%) des altérations dans le rein d' <i>Oreochromis niloticus</i> .....	61
Tableau IX : Valeurs moyennes des indices des organes et de l'indice total .....	62
Tableau X : Valeurs moyennes des indices biométriques chez les juvéniles d' <i>Oreochromis niloticus</i> achetés.....	63
Tableau XI : Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos et en happas de la retenue d'eau de Songhaï .....	66
Tableau XII : Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos et en happas de la retenue d'eau de Batran .....	67
Tableau XIII : Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos dans la retenue d'eau de Songhaï et dans celle de Batran .....	68
Tableau XIV : Valeurs moyennes des indices biométriques en happas dans la retenue d'eau de Songhaï et dans celle de Batran .....	70
Tableau XV : Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres de croissance d' <i>Oreochromis niloticus</i> élevé en enclos et en happas.....	71

## Liste des annexes

Annexe 1 : Programme de traitement phytosanitaire du cotonnier dans le département de l'Alibori .....	xxiii
Annexe 2 : Liste et classement des pesticides utilisés dans la commune de Banikoara de 2009 à 2016 .....	xxiv
Annexe 3 : Fiches d'enregistrement des données biométriques prises en eau libre.....	xxv
Annexe 4 : Fiches d'enregistrement des données biométriques prises les infrastructures expérimentales .....	xxvi
Annexe 5: Processus d'établissement des codes inscrits sur les tubes de prélèvement des organes .....	xxvii
Annexe 6 : Protocole de réalisation des coupes histologiques .....	xxviii
Annexe 7 : Fiches utilisées lors des observations histologiques au microscope optique .....	xxx

## Résumé

Les pratiques agricoles actuelles dans le bassin cotonnier béninois situé au Nord-Est du pays impliquent l'utilisation massive de pesticides qui constituent les polluants majeurs dans cette zone. La présente étude réalisée en saison pluvieuse, a utilisé l'histologie des organes, les indices morpho-physiologiques et les paramètres de croissance comme biomarqueurs complémentaires d'évaluation de l'état de santé d'*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre, élevé en enclos et en happas dans deux retenues d'eau du Nord-Bénin. Il s'agit de la retenue d'eau de Songhaï, milieu de référence, située hors du bassin cotonnier et de la retenue d'eau de Batran située dans la commune la plus consommatrice de pesticides au Bénin. Les résultats histologiques montrent que les gonades, le foie et le rein d'*Oreochromis niloticus* prélevé à Batran sont les plus affectés par des altérations qui sont en majorité régressives. Quelle que soit la retenue d'eau et quel que soit le sexe, tous les six stades de développement sont présents dans les gonades. L'effet cocktail des pesticides dans la retenue de Batran semble être androgénique i.e. ce mélange complexe de pesticides retarde la maturation des ovocytes et accélère celle des spermatozoïdes. Le foie et le testicule sont les organes d'*Oreochromis niloticus* les plus altérés. La santé générale des poissons de la retenue d'eau Batran est dangereusement plus affectée comparativement à Songhaï, de même, les poissons mâles sont les plus affectés. Quel que soit le mois, les poissons capturés en eau libre présentent l'indice gonado-somatique (IGS), l'indice hépato-somatique (IHS) et l'indice de condition (K) significativement plus élevés à Songhaï comparativement à Batran ( $p < 0,05$  pour les femelles). Dans une même retenue d'eau, quel que soit le sexe, les valeurs des indices biométriques sont plus élevées en happas comparativement aux enclos. Tous les indices biométriques des poissons pris à Songhaï dans les enclos sont supérieurs à ceux prélevés à Batran ; seuls les indices IHS et K des femelles montrent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Dans les happas, les indices biométriques des poissons pris à Songhaï sont supérieurs à ceux prélevés à Batran avec une différence significative entre K des femelles ( $p < 0,05$ ). Indépendamment de la retenue d'eau, le gain de poids moyen (GP), le gain moyen quotidien individuel (GMQ) et le taux de croissance spécifique (TCS) sont significativement plus élevés en happas ( $p < 0,05$ ). En comparaison à la retenue d'eau de Batran, les poissons élevés dans la retenue d'eau de Songhaï présentent significativement les meilleurs paramètres de croissance ( $p < 0,05$ ).

**Mots-clés :** biomarqueurs, histologie, *Oreochromis niloticus*, pesticides, physiologie, retenue d'eau

## Abstract

**Title: Analysis of gonads, liver, kidney histology and of physiological status of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to agricultural pesticides in water reservoirs of North-Benin**

Current agricultural practices in the Beninese cotton basin located at north-east of the country involve the heavy use of pesticides which constitute the major pollutants in this area. The present study carried out in the rainy season, used the histology of organs, the morpho-physiological indices and the growth parameters as complementary biomarkers to evaluate the health status of *Oreochromis niloticus* caught directly in open water, raised in pens and in “happas” installed in two water reservoirs of northern Benin. This is Songhaï water reservoir, reference site situated outside the cotton basin and Batran water reservoir located in the town which consumes the most agricultural pesticides in Benin. The histological results show that the gonads, liver and kidney of *Oreochromis niloticus* collected at Batran are most affected by alterations which are in most regressive. Regardless of the water reservoir and sex, all the six stages of development are present in the gonads. The pesticide cocktail effect in the Batran reservoir seems to be androgenic i.e. this complex mixture of pesticides retards the maturation of oocytes and accelerates the sperm one. The liver and testis are the *Oreochromis niloticus* organs most altered. The general health of fish sampled in Batran water reservoir is dangerously affected more compared to those from reference site, similarly, male fish are the most affected. Whatever the month, fish caught directly in open water of Songhaï reservoir have the gonadosomatic index (GSI), the hepato-somatic index (HSI) and the condition index (K) significantly higher compared to those from Batran water reservoir ( $p < 0.05$  for the females). In the same reservoir, whatever the sex, the values of biometric indices are higher in “happas” comparatively to pens. All the biometric indices of fish caught in pens at Songhaï water reservoir are higher than those caught in pens at Batran; only IHS and K for females show a significant difference ( $p < 0.05$ ). In “happas”, biometric indices of fish caught at Songhaï are also higher than those collected at Batran water reservoir with a significant difference between K for the females ( $p < 0.05$ ). Regardless of the water reservoir, the average weight gain (WG), the individual average daily gain (ADG) and specific growth rate (SGR) are significantly higher in happas ( $p < 0.05$ ). Compared to the Batran water reservoir, the fish raised in Songhaï water reservoir show the best growth parameters ( $p < 0.05$ ).

**Key-words:** biomarkers, histology, *Oreochromis niloticus*, agricultural pesticides, physiology, water reservoir



## Introduction

Dans les pays en voie de développement et surtout en Afrique sub-saharienne, la production agricole joue un rôle important dans le développement économique, la lutte contre la pauvreté et l'amélioration des conditions de vie des populations rurales (Akplogan *et al.*, 2005). Cette production agricole se caractérise de plus en plus par l'utilisation d'engrais minéraux pour la fertilisation du sol et de pesticides pour la lutte contre les adventices et le traitement phytosanitaire des plantes cultivées (Adechian *et al.*, 2015).

Au Bénin, un pays ouest africain, le secteur agricole contribue à près de 32% au Produit Intérieur Brut et environ 55% de la population y trouve son emploi (MAAF, 2013). Les spéculations agricoles sont constituées des cultures vivrières (maïs, niébé, etc.), maraichères (laitue, tomate, la carotte, etc.), racines et tubercules (igname, patate douce, etc.) et des cultures d'exportation à l'instar du coton (MAEP, 2011) qui, depuis 1992 représente 90% des exportations agricoles, 40% des entrées de devises et 60% du tissu industriel (MAAF, 2013). Malheureusement, le cotonnier (*Gossypium hirsutum*) est sujet à une forte pression parasitaire qui varie selon les zones agro-écologiques où elle est pratiquée (CRA-CF, 2006). Ainsi les pertes de rendement liées aux parasites sont énormes et varient entre 20 et 60% du potentiel de production de la plante (Follin et Deat, 2004). De ce fait, l'obtention des bons rendements nécessite l'usage d'une forte quantité de pesticides (Follin et Deat, 2004). Par conséquent, la culture du coton est considérée très consommatrice de pesticides surtout de synthèse (Guidou, 1998) dont le programme calendaire d'application est constitué de six traitements groupés en deux ou trois fenêtres en fonction des zones agro-écologiques du Bénin (MAEP, 2014). A cet effet l'augmentation croissante des superficies emblavées pour le coton accroît la quantité totale de pesticides dans l'agriculture béninoise (Soclo *et al.*, 2004) et c'est même à travers la culture du coton que les pesticides sont fournis de façon non officielle aux autres spéculations agricoles (AIC, 2005). Dans le contexte béninois, le cotonnier consomme près de 90 % du marché des insecticides (Ton, 2001), et 96% des engrais chimiques (IFDC, 2005), les restes étant respectivement utilisés dans les cultures maraichères, de niébé et de maïs (MAEP, 2005; Yèhouéno, 2005). L'essentiel de la production cotonnière béninoise estimée à 393.368 tonnes en 2014 (INSAE, 2016) se concentre dans les départements du Borgou et de l'Alibori. Ces deux départements du Nord-Bénin fournissent à eux seuls près de 50 à 70% de la production nationale (MAEP, 2014). Au plan national et du point de vue production cotonnière, le département de l'Alibori occupe la première position avec la commune de Banikoara qui produit à elle seule environ 40% de la production nationale (Ton, 2004) et constitue conséquemment la commune la plus consommatrice de pesticides au Bénin

(Banque Mondiale, 2004). Dans le bassin cotonnier béninois (département de l'Alibori), il est chaque année utilisé plus d'un million de litres de pesticides, équivalant à plus de 80% de la quantité totale de pesticides agricoles utilisés annuellement au Bénin (AIC, 2008).

Malheureusement, seul 0,1% des pesticides utilisés dans les champs atteignent leurs cibles; le reste (99,9%) se répartit dans les écosystèmes pour contaminer la terre, l'eau et l'air (Primentel et Levitain, 1986). Chao *et al.* (2009) ont rapporté que les écosystèmes aquatiques constituent généralement le réceptacle final de la fraction restante des pesticides. Ces pesticides peuvent être retrouvés sous forme dissous dans l'eau, déposés sur les sédiments ou encore accumulés dans les chaînes trophiques (Agbohessi, 2014). L'utilisation des pesticides a donc une influence négative sur la biodiversité aquatique (Monkiedje *et al.*, 2000; Ullah et Zorriehzakra, 2014).

Or, le Nord-Bénin est principalement traversé par les eaux du bassin de la Volta dans l'Atacora et la Donga et celles du bassin du Niger dans le Borgou et l'Alibori (DGE, 2008). Dans les années 70 et 80, le gouvernement béninois a mis en œuvre un programme de construction des ouvrages hydrauliques (Ibouraima, 2005) afin d'atténuer les conséquences écologiques et socio-économiques négatives de la longue et rude période de sécheresse ayant sévi au Bénin. Ces ouvrages hydrauliques sont communément appelés retenues d'eau (DGE, 2008; Adam Sanni, 2011). A nos jours, environ 215 retenues alimentées par les eaux des bassins de la Volta et du Niger ont été construites au Nord Bénin (DGE, 2008) soit 82,7 % des retenues d'eau de l'ensemble du pays (Adam Sanni, 2011). La faune ichthyenne de ces retenues d'eau est diversifiée et plus de 60% (environ 800 tonnes) du poisson frais consommé annuellement dans le Nord-Bénin y sont produites (Imorou Toko *et al.*, 2011a). Par exemple, vingt espèces de poissons appartenant à quatorze genres et dix familles ont été échantillonnées et identifiées dans les retenues d'eau de la commune de Banikoara (gérées par les comités de gestion et le Secteur Communal pour le Développement Agricole) (Imorou Toko *et al.*, 2011a). Parmi ces espèces, *Oreochromis niloticus* est la plus rencontrée avec une fréquence de 100% (Imorou Toko *et al.*, 2011a). Un danger énorme menace cette faune car les études menées sur les pratiques phytosanitaires au Bénin ont mis en évidence que 89% des agriculteurs avaient leurs champs de coton ou de maraichage proches des retenues d'eau (Agagbé, 2008). Cette proximité des champs des retenues d'eau augmente leur vulnérabilité à la contamination par les effluents agricoles dominés par les pesticides agricoles, polluants majoritaires dans le bassin cotonnier du Bénin qui est une zone rurale où les autres sources de pollution sont négligeables (Imorou Toko *et al.*, 2011a ; Agbohessi, 2014). Par ailleurs, Adechian *et al.* (2015) ont constaté que les doses de pesticides les plus élevées sont utilisées aux abords des retenues d'eau parce que l'humidité du sol au voisinage favorise la multiplication des nuisibles. Parfois, des pêcheurs utilisent les

produits phytosanitaires en période de basse eau pour pêcher dans les retenues d'eau et certains cotonculteurs y nettoient directement leurs outils de pulvérisation (Agbohessi, 2014). A cet effet, plusieurs travaux ont révélé des concentrations alarmantes en pesticides dans les eaux et sédiments de la rivière Alibori, du parc national W et des retenues d'eau du Nord-Bénin (Assongba, 1996 ; Soclo *et al.*, 2004; CENAGREF,2004 ; Yèhouénoù, 2005 ; Gbaguidi, 2011; Agbohessi *et al.*, 2012a). Des taux critiques d'heptachlore ( $0,580 \pm 0,127 \mu\text{g/l}$  en saison pluvieuse et  $1,502 \pm 0,573 \mu\text{g/l}$  en saison sèche), de plusieurs résidus de DDT et d'endosulfan ( $8,22\text{-}13,83 \mu\text{g/l}$  en période pluvieuse et  $2,92\text{-}3,72 \mu\text{g/l}$  en période sèche) ont été déterminés dans la rivière Alibori (Agbohessi *et al.*, 2015a). Aussi, Adam *et al.* (2010) ont signalé que les sédiments prélevés dans les retenues d'eau des communes de Gogounou, Kandi et Banikoara contiennent des concentrations moyennes respectivement 0,1155 ; 0,1165 et 0,1225 ppm pour les pyrèthriinoïdes et 0,079 ; 0,080 et 0,094 ppm pour les organophosphorés.

Malgré cette pollution avérée des retenues d'eau du Nord-Bénin et leur importance numérique ; les études relatives aux impacts biologiques des polluants sur les organismes sont rares. A notre connaissance, seul Agbohessi (2014) a réellement mis l'accent sur les impacts biologiques des pesticides agricoles sur la faune aquatique notamment les poissons (organismes à plus grand intérêt économique) prélevés en eau libre des retenues du Nord-Bénin. Or les peuplements piscicoles, généralement situés à des niveaux supérieurs de la chaîne trophique, constituent des cibles par excellence des pesticides (Gobas *et al.*, 1993).

Chez les poissons, les effets liés à leur exposition chronique aux polluants sont mieux évalués en mesurant des paramètres biologiques (Aarab, 2004). Alors la présente étude aborde les perturbations biologiques causées aux poissons vivant dans les retenues d'eau du Nord-Bénin par les pesticides, composantes majoritaires des effluents agricoles, selon une approche multi biomarqueurs d'effets. Les biomarqueurs ont l'avantage d'intégrer le contexte environnemental dans les réponses mesurées au niveau de l'individu et de ses organes (Geffard *et al.*, 2010). Ils désignent les changements moléculaires, biochimiques, histologiques ou physiologiques chez des organismes, susceptibles d'être utilisés pour estimer les effets induits par la pollution (Huggett *et al.*, 1992 ; Lagadic *et al.*, 1997).

Ce mémoire intitulé « **Analyse histologique des gonades, du foie, du rein et de l'état physiologique du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* exposé aux pesticides agricoles dans les retenues d'eau du Nord-Bénin** » avait pour objectif principal d'étudier les perturbations biologiques chez les poissons exposés aux pesticides agricoles pour comprendre et analyser leur état de santé. *Oreochromis niloticus* est une probable espèce sentinelle chez qui la mesure de

paramètres biologiques informera sur la pollution des retenues d'eau. Les objectifs spécifiques fixés pour atteindre l'objectif principal étaient de :

- Evaluer au niveau histologique l'effet de la pollution par les pesticides agricoles sur les gonades, le foie et le rein des individus d'*Oreochromis niloticus* prélevés en eau libre et ceux élevés en enclos et en happas dans les retenues d'eau du Nord-Bénin ;
- Evaluer l'effet de la pollution par les pesticides agricoles sur l'état physiologique des individus d'*Oreochromis niloticus* prélevés en eau libre et ceux élevés en enclos et en happas dans les retenues d'eau du Nord-Bénin ;
- Identifier entre enclos et happas, la technique d'élevage qui expose plus *Oreochromis niloticus* élevé dans les retenues d'eau aux effets des pesticides agricoles.

Dans un même ordre que les objectifs spécifiques, les hypothèses listées ci-dessous étaient posées :

- La pollution par les pesticides agricoles modifie la structure normale des gonades, du foie et du rein des individus d'*Oreochromis niloticus* prélevés en eau libre et ceux élevés en enclos et en happas dans les retenues d'eau du Nord-Bénin ;
- La pollution par les pesticides agricoles altère les caractéristiques physiologiques des individus d'*Oreochromis niloticus* prélevés en eau libre et ceux élevés en enclos et en happas dans les retenues d'eau du Nord-Bénin ;
- L'élevage en enclos expose plus les poissons élevés dans les retenues d'eau du Nord-Bénin aux effets des pesticides agricoles.

Le présent mémoire est le fruit des recherches menées conformément à nos objectifs. En dehors de l'introduction, de la conclusion et des suggestions, il est organisé en trois (3) grandes parties. La première est une synthèse bibliographique faisant l'état de l'art sur la thématique abordée et contient les quatre premiers chapitres. La deuxième partie dans laquelle est inclus le cinquième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés pour conduire les recherches. Les chapitres sixième et septième exposant respectivement les résultats obtenus et leur discussion forment la troisième partie de ce mémoire.

## Partie 1: Synthèse bibliographique

*Cette partie est formée de quatre différents chapitres. Le chapitre 1 traite des effluents agricoles, des pesticides, de l'utilisation des pesticides au Bénin et des principales matières actives utilisées dans les champs au Nord-Bénin. Dans le chapitre 2, nous avons décrit le réseau hydrographique du Nord-Bénin formé principalement du bassin de la Volta et du bassin du Niger. Ce sont principalement les eaux de ces deux bassins qui alimentent les retenues d'eau au Nord-Bénin. Quand au chapitre 3, il traite des mécanismes de contamination des écosystèmes aquatiques par les effluents agricoles composés principalement des pesticides au Nord-Bénin. Des synthèses sur les impacts des pesticides agricoles sur les poissons et sur les approches méthodologiques couramment utilisées pour l'évaluation de ces impacts y sont également faites. Enfin, dans le chapitre 4, les raisons de choix du modèle biologique et sa description sont abordées. Ce chapitre traite également des systèmes digestif, reproducteur et urinaire chez les poissons Téléostéens et de leur gamétogenèse.*

## Chapitre 1 : Effluents agricoles, pesticides et utilisation des pesticides au Bénin

### 1.1. Effluents agricoles

Les effluents agricoles désignent généralement les déchets provenant des activités agricoles et rejetés dans les eaux de surface. Dans de nombreux cas, les effluents agricoles constituent les contaminants dominants des zones à forte production agricole. Ils sont constitués des engrais et des pesticides ou produits phytosanitaires (Soclo *et al.*, 2004). Au Nord-Bénin, les pesticides constituent les polluants majoritaires pouvant induire des conséquences négatives importantes pour les écosystèmes aquatiques (le biotope et la biocénose) et l'Homme en raison de leur présence chronique dans l'environnement (Agbohessi, 2014).

### 1.2. Pesticides

#### 1.2.1. Définition

Le terme pesticide provient du mot anglais « pest » qui désigne toute espèce végétale ou animale nuisible aux activités humaines (Bouchon et Lemoine, 2003). Les pesticides sont des biocides et recouvrent toutes les substances, préparations ou organismes destinés à assurer la destruction ou à prévenir l'action des animaux, végétaux, microorganismes et virus dits nuisibles. Ces dénominations sont trompeuses, dans la mesure où ces produits, une fois dans l'environnement, ont en général une action dépassant largement la cible officiellement visée (Bouchon et Lemoine, 2003). Les pesticides regroupent un nombre important de molécules, aujourd'hui presque toutes de synthèse.

#### 1.2.2. Classification des pesticides

Généralement les pesticides sont classés selon leur nature et selon la cible visée (Houndji, 2011 ; Agbohessi, 2014).

##### 1.2.2.1. Classification selon la nature

On distingue les pesticides biologiques et les pesticides chimiques ou de synthèse.

##### ► Les pesticides biologiques

Les pesticides biologiques utilisent les propriétés de matières naturelles et généralement, créent moins de préjudices à l'environnement (Agbohessi, 2014). Ce sont par exemple **les dérivés du pyrèthre, la roténone, la nicotine, la quassine, la ryanodine, l'aconitine et le café** (Houndji, 2011). Ils sont utilisés dans la production du coton biologique.

## ► Les pesticides chimiques ou de synthèse

Ce sont des produits phytosanitaires commerciaux (substance(s) active(s) + adjuvant). Les pesticides chimiques utilisés de nos jours sont des molécules organiques de synthèse inconnues à l'état naturel sur notre planète à quelques exceptions près (Bouchon et Lemoine, 2003). Ils sont classés habituellement en plusieurs grandes familles selon leur composition chimique. On distingue principalement les organochlorés, les organophosphorés, les pyréthrinoides de synthèse, les carbamates, les aminophosphates, les néonicotinoïdes et les triazines (Gbaguidi, 2011 ; Agbohessi, 2014). Ce sont les pesticides de synthèse qui sont exclusivement utilisés dans la production du coton conventionnel (type dominant au Bénin) (Annexe 1 et Annexe 2).

### ▪ Les organochlorés

C'est un groupe de composés organiques de synthèse obtenus par chloration de divers hydrocarbures insaturés. Ce sont de puissants pesticides dont le coût de fabrication est relativement peu élevé (Kamrin, 1997). Le temps de demi-vie des insecticides organochlorés est de dix (10) ans ou plus (OMS, 1991). Grâce à leur lipophilité, les organochlorés se concentrent dans la chaîne alimentaire et s'accumulent dans les tissus adipeux des organismes vivants (Kan et Meijer, 2007). Leurs structures sont variées, mais ils possèdent tous un ou plusieurs atome (s) de chlore. Ils sont classés en composés aromatiques (dichloro-diphényltrichloroéthane (DDT) et dichloro-diphényléthane (DDE)), en composés cyclamiques (hexachlorocyclohexane (HCH)), en dérivés du cyclopentadiène (aldrine, et dieldrine), en composés terpéniques (toxaphine) et en cyclodiènes (endosulfan), etc.

### ▪ Les organophosphorés

Ce sont des esters phosphorés de synthèse dérivés de deux acides que sont : l'acide orthophosphorique et l'acide thiophosphoré. Ce sont des toxiques neurotropes, c'est-à-dire qu'ils agissent comme des inhibiteurs irréversibles de l'acétylcholinestérase des synapses (Ramade, 1989). Historiquement, ils ont remplacé les organochlorés car ils présentent une faible rémanence (de l'ordre de 48heures dans l'eau) et une meilleure sélectivité vis-à-vis des insectes. Peu solubles dans l'eau, ils ne sont pas stockés dans les organismes car facilement biodégradables (Goebel et Jacquemard, 1990). Ils sont classés en organophosphorés aliphatiques (hautement toxiques et peu stables, exemples : acéphate, diméthoate, malathion, etc.), en organophosphorés à cycle phényle (plus stables, meilleures rémanences, exemples : parathion-éthyle, profénofos, fenthion, etc.) et en organophosphorés à hétérocycle (exemples : chlorpyrifos, diazinon, phosmet, etc).

- **Les pyréthriinoïdes de synthèse**

Ce sont des pesticides dérivés de l'acide chrysanthémique et possédant une activité insecticide très forte (Fournier, 1988). Les composés constituant cette famille de pesticides sont très peu volatils et instables chimiquement. Leur demi-vie varie de cinq (5) jours à treize (13) semaines dans le sol (Fournier, 1988). La lambda-cyhalothrine et la cyperméthrine sont deux des principaux insecticides de la famille des pyréthriinoïdes officiellement importés au Bénin. La cyperméthrine est commercialisée sous des noms comme Cyclofos, Sherpos tandis que la lambda-cyhalothrine porte des noms tels que Cotalm, Lambdocal, etc. (CNAC, 2007). Ils sont très liposolubles ( $\log k_{ow} = 7$ ). Les pyréthriinoïdes synthétiques perturbent la conduction nerveuse en ralentissant la fermeture des canaux sodiques chez les insectes (Fournier, 1988).

- **Les carbamates**

Ce sont des esters de l'acide N-méthylcarbamique et sont également des anticholinéstatiques, mais dont l'action est réversible contrairement à celle des organophosphorés. Ils sont solubles dans l'eau et leur demi-vie s'étend de quelques jours à plusieurs mois, voire plusieurs années dans les eaux souterraines. Ils sont considérés comme moins dangereux que les organophosphorés et moins persistants que les organochlorés (Gras et Cissé, 1986). De façon globale, on distingue trois sous-familles de carbamates. Il s'agit des méthyle carbamates (à structure cyclique phényle, exemples: carbaryl, isocarbe, mexacarbe, etc.) ; des méthyle et diméthyle carbamates (à structure hétérocyclique, exemples : bendiocarbe, carbofuran, dioxacarbe, etc.) et des méthyle carbamates à chaîne aliphatique, (exemples : aldicarbe, oxamyl, thiodicarbe, etc.).

- **Les aminophosphates**

Le glyphosate ou N-phosphonométhyl glycine est un herbicide non sélectif de la famille des aminophosphates (Maroni *et al.*, 2000). Les formulations commerciales à base de glyphosate présentes sur le marché béninois sont entre autres le Kalach, l'Adwuma Wura, le Kallifor G et sont très hydrosolubles.

- **Les triazines**

Ils sont des molécules possédant un noyau hexagonal insaturé constitué de trois atomes de carbone et de trois atomes d'azote. Ce sont des molécules à effet herbicide. Ils possèdent une faible hydrosolubilité. L'atrazine et la prométrine sont deux composés de cette famille qui sont officiellement autorisés au Bénin, donc utilisés en agriculture.



Signalons que les néonicotinoïdes ont fait récemment leur entrée en cotonculture béninoise à travers l'acétamipride.

#### **1.2.2.2. Classification selon les cibles visées**

Selon la cible visée, il existe plusieurs classes de pesticides. Ramade (1989) a distingué les herbicides (contre les plantes adventices des cultures et toute végétation indésirable), les fongicides (contre les champignons phytopathogènes), les insecticides (contre les insectes nuisibles), les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes phytoparasites), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides ou hélicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les avicides (contre les oiseaux), les corvicides (contre les corbeaux), les miticides (contre les termites) et les algicides (contre les algues).

### **1.3. Utilisation des pesticides au Bénin**

#### **1.3.1. Historique de l'utilisation des pesticides au Bénin**

La production cotonnière et la lutte contre les piqûres de moustique vers les années 1950 sont à l'origine de l'utilisation des pesticides en Afrique et particulièrement au Bénin (Akogbeto et Yakoubou, 1999). Le DDT était le principal insecticide importé contre les ravageurs de coton jusqu'en 1970. Mais depuis 1971, l'utilisation des organophosphorés s'est répandue suite à l'interdiction de l'utilisation des organochlorés car étaient à l'origine de nombreux cas d'intoxication au Nord du pays (Zoumenou *et al.*, 2015). Les organochlorés ont été réintroduits à travers l'endosulfan en 1999-2000 dans le programme de traitement phytosanitaire du cotonnier (Katary, 2003) suite à la résistance des ravageurs face aux pesticides organophosphorés. Cette introduction de l'endosulfan (Thionex 350 EC et le Cotofan® 350 EC) a engendré de lourdes conséquences à l'environnement et à l'Homme (Agbohessi, 2014). C'est ainsi que le tihan 175 O-TEQ contenant le flubendiamide (100g/l) et le spirotétramate (75g/l) comme matières actives a remplacé l'endosulfan en février 2007 (Mbaye, 2008; Agbohessi *et al.*, 2011, 2012b). Malheureusement, les enquêtes de Agagbé (2008) ont montré que seuls 36% des producteurs font confiance aux produits officiellement autorisés. Le tihan subventionné en 2011-2012 par le gouvernement, a été donc suspendu à la campagne 2012-2013 à cause des plaintes des producteurs sur son inefficacité (Agbohessi *et al.*, 2011, 2012b).

Les insecticides et les herbicides sont les principaux pesticides agricoles habituellement utilisés au Bénin. Parmi les deux classes, les insecticides viennent en première position. Actuellement, les insecticides utilisés dans la filière coton au Bénin sont pour la plupart des binaires acaricides

ou aphicides constitués soit de pyréthrinoïdes et organophosphorés ou de pyréthrinoïdes et néonicotinoïdes au travers les matières actives telles que : lambda-cyhalothrine, chlorpyrifos, indocarb, acétamipride, spinetoram, cyperméthrine, bifenthrine, diméthoate, profenofos, émamectine benzoate, etc. (MAEP, 2014). Selon les volumes d'insecticides utilisés ces trois dernières années, de même que les superficies des zones traitées, les matières actives les plus utilisées sont l'acétamipride, la lambda- cyhalothrine, l'émamectine benzoate et la cyperméthrine (MAEP, 2014). Zoumenou *et al.* (2015) ont également rapporté qu'actuellement, la lambda-cyhalothrine (un pyréthrinoïde) et l'acétamipride (un néonicotinoïde) sont les matières actives les plus utilisées pour la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin.

### 1.3.2. Utilisation des pesticides au Nord-Bénin

Les pesticides chimiques aujourd'hui disponibles au Nord-Bénin sont caractérisés par une grande variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités (Gbaguidi, 2011 ; Agbohessi, 2014). Cette diversité des pesticides au Bénin est liée à la perméabilité des frontières avec les pays voisins et à la non application des instruments juridiques et techniques en la matière (Soclo *et al.*, 2004). Car selon Agbohessi (2014) dans la liste des pesticides utilisés par les producteurs du coton conventionnel figurent les pesticides du « marché noir » interdits d'utilisation au Bénin, provenant du Ghana, du Togo et du Nigéria et introduits frauduleusement. Les résultats obtenus par Agbohessi *et al.* (2011) dans la commune de Banikoara qui est la plus grosse commune productrice du coton, montrent que l'endosulfan interdit d'utilisation depuis février 2007 est encore la matière active la plus utilisée à travers le Thionex 350 EC et le Cotofan ® 350 EC (75% du volume total de pesticides) en lieu et place du tihan ® 175 O-TEQ recommandé par l'Etat et contenant le flubendiamide et le spirotétramate comme matières actives (1,7%). Il faut noter par ailleurs que les producteurs du coton biologique dont leur nombre est très négligeable utilisent en matière de protection phytosanitaire l'extrait aqueux des graines de neem (*Azadirachta indica*) mélangé à l'urine de vache, à l'ail, à l'extrait des feuilles de papayer *Carica papaya* et à du savon traditionnel (OBEPAB, 2002). D'autres utilisent des plantes insecticides telles que *Kaya senegalensis*, *Tephrosia vogelii*, *Anonas senegalensis* (OBEPAB, 2002).

## Chapitre 2 : Le réseau hydrographique du Nord-Bénin

Situé dans le Golfe de Guinée en Afrique de l'Ouest entre 6°15' et 12°25' de latitude Nord et entre 0°45' et 4°00' de longitude Est, le Bénin est un pays qui couvre une superficie de 114 763 km<sup>2</sup>. Le Bénin s'étend sur une largeur de 120 km et sur une longueur de 700 km. Il est frontalier au Nord avec le Niger et le Burkina Faso, à l'Ouest avec le Togo, à l'Est avec le Nigeria et au Sud avec l'Océan Atlantique. En milieu continental, le Bénin dispose d'un réseau hydrographique assez dense d'une superficie de 130 000 ha répartis sur l'ensemble du pays en cinq bassins hydrographiques regroupés en deux parties. Il s'agit de la partie méridionale qui comprend les bassins du Mono, du Couffo, et de l'Ouémé puis de la partie septentrionale qui comprend le bassin du Niger, le bassin de la Volta représenté par la rivière Pendjari. Par ailleurs, le fleuve Ouémé prend sa source dans un département au Nord-Bénin, la Donga et coule jusqu'au Sud. De même, l'Okpara, un principal affluent du fleuve Ouémé prend sa source dans les régions de Nikki au Nord du pays. Les cours d'eau du Bénin en général et particulièrement ceux du Nord-Bénin ont un régime irrégulier, un débit et une longueur modestes (Adam et Boko, 1993). Tous ces écosystèmes aquatiques du Nord-Bénin traversent des zones de fortes activités agricoles.

### 2.1. Bassin du fleuve Niger

Le bassin du fleuve Niger (3<sup>ème</sup> fleuve de l'Afrique occidentale après le Nil et le Congo) couvre environ 2,1 millions de km<sup>2</sup> de superficie totale. Le fleuve Niger et ses affluents sont partagés entre neuf pays riverains qui sont le Bénin, le Burkina Faso, le Cameroun, la Côte d'Ivoire, la Guinée, le Mali, le Niger, le Nigeria et le Tchad). Mais plus de 80% de sa superficie se trouvent dans trois pays notamment le Mali, le Niger et le Nigeria (Aboubacar, 2007). Le fleuve Niger prend sa source dans la dorsale guinéenne du Fouta-Djalon, une région de hauts plateaux d'altitude moyenne d'environ 1 100 m et se dirige vers le Nord-Est, formant en saison des pluies une vaste plaine d'inondation au Mali, appelée delta intérieur ou cuvette lacustre. A la sortie du delta intérieur, le fleuve décrit une boucle au Mali ; puis coule jusqu'au Nigeria où il est rejoint par la rivière Bénoué et se jette dans l'Océan Atlantique.

Au Bénin, le bassin du Niger est situé au Nord-Est du pays (Figure 1) et parcouru par le fleuve Niger qui sert de frontière entre le Bénin et la République du Niger sur environ 120 km, il reçoit trois affluents aux cours torrentiels (Figure 1). Il s'agit :

- du Mékrou (410 km) qui prend sa source à quelques kilomètres au Nord de Kouandé ;
- de l'Alibori (338 km) qui prend sa source au Nord de Sinendé ; et

- de la Sota (250 km) qui prend sa source au Sud-Est de Nikki.

Outre ces affluents, le fleuve Niger présente une vaste plaine inondable formant la vallée du Niger sur le territoire béninois précisément dans les communes de Malanville et de Karimama (Imorou Toko *et al.*, 2011 b).

## 2.2. Bassin de la Volta

Le bassin de la Volta est drainé par un réseau hydrographique qui se développe autour de trois principales branches : le Mouhoun (Volta noir), le Nakambé (Volta blanche) grossi du Nazinon (Volta rouge) et la Pendjari Oti. Les branches se rejoignent pour former le lac Volta qui est un lac de barrage puis le fleuve Volta qui se jette dans l'Océan Atlantique au Ghana. Le bassin de la Volta a une superficie d'environ 400 000 km<sup>2</sup> (Petr, 1986). Il recouvre toute la partie méridionale du Burkina Faso (42,9% du bassin), presque toute la partie septentrionale du Togo (6,4%) et la majeure partie du Ghana (41,6%). Des franges représentent les portions les plus modestes du bassin au Bénin (3,4%) au Mali (3,2%) et en Côte-d'Ivoire (2,5%).

Au Bénin, le bassin de la Volta est situé au Nord-Ouest (Figure 1) et représenté par l'un de ses affluents, la rivière Pendjari (Figure 1). D'une longueur totale d'environ 380 km, la rivière Pendjari prend sa source dans le massif de l'Atacora au Bénin dans les localités situées entre Tanguieta et Natitingou (10°24' Nord et 1°21' Est). Elle forme une boucle et marque la frontière sur environ 150 km entre le Bénin et le Burkina Faso. Elle constitue le réseau hydrographique d'une série d'aires protégées de par les affluents Magou, Bori, Yatama, au Bénin et les affluents Pédjo, Kourtiagou, Arli-Doudodo, Singou, au Burkina Faso. Au Togo la rivière Pendjari grossit la rivière Oualé provenant du Burkina Faso, et prend le nom d'Oti. Sur les bras secondaires des rivières et des bas-fonds situés le long de ces rivières on rencontre plusieurs mares. Elles sont plus de cent trois dans le Parc de la Pendjari (Ahouansou Montcho, 2011) y comprises les mares Bali, Gngangouali, Fogou, Diwouni, Sacrée, Bori qui sont permanentes.

En conclusion, le réseau hydrographique du Nord-Bénin est constitué de deux bassins d'importance inégale. L'eau est en permanence dans ces deux bassins. Ce qui a favorisé la construction des retenues d'eau sur lesquelles ce travail a été réalisé. Cette richesse hydrographique est soumise à un climat soudanien sec de type semi-aride à deux saisons favorables à l'agriculture. Il s'agit d'une saison sèche (octobre-novembre à mars-avril) et d'une saison des pluies qui s'étend de mi-mai à mi-octobre. Au Nord-Bénin, les températures les plus élevées s'observent en mars, avril et mai et les plus basses en décembre et janvier, période pendant laquelle sévit l'harmattan. En général, les températures moyennes maximales sont

élevées sur toute l'année et varient entre 28°C et 38°C. En revanche, les minima s'échelonnent de 15°C à 26°C.



Figure 1 : Carte du Bénin montrant les bassins versants du pays (DGE, 2008)

### 2.3. Eléments de faune aquatique

Plusieurs espèces de poisson vivent dans les milieux aquatiques du Nord-Bénin au rang desquelles *Oreochromis niloticus* occupe une place prépondérante (Imorou Toko *et al.*, 2011a). Quant à la macrofaune benthique, elle compte 25 espèces d'invertébrés aquatiques appartenant à 16 familles et 7 ordres. Ils sont constitués de trois classes qui sont les Insectes (5 ordres, 12 familles et 20 espèces), les Gastéropodes (1 ordre, 3 familles et 4 espèces) et les Lamellibranches (Bivalves) (1 ordre, 1 famille et 1 espèce) (Agblonon Houelome, 2012).

### **Chapitre 3 : Contamination des écosystèmes aquatiques et impacts des pesticides agricoles**

#### **3.1. Contamination des écosystèmes aquatiques par les pesticides agricoles**

Les conditions météorologiques, la formulation et le mode d'application des pesticides, ainsi que les caractéristiques topographiques et pédologiques des terrains traversés déterminent les quantités de pesticides transférés aux milieux aquatiques (Leu, 2003 ; Scheyer, 2004 ; Aubertot *et al.*, 2005). Le transfert des pesticides agricoles vers les écosystèmes aquatiques (processus qui transportent les composés sans altérer leur structure) peut se faire par l'un ou une combinaison des phénomènes suivants : la dérive, la volatilisation, l'adsorption, l'absorption, l'infiltration et l'érosion (Gbaguidi, 2011). La voie du transfert et les propriétés physico-chimiques des pesticides conditionnent leur dégradation et leur biodisponibilité dans le milieu aquatique (Bonmatin *et al.*, 2015). Ainsi, certains pesticides vont être dégradés et seront dans la colonne d'eau (Ullah et Zorriehzaha, 2014) alors que d'autres vont se lier fortement aux sédiments, diminuant leur biodisponibilité pour les organismes pélagiques mais accentuant les risques aux organismes benthiques (Agbohessi *et al.*, 2012b). La dégradation (processus d'altération de la structure chimique des composés pesticides présents dans le milieu aquatique) se fait par plusieurs voies dont les plus importantes sont les voies photochimique, microbienne, chimique, métabolique (Guimont, 2005) et peut amener à la formation de résidus plus rémanents et plus toxiques pour les organismes non-cibles que les composés parentaux (Sanchez-Pena *et al.*, 2004 ; Giron-Pérez *et al.*, 2008). Les plus dangereux (organochlorés par exemple) par les processus de bioaccumulation et de bioconcentration, intègrent les chaînes alimentaires et toute la faune aquatique est contaminée (Kan et Meijer, 2007; Singh et Singh, 2007). La contamination des animaux aquatiques notamment les poissons se fait de manière directe, par passage des molécules à travers les téguments ou les branchies, ou de manière indirecte par voie alimentaire via l'ingestion d'eau ou de proies contaminées (Bonmatin *et al.*, 2015) . Une fois absorbés par les poissons, les pesticides atteignent les organes et les cellules cibles. Aux tentatives de détoxification par le foie et d'élimination par le rein s'opposent des phénomènes d'accumulation et de stockage dans les organismes (Bols *et al.*, 2001, Girard et Elie, 2007) impactant négativement , la survie, la croissance et la reproduction des poissons (Agbohessi, 2014).

#### **3.2. Approches utilisées pour l'étude des impacts biologiques liés aux pesticides agricoles chez les poissons**

Pour évaluer les impacts des contaminants en général et des pesticides en particulier sur les poissons, trois approches méthodologiques sont couramment utilisées selon la littérature. Il s'agit des tests de laboratoire, de l'utilisation d'organismes autochtones et des expérimentations in situ.

Les deux dernières méthodes sont appelées approches basées sur la manipulation en milieu naturel.

### 3.2.1. Tests de laboratoire

Ce sont des tests normalisés de toxicité réalisés dans des conditions contrôlées de laboratoire. De part leur haut niveau de standardisation, ils permettent une analyse comparative des résultats. La présence du contaminant étant le seul paramètre différenciant entre les individus exposés et les individus témoins, les effets biologiques mesurés peuvent facilement lui être attribués (Shukla *et al.*, 2010 ; Nwani *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2010). Cependant, cette méthode n'est pas satisfaisante dans le cadre d'études environnementales car ce sont des tests en général, très spécifiques et qui se déroulent dans des conditions éloignées du milieu naturel (des doses élevées par rapport aux conditions réalistes). En effet, de nombreux facteurs environnementaux biotiques (interactions intra ou interspécifiques) ou abiotiques (température, pH,...), ainsi que les variations temporelles de concentration ou de mélanges de molécules (parfois au-dessous des seuils de quantification) sont susceptibles d'influencer la réponse biologique en modifiant la sensibilité des organismes et/ou la biodisponibilité des contaminants. Cette approche est la plus utilisée à l'Unité de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie Aquatique de la Faculté d'Agronomie de l'Université de Parakou depuis sa création pour des études de toxicité des molécules spécifiques. C'est ainsi que Agbohessi (2014) a comparé les effets de l'endosulfan (Thionex 350 EC) sur la reproduction, la croissance et le statut hépatique du poisson *Clarias gariepinus* à ceux du tihan® 175 O-TEQ en conditions de laboratoire.

Les tests en microcosme ou mésocosme peuvent également être utilisés au laboratoire en ajoutant de sédiments ou de contaminants en mélange à l'eau d'exposition; cela permet de s'approcher davantage des conditions réelles (Sorensen *et al.*, 2005). Toujours au laboratoire, une autre stratégie consiste à prélever d'échantillons d'eau depuis le milieu auquel sont exposés les organismes. Ce type d'expérimentation permet ainsi d'exposer les organismes aux mélanges chimiques proches du milieu naturel (Lemos *et al.*, 2007). Mais les échantillons d'eau doivent être les plus représentatifs possibles. Leur manipulation, leur stockage et éventuellement leur conservation doivent minimiser les éventuelles variations par rapport aux conditions environnementales.

### 3.2.2. Approches basées sur la manipulation en milieu naturel

Ce sont des approches qui, en comparaison des tests de laboratoire, améliorent le réalisme des expositions aux contaminants, tout en intégrant les fluctuations des caractéristiques physico-



chimiques et biologiques des milieux (Geffard *et al.*, 2010). En effet, dans les écosystèmes aquatiques naturels, le mélange de pesticides en interaction a des effets cocktails qui peuvent être synergiques, additifs ou antagonistes (Lydy *et al.*, 2004). Il a été montré que c'est cette interaction qui conditionne pour une large part l'impact biologique du mélange de pesticides sur les poissons des écosystèmes naturels ; les caractéristiques physico-chimiques de l'eau n'ont qu'une influence réduite sur la biodisponibilité des molécules qui y sont présentes (Hamelink *et al.*, 1994).

### 3.2.2.1. Utilisation d'organismes autochtones

Avec cette approche, les mesures sont effectuées sur des individus prélevés directement dans l'écosystème aquatique naturel. Malheureusement, les poissons autochtones sont susceptibles de se déplacer dans un environnement hétérogène en termes de contamination ; ce qui rend très délicat l'attribution des effets mesurés à telle ou telle autre condition d'exposition. Lors de l'utilisation de ces organismes autochtones mobiles, il est difficile, voire impossible d'accéder à la mesure de biomarqueurs au niveau individuel, comme la survie, la croissance, l'alimentation, et la reproduction (Geffard *et al.*, 2010). Pour ces mêmes auteurs, l'utilisation d'organismes autochtones ayant un passif différent (âge pour une taille donnée, état nutritionnel, stade de développement...) peut induire des erreurs dans la mesure des biomarqueurs et de fait, limiter leur interprétation. Malgré ces insuffisances, cette approche est largement utilisée par plusieurs auteurs. Pour évaluer les effets biologiques du cocktail de pesticides présent dans la rivière Alibori à travers trois sites d'échantillonnage (les retenues d'eau de Sori, d'Alibori K et de Batran), Agbohessi (2014) a utilisé cette méthode. Les espèces *Tilapia guineensis* et *Clarias gariepinus* avaient été prélevées directement en eau libre entre 2010 et 2012, la rivière Pendjari était prise comme écosystème témoin (Agbohessi *et al.*, 2015a).

### 3.2.2.2. Expérimentations in situ

Par rapport aux approches basées sur l'utilisation d'organismes autochtones, et plus particulièrement pour les espèces mobiles, les expérimentations in situ permettent de maîtriser partiellement l'exposition des organismes et ainsi d'améliorer la description et les liens entre causes et effets, mais également de mieux comprendre le lien temporel qui existe entre l'exposition et l'apparition des effets (Geffard *et al.*, 2010). La stratégie repose sur l'utilisation des poissons produits en station, maintenus et acclimatés quelques jours avant leur réintroduction dans un écosystème aquatique pollué où ils sont maintenus encagés (Oikari, 2006 ; Bony *et al.*, 2008). Il n'y a plus donc de doute sur l'origine et l'exposition réelle des individus. Car, les

individus exposés sont homogènes (en terme de provenance, d'âge, taille, ...), et la durée de leur exposition est maîtrisée.

### 3.3. Choix des approches d'étude

Pour nos recherches, les deux approches basées sur la manipulation en milieu naturel ont été utilisées. Le choix de l'encagement des poissons vise la maîtrise de leur exposition aux pesticides du milieu afin de ressortir les effets biologiques réellement dus au milieu. C'est d'ailleurs la première fois que cette approche s'utilise à l'Unité de Recherche en Aquaculture et Ecotoxicologie Aquatique. Nous avons également jugé utile de prélever les individus autochtones en eau libre car les pesticides et les matières actives utilisés en cotonculture ont changé dans le temps (Annexe 2), ainsi leur effet cocktail sur les poissons pourrait être différent de ceux recensés quatre ans plus tôt (Agbohessi, 2014).

### 3.4. Impacts des pesticides agricoles sur les poissons

La pollution et la perte des habitats constituent les principaux facteurs qui endommagent la faune sauvage des écosystèmes aquatiques (Da Cuña *et al.*, 2013). Bien que l'usage des pesticides en agriculture permette d'augmenter la productivité des cultures et d'améliorer les rendements, il constitue un énorme danger environnemental surtout pour l'environnement aquatique. Considérant la littérature, tous les groupes d'organismes aquatiques ne sont pas exposés de la même façon ; l'exposition est fonction des caractéristiques anatomiques, physiologiques et écologiques (habitat, ressources alimentaires utilisées, etc.) des organismes.

De nombreuses études écotoxicologiques ont déjà mis en évidence le lien entre l'exposition aux pesticides et le taux de survie des poissons (Ullah et Zorriehzaha, 2014 ; Sabra et Mehana, 2015). Les pesticides modifient également le comportement des poissons (Péan, 2012). Une baisse générale d'activité, une perte de l'équilibre, l'accélération de la respiration et des mouvements constituent les principales modifications comportementales (Uyanikgil *et al.*, 2009). De même, Ullah et Zorriehzaha (2014) rapportent qu'à des concentrations sublétales, les pesticides peuvent causer des modifications physiologiques importantes aux poissons. Ainsi, certains pesticides sont des perturbateurs endocriniens dont leur impact sur la reproduction des poissons a été démontré (Tyler *et al.*, 1998 ; Agbohessi, 2014). Par exemple, l'endosulfan et le tihan modifient anormalement les concentrations plasmatiques des stéroïdes sexuels chez *Clarias gariepinus* (Agbohessi, 2014). Aussi, la croissance des poissons est également susceptible d'être affectée par une exposition aux pesticides. C'est ainsi qu'un retard de croissance a été constaté chez des carpes exposées au butachlore (Yadav *et al.*, 2010). De nombreux auteurs ont

également mis en évidence des dysfonctionnements du métabolisme énergétique chez des poissons exposés aux pesticides (Becker *et al.*, 2009; Agbohessi, 2014 ). D'une manière générale, les poissons exposés présentent une plus faible teneur en glycogène dans les muscles. Cette modification de la teneur en glycogène est liée à la mobilisation des ressources énergétiques pour lutter contre le stress causé par les pesticides (Jyothi et Narayan, 1999). Les pesticides, par une baisse du nombre de globules blancs, affecte le système immunitaire des poissons (Velisek *et al.*, 2008). Généralement, les insecticides ont un effet dysfonctionnant le système nerveux des poissons, entraînant ainsi des comportements anormaux (Ezemonye et Ikpesu, 2011). Par ailleurs, les pesticides sont génotoxiques et causent des cassures des brins d'ADN (Das et Mukherjee, 2003). Enfin, il a été démontré qu'une exposition aux pesticides est toxique et susceptible d'altérer l'intégrité structurale des cellules, tissus et organes des poissons (Ayoola, 2008a, 2008b). Les organes les plus exposés, de part leur rôle de surface d'échange avec le milieu (branchies) ou impliqués dans les processus de détoxification (foie) et d'élimination (rein) sont les plus souvent affectés (Francois, 2016). C'est ainsi que l'herbicide glyphosate, entraîne des altérations histopathologiques du foie, des branchies et du rein chez *Clarias gariepinus* et *Oreochromis niloticus* (Ayoola, 2008a, 2008b). Des altérations similaires ont été observées chez *Oreochromis niloticus* exposé à la cyperméthrine (Korkmaz *et al.*, 2009).

De ce développement, il ressort que les pesticides ont un impact négatif sur les fonctions clés du développement et de la vie des poissons, ce qui contribuera à la diminution de la production des écosystèmes aquatiques.

## Chapitre 4 : Quelques éléments de biologie des poissons Téléostéens et modèle biologique

### 4.1. Biologie de la reproduction chez les poissons Téléostéens

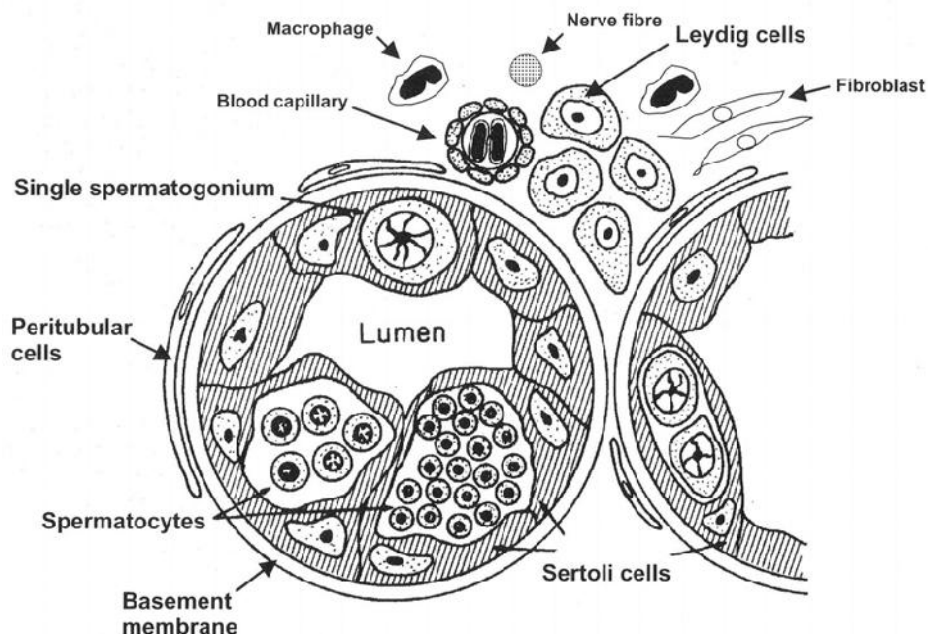
#### 4.1.1. Appareil génital mâle : les testicules

##### 4.1.1.1. Anatomie générale du testicule

Chez la plupart des Téléostéens, les testicules sont des organes pairs généralement allongés, situés dorsalement dans la cavité générale et se prolongeant postérieurement par le canal déférent (Pudney, 1995 ; Takashima et Hibiya, 1995). L'organisation du testicule est commune à tous les poissons et aux autres vertébrés. Il est composé de cellules germinales, qui produisent les gamètes, et de cellules somatiques (cellules de Sertoli et cellules de Leydig) qui ont un rôle nutritif et de régulation dans le développement des cellules germinales (Takashima et Hibiya, 1995). De cette organisation, deux compartiments sont distingués. Il s'agit du compartiment germinal qui regroupe les cellules germinales et les cellules de Sertoli, et du compartiment interstitiel à l'intérieur duquel se situent les cellules de Leydig, les capillaires sanguins, les fibroblastes, les macrophages et les fibres nerveuses (Billard, 1986).

##### 4.1.1.2. Organisation testiculaire

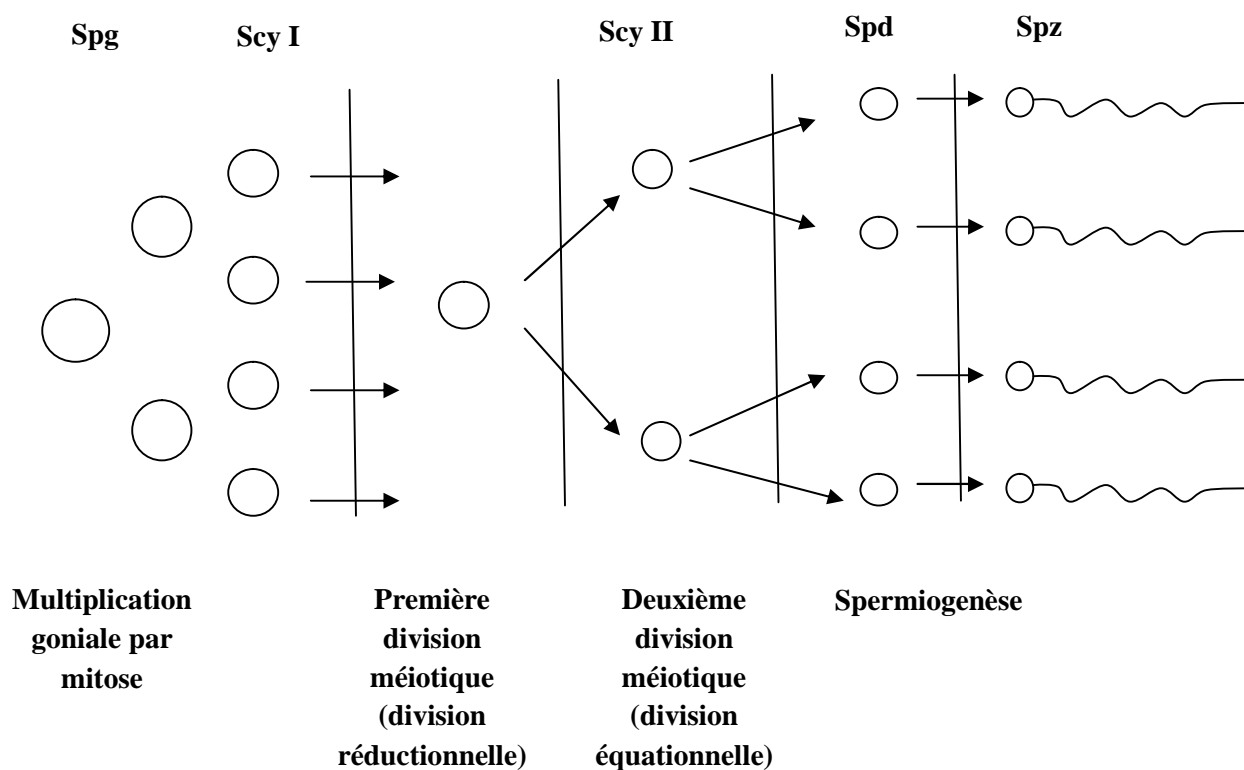
L'unité fonctionnelle constituant le compartiment germinal du testicule est le cyste. Il est composé de cellules germinales et de cellules de Sertoli en périphérie (Figure 2). A l'intérieur de chaque cyste, le développement des cellules germinales est synchrone, chaque cellule étant au même stade de différenciation (Pudney, 1995 ; Takashima et Hibiya, 1995). Cet épithélium germinal, organisé en cystes, est surmonté par une membrane basale acellulaire (Billard *et al.*, 1982). Il existe deux types de structures testiculaires basés sur la présence ou l'absence de lumière, il s'agit du type lobulaire possédant une lumière centrale et du type tubulaire dépourvu de la lumière centrale (Billard, 1986). Billard (1986) a décrit au centre du testicule tubulaire une large cavité où les spermatozoïdes sont stockés et formant des spermatozeugmes. Les tubules sont orientés de cette cavité, partie basale du tubule, vers la périphérie (la tunique) du testicule, partie apicale du tubule. Dans le type lobulaire, les lobules sont séparés de la tunique du testicule par un tissu conjonctif et forment des tubes irréguliers composés d'un épithélium de cellules de Sertoli qui enveloppe les cellules germinales (Billard, 1986).



**Figure 2 :** Section transversale d'un lobule testiculaire (Billard *et al.*, 1982)

#### 4.1.1.3. Spermatogenèse

Le développement des cellules sexuelles, ou spermatogenèse (Figure 3), est commun à tous les vertébrés (Callard et Callard, 1998). Il consiste en une succession de divisions mitotiques des cellules germinales isolées (cellules germinales primordiales) qui vont s'organiser en spermatogonies évoluant en spermatocytes. A l'intérieur de chaque cyste le développement des cellules sexuelles est synchrone. Par division méiotique réductionnelle, les spermatocytes I vont donner les spermatocytes II. Puis ces derniers vont donner les spermatides par division équationnelle. Enfin, par le processus de spermiogenèse (élimination du cytoplasme, acquisition du flagelle et condensation de la chromatine (Billard, 1979), les spermatides deviennent des spermatozoïdes.



**Légende :** Spg : spermatogonie ; Scy : spermatocyte ; Spd : spermatide; Spz : spermatozoïde

**Figure 3 :** Etapes de la spermatogenèse (figure modifiée de Valente, 2008)

#### 4.1.1.4. Cellules de Sertoli et cellules de Leydig

Les cellules somatiques participant à la spermatogenèse sont principalement les cellules de Sertoli, contenues dans les lobules ou tubules, et les cellules à fonction endocrine de Leydig situées dans le compartiment interstitiel séparant chaque lobule ou tubule.

##### ► Les cellules de Sertoli

Pendant la période de repos sexuel, les cellules de Sertoli entourent complètement les cellules germinales. Lors de la reprise de la spermatogenèse, les spermatogonies isolées sont séparées les une des autres par les cellules de Sertoli et constituent le point de départ des cystes dans lesquels vont se dérouler la spermatogenèse. Les cellules de Sertoli ont un rôle de soutien, de nutrition, de phagocytose des cellules germinales et pourraient avoir également un rôle endocrinien (Billard *et al.*, 1972). Dans les testicules de type lobulaire, les cellules de Sertoli sont reliées entre elles par des jonctions spécialisées et sont pratiquement immobiles. Alors que dans les testicules de type tubulaire, les cystes se déplacent et les cellules de Sertoli de deux cystes voisins sont indépendantes (Billard, 1970).

## ► Les cellules de Leydig

Les cellules de Leydig sont les composantes majeures du compartiment interstitiel des testicules des Téléostéens (Pudney, 1996). Les autres composantes sont seulement abondantes lors de la régression gonadique (Loir *et al.*, 1995). Les cellules de Leydig sont organisées en îlots, particulièrement lors des stades de maturité peu évolués (repos sexuel, début de la spermatogenèse), alors que dans des stades plus avancés, marqués par l'apparition des spermatides, elles tendent à se disperser (Pudney, 1996). Elles ont une activité hormonale à l'origine de la sécrétion de stéroïdes tels que les androgènes, notamment la testostérone, et la progestérone (Pudney, 1996). Ces hormones jouent un rôle important dans la régulation de la spermatogenèse, ainsi que dans l'acquisition des caractères sexuels secondaires, très important chez les mâles (Gross, 1996).

### 4.1.1.5. Stades de développement testiculaire

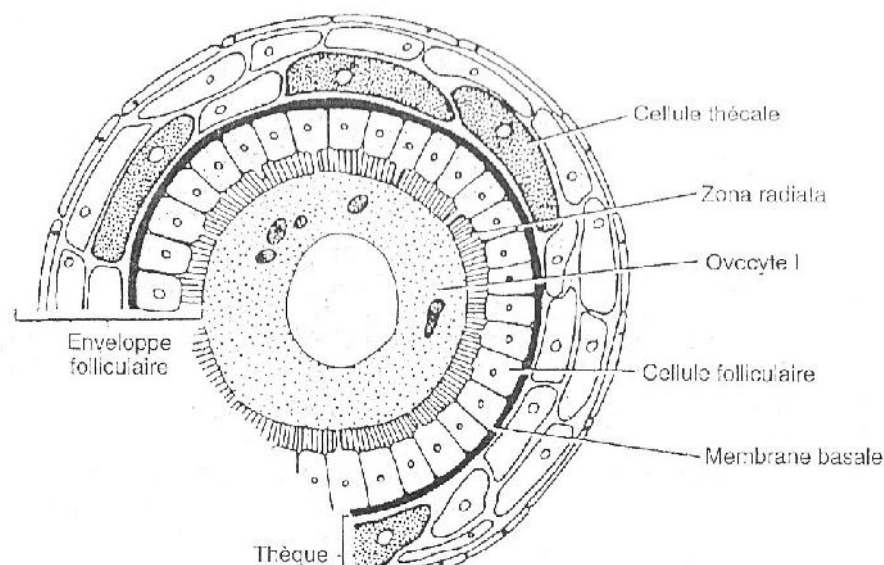
L'évaluation du niveau de maturité testiculaire chez les poissons est généralement appréhendée par l'aspect macroscopique du testicule. L'observation histologique, basée sur la spermatogenèse et la présence des différents types cellulaires (cellules germinales) au sein du testicule, sur des critères morphologiques permettent de déterminer le stade de développement testiculaire. Selon les auteurs et les espèces, le développement testiculaire est très variable, en termes de description et de stades définis (Valente, 2008).

## 4.1.2. Appareil génital femelle : les ovaires

### 4.1.2.1. Anatomie générale et organisation de l'ovaire

L'organe génital chez les femelles est composé de l'ovaire et de canaux permettant l'évacuation des ovules chez les espèces ovovivipares (ou des larves chez les espèces vivipares). L'ovaire produit les gamètes mais est également le siège d'activités endocrines avec production d'hormones stéroïdiennes. Chez les Téléostéens, il existe deux types d'ovaires, il s'agit du type cystovarien et du type gymnovarien (Dodd et Stumper, 1984). Dans le type gymnovarien l'ovaire est dépourvu de lumière et l'ovulation a lieu directement dans la cavité coelomique, alors que dans le type cystovarien l'ovaire présente une lumière où a lieu l'ovulation par le biais de l'oviducte. Les ovaires de type cystovarien sont les plus fréquents chez les Téléostéens et sont organisés en lamelles ovariennes, disposées radialement vers la lumière de l'ovaire, dans laquelle seront évacués les ovocytes mûrs pendant l'ovulation (Bruslé et Quignard, 2004). Les ovocytes sont entourés d'une enveloppe folliculaire, constituée de l'intérieur vers l'extérieur du zona

radiata, des cellules folliculaires, d'une membrane basale et d'une thèque (Figure 4). Cet ensemble, appelé follicule ovarien, est l'unité morphologique et fonctionnelle de l'ovaire (Takashima et Hibiya, 1995). La fonction endocrine de l'ovaire est assurée par les cellules de la thèque qui produisent des hormones œstrogènes (Hoar et Nagahama, 1978).

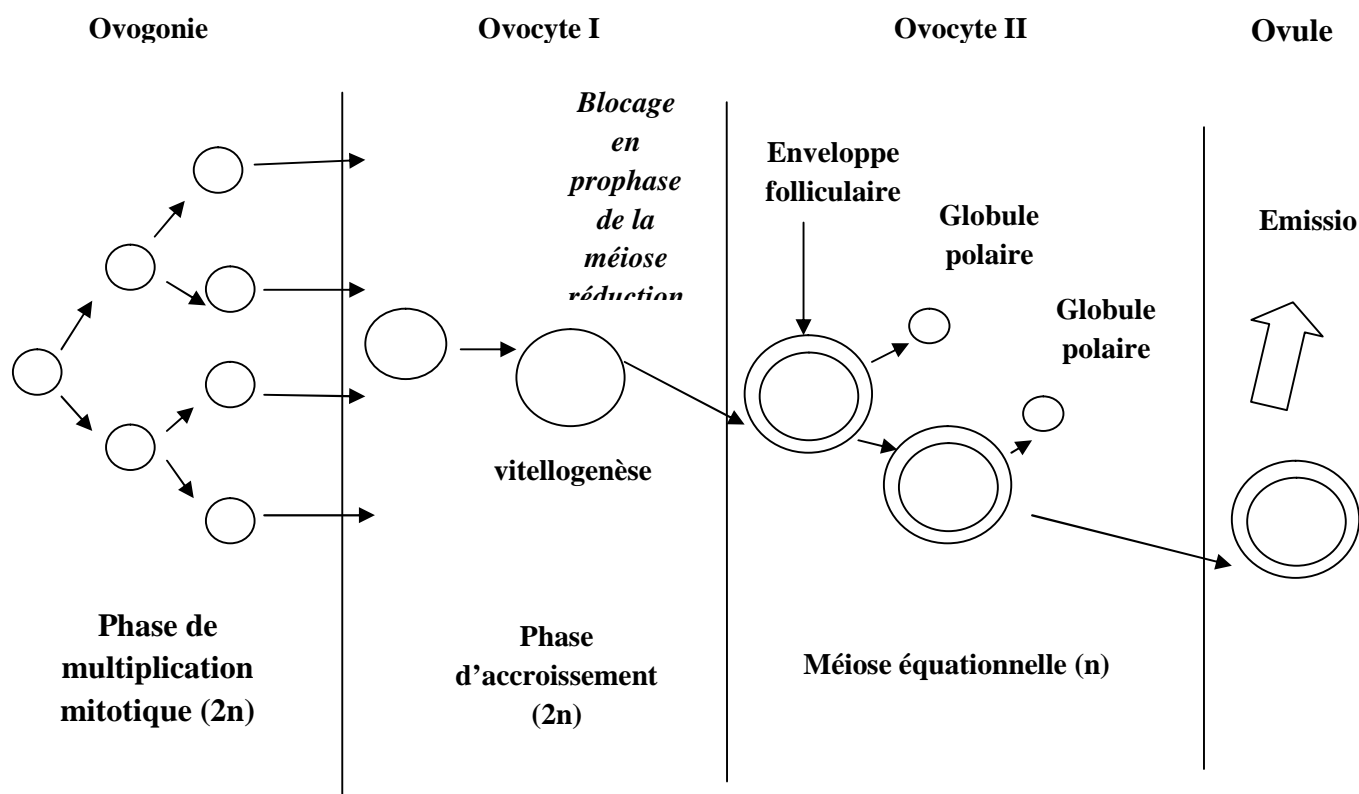


**Figure 4 :** Follicule ovarien composé d'un ovocyte I et de l'enveloppe folliculaire (Zona radiata, cellules folliculaires, membrane basale et thèque) (Bruslé et Quignard, 2004)

#### 4.1.2.2. Ovogenèse

Les différents types cellulaires sont les cellules germinales primordiales, les ovogonies, les ovocytes I (immatures) et II (en début de vitellogenèse) et les ovules (ovocytes en fin de vitellogenèse ou ovocyte hyalin). A la fin de la période de reproduction sont également présents des ovocytes non émis, en dégénérescence, désignés ovocytes atrétiques post-ovulatoires (Dodd, 1977). Le déroulement de l'ovogenèse est commun à tous les vertébrés.





La multiplication goniale se fait par divisions mitotiques ; la première division méiotique réductionnelle génère l'ovocyte II et le premier globule polaire ; la deuxième division méiotique équationnelle génère l'ovule et le deuxième globule polaire après fécondation.

**Figure 4** : Schéma de l'ovogenèse chez les vertébrés, une ovogonie diploïde génère un ovule haploïde (Modifiée de Valente, 2008)

Les premiers follicules sont constitués de cellules germinales primordiales qui vont se diviser par mitose et générer des ovogonies diploïdes. Des ovocytes I (primaires) diploïdes vont être générés par division mitotique des ovogonies. La division méiotique réductionnelle de ces ovocytes primaires va former des ovocytes secondaires avec émission du premier globule polaire (Grandi et Colombo, 1997). Avant la formation de l'ovocyte secondaire, les cellules vont rester bloquées en prophase méiotique (Wallace et Selman, 1981). L'enveloppe folliculaire est constituée au cours de cette phase d'arrêt, qui dure jusqu'à la fin de la vitellogenèse. L'ovocyte, entouré de l'enveloppe folliculaire, augmente en volume, d'abord par croissance cytoplasmique, puis par l'accumulation des grains de vitellus lors du processus de la vitellogenèse. Enfin, la méiose reprend jusqu'à la division méiotique équationnelle, ce qui génère un ovule et un second globule polaire, les deux étant haploïdes.

Les globules polaires sont de petites cellules, elles jouent aucun rôle important et dégèrent à la fin du processus.

#### **4.1.2.3. Stades de développement ovarien**

Généralement, le stade de développement ovarien est déterminé par le stade ovocytaire le plus avancé présent dans l'ovaire. Selon la littérature, le nombre de stades décrits chez les espèces tropicales est généralement compris entre quatre à six. La description histologique correspondante à ces stades est très variable. La discrimination des différents stades ovocytaires est principalement basée sur des critères morphologiques, sur la progression de la vitellogenèse et sur le développement de l'enveloppe folliculaire. Nous avons considéré six stades ovocytaires dans ce travail, il s'agit des stades ovocyte péri-nucléolaire, ovocyte en phase alvéolaire corticale, ovocyte en phase vitellogénique précoce, ovocyte en phase vitellogénique avancée, ovocyte en phase de maturation et ovocyte atrétique post-ovulatoire (Agbohessi, 2014 ; Oreins, 2016).

## **4.2. Systèmes digestif et urinaire des poissons Téléostéens**

### **4.2.1. Appareil digestif**

Le système digestif des poissons est, comme celui des mammifères, composé d'un tube digestif et des glandes digestives. Le tube digestif s'étend de la bouche à l'anus, et comprend la cavité buccopharyngienne, l'œsophage, l'estomac et l'intestin (Roberts, 2001). Les glandes digestives sont le foie et l'estomac.

Le foie est la plus volumineuse des glandes digestives intervenant dans le métabolisme et l'assimilation des nutriments (Secombes et Ellis, 2012). Sa surface est couverte d'une membrane séreuse, et certaines fibres conjonctives de sa capsule s'enfoncent dans le parenchyme. Chez les poissons, une artère hépatique et une veine porte (amenant du sang de l'intestin et de l'estomac) parviennent au foie. Cette dernière se ramifie jusqu'à former des capillaires sinusoides. Les cellules du parenchyme, les hépatocytes, s'arrangent de manière concentrique autour de ces capillaires, formant des cordons cellulaires, caractéristiques de l'architecture hépatique (Takashima et Hibiya, 1995). L'une des principales fonctions du foie est la sécrétion de la bile dans les hépatocytes (Roberts, 2001). Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des lipides et des glucides. Ils servent également à détoxifier et à stocker les lipides et surtout le glycogène (Secombes et Ellis, 2012). Le foie

des Téléostéens est un organe simple ; par ailleurs, chez certaines espèces, le tissu pancréatique envahit graduellement le foie le long des ramifications de la veine porte. Chez ces espèces, le foie est appelé hépatopancréas (Roberts, 2001).

#### 4.2.2. Appareil urinaire

L'appareil urinaire des poissons est composé du rein, des voies urinaires et de la vessie. Le rein est un organe rétropéritonéal situé ventralement à la colonne vertébrale et s'étendant sous presque l'entièreté de cette colonne (Genten *et al.*, 2009). C'est un organe excréteur à fonctions hématolymphopoïétique et endocrine (Roberts, 2001). Le rein des Téléostéens est composé de deux parties, le rein céphalique crânial (partie antérieure) et le rein abdominal (partie postérieure); la forme et la taille de ces deux portions varient fortement entre les espèces. Le rein céphalique crânial est constitué majoritairement de tissu lymphoïde tandis que le rein abdominal contient des néphrons et du tissu lymphoïde interstitiel. Le néphron est suivi par le tube collecteur qui débouche dans l'uretère. Les néphrons sont composés d'un glomérule, d'un tube contourné proximal, d'un segment intermédiaire, et d'un tube contourné distal (Takashima et Hibiya, 1995). Chez les animaux vivant en eau douce, le glomérule est bien développé (Genten *et al.*, 2009) et les reins excrètent de grandes quantités d'eau qui pénètrent par les branchies ; l'urine est alors abondante et très peu concentrée. Le rein reçoit du sang riche en oxygène des artères rénales et du sang non hématosé des veines portes rénales ; le retour veineux est assuré par les veines cardinales postérieures (Takashima et Hibiya, 1995).

#### 4.3. Choix du modèle biologique

Les modèles biologiques sont des espèces chez qui les paramètres biologiques sont mesurés lors des études écotoxicologiques. Le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* a été l'organisme modèle utilisé dans le cadre de notre étude. De façon générale, le choix de l'organisme modèle lors des études de manipulation en milieu naturel est guidé par trois critères primordiaux que respectent *Oreochromis niloticus* :

- l'organisme doit être représentatif pour l'écosystème étudié;
- l'organisme doit être euryèce ;
- l'éco-physiologie de l'organisme doit être maîtrisée.

En effet, *Oreochromis niloticus* est l'espèce la plus fréquente et capturée dans les retenues d'eau du Nord-Bénin (Imorou Toko *et al.*, 2011a). C'est une espèce qui fréquente plus la colonne et la surface d'eau et est alors beaucoup plus exposée aux pesticides biodisponibles dans la colonne d'eau. Elle est également abondante dans les captures de la retenue d'eau du Centre Songhaï d'Atagara. En outre, cette espèce présente des potentialités écotoxicologiques déjà signalées par plusieurs auteurs (Lacroix, 2004). Ainsi, elle

- supporte des manipulations et est facilement manipulable ;
- a des techniques d'échantillonnages faciles ;
- a des techniques de reproduction en captivité maîtrisées et très documentées ;
- tolère une large gamme de paramètres physico-chimiques de l'eau ;
- supporte la nourriture artificielle ;
- est disponible en toute saison ;
- a l'entièreté de son cycle de développement en eau douce ; et
- a une croissance rapide.

C'est donc clair que notre espèce modèle répond théoriquement à des critères que doivent avoir des espèces sentinelles selon Rivière (1993) et Amiard et Amiard-Triquet (2008).

#### 4.4. Description du modèle biologique de l'étude : *Oreochromis niloticus*

##### 4.4.1. Position systématique

Nom binomiale : *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)

---

**Règne :** Animal

**Embranchement :** Vertébrés

**Classe :** Osteichthyens

**Super Ordre :** Téléostéens

**Ordre :** Perciformes

**Famille :** Cichlidae

**Genre :** *Oreochromis*

**Espèce :** *Oreochromis niloticus*

---

#### 4.4.2. L'espèce dans son biotope

La teinte générale d'*Oreochromis niloticus* est grisâtre, relativement foncée chez l'adulte et sa principale caractéristique distinctive est la présence des rayures verticales régulières sur la nageoire caudale (Paugy *et al.*, 2004) (Figure 5). L'existence d'un dimorphisme sexuel de la papille urogénitale (Huet, 1972) permet de distinguer les mâles des femelles. C'est une espèce à croissance rapide comparativement aux autres tilapias (Iga-Iga, 2008; Tellez-Bañuelos *et al.*, 2009). Pour ce qui est de la reproduction, dans les milieux naturels, la taille de première maturité d'*Oreochromis niloticus* varie généralement entre 14 et 20 cm (Ruwet *et al.*, 1976). En milieu naturel, la reproduction chez les tilapias est non saisonnière, avec des pontes continues étalées sur toute l'année avec une intensité plus grande en saison de pluies (Mélard et Philippart, 1981). Si la température de l'eau est supérieure à 22°C, *Oreochromis niloticus* peut se reproduire tous les 30 à 40 jours (Ruwet *et al.*, 1976).

L'espèce est essentiellement phytoplanctonophage, mais peut aussi ingérer des algues bleues, du zooplancton ainsi que des sédiments riches en bactéries et diatomées (Moriarty, 1973). En milieu artificiel (système de pisciculture), cette espèce est pratiquement omnivore, valorisant divers déchets agricoles. Par ailleurs, il faut noter que *Oreochromis niloticus* est une espèce relativement eurytpe, adaptée à de larges variations des facteurs écologiques du milieu aquatique (Fishelson et Yaron, 1983). Dans son habitat naturel, elle peut supporter des températures comprises entre 14 et 31°C et des taux d'oxygène dissous très faibles, de l'ordre de 0,1 ppm (Mélard, 1986).



**Figure 5 :** Spécimen d'*Oreochromis niloticus* (Travaux de recherche, 2016)

## Partie 2 : Matériel et méthodes

*La recherche tente de trouver des solutions aux problèmes enregistrés dans la société. Toute recherche conçue doit être abordée par une méthodologie claire et adaptée, sans quoi la validité des résultats soulèvera des inquiétudes dans le rang des scientifiques. Dans cette partie de notre mémoire, composée du chapitre 5, le matériel et les méthodes utilisés pour conduire nos recherches ont été clairement décrits et expliqués.*

## Chapitre 5 : Matériel et méthodes

### 5.1. Milieu d'étude et infrastructures d'élevage

Cette étude de quatre mois réalisée en saison pluvieuse (période de culture de coton et d'utilisation intense des pesticides) a porté sur deux retenues d'eau à savoir la retenue d'eau de Batran et celle du Centre Songhaï d'Atagara au Nord-Bénin.

- D'une superficie de 20 ha, la retenue de Batran (Latitude = 3° 52' 18" et Longitude = 9° 49' 55") est la retenue d'eau choisie comme la plus polluée. En effet, elle est située dans la commune de Banikoara (commune la plus productrice du coton au Bénin) département de l'Alibori (ceinture cotonnière). Cette retenue d'eau est plus précisément située dans le village de Batran (Arrondissement de Banikoara) situé à 18 km de Banikoara centre. Elle a été réalisée en 1976 par le Programme d'Appui au Développement de l'Elevage au Bénin. Elle a une digue, un déversoir en béton et est alimentée par les eaux de la rivière Alibori. Ces deux ouvrages de la retenue ont été réfectionnés en février-juin 2016 par le Projet de Développement des Ressources en Eau et de Gestion Durable des Ecosystèmes. Les activités autour de la retenue sont l'élevage, maraichage et la cotonculture. C'est la plus grande et la plus fonctionnelle des retenues d'eau de Banikoara.
- La retenue d'eau du Centre Songhaï d'Atagara (Latitude = 4° 12' 56" et Longitude = 7° 51' 26", département du Borgou, commune de N'Dali), est à environ 17 km de Parakou. Elle a une superficie totale de 41,5 ha et située à près de 350 km de la retenue de Batran. Partant du fait qu'il n'existe point un écosystème naturel avec pollution zéro, elle a été choisie comme un site moins pollué (site de référence) car située dans une zone à faible production cotonnière, hors du bassin cotonnier. Elle est alimentée par les eaux de ruissellement provenant des villages environnants. Elle est munie d'un petit déversoir et d'une digue en terre compactée. Les activités autour de la retenue sont l'élevage et le maraichage.

Les deux retenues d'eau choisies sont fonctionnelles et ne tarissent pas en saison sèche. Elles sont dans la même aire géographique (zone agro-climatique) et sont soumises au même climat de type tropical avec une saison de pluie allant de mai à septembre et une saison sèche allant d'octobre à avril.

Signalons que l'expérimentation in situ a porté aussi bien sur *Clarias gariepinus* que sur *Oreochromis niloticus* et les infrastructures d'élevage ont été conçues à cet effet (Figure 6). C'est donc les deux espèces que nous avons suivi mais ce mémoire de master 2 est porté seulement sur *Oreochromis niloticus*. Dans chacune des deux retenues d'eau, les infrastructures, composées pour chacune des deux espèces de 3 happas et de 3 enclos (confectionnés en mai 2016) ont été installées en juin 2016 (Figure 7). Au total 6 happas et 6 enclos ont été montés et installés, dans les zones moins profondes, dans chacune des deux retenues d'eau. Les infrastructures sont faites de poches montées sur des cadres (3 m de hauteur). Chaque poche d'happa a une dimension de 1m (longueur) x 1m (largeur) x 1,80m (hauteur) alors que chaque poche d'enclos mesure 1m (longueur) x 1m (largeur) x 3m (hauteur). Chaque poche a été munie d'un filet couvrant pour empêcher les poissons de s'échapper. Les coordonnées géographiques (en Degré Minute Seconde) ont été prises entre les enclos et les happas dans chaque retenue d'eau.

Songhaï : X= 4° 12' 56" et Y= 7° 51' 26"

Batran : X= 3° 52' 18" et Y= 9° 49' 55"

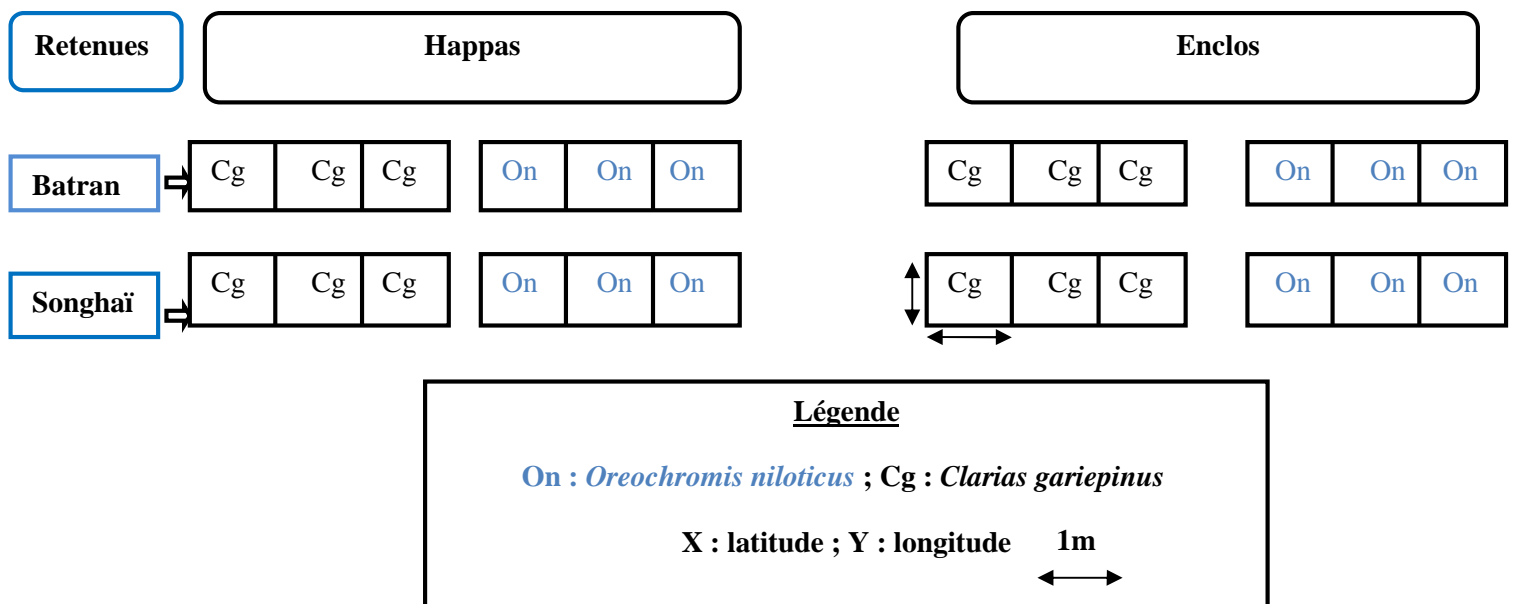


Figure 6 : Dispositif montrant les infrastructures d'élevage d'*Oreochromis niloticus*





**Figure 7 :** Installation des infrastructures dans les retenues d'eau (A: montage des cadres à Batran ; B : montage des poches de filets à Batran ; C: installation des cadres dans l'eau à Songhaï) (Travaux de recherche, 2016)

Ces deux types d'infrastructure piscicole sont fréquemment rencontrés dans les retenues d'eau du Bénin. Avec les enclos, les poissons ont accès à la fois au sédiment et à la colonne alors que les happas contraignent les poissons à rester dans la colonne d'eau. L'intérêt de leur utilisation dans ce travail est de savoir laquelle des deux infrastructures minimise les effets biologiques causés par les pesticides au tilapia du Nil.

## 5.2. Matériel

### 5.2.1. Matériel animal

Pour les expérimentations in situ, le matériel animal est constitué des juvéniles de poids moyen  $12,53 \pm 0,44\text{g}$  et de longueur totale moyenne  $9,73 \pm 0,08\text{ cm}$ . Ces poissons ont été achetés à Royal Fish Bénin situé à Akpro Missrété. Les poissons, conditionnés dans des ballons oxygénés, ont été transportés de leur lieu d'achat jusqu'à l'URAEQ. Ils ont été ensuite stockés dans trois tanks de 1000 litres de contenance (Figure 8).



**Figure 8 :** Tanks utilisés pour le stockage des poissons (Travaux de recherche, 2016)

Chez les juvéniles, les gonades sont encore en développement, ce qui permet de ressortir les effets sur la reproduction des futurs poissons adultes.

Concernant les poissons sauvages autochtones, les individus d'*Oreochromis niloticus* ont été achetés auprès des pêcheurs exploitant chaque retenue d'eau (eau libre). Dans les deux retenues le filet épervier et les filets maillants de fond sont les principaux engins utilisés.

### 5.2.2. Matériel pour le suivi des paramètres physico-chimiques de l'eau des retenues

Il est composé de deux multi-paramètres (marque HANNA) mesurant le pH, la température et les TDS (Figure 9).



**Figure 9** : Appareil multi paramètres physico-chimiques (Travaux de recherche, 2016)

### 5.2.3. Matériel lors des prélèvements d'organes et des mesures biométriques

Le matériel utilisé lors des prélèvements est composé :

- d'une épuisette pour prélever les poissons dans les enclos et happas ;
- des tables et chaises ayant servi lors de la dissection sur le terrain ;
- de plateaux de dissection formés d'un plastic sur lequel est déposé un verre ;
- des trousses à dissection ;
- d'une glacière contenant de la glace utilisée pour maintenir frais le plateau de dissection ;
- des fiches de prise de données biométriques (Annexes 3 et 4) et des paramètres physicochimiques ;
- des tubes en polyéthylène (marque VWR) pour la conservation des organes prélevés dans du formol tamponné à 10% ;
- des pissettes pour mettre le formol dans les tubes ;
- des stylos à encre indélébile pour écrire les codes sur les tubes ;

- des portoirs dans lesquels les tubes ont été disposés ;
- de l'anesthésiant Ethyl 3-aminobenzoate methanesulfonate (MS 222) ayant servi à endormir les poissons lors des manipulations ;
- d'une balance (marque KERN) de portée 1 Kg et de précision 0,001 pour peser les gonades et le foie ;
- de deux balances (marque PHILIPS) de portée 5 Kg et précision 0,1 pour peser les poissons et l'aliment ;
- d'un ichtyomètre pour la mesure de la longueur totale des poissons (LT) ;
- des sceaux et bassines en plastic pour contenir les poissons ;
- des gans (marque VWR) de protection des mains ;
- du papier absorbant pour le nettoyage des mains, de la trousse et des balances.

#### 5.2.4. Autres appareils et outils

- Le microscope (marque SWIFT) couplé à une caméra numérique pour l'observation des lames (Figure 10 et Annexe 7) ;
- Un GPS marque GARMIN (GPSMAP 78 s) pour prendre les coordonnées géographiques situant les infrastructures dans les retenues d'eau (Figure 11) ;
- La clé électronique d'identification des poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest (Paugy *et al.*, 2004) pour confirmer en cas de doute, *Oreochromis niloticus* pris en eau libre ;
- Un appareil photo numérique marque SONY pour prendre les photos ;
- Un lot de douze bocaux pour distribuer l'aliment aux poissons élevés dans chaque retenue d'eau (Figure 12).



**Figure 10** : Observation des lames au microscope optique (Travaux de recherche, 2016)



**Figure 11 :** Appareil GPS (Global Positioning System) (Travaux de recherche, 2016)



**Figure 12:** Lot de douze bocal de distribution d'aliment à Batran (Travaux de recherche, 2016)

### 5.3. Méthodes

Cette étude a été réalisée selon les étapes suivantes : une sortie exploratoire, l'installation des infrastructures expérimentales et leur empoissonnement, la conduite de l'élevage ; les campagnes de prélèvement, le traitement des données biologiques (évaluation des biomarqueurs) et l'analyse statistique des données. Les biomarqueurs d'effet utilisés dans ce travail sont l'histopathologie des organes (modifications structurales), les indices biométriques et les paramètres de croissance.

#### 5.3.1. Sortie exploratoire

Une visite exploratoire a été réalisée pour mieux connaître les retenues et identifier les niveaux exacts où seront installées les infrastructures sur chacune des retenues. Le choix de ces niveaux a été fait avec l'appui des pêcheurs qui connaissent bien le profil en profondeur des retenues d'eau concernées. Cette sortie nous a également permis de rencontrer les

responsables à différents niveaux de la gestion de chaque retenue. Il s'agit du Responsable du Développement Rural, du technicien en pêche et du comité local de gestion de la retenue d'eau de Batran. Au Centre Songhaï d'Atagara, nous avons rencontré le Directeur, à qui nous avons également expliqué les objectifs de l'étude.

### **5.3.2. Installation des infrastructures expérimentales et leur empoissonnement**

Les enclos et les happas ont été installés grâce à l'appui de l'Organisation Non Gouvernementale Aquaculture et Développement Durable (AquaDeD ONG). Après trois jours de stockage, l'empoissonnement a été fait dans la retenue d'eau de Songhaï. Au cinquième jour de leur arrivée à Parakou, les poissons destinés à la retenue d'eau de Banikoara ont été transportés toujours dans des ballons oxygénés. Ces derniers ont été stockés durant deux jours dans deux tanks (1000 litres) avant leur mise en charge. Ce stockage à la suite du transport vise l'acclimatation c'est-à-dire le rétablissement des variables physiologiques dans des limites qui ne compromettent pas la survie des poissons. Précisons que pour le stockage, c'est l'eau de la retenue d'eau qui a été utilisée à Batran alors que c'est une eau de forage (Tableau I) qui a été utilisé à l'URAEaq. Durant toute la période de stockage dans les tanks, les poissons n'ont pas été nourris.

**Tableau I :** Paramètres de qualité de l'eau du forage d'eau de l'URAEaq

<b>Conductivité (<math>\mu</math>S/cm)</b>	<b>pH</b>	<b>Nitrates (mg/l)</b>	<b>Nitrites (mg/l)</b>	<b>Ammonium (mg/l)</b>	<b>Sulfates (mg/l)</b>	<b>Phosphates (mg/l)</b>	<b>Fluorures (mg/l)</b>	<b>Dureté Totale (mg/l)</b>
265,00 $\pm$ 14,50	6,81 $\pm$ 0,03	20,68 $\pm$ 1,48	0,04 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,38	21,38 $\pm$ 4,8	1,90 $\pm$ 0,79	0,50 $\pm$ 0,09	115,00 $\pm$ 30

(URAEaq, 2016)

Avant la mise en charge des individus d'*Oreochromis niloticus*, la biomasse de 20 individus prélevés aléatoirement dans chaque lot de poche d'happa et d'enclos a été prise. Le poids corporel (P) et la longueur totale (LT, distance séparant le bout du museau du poisson jusqu'à l'extrémité de la nageoire caudale) ont été pris chez chacun de ces 20 poissons (Figure 13). L'empoissonnement a été fait à une densité de 75 individus par poche quel que soit le type d'infrastructure. Au total 450 individus d'*Oreochromis niloticus* ont été utilisés par retenue d'eau. Une hauteur d'un mètre entre la surface de l'eau et le sommet des poches a été laissée

aussi bien en enclos qu'en happas. Ceci pour éviter que les poissons ne s'échappent à travers les espaces de nourrissage laissés dans le filet couvrant les poches.



**Figure 13 :** Mesure de la longueur totale des poissons (Travaux de recherche, 2016)

### 5.3.3. Conduite de l'élevage

Le nourrissage des poissons avait commencé le jour suivant leur mise en charge. Les poissons ont été nourris deux fois par jour ; le matin entre 8 et 9 heures et le soir entre 17 et 18 heures. L'aliment « Le Gouessant TILAPIA STARTER » (France) de taille 2 millimètres, contenant 9% de matières grasses brutes et 32% de protéines brutes a été utilisé pour nourrir à satiété apparente les poissons. Mais les quantités d'aliment consommé par jour ont été calculées en faisant la différence entre la quantité pesée le matin et celle pesée à la fin de la journée.

Le pH et la Température (T) sont les principaux paramètres physico-chimiques qui à la fois conditionnent la biodisponibilité des pesticides et agissent sur la croissance des poissons. D'où l'importance de leur mesure. Ils ont été mesurés (Figure 14) avant le nourrissage des poissons, journalièrement entre 7h et 7h30 minutes et entre 16 et 17h, au niveau de deux stations différentes dans chaque retenue d'eau. Une station proche des infrastructures d'élevage et une autre éloignée des infrastructures expérimentales, ceci a permis d'intégrer l'influence de l'aliment apporté aux poissons sur la qualité physico-chimique de l'eau. Deux pêches de contrôle au cours desquelles (30 poissons pesés par poche) ont été effectuées. Ces deux pêches ont été respectivement réalisées trois semaines après empoissonnement et dans la huitième semaine après empoissonnement.





**Figure 14 :** Prise des paramètres physico-chimiques de l'eau dans retenue de Batran (Travaux de recherche, 2016)

#### **5.3.4. Campagnes de prélèvement**

Deux campagnes de prélèvement ont été faites. Il s'agit du prélèvement 0 organisé en juin 2016 au cours de laquelle 57 individus d'*Oreochromis niloticus* ont été prélevés et du prélèvement 1 organisé dans la huitième semaine plus tard (50 jours environ, dans le mois août 2016) au cours de laquelle 117 individus ont été prélevés. Les organes prélevés sont le foie, le rein et la gonade gauche. Cette dernière est la plus grande et la plus fréquemment utilisée dans les essais écotoxicologiques selon la littérature. Au total 174 individus d'*Oreochromis niloticus* ont été traités dans ce travail. En eau libre de la retenue d'eau de Batran, nous avons prélevé des poissons ayant des tailles proches à ceux prélevés en eau libre de la retenue d'eau de Songhaï lors de chaque campagne. Signalons qu'à chaque campagne, le poids corporel (P) et la longueur totale (LT) ont été pris chez chacun des individus à prélever.

##### **▪ Campagne de prélèvement 0**

Elle comporte les prélèvements dans le lot des juvéniles achetés pour la mise en charge et les prélèvements chez les poissons d'eau libre. En ce qui concerne les juvéniles achetés, dix (10) individus par sexe ont été aléatoirement choisis, soit au total vingt (20) individus.

En eau libre, dix (10) mâles et dix (10) femelles d'*Oreochromis niloticus* puis dix (10) mâles et sept (7) femelles ont été utilisés respectivement à Songhaï et à Batran. Au total 37 poissons considérant les deux retenues d'eau ont été utilisés en eau libre. Nous avons constaté que la plupart des individus d'*Oreochromis niloticus* meurent déjà chez le pêcheur avant sa sortie de

l'eau malgré toutes les dispositions prises et que les poissons femelles sont rares dans les captures de Batran.

#### ▪ **Campagne de prélèvement 1**

Dans chacune des retenues d'eau, dix (10) individus par sexe d'*Oreochromis niloticus* ont été prélevés aléatoirement dans les trois réplicats de chacun des deux types d'infrastructures, soit 40 individus. Précisons qu'à Songhaï, nous avons assisté en fin juillet à une inondation qui nous a fait perdre presque tous les individus d'*Oreochromis niloticus* mis en charge dans nos infrastructures. Alors, nous avons acheté les poissons des installations du Centre Songhaï ; ces poissons ont été mis en charge dans la même période que nos poissons perdus et nourris avec de la provende fabriquée localement. Au total 80 individus d'*Oreochromis niloticus* ont été prélevés dans les deux types d'infrastructure pour les deux retenues d'eau. A Batran, les poissons des enclos ont un poids moyen de  $80,20 \pm 2,87$  g et une longueur totale moyenne de  $16,05 \pm 0,15$  cm. Quant aux poissons mis dans les happas à Batran, ils ont un poids moyen de  $71,85 \pm 2,96$  g et une longueur totale moyenne de  $15,55 \pm 0,20$  cm. En ce qui concerne la retenue d'eau de Songhaï, les poissons des enclos ont un poids moyen de  $89,44 \pm 3,14$  g et une longueur totale moyenne de  $17,20 \pm 0,17$  cm. Quant aux poissons des happas à Songhaï, ils ont un poids moyen de  $96,67 \pm 8,19$  g et une longueur totale moyenne de  $17,28 \pm 0,33$  cm. Nous constatons que les valeurs du poids et de longueur totale chez *Oreochromis niloticus* élevé sont faibles à Batran comparativement à Songhaï.

En eau libre, dix (10) mâles et neuf (9) femelles d'*Oreochromis niloticus* puis dix (10) mâles et sept (8) femelles de la même espèce ont été prélevés respectivement à Songhaï et à Batran. Au total 37 individus d'*Oreochromis niloticus* ont été prélevés en eau libre dans les deux retenues d'eau.

#### ▪ **Processus de prélèvement**

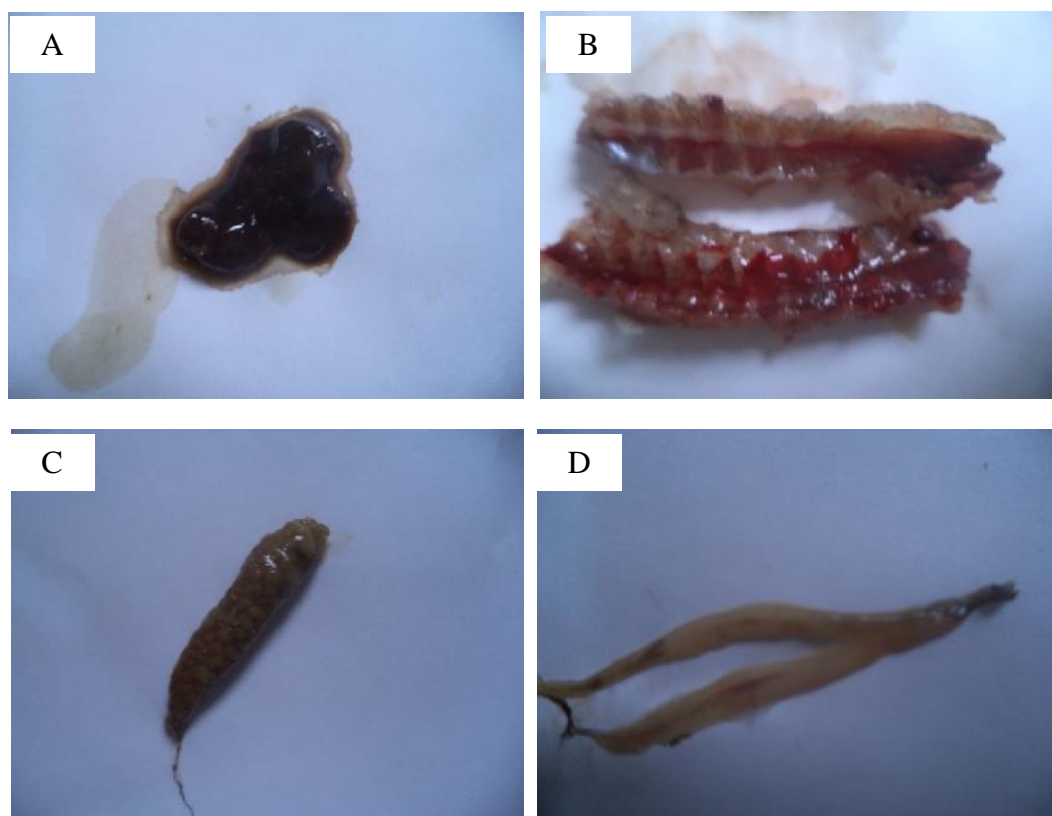
Après identification du sexe, chaque individu capturé a subi un examen macroscopique externe et interne afin de détecter les anomalies et signes d'attaques parasitaires sur les organes (exophtalmie, lésions des organes, présence de nodules, etc.). Cet examen a concerné les tissus et organes externes (opercules et branchies, nageoires, peau, cavité buccale et yeux) et ceux internes (estomac et intestins, foie, rein, rate et gonades). Le poids corporel et la longueur totale ont ensuite été pris après anesthésie (100-180 mg du MS 222 par litre d'eau),



et le poisson euthanasié par dislocation cervicale. Le foie, le rein et les gonades ont été prélevés après dissection (Figure 15 et Figure 16) ; le foie et les gonades ont été pesés rapidement puis la gonade gauche, le foie et le rein ont été conservés immédiatement dans des tubes en polyéthylène de 15-45ml contenant au préalable du formol tamponné. Chaque tube a été codé (Annexe 5) et le volume du formol dépend de la taille de l'organe. Toutefois, la quantité de formol utilisé correspondait au moins à 10 fois le volume de l'organe.



**Figure 15** : Prélèvement d'organes chez *Oreochromis niloticus* (Travaux de recherche, 2016)

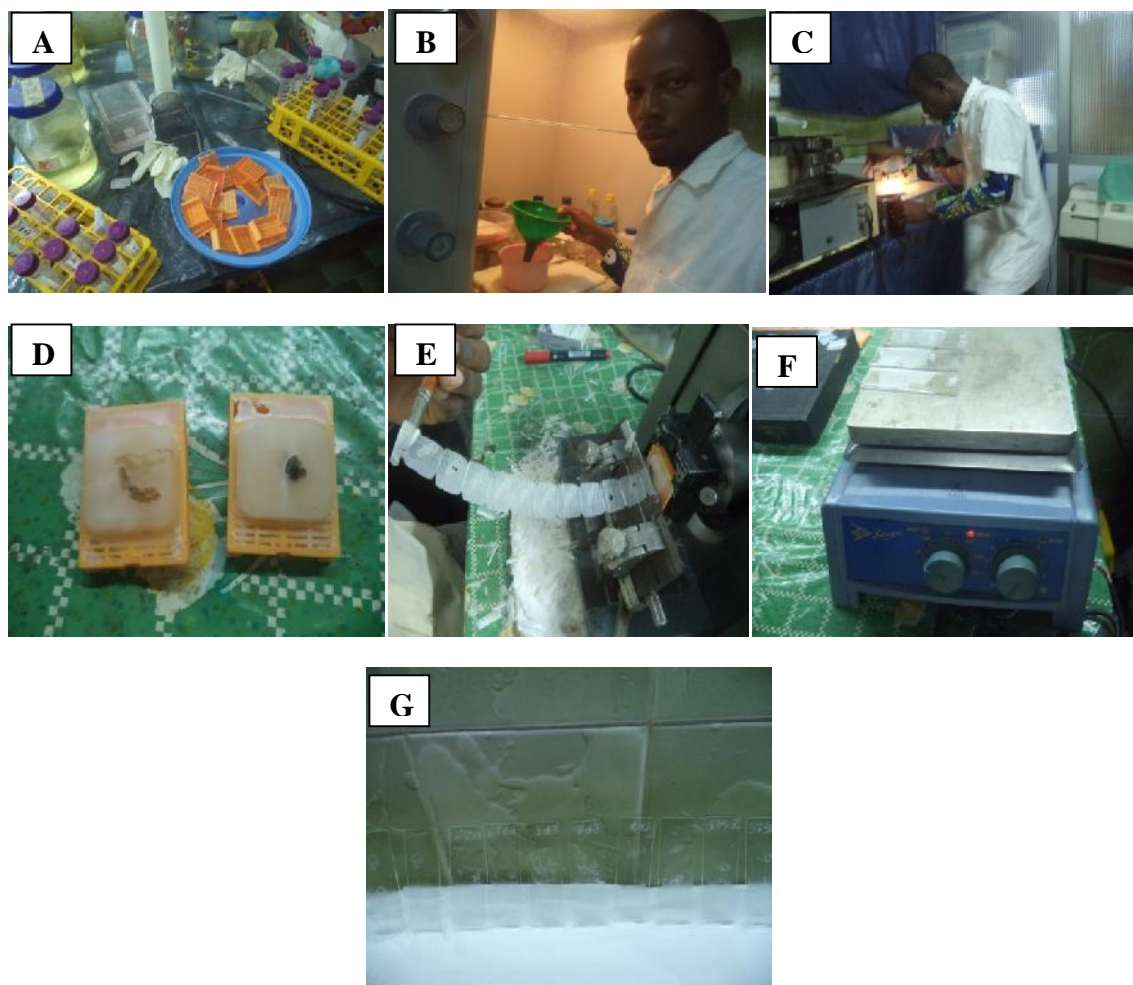


**Figure 16** : Structures macroscopiques des organes (A) : foie ; (B) : rein ; (C) : ovaire gauche ; (D) : testicules (Travaux de recherche, 2016)

### 5.3.5. Traitement biologique des données

#### 5.3.5.1. Analyse histologique des organes

Pour des contraintes de temps et de disponibilité au laboratoire de Cytogénétique (Unité de Biologie Humaine) de la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université d'Abomey-Calavi sis à l'Institut des Sciences Biomédicales et Appliquées de Cotonou où les coupes histologiques ont été faites, seulement les organes pris en juin chez les poissons d'eau libre ont été coupés (12 individus à raison de 3 par sexe et par retenue d'eau ont été choisis). Le protocole classique (fixation, déshydratation et éclaircissement, inclusion en paraffine, coupes et coloration des coupes) a été utilisée (Annexe 6 et Figure 17). Les organes ont été sectionnés à des épaisseurs comprises entre 3 à 5  $\mu\text{m}$ . Quel que soit l'organe, les lames ont été colorées à l'hématoxyline-éosine (HE) qui était le seul colorant disponible. Outre la légende, chaque micrographie comporte le nom de l'organe, le nom de l'espèce, la coloration et une indication approximative du grossissement.



**Figure 17** : Etapes de la réalisation des coupes histologiques : A : cassettes préparées ; B : déshydratation ; C : imprégnation en paraffine ; D : blocs de paraffine incluant les organes ; E : ruban coupé au microtome manuel ; F : étalement au moyen d'une plaque chauffante ; G : lames portant les coupes bien étalées (Travaux de recherche, 2016)

#### 5.3.5.1.1. Histologie des gonades

Comme chez la majorité des Téléostéens, l'ovaire est de type cystovarien et le testicule de type lobulaire chez *Oreochromis niloticus*.

- Testicule

Six stades de développement tirés selon Agbohessi (2014) modifiés légèrement de Van Dyk et Pieterse (2008) ont été considérés (Tableau II). Leur comptage par testicule a été fait à trois endroits différents choisis de façon randomisée. Les altérations recherchées au niveau des testicules sont la présence d'ovotestis et d'intersexe (féminisation), l'infiltration d'adipocytes, le détachement de la membrane des cystes, la présence des cellules spumeuses sous forme de

vacuoles, la fibrose, la désorganisation des cystes et la présence de cellules immatures dans la lumière des lobules.

▪ Ovaire

A l'observation microscopique des lames (10-40x objective), les six (6) stades de développement ovocytaires selon Agbohessi (2014) modifiés légèrement de Rinchar et Kestemont (1996) ont été considérés (Tableau III). Le comptage de chaque stade ovocytaire a été fait par ovaire en considérant toutes les cellules présentes. Les altérations qui ont été recherchées sont la nécrose, la fibrose, les ovocytes atrétiques pré-ovulatoires, les centres mélano-macrophagiques, la vacuolisation et le détachement de la membrane du cytoplasme des ovocytes.

**Tableau II :** Caractéristiques des stades de développement des cellules dans le testicule

<b>Stades de développement des cellules</b>	<b>Caractéristiques considérées</b>
Stade I : Spermatogonie A	Grosse cellule, pas encore organisée en cyste, gros noyau central avec un nucléole, cytoplasme réduit et peu coloré
Stade II : Spermatogonie B	Cellule moins grosse que la première encapsulée dans un cyste, petit noyau avec de nombreux nucléoles en périphérie de la membrane nucléaire, un gros cytoplasme
Stade III : Spermatocyte I	Noyau proéminent à fin réseau de chromatines, gros points regroupés en cystes et situés hors de la lumière lobulaire
Stade IV : Spermatocyte II	Noyau invisible à chromatines condensées, présence des points relativement petits regroupés en cystes situés hors la lumière lobulaire
Stade V : Spermatide	Noyau ovale très basophile, peu de cytoplasme, présence de petits points relativement sombres très proches de la lumière du lobe

**Tableau II (suite et fin) :** Caractéristiques des stades de développement des cellules dans le testicule

Stade VI : Spermatozoïde	Noyau très dense et présence de flagelle, présence de très petits points noir-bleuâtres dans la lumière lobulaire
--------------------------	---

**Tableau III :** Caractéristiques des stades de développement ovocytaires dans l'ovaire

Stades de développement ovocytaire	Caractéristiques considérées
Stade I : Ovocyte péri-nucléolaire	Petite taille, gros noyau central avec de nombreux nucléoles à la périphérie de la membrane nucléaire indifférenciée
Stade II : Ovocyte en phase alvéolaire corticale	Début de la vitellogenèse endogène, ovocytes de taille relativement petite comportant une série (2 à 3) de vésicules de vitellus en couronne autour de la membrane ovocytaire
Stade III : Ovocyte en phase vitellogénique précoce	Différenciation de la membrane nucléaire, accumulation centripète progressive des vésicules de vitellus (>3 rangées)
Stade IV : Ovocyte en phase vitellogénique avancée	Accumulation centrifuge de globules de vitellus qui repoussent progressivement les vésicules de vitellus contre la membrane ovocytaire (en périphérie)
Stade : V : Ovocyte en phase de maturation	Formation du micropyle par invagination de la membrane folliculaire, occupation du cytoplasme par les globules de vitellus
Stade VI : Ovocyte atrétique post-ovulatoire	Le follicule prend la forme d'un sac vide plissé, hypertrophié et dégénérent

Etant donné qu'en histologie, la description des altérations est liée à l'interprétation et à l'expérience de l'observateur, l'analyse semi-quantitative devient un outil indispensable pour facilement faire des comparaisons entre différents sites pour un organe donné. Ainsi pour les deux sexes, les altérations enregistrées et classées selon les six types d'altérations ((i) perturbations circulatoires, (ii) changements régressifs, (iii) changements progressifs, (iv) troubles inflammatoires, (v) néoplasie et (vi) intersexe (applicable seulement aux gonades)) signalées par Van Dyk *et al.* (2009a) ont été semi-quantifiées en utilisant le système de scores utilisé par Agbohessi *et al.* (2015a, 2015b) modifié de Bernet *et al.* (1999). Le score d'occurrence (indiquant l'étendue de l'altération dans la gonade) de chaque altération a été estimé selon le protocole de Bernet *et al.* (1999) : (0) absente (inchangée), (2) présente en faible quantité (faible occurrence), (4) présente en quantité modérée (occurrence modérée), (6) présente en grande quantité (sévère occurrence). En se basant sur le même protocole, le facteur d'importance (indiquant le degré de réversibilité de l'altération) de chaque altération a été également estimé : (1) importance pathologique minimale (facilement réversible), (2) importance pathologique modérée (réversible après la disparation du polluant), (3) importance pathologique élevée (irréversible conduisant à la perte partielle ou totale de la fonction de l'organe). Pour toutes les altérations, le score d'occurrence a été multiplié par le facteur d'importance pour donner l'indice de l'organe (soit  $I_{\text{testicule}}$  pour le testicule et  $I_{\text{ovaire}}$  pour l'ovaire). D'après Bernet *et al.* (1999), la formule est :

$$I_{\text{org}} = \sum_{\text{rp alt}} (\text{org rp alt} \times \text{org rp alt})$$

Où  $I_{\text{org}}$  = indice de l'organe, rp=reaction pattern ou type d'altération, alt = altération, org=organe (constant), =score d'occurrence, =facteur d'importance.

Pour apprécier la sévérité des altérations, un système de classification des altérations histologiques basé sur les valeurs des indices a été utilisé (Agbohessi *et al.*, 2015a, 2015b) tiré de Van Dyk *et al.*(2009 a et 2009 b) :

**Classe 1** (Indice organe <10) : organe à structure histologique avec de légères altérations

**Classe 2** (Indice organe 10 - 25) : organe à structure histologique avec des altérations modérées

**Classe 3** (Indice organe 26 - 35) : organe à structure histologique présentant des altérations prononcées

**Classe 4** (Indice organe >35) : organe à structure histologique présentant des altérations sévères

#### **5.3.5.1.2. Histologie du foie et du rein**

Les altérations recherchées au niveau du foie sont les foyers de nécrose, les centres mélanomacrophagiques dans le parenchyme hépatique, la vacuolisation lipidique ou stéatose, la fibrose, l'atrophie des hépatocytes, la déformation des hépatocytes, la congestion des sinusoides et la dégénérescence des hépatocytes. Au niveau du rein les altérations qui ont été recherchées sont l'atrophie et la nécrose des glomérules, la nécrose des cellules épithéliales, l'hypertrophie du noyau des cellules épithéliales, le rétrécissement des tubules rénaux, les foyers d'hémorragie, présence de gouttelettes hyalines, la dilatation de l'espace de Bowman et la présence des centres mélanomacrophagiques. Les processus d'analyse semi-quantitative des altérations observées dans le foie et le rein ( $I_{\text{foie}}$  = indice du foie et  $I_{\text{rein}}$  = indice du rein) sont similaires à ceux des gonades.

#### **5.3.5.1.3. Prévalences des altérations**

La prévalence de chaque altération considérée comme pourcentage d'occurrence (%) a été calculée selon la formule : [(nombre d'individus ayant l'altération x100)/nombre total d'individus examinés].

#### **5.3.5.1.4. Evaluation de l'état de santé générale des poissons**

La santé générale des poissons a été appréciée en calculant l'indice total ( $I_t$ ) qui est la somme des indices des organes [ $I_{\text{total}} = (I_{\text{testicule ou I_{ovaire}}) + I_{\text{foie}} + I_{\text{rein}}$ ] (Bernet *et al.*, 1999)

#### **5.3.5.2. Analyse de l'état physiologique des poissons**

Pour des études écotoxicologiques, l'étude de la croissance et des caractéristiques morpho-physiologiques ayant trait à la croissance et à la reproduction permet d'évaluer leur statut physiologique. De même, les résultats de l'histologie des organes rend compte de l'état physiologique des poissons.

##### **5.3.5.2.1. Caractéristiques morpho-physiologiques : indices biométriques chez tous les poissons**

Trois indices biométriques ont été calculés chez tous les poissons. Il s'agit de :

▪ **Indice de condition (K)**

Il est également appelé facteur de condition et permet d'apprécier l'état biologique des poissons. Il est fréquemment utilisé en écotoxicologie car il tend souvent à diminuer avec une contamination du milieu.

$$K (\%) = (P / LT^3) \times 100 ; P : \text{Poids corporel (g)} \text{ et } LT : \text{Longueur totale (cm)}$$

Ce calcul du K assume une croissance isométrique du poisson puisque que la longueur est inféodée d'une puissance 3. Cette considération d'une croissance isométrique utilisée par plusieurs auteurs représente une approximation valide pour la plupart des espèces de poissons. Une valeur élevée de K signifie que les poissons ont de l'embonpoint et vivent dans un environnement où les conditions leur sont favorables.

► **Indice hépato-somatique (IHS) et indice gonado-somatique (IGS)**

L'IHS et l'IGS sont deux indices organo-somatiques traduisant respectivement la proportion du foie et celle des gonades dans le poisson entier.

$$IHS (\%) = (Pf / P) \times 100$$

$IGS (\%) = (Pg / P) \times 100$  ; Avec Pf : Poids du foie (g) ; Pg : Poids des gonades (g) ; P (g) : Poids corporel.

Chaque indice permet de mettre en évidence une atteinte due aux pesticides au niveau de l'organe concerné.

**5.3.5.2.2. Paramètres de croissance des poissons élevés en infrastructures**

▪ **Gain de poids moyen (GP)**

C'est un paramètre permettant d'évaluer la croissance pondérale des poissons pendant un temps donné.

$$GP (g) = \text{Poids moyen final (Pmf)} - \text{poids moyen initial (Pmi)}$$

Avec Poids moyen = Biomasse / Effectif

▪ **Gain moyen quotidien individuel (GMQ)**

Il permet d'apprécier la croissance individuelle journalière des poissons.



**GMQ (g/jour) = GP/ durée d'élevage**

▪ **Taux de croissance spécifique (TCS)**

Ce paramètre permet d'évaluer le poids journalier gagné par le poisson en pourcentage de son poids corporel.

**TCS (% P/jour) = [(ln Pmf –ln Pmi)/ durée d'élevage] x 100** avec ln = logarithme népérien  
et P= poids corporel

### **5.3.6. Analyse statistique des données**

Les données ont été saisies dans le tableur Excel 2007 et traitées grâce au logiciel statistique Minitab 16. Les données du pH, de la température, des caractéristiques morpho-physiologiques, des paramètres de croissance et de l'analyse histologique semi-quantitative ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptive et univariée (représentations graphiques et tableaux, moyenne  $\pm$  erreur standard). Le test de Ryan-Joiner et le test de Levene ont été utilisés pour respectivement apprécier la normalité et l'homoscédasticité des données physico-chimiques, biométriques et histologiques. Pour des comparaisons des moyennes, le test T de Student à deux échantillons indépendants a été utilisé. Au niveau des juvéniles achetés, les valeurs moyennes de K, IHS, IGS ont été comparés entre les sexes mâle et femelle. L'unité expérimentale est le poisson et les facteurs sont la retenue d'eau, l'infrastructure expérimentale et le sexe des poissons. Le test T à deux échantillons indépendants a préalablement montré une différence significative entre les données biométriques des mâles et femelles prélevés en eau libre et dans les infrastructures. Ainsi pour éliminer l'effet du sexe, en dehors des paramètres de croissance (compte tenu du mélange des sexes lors des contrôles de poids), les données ont été analysées par sexe. Entre les deux retenues d'eau, les valeurs moyennes de la température et du pH ; de K, IHS et IGS ; des indices totaux et des prévalences des stades de développement des cellules dans les gonades ont été comparées en eau libre. Dans une même retenue d'eau, les valeurs moyennes de GP, GMQ, TCS, K, IHS et IGS ont été comparées entre infrastructures. De même, par infrastructure, les valeurs moyennes de GP, GMQ, TCS, K, IHS et IGS ont été comparées entre les deux retenues d'eau. L'effet du mois de prélèvement a été également étudié chez les poissons prélevés en eau libre dans chaque retenue d'eau. Pour tous ces tests, le seuil de significativité était de 5%.

## Partie 3 : Résultats et discussion

*Cette partie est composée des chapitres 6 et 7. Le chapitre 6 aborde les résultats auxquels nous avons aboutis. Dans le chapitre 7, nos résultats ont été clairement interprétés, commentés et comparés à plusieurs travaux scientifiques effectués aussi bien au Bénin qu'ailleurs.*

## Chapitre 6 : Résultats

### 6.1. Température et pH de l'eau des retenues d'eau

Les valeurs moyennes de température et du pH (Tableau IV) des deux retenues d'eau ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

**Tableau IV** : Valeurs moyennes de la température et du pH des retenues d'eau

Paramètres	Retenues d'eau	
	Batran	Songhaï
Température (°C)	$28,51 \pm 0,16^a$	$28,26 \pm 26^a$
pH	$6,9 \pm 0,6^b$	$6,81 \pm 0,13^b$

Pour chaque paramètre, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes

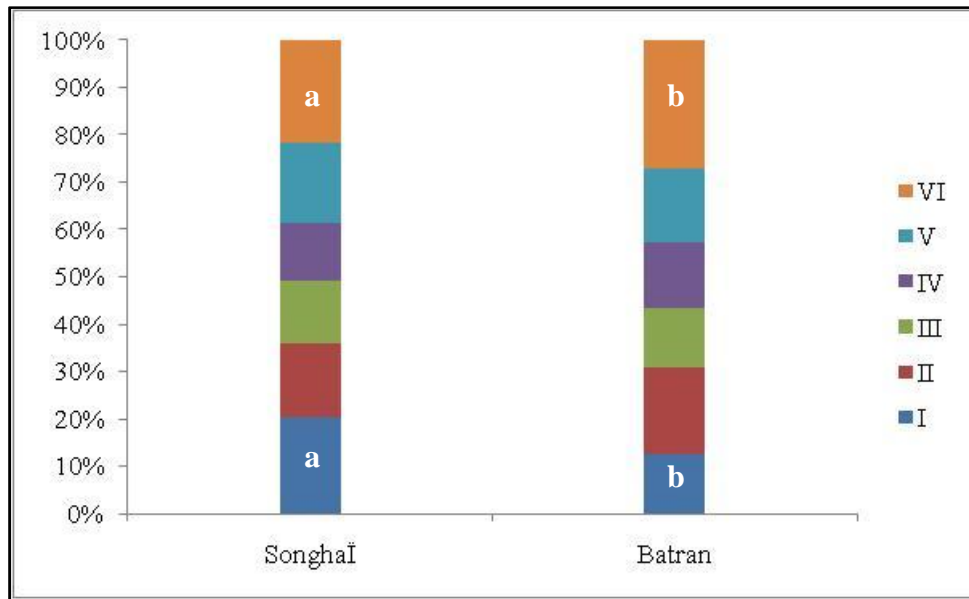
### 6.2. Analyse histologique des organes

Tous les poissons et organes examinés ne présentent ni de signes d'attaque parasitaire ni d'anomalies macroscopiques.

#### 6.2.1. Histologie du testicule

##### 6.2.1.1. Développement des stades

Tous les six stades de développement des cellules testiculaires sont présents quelle que soit la retenue d'eau. Le stade VI (spermatozoïde) est le plus élevé quelle que soit la retenue d'eau (Figure 18). La proportion du stade VI (spermatozoïde) est significativement plus élevée à Batran comparativement à la retenue d'eau de Songhaï ( $p < 0,05$ ). Quant au premier stade (spermatogonie A), il est significativement plus élevé dans les testicules des poissons prélevés à Songhaï ( $p < 0,05$ ).

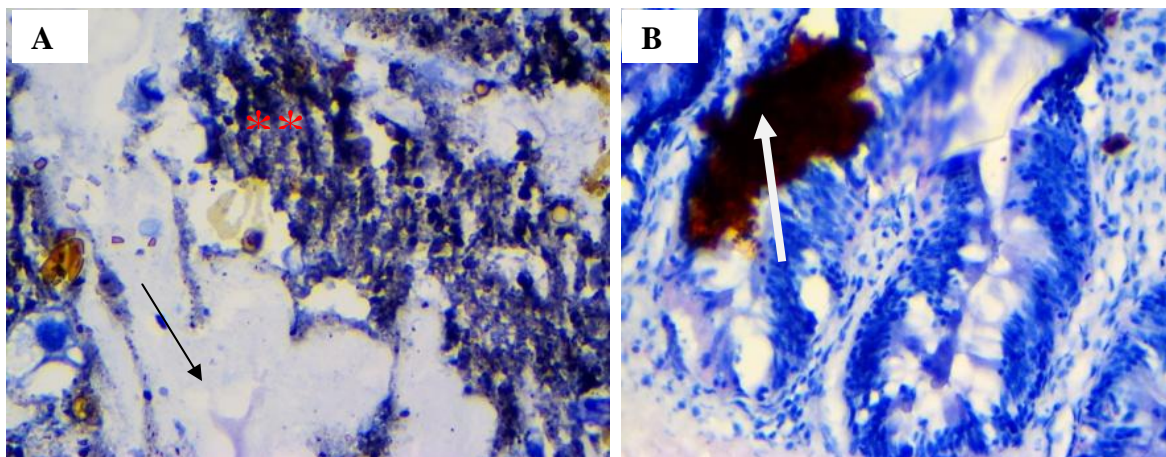


Des pourcentages moyens portant des lettres différentes sont statistiquement différents au seuil de 5%.

**Figure 18 :** Pourcentages des différents stades des cellules du testicule

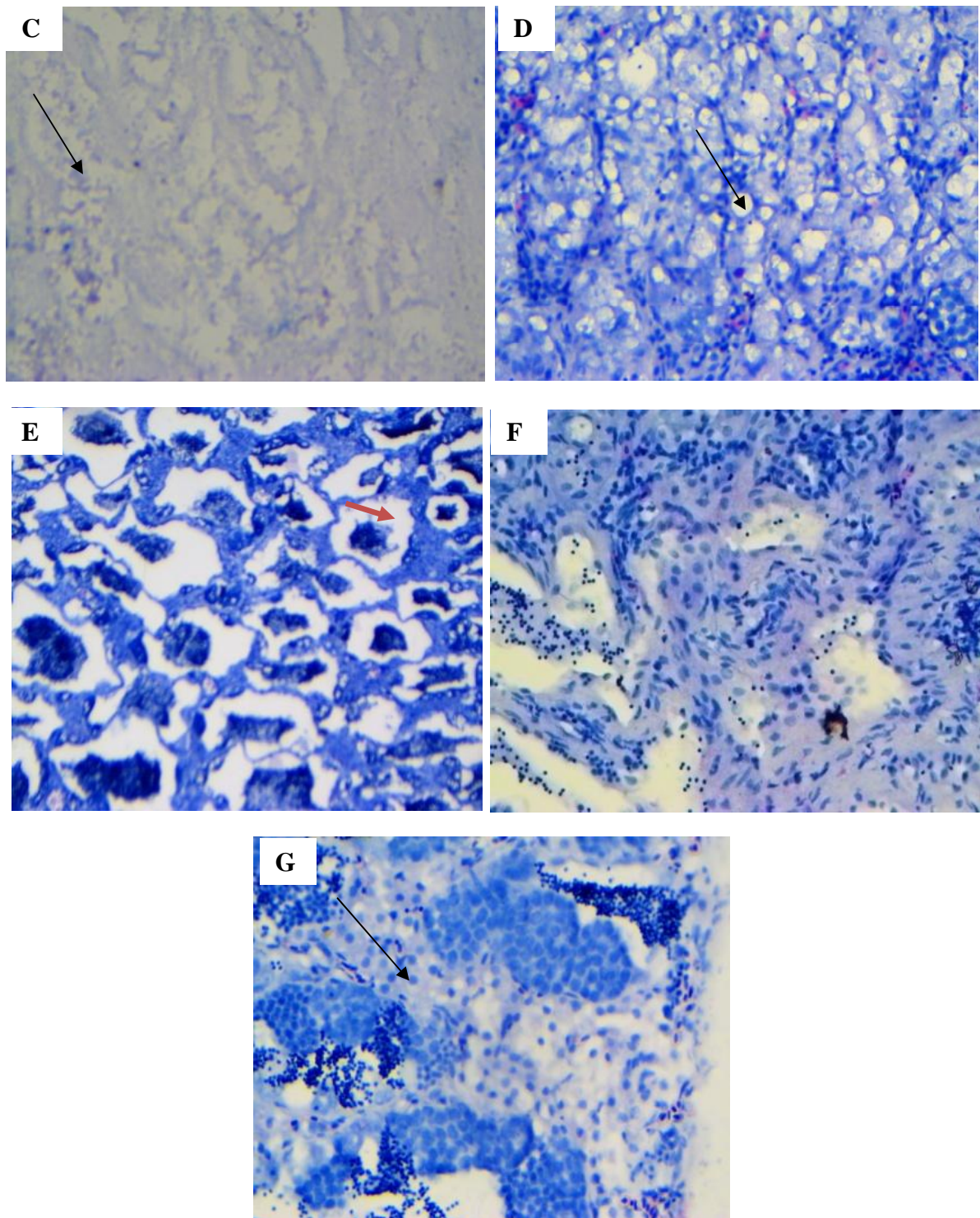
### 6.2.1.2. Quelques micrographies des altérations

Tous les individus examinés présentent au moins une altération dans le testicule quel que soit le milieu. Les altérations identifiées dans le testicule ont été micrographiées (Figure 19).



**Figure 19 :** Micrographies du testicule d'*Oreochromis niloticus* (40x, HE)

(A) : Cellules spumeuses (flèche) et CMM (2 astérisques rouges) (B) : Hémorragie (flèche blanche)



**Figure 19 (suite et fin) :** (C) : Fibrose (flèche) (D) : Infiltration d'adipocytes (flèche) (E) : Détachement de la membrane basale (flèche rouge) (F) : Désorganisation lobulaire (G) : Cellules immatures dans la lumière (flèche)

### 6.2.1.3. Prévalences (%) des altérations

Au total, huit (8) altérations dont sept (7) régressives sont identifiées dans le testicule d'*Oreochromis niloticus* prélevé dans la retenue d'eau de Batran alors que quatre (4) altérations régressives sont identifiées à Songhaï (Tableau V).

**Tableau V:** Prévalences (%) des altérations dans le testicule d'*Oreochromis niloticus*

Altérations dans le testicule	Retenue d'eau de Songhaï	Retenue d'eau de Batran
<b>Changements régressifs (%)</b>		
Fibrose (3)	-	66,66
CMM (2)	33,33	100
Détachement membrane basale (2)	33,33	33,33
Cellules immatures dans la lumière (2)	-	33,33
Désorganisation lobulaire (2)	33,33	100
Nécrose lobulaire (3)	-	33,33
Cellules spumeuses (2)	-	33,33
Infiltration d'adipocytes (1)	33,33	-
<b>Perturbations circulatoires (%)</b>		
Hémorragie (1)	-	33,33

- : indique que l'altération n'a pas été observée ; CMM : signifie centre mélanomacrophagiques ; le facteur d'importance de chaque altération est noté entre parenthèses

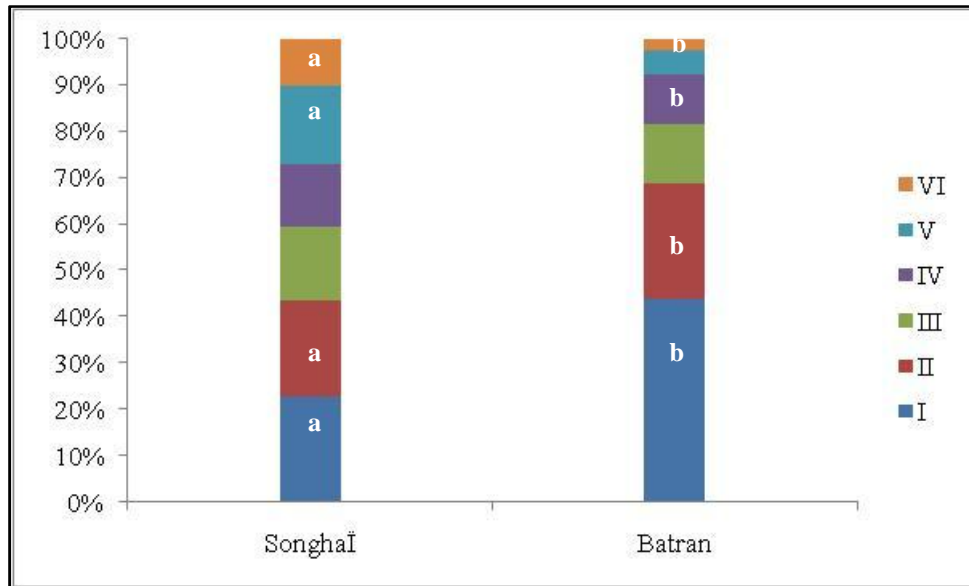
## 6.2.2. Histologie de l'ovaire

### 6.2.2.1. Développement des stades

Tous les six stades sont présents chez les poissons quelle que soit la retenue d'eau. Les stades I et II sont les plus nombreux quelle que soit la retenue (Figure 20). Les stades ovocytaires les



plus avancés (V et VI) sont significativement plus élevés à Songhaï comparativement à la retenue d'eau de Batran ( $p < 0,05$ ). Quant aux premiers stades (stade péri-nucléolaire et ovocyte en phase alvéolaire corticale), ils sont significativement plus élevés dans les ovaires des poissons prélevés dans la retenue d'eau de Batran ( $p < 0,05$ ).

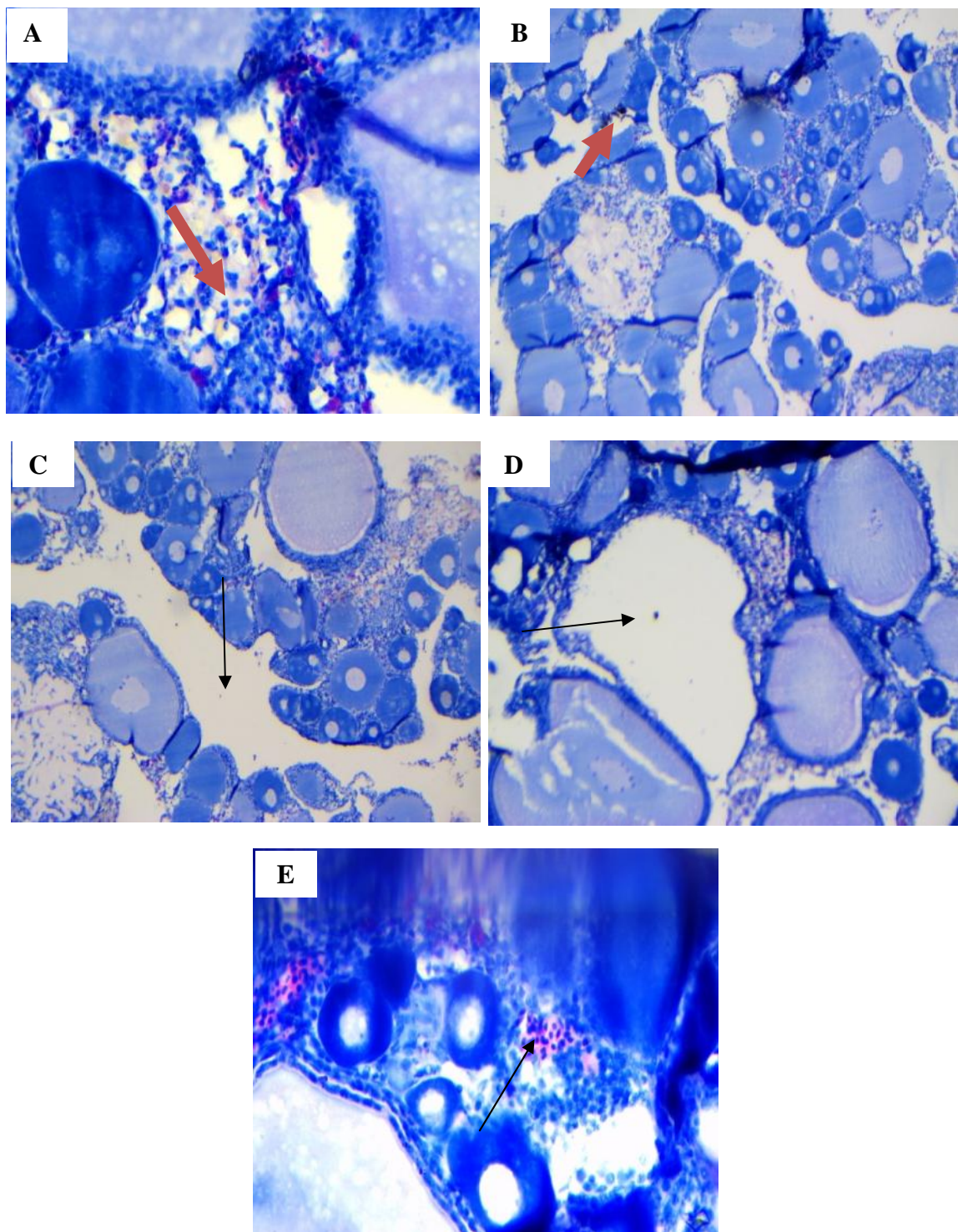


Des pourcentages moyens portant des lettres différentes sont statistiquement différents au seuil de 5%.

**Figure 20 :** Pourcentages des différents stades de développement ovocytaire

#### 6.2.2.2. Quelques micrographies des altérations

Au moins une altération est identifiée dans l'ovaire de tous les individus prélevés dans la retenue d'eau de Batran alors qu'à Songhaï 66,66% des individus ne présentent aucune altération. Chacune des altérations identifiées dans l'ovaire a été micrographiée (Figure 21).



**Figure 21** : Micrographies (40x, HE) de l'ovaire d'*Oreochromis niloticus*

(A) : Atrésie folliculaire pré-ovulatoire (flèche rouge) (B) : Début de formation des CMM (flèche rouge) (C) : Nécrose (flèche) (D) : Vacuolisation (flèche) (E) : Infiltration des leucocytes (flèche)



### 6.2.2.3. Prévalences (%) des altérations

Au total, six (6) altérations régressives sont identifiées dans l'ovaire d'*Oreochromis niloticus* prélevé dans la retenue d'eau de Batran alors que deux (2) altérations régressives sont identifiées à Songhaï (Tableau VI). L'altération présente à la fois chez les individus capturés dans les deux retenues est la vacuolisation.

**Tableau VI :** Prévalences (%) des altérations dans l'ovaire d'*Oreochromis niloticus*

Altérations dans l'ovaire	Retenue d'eau de Songhaï	Retenue d'eau de Batran
<b>Changements régressifs (%)</b>		
CMM (2)	-	100
Atrésie folliculaire pré-ovulatoire (3)	-	100
Nécrose cellulaire (3)	-	33,33
Vacuolisation (1)	66,66	33,33
Infiltration des leucocytes (1)	-	33,33
Fibrose (3)	-	33,33

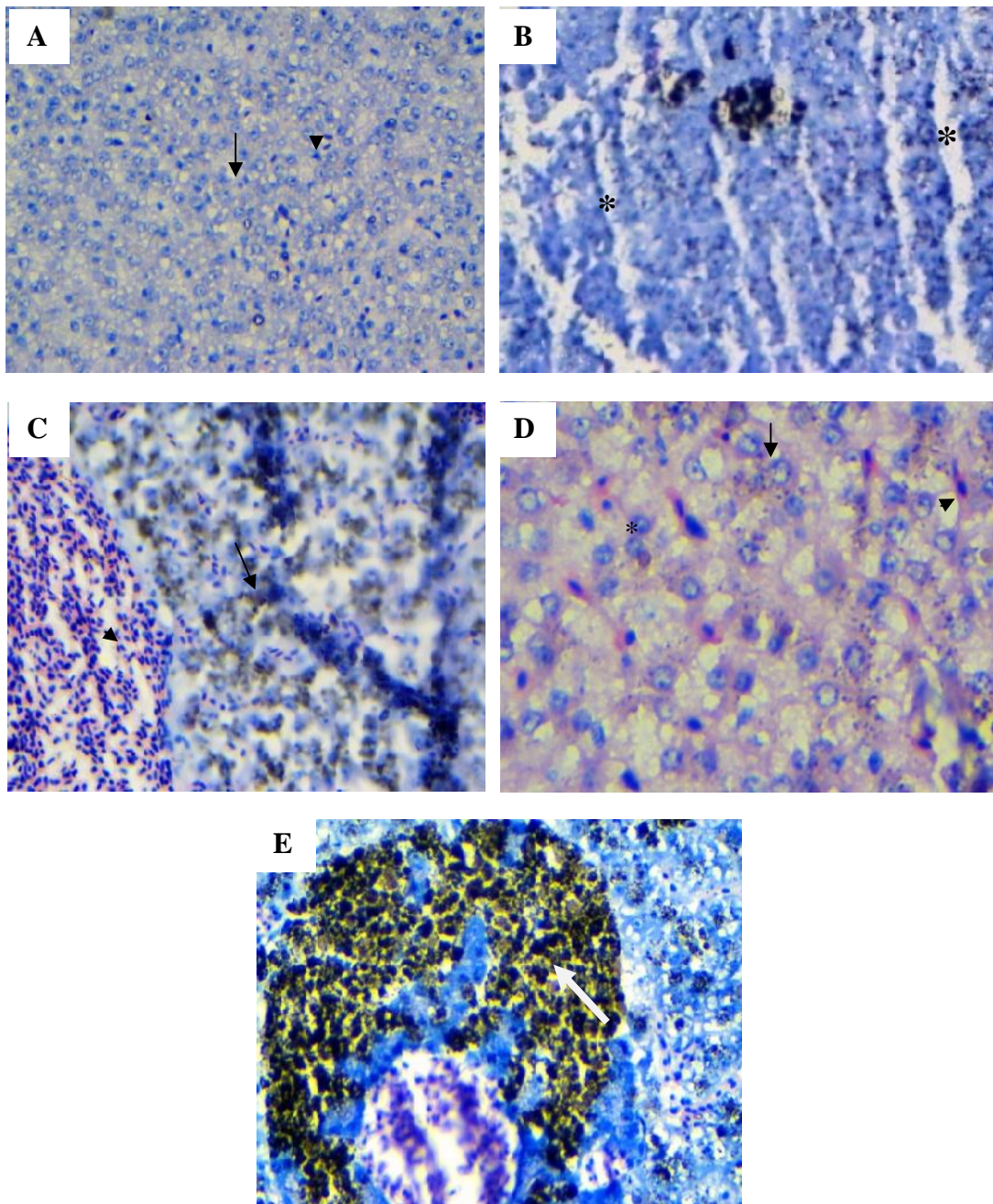
- : indique que l'altération n'a pas été observée ; CMM : signifie centre mélanomacrophagiques ; le facteur d'importance de chaque altération est noté entre parenthèses

### 6.2.3. Histologie du foie

Au moins une altération est identifiée dans le foie de tous les individus prélevés dans la retenue d'eau de Batran alors qu'à Songhaï 33,33% des individus mâles ne présentent aucune altération.

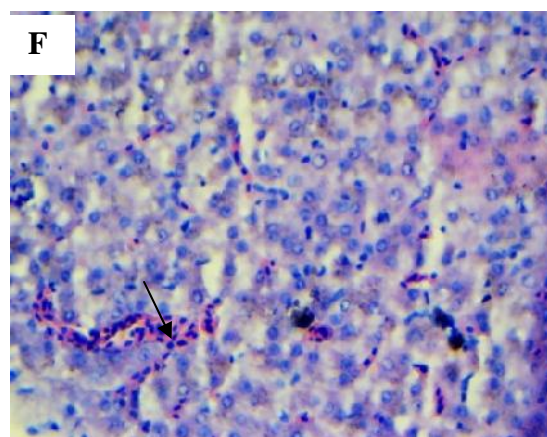
#### 6.2.3.1. Quelques micrographies des altérations

Les altérations identifiées dans le foie ont été micrographiées (Figure 22).



**Figure 22** : Micrographies (40x, HE) du foie d'*Oreochromis niloticus*

(A) : Structure normale montrant les hépatocytes (flèche) et les sinusoides (tête de flèche) (B): Dilatation des sinusoides (astérisque) (C) : Infiltration des leucocytes (tête de flèche) et CMM (flèche) (D) : Stéatose micro vésiculaire (flèche), Stéatose macro vésiculaire (tête de flèche) et Hypertrophie du noyau hépatocytaire (astérisque) (E) CMM (flèche blanche)



**Figure 22 (suite et fin) :** (F) : Congestion des sinusoides (flèche)

### 6.2.3.2. Prévalences (%) des altérations

Au total, neuf (9) altérations dont six (6) régressives sont identifiées dans le foie d'*Oreochromis niloticus* prélevé dans la retenue d'eau de Batran alors que six (6) altérations dont quatre (4) régressives sont identifiées à Songhaï (Tableau VII). Quelle que soit la retenue, les poissons mâles portent le nombre le plus élevé d'altérations. Les altérations présentes à la fois chez tous les individus prélevés dans les deux retenues d'eau sont les centres mélano-macrophagiques et l'infiltration des leucocytes.

**Tableau VII :** Prévalences (%) des altérations dans le foie d'*Oreochromis niloticus*

Altérations dans le foie	Retenue d'eau de Songhaï		Retenue d'eau de Batran	
<b>Changements régressifs (%)</b>				
CMM (2)	33,33	100	66,66	100
Nécrose du tissu hépatique (3)	-	-	100	100
Nécrose isolée d'hépatocytes (3)	100	33,33	-	66,66
Stéatose micro vésiculaire (1)	33,33	-	33,33	-
Dilatation des sinusoides (1)	33,33	-	66,66	100

**Tableau VII (suite et fin) : Prévalences (%) des altérations dans le foie d'*Oreochromis niloticus***

Stéatose macro vésiculaire	-	-	33,33	-
<b>Troubles inflammatoires (%)</b>				
Infiltration des leucocytes (2)	33,33	33,33	33,33	66,66
<b>Perturbations circulatoires (%)</b>				
Congestion des sinusoïdes (1)	33,33	-	33,33	-
<b>Changements progressifs (%)</b>				
Hypertrophie du noyau hépatocytaire	-	-	33,33	-

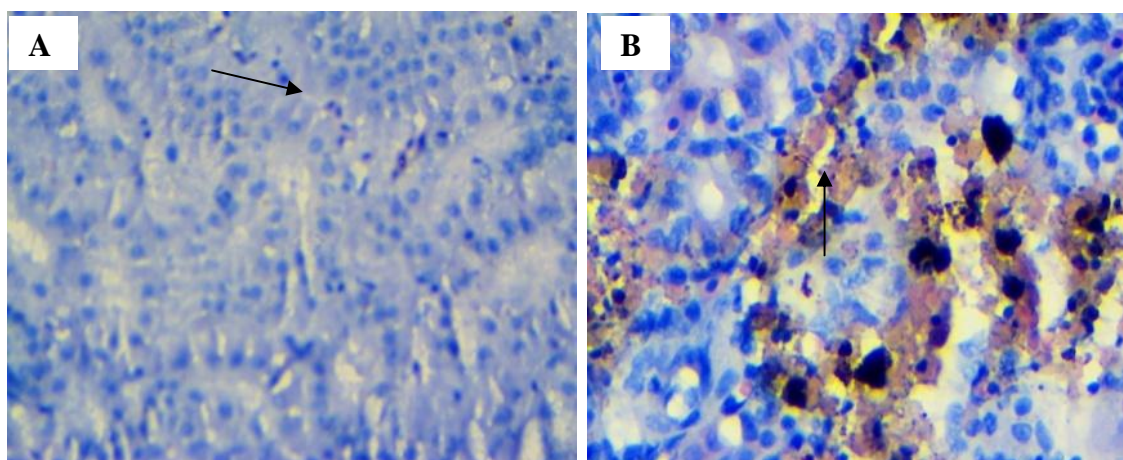
- : indique que l'altération n'a pas été observée ; CMM : signifie centre mélanomacrophagiques ; le facteur d'importance de chaque altération est noté entre parenthèses

#### 6.2.4. Histologie du rein

Au moins une altération est identifiée dans le rein de tous les individus prélevés dans la retenue d'eau de Batran alors qu'à Songhaï 33,33% des individus ne présentent aucune altération.

##### 6.2.4.1. Quelques micrographies des altérations

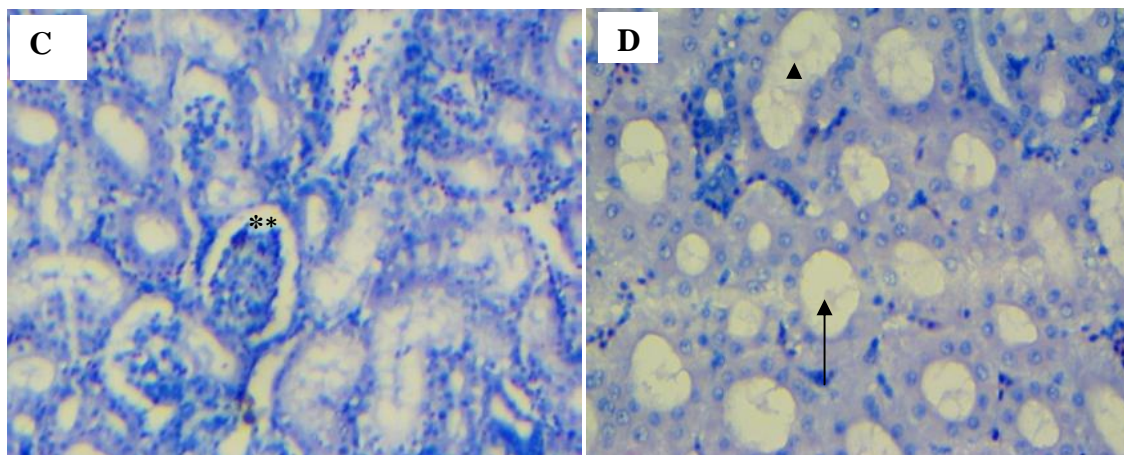
Les altérations identifiées dans le rein ont été micrographiées (Figure 23).



**Figure 23 : Micrographies (40x, HE) du rein d'*Oreochromis niloticus***



(A) : Structure normale avec de nombreux tubules rénaux (flèche) (B) : CMM (flèche)



**Figure 23 (suite et fin) :** (C) : Dilatation de l'espace de Bowman (2 astérisques) (D) : vacuolisation des tubules (tête de flèche) et des glomérules (flèche)

#### 6.2.4.2. Prévalences (%) des altérations

Au total, six (6) altérations régressives sont identifiées dans le rein d'*Oreochromis niloticus* prélevé dans la retenue d'eau de Batran alors que quatre (4) altérations régressives sont identifiées à Songhaï (Tableau VIII). Les poissons mâles portent le nombre le plus élevé d'altérations quelle que soit la retenue. La vacuolisation des tubules rénaux est l'altération présente à a fois chez tous les individus prélevés dans les deux retenues d'eau.

**Tableau VIII :** Prévalences (%) des altérations dans le rein d'*Oreochromis niloticus*

Altérations dans le rein	Retenue d'eau de Songhaï		Retenue d'eau de Batran	
<b>Changements régressifs (%)</b>				
Dilatation de l'espace de Bowman (1)	33,33	-	33,33	33,33
Vacuolisation des glomérules(1)	66,66	-	33,33	-
CMM (1)	-	33,33	100	66,66
Nécrose du néphron (3)	-	-	66,66	-

**Tableau VIII (suite et fin) :** Prévalences (%) des altérations dans le rein d'*Oreochromis niloticus*

Vacuolisation des tubules rénaux (1)	33,33	33,33	66,66	100
Nécrose du tissu lymphoïde (3)	-	-	66,66	-

- : indique que l'altération n'a pas été observée ; CMM : signifie centre mélanomacrophagiques ; le facteur d'importance de chaque altération est noté entre parenthèses

### 6.2.5. Indices moyens (I) obtenus après analyse semi-quantitative

Les résultats issus de l'analyse semi-quantitative sont présentés par sexe (Tableau IX). Pour tous les organes, les classes d'altération obtenues à Batran sont majoritairement supérieures à celles trouvées à Songhaï. Le foie et le testicule sont les organes d'*Oreochromis niloticus* sévèrement altérés par la pollution de la retenue d'eau de Batran. En considérant les indices totaux, la santé générale des poissons de la retenue d'eau Batran est dangereusement plus affectée comparativement à ceux de la retenue d'eau de Songhaï. De même les poissons mâles sont les plus affectés comparativement aux poissons femelles.

**Tableau IX :** Valeurs moyennes des indices des organes et de l'indice total

Retenue d'eau	I <sub>foie</sub>	I <sub>rein</sub>	I <sub>testicule</sub>	I <sub>ovaire</sub>	I <sub>total</sub>			
Songhaï	12 ± 0,00	9 ± 6,9	6,67 ± 1,3	7 ± 1,0	12 ± 0,01	14 ± 0,00	30, 67	30
	Classe 2	Classe 1	Classe 1	Classe 1	Classe 2	Classe 2	a**	a**
Batran	26,33 ± 6,77	36 ± 8,0	10 ± 5,0	5 ± 0,0	47,7 ± 13,0	25 ± 6,0	84, 03	66
	Classe 3	Classe 4	Classe 2	Classe 1	Classe 4	Classe 2	a*	b*

Pour les indices totaux, sur la même ligne, les valeurs portant la même lettre ne sont pas statistiquement différentes ; sur la même colonne, les valeurs portant le même nombre d'astérisque ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%. et signifient respectivement le sexe mâle et le sexe femelle.

### 6.3. Analyse de l'état physiologique des poissons

#### 6.3.1. Indices biométriques des juvéniles d'*Oreochromis niloticus* achetés et empoissonnés dans les infrastructures

Au niveau des juvéniles empoissonnés, les valeurs moyennes des indices biométriques sont plus élevées chez les femelles à l'exception du K mais aucune différence significative n'est à signaler entre les deux sexes ( $p > 0,05$ ) (Tableau X).

**Tableau X :** Valeurs moyennes des indices biométriques chez les juvéniles d'*Oreochromis niloticus* achetés

Sexe	Indices biométriques		
	IGS (%)	IHS (%)	K (%)
Mâle	$1,67 \pm 0,57^a$	$1,18 \pm 0,17^a$	$1,35 \pm 0,04^a$
Femelle	$1,92 \pm 0,56^A$	$1,24 \pm 0,16^A$	$1,3 \pm 0,05^A$

La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

#### 6.3.2. Indices biométriques des poissons prélevés en eau libre

##### 6.3.2.1. Prélèvement de juin

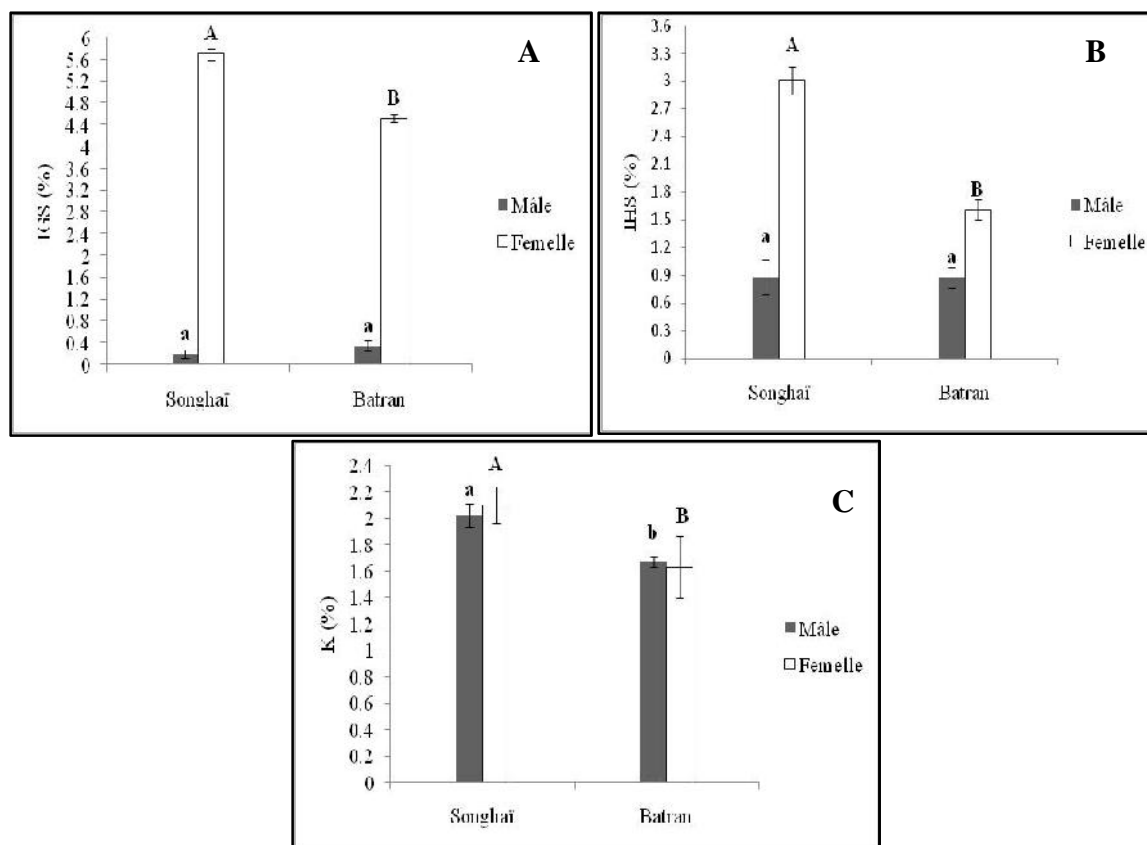
###### ► Mâles

Aucune différence significative n'est à signaler entre les poissons de la retenue d'eau de Batran et ceux de Songhaï pour les valeurs moyennes de l'IGS et de l'IHS (Figure 24 A et B). Alors que la valeur moyenne de K à Songhaï ( $2,02 \pm 0,09\%$ ) est significativement plus élevée ( $p < 0,05$ ) à celle obtenue à Batran ( $1,67 \pm 0,04\%$ ) (Figure 24 C).

###### ► Femelles

Les valeurs moyennes de l'IGS ( $5,7 \pm 0,10\%$ ), de l'IHS ( $3,01 \pm 0,15\%$ ) et de K ( $2,1 \pm 0,14\%$ ) sont significativement ( $p < 0,05$ ) plus élevées à Songhaï (retenue d'eau de référence) comparativement à la retenue d'eau de Batran (milieu plus pollué) (Figure 24 A, B et C).

*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre dans la retenue d'eau de Songhaï présente de meilleures caractéristiques morpho-physiologiques que celui prélevé en eau libre de la retenue d'eau de Batran.



La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

**Figure 24 :** Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres morpho-physiologiques d'*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre en juin

### 6.3.2.2. Prélèvement d'août

#### ► Mâles

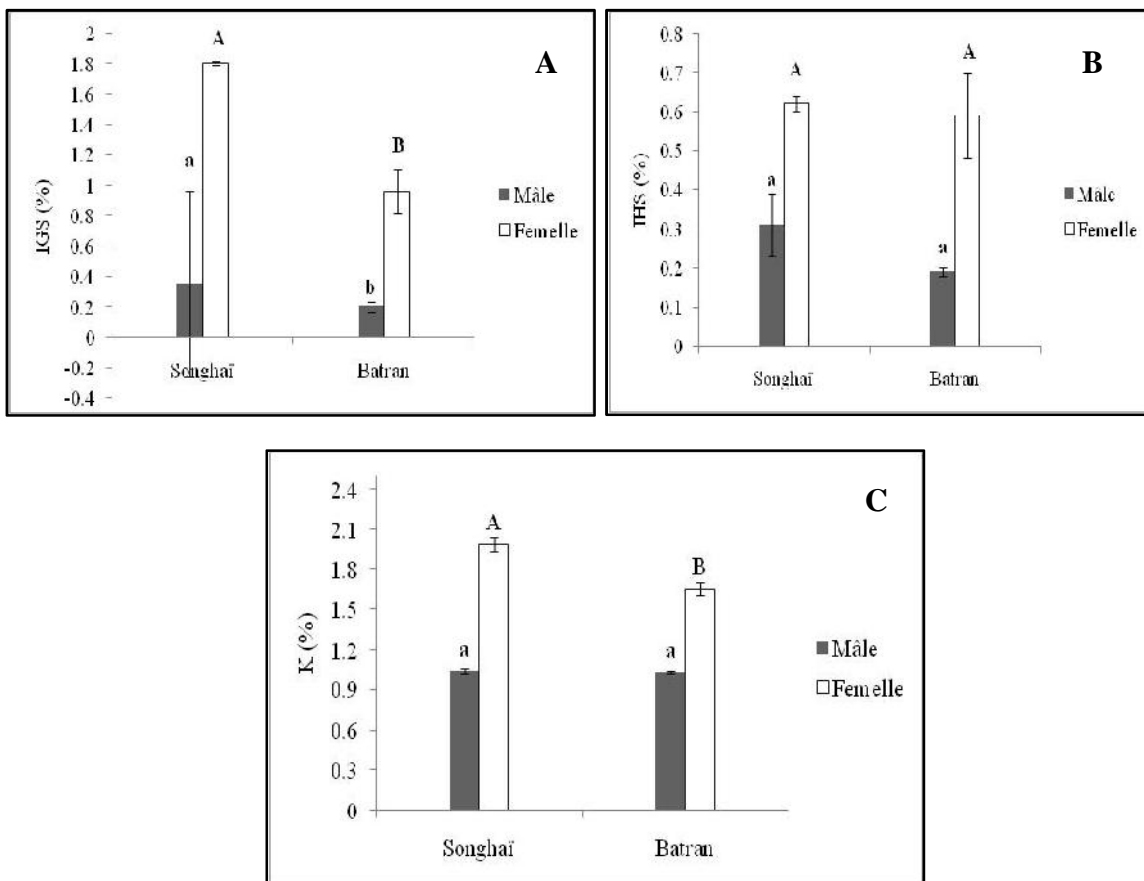
Les valeurs moyennes  $0,35 \pm 0,61\%$  ;  $0,31 \pm 0,08\%$  et  $1,04 \pm 0,02\%$  correspondant aux indices IGS, IHS et K calculés pour les poissons pris dans la retenue de Songhaï sont respectivement supérieures à celles trouvées ( $0,27 \pm 0,03\%$  ;  $0,19 \pm 0,01\%$  et  $1,03 \pm 0,01\%$ ) pour les poissons de la retenue d'eau de Batran (Figure 25 A, B et C). La différence est significative entre les deux retenues seulement pour l'IGS ( $p < 0,05$ ).



► Femelles

Les valeurs moyennes des trois indices biométriques calculés (IGS, IHS et K) sont également plus faibles ( $0,96 \pm 0,15\%$  ;  $0,59 \pm 0,11\%$  ;  $1,66 \pm 0,05\%$ ) chez les poissons pris dans la retenue d'eau de Batran comparativement à la retenue de référence ( $1,80 \pm 0,01\%$  ;  $0,62 \pm 0,02\%$  ;  $1,99 \pm 0,05\%$ ) (Figure 25 A, B et C). Pour les valeurs de l'IGS et de K, les différences sont significatives ( $p < 0,05$ ).

La pollution de la retenue d'eau de Batran par les pesticides agricoles diminue les indices biométriques d'*Oreochromis niloticus*.



La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

**Figure 25 :** Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres morpho-physiologiques d'*Oreochromis niloticus* prélevé en eau libre en août

### 6.3.2.3. Comparaison des indices biométriques entre les poissons du prélèvement de juin et ceux d'août

Dans la retenue d'eau de Songhaï, hormis l'IHS chez les mâles et l'IGS chez les femelles, il n'y a pas de différence significative entre les indices biométriques des poissons prélevés en juin et ceux en août ( $p > 0,05$ ). En ce qui concerne la retenue d'eau de Batran les valeurs des indices biométriques en juin sont significativement plus élevées aux valeurs en août ( $p < 0,05$ ) avec seulement deux exceptions.

### 6.3.3. Indices biométriques des poissons prélevés dans les enclos et happas installés dans les retenues d'eau

#### 6.3.3.1. Comparaison des indices biométriques entre enclos et happas de la retenue d'eau de Songhaï, milieu de référence

##### ► Mâles

Les valeurs moyennes de l'IGS, l'IHS et K obtenues dans les happas sont supérieures mais sans différence significative ( $p > 0,05$ ) aux valeurs obtenues dans les enclos (Tableau XI).

##### ► Femelles

Les valeurs moyennes de l'IGS et de l'IHS en happas sont significativement supérieures ( $p < 0,05$ ) à celles obtenues en enclos (Tableau XI). Alors que le K moyen est plus faible en happas ( $p > 0,05$ ) comparativement aux enclos (Tableau XI).

**Tableau XI :** Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos et en happas de la retenue d'eau de Songhaï

Infrastructures	Sexe	Indices biométriques		
		IGS (%)	IHS (%)	K (%)
Enclos	Mâle	0,63 ± 0,05 <sup>a</sup>	2,94 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,05 <sup>a</sup>
	Femelle	1,86 ± 0,05 <sup>A</sup>	1,77 ± 0,08 <sup>A</sup>	2,76 ± 0,02 <sup>A</sup>
Happas	Mâle	0,74 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,98 ± 0,1 <sup>a</sup>
	Femelle	4,1 ± 0,01 <sup>B</sup>	2,9 ± 0,06 <sup>B</sup>	2,44 ± 0,04 <sup>A</sup>

La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

*Oreochromis niloticus* élevé en happas dans la retenue d'eau de Songhaï présente des valeurs d'indices biométriques plus élevées comparativement à celui des enclos.

### 6.3.3.2. Comparaison des indices biométriques entre enclos et happas de la retenue d'eau de Batran, milieu le plus pollué par les pesticides

#### ► Mâles

Les valeurs moyennes de l'IGS et de l'IHS obtenues dans les happas sont supérieures mais sans différence significative ( $p > 0,05$ ) aux valeurs obtenues dans les enclos (Tableau XII). Sans une différence significative, l'indice de condition K est plus élevé en enclos qu'en happas (Tableau XII).

#### ► Femelles

La valeur moyenne de l'IGS en happas est significativement supérieure ( $p < 0,05$ ) à celle obtenue en enclos (Tableau XII). Entre enclos et happas, il n'y a pas de différence significative pour les valeurs moyennes de l'IHS et de K ( $p > 0,05$ ) même si les valeurs sont relativement plus élevées en happas (Tableau XII).

**Tableau XII** : Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos et en happas de la retenue d'eau de Batran

		Indices biométriques		
		IGS (%)	IHS (%)	K (%)
Infrastructures	Sexe			
Enclos	Mâle	0,62 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,61 ± 0,21 <sup>a</sup>	1,86 ± 0,04 <sup>a</sup>
	Femelle	2,29 ± 0,61 <sup>A</sup>	2,53 ± 0,22 <sup>A</sup>	1,99 ± 0,04 <sup>A</sup>
Happas	Mâle	0,63 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,05 <sup>a</sup>
	Femelle	4,25 ± 0,33 <sup>B</sup>	2,67 ± 0,2 <sup>A</sup>	1,98 ± 0,02 <sup>A</sup>

La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Dans la retenue d'eau de Batran, les happas minimisent la réduction des indices biométriques chez *Oreochromis niloticus*.

### 6.3.3.3. Comparaison des indices biométriques par infrastructure entre les deux retenues d'eau

#### 6.3.3.3.1. Enclos

##### ► Mâles

Les valeurs moyennes de l'IGS et de l'IHS obtenues en enclos dans la retenue d'eau témoin sont supérieures mais sans différence significative ( $p > 0,05$ ) aux valeurs obtenues en enclos dans la retenue d'eau la plus polluée (Tableau XIII). En ce qui concerne l'indice de condition K, sans différence significative ( $p > 0,05$ ), la valeur obtenue à Batran est supérieure à celle de la retenue d'eau de Songhaï (Tableau XIII).

##### ► Femelles

La valeur moyenne de l'IGS obtenue dans la retenue d'eau de Batran est supérieure à celle obtenue dans la retenue d'eau de Songhaï; la même observation est faite pour l'IHS ( $p < 0,05$ ) (Tableau XIII). Quant à la valeur moyenne de K, elle est significativement plus élevée dans la retenue d'eau de Songhaï comparativement à la retenue d'eau de Batran ( $p < 0,05$ ) (Tableau XIII).

**Tableau XIII :** Valeurs moyennes des indices biométriques en enclos dans la retenue d'eau de Songhaï et dans celle de Batran

Infrastructures	Sexe	Indices biométriques		
		IGS (%)	IHS (%)	K (%)
Songhaï	Mâle	$0,63 \pm 0,05^a$	$2,94 \pm 0,2^a$	$1,79 \pm 0,05^a$
	Femelle	$1,86 \pm 0,05^A$	$1,77 \pm 0,08^A$	$2,76 \pm 0,02^A$
Batran	Mâle	$0,62 \pm 0,11^a$	$2,6 \pm 0,21^a$	$1,86 \pm 0,04^a$
	Femelle	$2,29 \pm 0,61^B$	$2,53 \pm 0,22^B$	$1,99 \pm 0,04^B$

La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

Il est possible de dire qu'*Oreochromis niloticus* élevé en enclos dans la retenue d'eau de Songhaï présente des indices biométriques relativement plus bons que celui élevé en enclos à Batran.

#### **6.3.3.3.2. Happas**

##### **► Mâles**

Les valeurs moyennes de l'IGS et de K obtenues en happas dans la retenue d'eau de Songhaï sont supérieures mais sans différence significative ( $p > 0,05$ ) aux valeurs obtenues en happas dans la retenue d'eau de Batran (Tableau XIV). En ce qui concerne l'IHS, sans différence significative ( $p > 0,05$ ), la valeur obtenue à Batran est supérieure à celle de la retenue d'eau de Songhaï (Tableau XIV).

##### **► Femelles**

Sans différence significative ( $p > 0,05$ ), la valeur moyenne de l'IGS obtenue dans la retenue d'eau de Songhaï est faible comparativement à celle obtenue dans la retenue d'eau de Batran (Tableau XIV). La différence n'est également pas significative ( $p > 0,05$ ) entre la valeur moyenne de l'IHS obtenue dans la retenue d'eau de Songhaï et celle obtenue dans la retenue d'eau de (Tableau XIV). Quant à la valeur moyenne de K, elle est significativement ( $p < 0,05$ ) plus élevée dans la retenue d'eau de Songhaï comparativement à la retenue d'eau de Batran (Tableau XIV).

**Tableau XIV** : Valeurs moyennes des indices biométriques en happas dans la retenue d'eau de Songhaï et dans celle de Batran

		Indices biométriques		
		IGS (%)	IHS (%)	K (%)
Songhaï	Mâle	0,74 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,96 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,98 ± 0,1 <sup>a</sup>
	Femelle	4,1 ± 0,01 <sup>A</sup>	2,9 ± 0,06 <sup>A</sup>	2,44 ± 0,04 <sup>A</sup>
Batran	Mâle	0,63 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,81 ± 0,05 <sup>a</sup>
	Femelle	4,25 ± 0,33 <sup>A</sup>	2,67 ± 0,2 <sup>A</sup>	1,98 ± 0,02 <sup>B</sup>

La lettre minuscule est pour le mâle et celle majuscule est pour la femelle. Pour chaque sexe, les valeurs portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%.

*Oreochromis niloticus* élevé en happas dans la retenue d'eau de Songhaï présente des indices biométriques plus bons que celui élevé en enclos à Batran.

#### 6.3.4. Paramètres de croissance des poissons élevés en enclos et en happas installés dans les retenues d'eau

Quelle que soit la retenue d'eau, le gain de poids moyen et le gain moyen quotidien individuel sont significativement plus élevés en happas comparativement aux enclos ( $p < 0,05$ ) (Tableau XV). Les taux de croissance spécifique entre enclos et happas dans une même retenue d'eau ne sont pas statistiquement différents ( $p > 0,05$ ) (Tableau XV). Indépendamment de l'infrastructure, les valeurs des paramètres de croissance sont plus élevées chez *Oreochromis niloticus* élevé dans la retenue d'eau de Songhaï (Tableau XV). A l'exception du TCS calculé en enclos, les différences entre les deux retenues d'eau pour tous les paramètres de croissance sont significatives ( $p < 0,05$ ) (Tableau XV).

**Tableau XV** : Influence de la pollution de la retenue d'eau de Batran sur les paramètres de croissance d'*Oreochromis niloticus* élevé en enclos et en happas

Paramètres de croissance	Retenues d'eau	
	Batran	Songhaï
	<b>Enclos</b>	
GP (g)	67,67 ± 1,3 <sup>a*</sup>	76,91 ± 1,7 <sup>b*</sup>
GMQ (g/jour)	1,38 ± 0,2 <sup>a*</sup>	1,57 ± 0,24 <sup>b*</sup>
TCS (%P/jour)	3,79 ± 0,9 <sup>a*</sup>	4,01 ± 0,8 <sup>a*</sup>
	<b>Happas</b>	
GP (g)	59,32 ± 1,1 <sup>a**</sup>	84,14 ± 0,95 <sup>b**</sup>
GMQ (g/jour)	1,21 ± 0,3 <sup>a**</sup>	1,72 ± 0,25 <sup>b**</sup>
TCS (%P/jour)	3,56 ± 0,99 <sup>a*</sup>	4,17 ± 0,88 <sup>b*</sup>

Par infrastructure, pour la comparaison de chaque paramètre entre retenues d'eau les valeurs portant les lettres différentes ne sont statistiquement différentes au seuil de 5 %. Dans une même retenue d'eau, pour la comparaison de chaque paramètre entre enclos et happas, les valeurs portant le même nombre d'astérisque ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5%.

## Chapitre 7 : Discussion

Dans le présent travail, nous avons analysé les structures histologiques des gonades, du foie, du rein et l'état physiologique du tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* exposé aux pesticides agricoles dans les retenues d'eau du Nord-Bénin. Cette étude est la première à utiliser l'approche expérimentations in situ en écotoxicologie aquatique au Nord-Bénin. Les résultats constituent donc des informations de base pour de futures évaluations de l'état de santé des poissons dans des écosystèmes aquatiques pollués au Bénin.

### 7.1. Température et pH de l'eau des retenues d'eau

Les niveaux de température et du pH de l'eau jouent un rôle important dans l'hydrolyse des pesticides et dans l'expression de leur toxicité sur les organismes aquatiques (Uddin *et al.*, 2012 ; Uddin *et al.*, 2016). Par exemple la lambda-cyhalothrine reste relativement stable dans l'eau à pH < 8 (He *et al.*, 2008). Pendant la période de notre étude, les valeurs moyennes du pH et de la température dans les deux retenues d'eau sont presque identiques. Ces valeurs sont dans les normes tolérées par les espèces tropicales d'eau douce (Lacroix, 2004). Elles sont également proches de celles mesurées par Imorou Toko *et al.* (2011a) dans les retenues d'eau de la commune de Banikoara et des valeurs trouvées par Chabi *et al.* (2012) dans les retenues d'eau du département du Borgou (Tchaourou, Nikki, Péréré, N'Dali et Parakou) au Nord-Bénin.

### 7.2. Histologie des organes et état physiologique des poissons

Dans des études en milieu naturel où un mélange complexe de polluants est présent, l'attribution des effets biologiques à des causes spécifiques est délicate mais les effets recensés par cette étude dans la retenue d'eau de Batran sont dus aux pesticides agricoles. En effet, plusieurs études antérieures (Adam *et al.*, 2010 ; Imorou Toko *et al.*, 2011a ; Agbohessi, 2014 ; Adechian *et al.*, 2015) ont montré que les pesticides sont les polluants majoritaires des retenues d'eau des communes du bassin cotonnier précisément de la commune de Banikoara, première commune consommatrice des pesticides au Bénin. Sur le terrain nous avons également pu constater qu'aucune autre source potentielle de pollution des retenues d'eau du bassin cotonnier outre les pesticides agricoles n'existe à l'état actuel où la zone est à dominance agricole et les superficies cultivées sont très proches des retenues d'eau. Dans un passé récent, Chabi *et al.* (2012) avaient déjà trouvé en deçà des valeurs alarmantes, les taux



de nitrates et de phosphates dans les retenues d'eau du département du Borgou au Nord-Bénin. Ainsi, aucun signe physique d'eutrophisation n'a été constaté. De même, lors de nos prélèvements, aucun signe macroscopique d'attaque parasitaire n'a été détecté sur les poissons malgré qu'il est établi que la pollution par les pesticides peut être cause favorisante du parasitisme en affaiblissant le système immunitaire des poissons (Bucke, 1997).

### 7.2.1. Histologie des organes

L'histologie des organes fournit des informations sur l'intégrité biologique des organes et reflète précocement le statut physiologique du poisson vivant dans un écosystème pollué (Van Dyk *et al.*, 2012). Elle s'utilise dans l'évaluation de l'état de santé des poissons exposés aux contaminants aussi bien au laboratoire qu'en milieu naturel (Mooney, 2012 ; Marchand *et al.*, 2012 ; Van Dyk *et al.*, 2012 ; Coulibaly *et al.*, 2014 ; Agbohessi *et al.*, 2015a et 2015b). Ainsi plusieurs études antérieures ont montré en conditions de laboratoire la présence d'altérations dans les organes ainsi que la perturbation du système endocrinien chez *Clarias gariepinus* et *Oreochromis niloticus* exposés à certains pesticides utilisés dans le bassin cotonnier béninois (Agbohessi *et al.*, 2015a et 2015b ; Oreins, 2016 ; Francois, 2016). Dans les retenues d'eau du bassin cotonnier béninois, aucune étude n'a été portée sur *Oreochromis niloticus*. Alors notre étude a révélé plusieurs perturbations de la physiologie des organes d'*Oreochromis niloticus* prélevé dans les retenues d'eau du Nord-Bénin. Ces altérations sont similaires à celles causées aux poissons en conditions de laboratoire par certains pesticides utilisés en cotonculture béninoise.

#### 7.2.1.1. Stades de développement des gamètes

Nous avons trouvé tous les six stades de développement dans les gonades des individus échantillonnés, ceci s'explique par le fait qu'*Oreochromis niloticus* se reproduit continuellement et de façon intense en période pluvieuse (Ruwet *et al.*, 1976). La présence d'un mélange complexe de pesticides dans la retenue d'eau de Batran retarde la maturation des ovocytes et accélère celle des spermatozoïdes. L'effet cocktail des pesticides à Batran semble donc être androgénique. C'est -à -dire que les pesticides augmenteraient la production des androgènes notamment la 11-ketotestosterone qui est l'hormone mâle la plus représentée et diminueraient celle des œstrogènes (la 17-beta-œstradiol). D'autant plus que ces deux hormones sont produites à partir de la testostérone, la production accélérée de la 11-ketotestosterone serait liée à une inhibition de l'aromatase, enzyme de conversion de la

testostérone en 17-beta-œstradiol. Des dosages des stéroïdes sexuels nous auraient permis de mieux expliquer cet effet cocktail qui se manifeste déjà par la rareté des femelles dans les captures provenant de la retenue d'eau de Batran. L'effet androgénique observé est contraire à l'effet œstrogénique rapporté pour la plupart des pesticides testés seuls en conditions de laboratoire. Par exemple, les essais de Oreins (2016) avec *Oreochromis niloticus* ; de Agbohessi *et al.* (2015b) avec *Clarias gariepinus* ont respectivement démontré que l'insecticide Acer; le tihan et l'endosulfan ont un effet œstrogénique. De même Agbohessi *et al.* (2015a) ont également signalé un effet œstrogénique et la présence d'ovotestis chez les mâles de *Clarias gariepinus* et de *Tilapia guineensis* prélevés entre 2010 et 2012 en eau libre à différents sites choisis dans la rivière Alibori. Aucun ovotestis n'a été détecté dans ce travail, ceci pourrait être lié à l'absence d'effet œstrogénique. Les changements de pesticides et des matières actives entre 2012 et 2016 ont donc induit un effet contraire à celui observé par Agbohessi *et al.* (2015a).

#### **7.2.1.2. Altérations dans les gonades**

Les altérations identifiées dans l'ovaire sont similaires à celles signalées par Oreins (2016) exposant *Oreochromis niloticus* à l'Acer 35 EC. Agbohessi *et al.* (2015a) ont signalé la nécrose ou la mort cellulaire, la fibrose traduisant le processus de cicatrisation des cellules endommagées, l'augmentation des centres mélano-macrophagiques, l'augmentation des ovocytes atrétiques pré-ovulatoires chez *Tilapia guineensis* et *Clarias gariepinus* exposés aux pesticides. Aussi, le pesticide tihan engendre chez *Clarias gariepinus* la plupart des altérations recensées dans cette étude (Agbohessi *et al.*, 2015b) ; de même que la delthamétrine chez *Oreochromis niloticus* (Bayar *et al.*, 2014). L'atrésie folliculaire pré-ovulatoire est un processus de dégénérescence par lequel l'ovocyte perd son intégrité et est éliminé avant l'ovulation (Janz, 2000). Dans cette étude, cette altération a exclusivement été identifiée chez les poissons prélevés à Batran, ce qui peut être une cause déterminante d'une baisse du succès reproducteur des poissons de cet écosystème aquatique.

Dans le testicule, les altérations identifiées ont été déjà signalées par Agbohessi *et al.* (2015a) chez *Tilapia guineensis* et *Clarias gariepinus* prélevés dans la rivière Alibori. De même le tihan et la delthamétrine ont engendré des altérations similaires dans les testicules de *Clarias gariepinus* (Agbohessi *et al.*, 2015b) et d'*Oreochromis niloticus* (Bayar *et al.*, 2014). Chez le

mâle, l'altération des cellules testiculaires peut engendrer une perturbation de la production des hormones et donner un sperme de mauvaise qualité (Maynard *et al.*, 1953).

### 7.2.1.3. Altérations dans le rein et le foie

Dans le rein, la plupart des altérations identifiées ont été déjà retrouvées chez *Oreochromis niloticus* exposé à l'herbicide aminophosphaté glyphosate (Jiraungkoorskul *et al.*, 2002) et à l'insecticide Acer 35 (Francois, 2016). Le rein se révèle comme l'organe le moins affecté, de tel résultat est reporté par Francois (2016) qui a étudié l'effet de l'exposition chronique d'*Oreochromis niloticus* à des concentrations de 1% et de 10% de la concentration létale de l'insecticide Acer. La dilation de l'espace de Bowman est fréquente dans le rein des poissons examinés, cette altération endommage le processus de filtration glomérulaire, activité capitale de la fonction excrétrice du rein.

Concernant le foie, la dilation des sinusoides a été déjà rapportée chez *Oreochromis niloticus* exposé à la lambda-cyhalothrine (Muthukumaravel *et al.*, 2013). De même, Ayoola (2008b) a rapporté la nécrose ou la mort cellulaire des hépatocytes chez *Clarias gariepinus* exposé au glyphosate. La stéatose reflétant une perturbation du métabolisme lipidique, la congestion des sinusoides et l'augmentation des centres mélano-macrophagiques ont été signalées par Francois (2016). Agbohessi *et al.* (2015 a) ont également rapporté une augmentation des centres mélano-macrophagiques dans le foie de *Clarias gariepinus* et de *Tilapia guineensis* prélevés en eau libre dans les eaux de la rivière Alibori. Aussi, Coimbra *et al.* (2007) ont révélé que l'endosulfan augmente significativement les centres mélano-macrophagiques chez *Oreochromis niloticus*. La présence des centres mélano-macrophagiques est une caractéristique normale dans les tissus des poissons (Leknes 2004) mais une augmentation de la taille et du nombre de ces structures peut être liée à la présence des polluants (Agius et Roberts, 2003). Quant à l'infiltration des leucocytes ou globules blancs observée dans le foie, elle traduit l'activité phagocytaire visant l'élimination des cellules mortes après action du polluant.

Nous avons trouvé dans cette étude qu'*Oreochromis niloticus* mâle est plus affecté que la femelle. De telle observation a été faite par Agbohessi *et al.* (2015 a) chez *Tilapia guineensis*. Des études ayant trait aux biomarqueurs de susceptibilité pourraient mieux nous élucider sur cette différence de sensibilité. Les altérations ont été retrouvées aussi bien chez le poisson de

la retenue d'eau de Songhaï que celui de la retenue d'eau de Batran. Toutefois, considérant leur dangerosité et leur prévalence, les altérations obtenues à Songhaï sont d'une importance faible comparativement à Batran. Par exemple, l'atrésie folliculaire pré-ovulatoire, la présence des cellules immatures dans la lumière lobulaire, la nécrose du tissu hépatique, les nécroses du néphron et du tissu lymphoïde sont des altérations graves seulement présentes chez les poissons prélevés dans la retenue d'eau de Batran. Ce qui explique le fait que l'état de santé générale des poissons de Batran soit dangereusement plus affecté que celui des poissons pris à Songhaï. Les altérations régressives sont dominantes dans tous les organes. Ce qui peut conduire à la suppression et à l'inhibition des fonctions physiologiques de ces organes (Marchand, 2009 ; Marchand *et al*, 2012). Ainsi, la présence en surnombre des centres mélano-macrophagiques dans le foie diminue la synthèse des enzymes car les centres macrophagiques remplacent les cellules du parenchyme hépatique productrices d'enzymes de détoxification (Pacheco et Santos, 2002).

### **7.2.2. Caractéristiques morpho-physiologiques des juvéniles empoisonnés et des poissons prélevés en eau libre**

Les indices biométriques liés à plusieurs fonctions physiologiques sont des biomarqueurs ayant l'avantage d'être simples et relativement rapides à mesurer mais présentent une forte variabilité d'origine environnementale et/ou intrinsèque (Webb et Gagnon, 2002). Ces indices constituent des indicateurs très informatifs sur les effets des polluants surtout lorsqu'ils sont associés à d'autres biomarqueurs (Adams *et al.*, 1999). Dans ce travail, nous avons utilisé complémentirement l'histologie des organes, les paramètres de croissance et les indices biométriques et les résultats obtenus convergent vers une négativité des effets des pesticides agricoles sur les poissons des retenues d'eau du bassin cotonnier béninois. Pour l'indice de condition (K), l'indice gonado-somatique (IGS) et l'indice hépato-somatique (IHS), il n'y a pas d'intervalles de valeurs dites normales en écotoxicologie (Mooney, 2012). Ainsi, il faut comparer les résultats entre milieu le plus pollué et celui de référence.

#### **7.2.2.1. Indices biométriques chez les juvéniles empoisonnés**

Chez les poissons empoisonnés dans les infrastructures, les valeurs des indices biométriques sont plus élevées chez les individus femelles. Mais la différence n'est pas significative. Ceci est lié au fait que les poissons sont encore des juvéniles petits chez qui, certains processus physiologiques ne sont pas encore très différenciés puisque pour tous les autres poissons

prélevés à un âge avancé, quelle que soit la retenue, cette supériorité est prononcée et nettement significative pour la plupart des indices. Une telle observation avait été faite par Agbohessi *et al.* (2015a) pour l'IHS chez *Tilapia guineensis* et pour le K, l'IGS chez *Clarias gariepinus* exposés à l'endosulfan et au tihan en conditions expérimentales. Cette différence peut être liée à une accumulation de l'eau dans les tissus des femelles augmentant ainsi leur masse; un dosage de l'eau tissulaire nous pourrait mieux élucider.

### **7.2.2.2. Indices biométriques chez les poissons prélevés en eau libre**

Les valeurs de la majorité des indices biométriques d'*Oreochromis niloticus* prélevé en août sont plus faibles comparativement au mois de juin dans la retenue d'eau de Batran. Cela s'explique par le fait qu'en plus des herbicides utilisés en juin au moment du semis du coton, plusieurs applications d'insecticides (2 à 4 applications) ont été faites en août. Nous avons pu constater sur le terrain que sous l'action de la pluie qui peut même avoir lieu juste après le traitement, les molécules appliquées ruissellent directement vers la retenue d'eau, augmentant ainsi les risques de dommages aux organismes.

#### **7.2.2.2.1. Indice gonado-somatique**

Les valeurs moyennes de l'IGS du milieu le plus pollué sont faibles à celles du milieu de référence. De tel résultat a été déjà rapporté par Farooq *et al.* (2004) chez *Cyprinus carpio* exposé au pesticide organophosphoré dichlorvos ; chez *Gambusia affinis* exposé à un insecticide agricole, le diflubenziron (Beldi, 2007) ; chez *Gambusia affinis* exposé à un néonicotinoïde, l'actara (Belhamra, 2012) ; chez *Oreochromis mossambicus* (Sadekarpawar et Parikh, 2013) ; chez *Tilapia guineensis* pris dans la rivière Alibori (Agbohessi *et al.*, 2015 a) et chez *Clarias gariepinus* exposé au tihan et à l'endosulfan (Agbohessi *et al.*, 2015 b). Cette diminution de l'indice gonado-somatique s'explique par la présence des altérations régressives dans les gonades et la diminution des réserves vitellogéniques comme l'ont montré Agbohessi *et al.* (2015a et 2015b) et Oreins (2016). D'ailleurs, Beldi (2007) avait déjà établi une corrélation positive entre les réserves vitellogéniques de l'ovaire et l'indice gonado-somatique femelle. De même, Mills *et al.* (2001) ont rapporté que les altérations régressent les gonades des poissons et diminuent leur poids. Cette diminution de l'indice gonado somatique s'explique également par l'effet androgénique qui augmente la présence des petites cellules (spermatozoïdes) chez les mâles et chez les femelles (ovocytes en phase péri-nucléolaire).

#### 7.2.2.2.2. Indice hépato-somatique

L'indice hépato-somatique est utilisé dans plusieurs études reliées au stress. A l'exception des mâles prélevés en juin 2016 chez qui, il y a une égalité des valeurs, les autres valeurs de l'IHS des poissons prélevés dans la retenue d'eau de Batran sont faibles par rapport aux poissons de la retenue d'eau de référence. La diminution de l'IHS témoigne d'une atteinte du foie des poissons par les pesticides car la majorité des pesticides appliqués par les cotonculteurs présente un coefficient de partition octanol-eau (Kow) élevé, ce qui suggère leur haut potentiel de bioconcentration dans les tissus riches en lipides comme le foie (Soderlund *et al.*, 2002). En effet le foie intervient dans la détoxification et le métabolisme des xénobiotiques, une fois affaibli, il subit les actions négatives des polluants. Ainsi cette diminution de l'IHS est liée à une diminution de réserves glycogéniques (Roman et Dixon, 1996 ; Beldi, 2007) et à une forte présence d'altérations régressives dans le foie comme l'ont montré les micrographies histologiques. D'ailleurs, Jiraungkoorskul *et al.* (2002) exposant *Oreochromis niloticus* au glyphosate et Justin Raj et Baby (2015) exposant *Oreochromis mossambicus* à l'acétamipride avaient déjà signalé que les poissons utilisent leur réserve énergétique pour lutter contre le stress qui leur est causé par les pesticides. Plusieurs autres auteurs ont également rapporté une diminution de l'IHS après exposition des poissons aux pesticides (Beldi, 2007 ; Chouahda et Soltani, 2009 ; Belhamra, 2012 ; Sadekarpawar et Parikh, 2013). Contrairement à une diminution de l'IHS observée, Agbohessi *et al.* (2015 b) ont observé une augmentation de l'IHS chez *Clarias gariepinus* exposé au tihan en condition de laboratoire. Une telle augmentation de l'IHS s'explique par une augmentation du foie attribuable à l'hyperplasie et à l'hypertrophie des cellules hépatiques, une réponse adaptative augmentant l'activité des enzymes biotransformatrices et de détoxification du foie (Stephensen *et al.*, 2000).

#### 7.2.2.2.3. Indice de condition

L'indice de condition est un indice de l'état de santé du poisson et un indicateur de croissance (Dutta, 1994). Les pesticides agricoles ont diminué l'indice de condition K chez les poissons de la retenue d'eau de Batran. Une explication de cette diminution est que la présence des pesticides affecte négativement la prise alimentaire (Marchand *et al.*, 2009) et diminue les ressources alimentaires (plancton et macroinvertébrés benthiques) disponibles aux poissons. Même si le poisson se nourrit, l'énergie est utilisée pour activer les mécanismes de lutte contre les polluants au détriment de la croissance (Agbohessi *et al.*, 2015 b). Ce résultat est

semblable à ceux trouvés par Hanson *et al.* (2007) chez *Oreochromis niloticus* ; Agbohessi *et al.* (2015 b) chez *Clarias gariepinus* et (Beldi, 2007) chez *Gambusia affinis*. Notre résultat corrobore celui de Laflamme *et al.* (2000) qui stipule que l'indice de condition du poisson est négativement affecté avec la contamination environnementale.

### **7.2.3. Caractéristiques morpho-physiologiques et paramètres de croissance des poissons prélevés dans les infrastructures expérimentales**

#### **7.2.3.1. Indices biométriques**

Les résultats obtenus dans les infrastructures correspondent pour la plupart à des tendances comparativement aux poissons d'eau libre chez qui les différences sont significatives. Ceci pourrait être la conséquence de la durée d'exposition des poissons relativement courte (50 jours). En effet, en milieu naturel, les concentrations en pesticides sont relativement faibles et c'est la chronicité de l'exposition qui cause des dommages aux organismes (Camiré, 2007).

Indépendamment de la retenue d'eau et du sexe, les valeurs moyennes de l'IGS et de l'IHS sont, sans différence significative, faibles en enclos comparativement aux happas. Cette différence entre les réponses physiologiques des poissons élevés en enclos et ceux en happas est liée à la structure de ces infrastructures piscicoles. En effet, avec les happas, les poissons sont éloignés des sédiments et n'y ont pas d'accès alors qu'en enclos, ils peuvent avoir accès aux sédiments piégeant généralement les pesticides les plus toxiques aux organismes (Agbohessi, 2014). La plupart des insecticides et herbicides utilisés dans le bassin cotonnier ont un coefficient de partage carbone organique-eau (Koc) élevé (Agbohessi, 2014). Ce qui sous-tend leur grande affinité pour les sédiments, donc ont d'effets plus prononcés sur les organismes proches ou en contact des sédiments (Phillips *et al.*, 2010 ; Fojut *et al.*, 2012). La lambda-cyhalothrine (pyréthrianoïde) et l'acétamipride (néonicotinoïde), principales matières actives des pesticides du bassin cotonnier (Zoumenou *et al.*, 2015) se fixent aux sédiments et se dégradent moins vite que ceux dissous dans la colonne d'eau puisqu'ils sont moins accessibles à la dégradation solaire (Schwarzenbach *et al.*, 1993). En enclos, la proximité d'*Oreochromis niloticus* des sédiments explique donc sa forte sensibilité bien qu'il ne soit pas une espèce de fond.

Dans l'ensemble, la diminution des indices biométriques chez *Oreochromis niloticus* de la retenue d'eau de Batran est plus marquée en août suite à l'utilisation massive des herbicides et

insecticides coton par les agriculteurs. Pour le prélèvement d'août quelle que soit la retenue d'eau, les trois indices calculés chez les poissons en eau libre sont de grandeurs faibles que ceux des poissons en infrastructure infrastructures, ceci est lié au fait que ces derniers sont nourris avec un aliment qui aurait fourni de nutriments. Il est donc clair que l'exposition des poissons des retenues d'eau du bassin cotonnier aux pesticides agricoles affecte négativement leur statut physiologique.

### 7.2.3.2. Paramètres de croissance

Malgré que les poissons de la retenue d'eau de Batran aient été nourris en partie avec un aliment relativement plus riche en éléments nutritifs que celui utilisé à Songhaï, les poissons de la retenue d'eau de Songhaï présentent un gain de poids moyen (GP), une croissance individuelle journalière (GMQ) et un taux de croissance spécifique (TCS) significativement élevés par rapport à la retenue d'eau de Batran. La différence de croissance des poissons peut être expliquée par une diminution de l'ingéré volontaire et de l'efficacité d'utilisation des aliments induite par les pesticides (Agbohessi *et al.*, 2014). De même quelle que soit la retenue d'eau, les poissons en happas présentent significativement de meilleures performances de croissance par rapport aux poissons en enclos car seraient moins exposés. Le caractère faible des valeurs des paramètres de croissance en enclos est lié à la proximité des poissons aux sédiments à caractère très toxique. L'effet inhibiteur de la croissance d'*Oreochromis niloticus* par le pesticide Acer 35EC en application dans le bassin cotonnier béninois a été déjà signalé par Oreins (2016) en conditions de laboratoire. Dans le milieu de référence, les valeurs moyennes du GP, du GMQ et du TCS varient respectivement de  $76,91 \pm 1,7$  à  $84,14 \pm 0,95$  g ;  $1,57 \pm 0,24$  à  $1,72 \pm 0,25$  g/jour et  $4,01 \pm 0,8$  à  $4,17 \pm 0,88$  %P/jour. Ces résultats sont meilleurs par rapport à ceux obtenus par Iga-Iga (2008) qui a testé plusieurs régimes de fabrication locale chez *Oreochromis niloticus* maintenu en cages en milieu lagunaire. Cette différence serait liée au fait que l'espèce *Oreochromis niloticus* est une espèce d'eau douce et est donc moins stressée dans la retenue de Songhaï qui est une eau douce.

Bien que les pesticides agricoles permettent d'améliorer la qualité et la quantité des productions agricoles (Sabra et Mehana, 2015), les résultats de cette étude montrent qu'ils affectent négativement les organes et l'état physiologique des poissons des retenues d'eau du bassin cotonnier béninois. D'ailleurs, cet effet négatif des pesticides a été déjà signalé par Agbohessi (2014). Même si l'effet cocktail du mélange de pesticides peut être synergétique,



antagoniste ou additif, la plupart de nos résultats sont semblables à ceux rapportés dans la littérature sur les effets biologiques en conditions de laboratoire de certains pesticides et matières actives que les cotonculteurs du Nord-Bénin appliquent pour les traitements depuis 2009.

Nos résultats doivent être considérés en tenant compte de certaines limites méthodologiques liées à des facteurs environnementaux indépendants de notre volonté. En effet, l'inondation nous a contraint à recourir aux poissons du Centre Songhaï dont les conditions d'élevage ne sont pas exactement les mêmes avec les nôtres. Toutefois ces poissons proviennent de la même source que ceux élevés à Batran car en 2014, les infrastructures piscicoles du Centre Songhaï étaient submergées ; tous les poissons étant partis, les géniteurs ont été achetés au centre Royal Fish Bénin. De même, compte tenue de la disponibilité dans le laboratoire où les coupes histologiques sont réalisées et du temps, nous avons pu couper seulement 3 poissons par sexe et par retenue d'eau. Ce qui est source de réserves possibles quant à la validité statistique des résultats ; néanmoins, nous estimons que les résultats trouvés constituent une avancée en écotoxicologie des milieux aquatiques au Bénin et apportent des informations précieuses en matière d'effets biologiques du mélange de pesticides présent dans les retenues d'eau du bassin cotonnier béninois. Une autre limite à laquelle aucune étude en milieu naturel ne peut échapper est l'influence des facteurs biologiques sur l'expression des biomarqueurs (Akcha *et al.*, 2004). Pour cette étude, l'âge constitue le facteur biologique le plus important pouvant être source d'artéfact mais notre méthodologie a su minimiser au plus faible niveau son influence car nous avons choisi des poissons ayant des tailles pas trop différentes.

## Conclusion et suggestions

Cette étude réalisée en milieu naturel s'inscrit dans un contexte général de l'étude des effets de la contamination des retenues d'eau du bassin cotonnier béninois par les pesticides agricoles. Nous avons associé le prélèvement des poissons en eau libre à l'approche expérimentation in situ afin de déterminer l'effet réel de la pollution des retenues d'eau sur les poissons. Les résultats obtenus confirment les trois hypothèses de départ. L'histologie des organes, les indices biométriques et les paramètres de croissance d'*Oreochromis niloticus* se sont révélés très sensibles aux effets des pesticides, polluants majoritaires des retenues d'eau du bassin cotonnier béninois. Le mélange de pesticides présent dans ces retenues d'eau retarde l'ovogenèse et accélère la spermatogenèse. La structure histologique du rein est aussi altérée par les pesticides. Le foie et les testicules sont les organes les plus affectés par les altérations, de même le sexe mâle est plus touché que le sexe femelle. La pollution par les pesticides agricoles diminue l'indice gonado-somatique et l'indice hépato-somatique ; ceci est principalement lié à la présence d'altérations régressives au niveau des gonades et du foie. Egalement la croissance d'*Oreochromis niloticus* est affectée par les pesticides et ceci se traduit par une diminution de l'indice de condition et des paramètres de croissance. Eu égard à ces résultats, l'utilisation massive des pesticides en agriculture surtout en cotonculture constitue une grande menace pour les retenues d'eau. Au regard de l'importance de la contribution de la filière coton dans l'économie béninoise, il est difficile de penser à sa suppression. Il incombe donc aux décideurs de choisir les pesticides causant moins de dégâts à l'environnement notamment les pesticides biologiques, d'orienter le contrôle des ennemis des cultures vers une gestion intégrée combinant la lutte biologique à d'autres moyens tel que le contrôle cultural. A l'avenir, il faudrait poursuivre ces recherches en :

- faisant l'histologie des organes que nous avons prélevés chez *Oreochromis niloticus* en infrastructures et sur des poissons achetés pour mieux expliquer leur statut physiologique ;
- étudiant la composition plasmatique des stéroïdes sexuels notamment la 11 Keto-testostérone, la testostérone et la 17-beta-œstradiol afin de confirmer l'effet androgénique observé ;
- utilisant d'autres colorants pour mettre en évidence les réserves glycogéniques dans le foie et celles vitellogéniques dans l'ovaire.

## Références bibliographiques

### A

**Aarab N., 2004.** Les biomarqueurs chez les poissons et les bivalves : de l'exposition à l'effet et du laboratoire au terrain. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en écotoxicologie des milieux aquatiques à l'école doctorale des sciences du vivant, géosciences, sciences de l'environnement de l'Université Bordeaux I, 234p.

**Aboubacar A., 2007.** Atlas du bassin du fleuve Niger. Autorité du Bassin du Niger, Niamey.

**Adam K.S., Boko M., 1993.** Le Bénin. Paris, Edicef, 2ème édition, 93 p.

**Adam S., Edorh P.A., Totin H., Koumolou L., Amoussou E., Aklikokou K., Boko M., 2010.** Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 4(4): 1170-117.

**Adam Sanni M., 2011.** Valorisation piscicole des retenues d'eau de la commune de Banikoara : Potentialités et limites. Thèse d'ingénieur agronome UP/FA, 81p.

**Adams S.M., Bevelhimer M.S., Greeley M.S., Levine D.A., Teh S.J., 1999.** Ecological risk assessment in a large river-reservoir: 6. Bioindicators of fish population health. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 628-640.

**Adechian S.A., Baco M N., Akponikpe I., Imorou Toko I, Egah J., Affoukou K., 2015.** Les pratiques paysannes de gestion des pesticides sur le maïs et le coton dans le bassin cotonnier du Bénin. *Temporalités, action environnementale et mobilisations sociales* 15 (2).

**Agagbé A.A., 2008.** Etude écotoxicologique chimique des résidus de pesticides dans le bassin-versant de la rivière Agbado par la technique d'analyse ELISA en phase solide. Thèse d'ingénieur des travaux en aménagement et protection de l'environnement de l'Université d'Abomey-Calavi au Bénin, 65p.

**Agblonon Houelome T.M., 2012.** Evaluation de la qualité des eaux de la rivière Alibori et de ses affluents par l'étude des macroinvertébrés benthiques. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de master en Production et Santé Animales, spécialité Pêche et Aquaculture à l'Ecole Polytechnique de l'Université d'Abomey-Calai (Bénin) ,77p.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., Yabi A.J., Dassoundo-Assogba J. F. C., Kestemont P., 2011.** 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(5):1828-1841.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., Kestemont P. 2012a.** Etat des lieux de la contamination des écosystèmes aquatiques par les pesticides organochlorés dans le bassin cotonnier béninois. *Cahiers Agricultures* 21(1) 46-56.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., Attakpa E.Y., Kestemont P., 2012b.** 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): 2280-2292.

**Agbohessi T. P., 2014.** 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 pour l'obtention du diplôme de doctorat en Ecotoxicologie des milieux aquatique à l' Université de Namur en Belgique, 307p.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., N'tcha I., Geay F., Mandiki S.N.M., Kestemont P., 2014.** Exposure to agricultural pesticides impairs growth, feed utilization and energy budget in African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *International Aquatic Research* 6: 229 -243.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., Ouédraogo A., Jauniaux T., Mandiki S.N.M., Kestemont P., 2015a.** Assessment of the health status of wild fish inhabiting a cotton basin heavily impacted by pesticides in Benin (West Africa). *Science of the Total Environment* 506: 567-584.

**Agbohessi T.P., Imorou Toko I., Atchou V., Tonato R., Mandiki S.N.M., Kestemont P., 2015b.** Pesticides 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* 167: 157-172.

**Agius C., Roberts R.J., 2003.** Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases* 26(9): 499-509.

**Ahouansou Montcho S., 2011.** Diversité et exploitation des poissons de la rivière Pendjari (Bénin, Afrique de l'Ouest). Thèse de Doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 216p.

**AIC (Association Interprofessionnelle de Coton), 2005.** L'interprofession, rôle, enjeux et perspectives. Communication présentée à la Conférence Coton de l'Afrique de l'Ouest et du Centre à Cotonou les 10, 11 et 12 mai 2005.

**AIC (Association Interprofessionnelle de Coton), 2008.** Plan de Campagne Agricole Cotonnière 2008-2009 et Perspectives 2009-2010. Presse de l'AIC, Cotonou. Bénin.

**Akcha F., Leday G., Pfohl-Leszkowicz A., 2004.** Measurement of DNA adducts and strand breaks in dab (*Limanda limanda*) collected in the field: effects of biotic (age, sex) and abiotic (sampling site and period) factors on the extent of DNA damage. *Mutation Research* 552 (1-2) : 197-207.

**Akogbeto M. et Yakoubou S., 1999.** Résistance des vecteurs du paludisme vis-à-vis des pyréthriinoïdes utilisés pour l'imprégnation des moustiquaires au Bénin, Afrique de l'Ouest. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 92 :123-130.

**Akplogan F., Diallo S., Ouatarra B., Traoré S., 2005.** Déclaration de Bamako sur le développement de la filière cotonnière en Afrique de l'Ouest et du Centre, 13 janvier 2005 à Bamako au Mali, 3 p.

**Amiard J-C., Amiard-Triquet C., 2008.** Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques, Lavoisier, Paris, 372 p.

**Assongba M., 1996.** Recherche de résidus de pesticides organochlorés et de PCBs dans les exploitations agricoles de Banikoara. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection à capture d'électron (CPG/ECD). Mémoire de fin de formation d'Ingénieur des Travaux en Techniques d'Aménagement et Protection de l'Environnement au Collège Polytechnique Universitaire au Bénin, 196 p.

**Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Savini I., Voltz M., 2005.** Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des

pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport INRA et CEMAGREF, Espagne, 64p.

**Ayoola S .O., 2008a** .Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. *African Journal of Agricultural Research* 3 (12): 825-834.

**Ayoola S. O., 2008b**. Histopathological Effects of Glyphosate on Juvenile African Catfish (*Clarias gariepinus* ). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 4(3): 362-367.

## B

**Banque Mondiale., 2004**. Reformes du secteur du coton : une analyse de la pauvreté et de l'impact social. Rapport n° 29951, Bénin, 80p.

**Bayar A.S., Bilici S., Cengiz E.I., Satar A., Yanar M., 2014**. The effect of vitamin E supplementation on ovary and testis histopathology in *Oreochromis niloticus* exposed to deltamethrin. *Toxicological and Environmental Chemistry* 96: 114-135.

**Becker A.G., Moraes B.S., Menezes C.C., Loro V.L., Santos D.R., Reichert J.M., Baldisserotto B., 2009**. Pesticide contamination of water alters the metabolism of juvenile silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (6): 1734-1739.

**Beldi H., 2007**. Etude de *Gambusia affinis* (poisson, Téléostéen) et *Donax trunculus* (mollusque, Pélécy-pode) : écologie, physiologie et impacts de quelques alteragènes. Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat d'Etat en Sciences de la Mer, Option : biologie et écologie marines de l'Université Badji Mokhtar - Annaba en Algérie, 110p.

**Belhamra R., 2012**. Activité d'un insecticide organophosphoré (Actara): Impact sur le système de détoxification, la croissance et la reproduction de *Gambusia affinis* . Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER option biologie et écologie animale de l'Université Badji Mokhtar -Annaba, Algérie, 64p.

**Bernet D., Schmidt H., Meier W., Berkhardt-Holm P., Wahli T., 1999**. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*. 22: 25-34.

**Billard R., 1970.** La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. III : Ultrastructure des cellules de Sertoli. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* 10: 37-50.

**Billard R., Jalabert B., Breton B., 1972.** Les cellules de Sertoli des poissons Téléostéens. Etude ultrastructurale. *Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique* 12:19 - 32.

**Billard R., 1979.** La gamétogenèse, le cycle sexuel et le contrôle de la reproduction chez les poissons Téléostéens. *Bulletin Français de Pisciculture* 273 : 117-136.

**Billard R., Fostier A., Weil C., Breton B., 1982.** Endocrine control of spermatogenesis in Teleost fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39: 65-79.

**Billard R., 1986.** Spermatogenesis and spermatology of some Teleost fish species. *Reproduction Development Nutrition* 26: 877-920.

**Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin R.C., Lee L.E., 2001.** Ecotoxicology and innate immunity in fish. *Developmental and Comparative Immunology* 25 : 853-873

**Bonmatin J. M., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreutzweiser D. P., Krupke C., Liess, E. Long M., Marzaro M., Mitchell E. A. D., Noome D.A., Simon-Delso N., Tapparo A., 2015.** Environmental fate and exposure ; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research* 22 : 35-67.

**Bony S., Gillet C., Bouchez A., Margoum C., Devaux A., 2008.** Genotoxic pressure of vineyard pesticides in fish: Field and mesocosm surveys. *Aquatic Toxicology* 89: 197-203.

**Bouchon C., Lemoine S., 2003.** Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. Rapport final, 35p.

**Bruslé J., Quignard J.P., 2004.** Les poissons et leur environnement. Ecophysiologie et comportements adaptatifs, Lavoisier, Paris, 1522p.

**Bucke D., 1997.** Facts and myths regarding pollution and fish health. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 17 :191-19.

## C

**Callard G. V., Callard I. P., 1998.** Spermatogenesis in non mammals. In Academic Press, New York. Encyclopedia of Reproduction (Eds) E. Knobil & J. D. Niell), 563-570p.

**Camiré M., 2007.** Effets de l'exposition chronique aux pesticides sur le statut physiologique du poisson d'eau douce. Mémoire présenté à l'Université du Québec à Montréal comme exigence partielle de la maîtrise en biologie, 82p.

**CENAGREF (Centre National de Gestion des Réserves de Faune), 2004.** Etude de l'impact de l'utilisation des engrais chimiques et des pesticides par les populations riveraines sur les écosystèmes (eau de surface, végétaux et faunes) des Aires Protégées (Parcs Nationaux et zones cynégétiques) du Bénin. Rapport Final d'expertise, 168 p.

**Chabi S., Imorou Toko I., Attakpa E.Y, Yabi J.A., Elegbe H., 2012.** Potentialités socioéconomiques et piscicoles des retenues d'eau du Borgou (nord Bénin). Communication orale. XV Edition des Journées Scientifiques Internationales de Lomé (JSIL), Université de Lomé, Lomé (Togo) du 22 au 26 Octobre, 121p.

**Chao W., Guanghua L., Jing C., Perfang W., 2009.** Sub-lethal effects of pesticide mixtures on selected biomarkers of *Carassius auratus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28:414-419.

**Chouahda S., Soltani N., 2009.** Impact du cadmium et du halofenozide sur les indices métriques des femelles adultes d'un poisson culiciphage, *Gambusia affinis*. *Sciences et Technologie* 29: 9-14.

**CNAC (Comité National d'Agrément et de Contrôle des produits phytopharmaceutiques), 2007.** Liste des produits phytopharmaceutiques sous autorisation provisoire de vente (APV) et agrément homologation (AH) Porto-Novo, Bénin, 9 p.

**Coimbra A. M., Figueiredo-Fernandes A., Reis-Henriques M. A., 2007.** Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), liver morphology, CYP1A activity and thyroid hormones after endosulfan dietary exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89: 230-236.

**Coulibaly S., Atsé B.C., Kouamélan E.P., 2014.** Histological Alterations of Gill, Liver and Kidney of Black-Chinned Tilapia *Sarotherodon melanotheron* Contaminated by Heavy



Metals from Bietri Bay in Ebrie Lagoon, Cote d'Ivoire. *International Journal of Science and Research* 3 (7):1970-1975.

**CRA-CF (Centre de Recherches Agricoles-Coton Fibre).**, 2006. Antenne Centre Sud de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB).

## D

**Da Cuña R.H., Pandolfi M., Genovese G., Piazza Y., Ansaldo M., Lo Nostro F.L., 2013.** Endocrine disruptive potential of endosulfan on the reproductive axis of *Cichlasoma dimerus* (Perciformes, Cichlidae). *Aquatic Toxicology* 126: 299-305.

**Das B.K., Mukherjee C. S., 2003.** Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C* 134: 109-121.

**DGE (Direction Générale de l'Eau).**, 2008. Atlas hydrographique du Bénin. Direction de l'Information sur l'Eau, Service de banque de données intégrées, rapport final, 22p.

**Dodd J.M., Stumper J.P., 1984.** Fishes. In Marshall's Physiology of Reproduction (Eds) Lamming G. E., 126p

**Dodd J.M., 1977.** The structure of the ovary of non mammalian vertebrates. In The Ovary: General Aspects (Eds) Zuckerman and Weir, 219-263 p.

**Dutta H., 1994.** Growth in fishes. *Gerontology* 40 (2-4): 97-112.

## E

**El-Sayed Y.S., Saad T. T., 2008.** Subacute intoxication of a deltamethrin-based preparation (Butox® 5% EC) in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 102: 293-299.

**Ezemonye L.I.N., Ikpesu T.O., 2011.** Evaluation of sub-lethal effects of endosulfan on cortisol secretion, glutathione s-transferase and acetylcholinesterase activities in *Clarias gariepinus*. *Food and Chemical Toxicology* 49(9) : 1898-1903

## F

**Farooq A.M., Ghulam M.S, Ulfat J., Javaid I.M., 2004.** Studies on influences of sublethal concentrations of organophosphate pesticides; dichlorvos (DDVP) on Gonado Somatic Index (GSI) of female common carp , *Cyprinus carpio communis*. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences* 4(2): 67-71.

**Fishelson L., Yaron Z., 1983.** The First International Symposium on tilapia in aquaculture. Tel Aviv University, 8-13 May 1983, 624p.

**Fojut T.L., Palumbo A.J., Tjeerdema R.S., 2012.** Aquatic life water quality criteria derived via the UC Davis method: II. Pyrethroid Insecticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 216:51-103.

**Follin J.C., Deat M., 2004.** Le rôle des facteurs techniques. CIRAD, Montpellier, France, 4 p.

**Fournier J., 1988.** Chimie des pesticides. Edition Culture et Techniques, Nantes, 351p.

**Francois L., 2016.** Effets de l'Acer 35 EC sur le système immunitaire et hépatique de juvéniles d'*Oreochromis niloticus* exposés à des doses chroniques. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes et Ecologie à l'Ecole de biologie de l'Université Catholique de Louvain, 84 p.

## G

**Gbaguidi M.M.A.N., 2011.** Etude de la distribution et des impacts environnementaux et sanitaires des pesticides en zones de culture cotonnière au Bénin : Cas des bassins versants de la rivière Agbado et des plans d'eau des réserves de biosphère de la Pendjari et du W du Niger. Thèse de doctorat de l'université d'Abomey-Calavi, 243p.

**Geffard O., Ferrari B., Chaumot A., Montuelle B., 2010.** Les expérimentations in situ : principes et perspectives. *Sciences Eaux & Territoires* 1: 20-25

**Genten F., Terwinghe E., Danguy A., 2009.** Atlas of fish histology (Science Publishers, Enfield, NH, USA, 215 p.

**Girard P., Elie P., 2007.** Les mécanismes d'induction de stress chez les poissons des eaux douces, estuariennes et marines et leurs répercussions : proposition d'un indice anatomo-

morphologique et parasitaire externe pour l'évaluation de l'état de santé des poissons. Programme Seine Aval, Etude CEMAGREF n°113,130p

**Giron-Pérez M., Zaitseva G., Casas-Solis J., Santerre A., 2008.** Effects of diazinon and diazoxon on the lymphoproliferation rate of splenocytes from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): The immunosuppressive effect could involve an increase in acetylcholine levels. *Fish and Shellfish Immunology* 25: 517-521.

**Gobas F.A.P.C., Zhang X., Wells R., 1993.** Gastrointestinal magnification: the mechanism of biomagnification and food chain accumulation of organic chemicals. *Environmental Science & Technology* 27: 2855-2863.

**Goebel R., Jacquemard P., 1990.** Evaluation du niveau de sensibilité d'*Heliothis armigera* Hbn., déprédateur de la capsule du cotonnier, aux associations cyperméthrine- chlorpyrifos et cyperméthrine-méthylparathion. Etude des interactions possibles entre ces insecticides. *Coton et fibres tropicales* 45 (2):137-140.

**Grandi G., Colombo G., 1997.** Development and early differentiation of gonad in the European eel (*Anguilla anguilla* [L.], Anguilliformes, Teleostei): a cytological and ultrastructural study. *Journal of Morphology* 231: 195-216.

**Gras G., Cissé B., 1986.** Toxicité de quelques composés organophosphorés et carbamates pour le «mange mil» (*Quelea quelea* L.). *Journal de toxicologie clinique et expérimentale* 6(3):175-187.

**Gross M. R., 1996.** Alternative reproduction strategies and tactics: diversity within sexes. *Trends Ecology Evolution* 11: 92-98.

**Guidou O. G., 1998.** La campagne cotonnière 1997/98 au Bénin. In CORAF, Réseau Coton, L'utilisation des intrants en cultures cotonnière et maraîchères (Dakar, Sénégal, 25-28 janvier 1998), 51-61p.

**Guimont S., 2005.** Devenir des pesticides dans les sols en fonction de l'état d'humidité et du mode de circulation de l'eau dans le sol. Institut National Polytechnique de Lorraine à Nancy, 223 p.

## H

**Hamelink J.L., Landrum P.F., Bergman H.L., Benson W.H., 1994.** Bioavailability: Physical, chemical, and biological interactions. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan, 239-254p.

**Hanson R., Dadoo D.K., Essumang D.K., Blay J., Yankson K., 2007.** The effect of some selected pesticides on the growth and reproduction of freshwater *Oreochromis niloticus*, *Chrysiichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79: 544-547.

**He L. M., Troiano J., Wang A., Goh K., 2008.** Environmental Chemistry, Ecotoxicity and fate of lambda-cyhalothrin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72: 91

**Hoar W. S., Nagahama Y., 1978.** The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique* 18 : 893-898.

**Houndji A.B.M., 2011.** Détermination de la toxicité aigue chez *Clarias gariepinus* de quelques pesticides agricoles utilisés dans le bassin cotonnier béninois (Nord Bénin). Mémoire de Master, UAC / EPAC, 65p.

**Huet M., 1972.** Cultivation of tilapias and other African cichlids, in text book offish culture Breeding and cultivation of fish. Fishing News (Books) L.T.D. West Byfleet, 192-199p.

**Huggett R.J., Kimerle R.A., Mehrle P.M., Bergman H.L., 1992.** Biomarkers : biochemical, physiological and histological markers of anthropogenic stress. SETAC Special Publications Series, Lewis Publishers, Chelsea, US, 347 p.

## I

**Ibouraima S., 2005.** Comblement des retenues d'eau d'abreuvement en zone agropastorale soudano-sahélienne : Dynamique, bilan et impact de la sédimentation intra-cuvette. Cas du Département de l'Alibori (Nord-Est du Bénin-Afrique de l'Ouest). Thèse de Doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Abomey-Calavi, Bénin, 221 p.

**IFDC (International Fertilizer Development Center), 2005.** L'état du marché des intrants agricole au Bénin. Fiche d'information du Projet MIR n° 004, juin 2005, 2p.

**Iga-Iga R., 2008.** Contribution à la mise au point d'aliments pour tilapia *Oreochromis niloticus* à base d'intrants locaux : cas du Gabon. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du

Master Sciences Agronomiques et Agroalimentaires, Spécialité Sciences Halieutiques et Aquacoles IRAF/Gabon, 47p.

**Imorou Toko I., Yabi J.A., Assogba M.N., Adam Sanni M., Elègbè H.A., 2011a.** Evaluation des potentialités piscicoles et socioéconomiques des retenus d'eau pastorales dans la commune de Banikoara (Nord- est du Bénin). *Annales de l'Université de Parakou Série Sciences naturelles-Agronomie* : 92 -119.

**Imorou Toko I. Attakpa E. Y. Baco M. N. Gouda A-I., 2011b.** Analyse des systèmes piscicoles dans la Vallée du Niger (Nord Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 5(5): 1993-2003.

## J

**Janz D.M., 2000.** Endocrine system. The Handbook of experimental animals, The laboratory fish (eds) Gary K. Ostrander, Johns Hopkins University, Baltimore, MD, 189-217p.

**Jiraungkoorskul W., Maleeya E., Somphong K., Suksiri S., Gramsand V., Pokethitiyook P., 2002.** Histopathological Effects of Roundup, a Glyphosate Herbicide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Science Asia* 28: 121-127.

**Justin Raj S., Baby J., 2015.** Impact of Acetamiprid Toxicity on Biochemical Biomarkers (Protein and Carbohydrate) in some Tissues of the Fish *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Zoological Research* 11 (5): 222-227.

**Jyothi B., Narayan G., 1999.** Certain pesticides-induced carbohydrate metabolic disorders in the serum of freshwater fish *Clarias batrachus* (Linn.). *Food and Chemical Toxicology* 37: 417-421.

## K

**Kamrin M. A., 1997.** Pesticide profiles: Toxic Potential of non-ortho and mono-ortho coplanar PCBs in commercial PCB preparations : 2 3, 7, 8 - TCDD toxicity equivalence facteur approach. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 41: 267-276.

**Kan C.A, Meijer G.A.L., 2007.** The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Animal feed Science and Technology* 133: 84-108.

**Katary A., 2003.** Etude spatio-temporelle de la gestion de la résistance de *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1808) aux pyréthrinoides en culture cotonnière au Bénin. Thèse de Docteur d'Etat ès Sciences Naturelles, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, 202p.

**Koehler A., 2004.** The gender-specific risk to liver toxicity and cancer of flounder (*Platichthys flesus* (L.)) at the German Wadden Sea coast. *Aquatic Toxicology* 70: 257–276.

**Korkmaz N., Cengiz E.I., Unlu E., Uysal E., Yanar M., 2009.** Cypermethrin-induced histopathological and biochemical changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and the protective and recuperative effect of ascorbic acid. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 28 (2): 198-205.

**Kumar R., Nagpure N.S., Kushwaha B., Srivastava S.K., Lakra W.S., 2010.** Investigation of the Genotoxicity of Malathion to Freshwater Teleost Fish *Channa punctatus* (Bloch) Using the Micronucleus Test and Comet Assay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58 (1): 123-130.

## L

**Lacroix E., 2004.** Pisciculture en Zone Tropicale, GTZ, 225p.

**Laflamme L.S., Couillard Y., Campbell P.G.C., Hontela A., 2000.** Interrenal metallothionein and cortisol secretion in relation to Cd, Cu, and Zn exposure in yellow perch, *Perca flavescens*, from Abitibi lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (8): 1692-1700.

**Lagadic L.C.T., Amiard J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie: principes et définitions. In Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F. (Eds) Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects fondamentaux, Masson, Paris, 1-9p.

**Leknes I.L., 2004.** Melano-macrophage centres in liver of platy fish, *Xiphophorus maculatus*, Poeciliidae : Teleostei. *Zoology* 107: 201-204.

**Lemos C.T., Milan Rodel P., Terra N.R., D'Avila de Oliveira N.C., Erdtmann B., 2007.** River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 66 : 391-401.

**Leu C., 2003.** Sources, processes and factors determining the losses of atrazine, dimethenamid and metolachlor to surface waters: A simultaneous assessment in six agricultural catchments. Dissertation, ETH Zürich, 89p.

**Loir M., Sourdain P., Mendis-Handagama S. M., Jégou B., 1995.** Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranches. *Microscopy Research and Technique* 32: 533-552.

**Lydy M., Belden J., Wheelock C., Hammock B., Denton D., 2004.** Challenges in regulating pesticide mixtures. *Ecology and Society* 9(6) :1.

## M

**MAAF (Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt de le France), 2013.** Les politiques agricoles à travers le monde: Quelques exemples. Service des relations internationales-3rue Barbet de jouy- 7534 Paris, 5p.

**MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche), 2005.** Rapport annuel campagne 2004-2005, 86p.

**MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche du Bénin), 2011.** Plan Stratégique de Relance du Secteur Agricole, 107p

**MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche), 2014.** Liste des produits phytosanitaires disponibles pour la campagne agricole 2013-2014 dans les départements du Borgou-Alibori au Bénin.

**Marchand M.J., 2009.** A histology-based fish health assessment to determine the health status and edibility of two indicator fish species from Roodeplaat Dam. Minor dissertation submitted in the fulfillment of the requirements for the degree Magister Scientiae in environment management in the Faculty of Science at the University of Johannesburg, 80p

**Marchand M.J., Van Dyk J.C., Pieterse G.M., Barnhoorn I.E.J., Borman M.S., 2009.** Histological alterations in the liver of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* from polluted aquatic ecosystems in South Africa. *Environmental Toxicology* 24(2): 133-147.

**Marchand M.J., Van Dyk J.C., Barnhoorn I.E.J., Wagenaar G.M., 2012.** Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hyper - eutrophic

fresh water ecosystem in South Africa : a baseline study. *African Journal of Aquatic Sciences* 37 (1): 39-48.

**Maroni M., Colosio C., Ferioli A., Fait A., 2000.** Biological Monitoring of Pesticide Exposure: a review. Introduction. *Toxicology* 143: 1-118.

**Maynard E.A., Downs W.L., Hodge H.C., 1953.** Oral toxicity of uranium compounds. Voegtlin C., and Hodge H. C. (eds) *Pharmacology and toxicology of uranium compounds*: New-York, McGraw-Hill Book Co., 1121-1369p.

**Mbaye D.F., 2008.** Interdiction de l'endosulfan dans les pays du Sahel en Afrique de l'Ouest. Rapport de consultation, groupe de travail PAN/IPEN sur les pesticides POPs. Presse Locale, Dakar.

**Mélard C., Philippart J.C., 1981.** La production de Tilapia de consommation dans les rejets industriels d'eau chaude en Belgique. *Cahiers d'Ethologie Appliquée* 1(2) : 122.

**Mélard C., 1986.** Recherches sur la biologie d'*Oreochromis* (Tilapia) *niloticus* L. (Pisces : Cichlidae) en élevage expérimental: reproduction, croissance, bioénergétique. *Cahiers d'Ethologie Appliquée* 6 (3) : 1-224.

**Mills L. J., Gutjahr-Grobell R.E., Haebler R.A., Borsay Horowitz D.J., Jayaraman S., Pruell R.J., McKinney R.A., Gardner G.R., Zaroogian G.E., 2001.** Effects of estrogenic (o,p-DDT ; octylphenol) and anti-androgenic (p,p-DDE) chemicals on the indicators of endocrine status in juvenile male summer flounder (*Paralichthys dentatus*). *Aquatic Toxicology* 52: 157-176.

**Mooney A., 2012.** An assessment of the health status and edibility of fish from three impoundments in the North West province, South Africa. Dissertation submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Magister Scientiae in aquatic health in the Faculty of Sciences at the University of Johannesburg, 113p.

**Monkiédjé A., Njiné T., Tamatcho B., Démanou J., 2000.** Assessment of the acute toxic effects of the fungicide Ridomil plus 72 on aquatic organisms and soil micro-organisms. *Environmental Toxicology* 15: 65-70.



**Moriarty C.D., 1973.** The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish *Tilapia nilotica*. *Journal of Zoology* 171: 25-40.

**Muthukumaravel K., Sathick O., Raveendran S., 2013.** Lambda cyhalothrin induced biochemical and histological changes in the liver of *Oreochromis mossambicus* (peters). *International Journal of Pure and Applied Zoology* 1(1): 80-85.

## N

**Nwani C.D., Lakra W.S., Nagpure N.S., Kumar R., Kushwaha B., Srivastava S.K., 2010.** Mutagenic and genotoxic effects of carbosulfan in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Food and Chemical Toxicology* 48 (1): 202-208.

## O

**OBEPAB (Organisation Béninoise pour la Promotion de l'Agriculture Biologique), 2002.** Le Coton au Bénin, Rapport de Consultation sur le Coton Conventionnel et le Coton Biologique au Bénin. A Report for PAN UK's Pesticides Poverty and Livelihoods Project, Presse Locale, Cotonou.

**Oikari A., 2006.** Caging techniques for field exposures of fish to chemical contaminants. *Aquatic Toxicology* 78: 370-381.

**OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1991.** Environmental health criteria 124 Lindane, 28p.

**Oreins N., 2016.** Perturbations endocrines induites par l'Acer 35EC, un insecticide à base d'acétamipride et de lambda-cyhalothrine, chez le poisson *Oreochromis niloticus* exposé à des doses chroniques. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie des Organismes et Ecologie à l'Ecole de biologie de l'Université catholique de Louvain, 70p.

## P

**Pacheco M., Santos M.A., 2002.** Biotransformation, genotoxic, and histopathological effects of environmental contaminants in European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 53: 331-347.

**Paugy D., Lévêque C., Teugels G.G., 2004.** Faune des poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest. Faune Tropicale. Eds (IRD). Paris, 815 p.

**Péan S., 2012.** Effets des polluants organiques persistants sur le comportement des poissons. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'Université de la Rochelle en biologie de l'environnement, des populations et écologie, 222p.

**Petr T., 1986.** Distribution, abundance and food of commercial fish in the Black Volta and the Volta man-made lake in Ghana, during its first period of filling (1964-1966). *Mormyridae. Hydrilogia* 32 (3-4): 417-448.

**Phillips B.M., Anderson B.S., Voorhees J.P., Hunt J.W., Holmes R.W., Mekebri A., Connor V., Tjeerdema R.S., 2010.** The contribution of pyrethroid pesticides to sediment toxicity in four urban creeks in California, USA. *Journal of Pesticide Science* 35: 302-309.

**Primentel D., Levitain L.C., 1986.** Pesticides. Amounts applied and amount reaching pests. Often, less than 0.1% of pesticides applied to crop reach target pests. *Biosciences* 36: 86-91.

**Pudney J., 1996.** Comparative cytology of the Leydig cell. In Payne A., Hardy M. P., Russel L. D. *The Leydig Cell* (Eds) Cache River Press, 97-142 p.

**Pudney J., 1995.** Spermatogenesis in nonmammalian vertebrates. *Microscopy Research and Technology* 32: 459- 497.

## R

**Ramade F., 1989 :** Ecologie appliquée : Ecologie appliquée. Mac Graw-Hill, 578p.

**Rinchar J., Kestemont P., 1996.** Comparative study of reproductive biology in single and multiple spawned cyprinid fish. Morphological and histological features. *Journal of Fish Biology* 49: 883-894.

**Rivière J., 1993.** Les animaux sentinelles. *Courrier de l'environnement* 20:59-67.

**Roberts R.J., 2001.** Fish pathology (eds) Philadelphia SAUNDERS, 472p.

**Roman P.L., Dixon D.C. 1996.** Chronic toxicity of waterborne thiocyanate to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 2137-2146.

**Ruwet J.C., Voss J., Hanon L., Micha J.C., 1976.** Biologie et élevage des tilapias. *FAO/CIFA Technique Paper 4*: 332-364.

## S

**Sabra F. S., Mehana E. E., 2015 .** Pesticides Toxicity in Fish with Particular Reference to Insecticides. *Asian Journal of Agricultural and Food Sciences* 3 (1) : 40-60.

**Sadekarpawar S., Parikh P., 2013.** Gonadosomatic and Hepatosomatic Indices of Freshwater Fish *Oreochromis mossambicus* in Response to a Plant Nutrient. *World Journal of Zoology* 8 (1): 110-118.

**Sanchez-Pena L. C., Reyes B.E., Lopezcorrille L., Recio R., Moran-Matinez J., Cabrian M.E., Quitanille-Vega B., 2004.** Organophosphorus pesticide exposure alters sperm chromatin structure in mexican agriculture workers. *Toxicology and applied Pharmacology* 196 : 108-113.

**Scheyer A., 2004.** Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg. Alsace, 273p.

**Schwarzenbach R. P., Gschwend P.M., Imboden D.M., 1993.** Environmental Organic Chemistry, Wiley, New York.

**Secombes C., Ellis A., 2012.** The immunology of Teleosts. In Fish pathology, fourth edition, R. J. Roberts, eds (Chichester: Blackwell Publishing Ltd), 571p.

**Shukla D., Nagpure N. S., Kumar R., Singh P., 2010.** Assesment of genotoxicity of Dichlorvos to *Mystus vittatus* (Bloch) by comet assay. *Indian Journal of Fisheries* 57 (2): 39-44.

**Singh P.B., Singh V., 2007.** Exposure and recovery response of isomers of HCH, metabolites of DDT and estradiol-17 in the female catfish, *Heteropneustes fossilis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 24: 245-251.

**Soclo H. H., Azontonde A.H., Dovonou L.F., Djibril R., Sagbo A.U., 2004.** Etude de l'impact de l'utilisation des engrais chimiques et des pesticides par les populations riveraines sur les écosystèmes (eaux de surfaces, substrats des réserves de faune) dans les complexes des aires protégées de la Pendjari et du W. CENAGREF, Cotonou, 135 p.

**Soderlund D.M., Clark J.M., Sheets L.P., Mullin L.S., Piccirillo V.J., Sargent D., Stevens J.T., Weiner M.L., 2002.** Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 171: 3-59.

**Sorensen K.C., Stucki J.W., Warner R.E., Wagner E.D., Plewa M.J., 2005.** Modulation of the genotoxicity of pesticides reacted with redox-modified smectite clay. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 46: 174-181.

**Stephensen E., Svavarsson J., Starve J., Ericson G., Adolfson-Erici M., Förlin L., 2000.** Biochemical indicators of pollution exposure in shorthorn sculpin (*Myoxocephalus scorpius*), caught in four harbours on the south-west coast of Iceland. *Aquatic Toxicology* 48:431-442

## T

**Takashima F., Hibiya T., 1995.** An atlas of fish histology, normal and pathological features (eds) Stuttgart GUSTAV FISCHER VERLAG, 195p.

**Tellez-Bañuelos M.C., Santerre A., Casas-Solis J., Bravo-Cuellar A., Zaitseva G., 2009.** Oxidative stress in macrophages from spleen of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concentration of endosulfan. *Fish and Shellfish Immunology*. 27(2) : 105-111.

**Ton P., 2001.** La production cotonnière et conditions de vie en milieu rural en Afrique de l'Ouest. Oxfam-GB et ENDA, 87p.

**Ton P., 2004.** La production du coton au Bénin, Projet d'analyse d'une spéculation agricole par pays, financé par le programme "Renforcement des capacités commerciales" de la FIPA (Fédération Internationale des Producteurs Agricoles).

**Tyler C. R., Jobling S., Sumpter J. P., 1998.** Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence. *Critical reviews in toxicology* 28: 319-361.

## U

**Uddin M. N., Shahjahan M., Haque M.M., 2012.** Manipulation of species composition in small scale carp polyculture to enhance fish production. *Bangladesh Journal of Progressive Science & Technology* 10: 9-12.

**Uddin M. N., Shahjahan M., Ruhul Amin A.K.M., Haque M.M., Islam M.A., Azim M. E., 2016.** Impacts of organophosphate pesticide, sumithion on water quality and benthic invertebrates in aquaculture ponds. *Aquaculture Reports* 3: 88-92.

**Ullah S., Zorriehzakra M. J., 2014.** Ecotoxicology: A Review of Pesticides Induced Toxicity in Fish . *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 3 (1) 40-57.

**Uyanikgil Y., Yalcinkaya M., Ates U., Baka M., Karakisi H., 2009.** Effects of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid formulation on *Medulla spinalis* of *Poecilia reticulata*: A histopathological study. *Chemosphere* 76 (10): 1386-1391.

## V

**Valente E., 2008.** Traits biologiques d'une espèce invasive, la perche soleil (*Lepomis gibbosus*), dans un réservoir artificiel aux eaux échauffées : Reproduction, Croissance Longévité. Thèse de doctorat en Sciences de la vie, spécialité Hydrobiologie de l'Université de Metz, 200p.

**Van Dyk J.C., Pieterse G.M., 2008.** A histo-morphological study of the testis of the sharp-toothed catfish (*Clarias gariepinus*) as reference for future toxicological assessments. *Journal of Applied Ichthyology* 24: 415-422.

**Van Dyk J.C., Marchand M.J., Smit N.J., Pieterse G.M., 2009a.** A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *African Journal of Aquatic Science* 34: 273-282.

**Van Dyk J.C., Marchand M.J., Pieterse G.M., Barnhoon I.E.J., Bornman M.S., 2009b.** Histological changes in gills of *Clarias gariepinus* (Teleostei: Clariidae) from a polluted South African urban aquatic system. *African Journal of Aquatic Science* 34 : 283-291.

**Van Dyk G.M., Cochrane M.J., Wagenaar G.M., 2012.** Liver histopathology of the sharp-toothed catfish *Clarias gariepinus* as a biomarker of aquatic pollution. *Chemosphere* 87 (4): 301-311.

**Velisek J., Svobodova Z., Piackova V., Novotny L., Sudova E., Maly V., 2008.** Effect of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinari Medicina* 53 (6): 324–332.

**Vizziano D., Fostier A., Loir M., Le Gac F., 2008.** Testis Development, its Hormonal Regulation and Spermiation Induction in Teleost Fish. In *Fish Spermatology* (Eds) Alpha Science International Ltd. Oxford, U.K., 103-139p.

## W

**Wallace R., Selman K., 1981.** Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in Teleosts. *American Zoologist* 21: 325-343.

**Webb D., Gagnon M.M., 2002.** Biomarkers of exposure in fish inhabiting the Swan-Canning Estuary, Western Austria: a preliminary study. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery* 9: 259-269.

## Y

**Yadav K.K., Trivedi, S.P., 2009.** Sublethal exposure of heavy metals induces micronuclei in fish, *Channa punctata*. *Chemosphere* 77 (11): 1495-1500.

**Yèhouénou P.E., 2005.** Les résidus de pesticides chimiques de synthèse dans les eaux, les sédiments et les espèces aquatiques du bassin versant du fleuve Ouémé et du lac Nokoué, Thèse de doctorat unique de l'Université d'Abomey-Calavi, 214 p.

## Z

**Zoumenou B., Aïna M.P., Agbohessi P., Imorou Toko I., Scippo M-L., 2015.** Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 9(4):2184-2199.

**www.insae-bj.org**, consulté le 19 novembre 2016 à 13 heures 51 minutes

**Annexes**

**Annexe 1 : Programme de traitement phytosanitaire du cotonnier dans le département de l'Alibori**

La culture du coton au Bénin est une activité saisonnière qui débute avec la saison des pluies en avril-mai et qui prend fin vers la fin du mois d'octobre.

<b>Fenêtres</b>	<b>1<sup>ère</sup> fenêtre</b>		<b>2<sup>ème</sup> fenêtre</b>		<b>3<sup>ème</sup> fenêtre</b>	
	T1 45 jours après levée	T2 14 jours après T1	T3 14 jours après T2	T4 14 jours après T3	T5 14 jours après T4	T6 14 jours après T5
	Produit alternatif	Produit alternatif	Binaire acaricide	Produit alternatif	Produit alternatif	Binaire aphicide

T = traitement

**Annexe 2 : Liste et classement des pesticides utilisés dans la commune de Banikoara de 2009 à 2016**

<b>Pesticides autorisés</b>				
<b>Herbicides totaux</b>	<b>Herbicides sélectifs coton</b>	<b>1<sup>ère</sup> fenêtre</b>	<b>2<sup>ème</sup> fenêtre</b>	<b>3<sup>ème</sup> fenêtre</b>
Glyphogan	Cottonex	Cutter	Lamber	Acer
Glyphospring	Baruka Yita	Ema Star	Mortel	Killarselect
Glyphos	Spider	Napeco	Spider	Chémapi ride
Glyphotueur	Spring GPF G	Caïman B	Fruciro	Moacartarine
Glyphosate	Terbulor	Révolution	Lamdacyalothrine	Coton Plus
Japerson	Stomp	Emamectine	Devacot	
Glycell	Jaf	SIBEMAC	Faizer	
Kalach	Garil	Nurelle D	Lamdacal	
	Lagon	tihan	Combi	
	Gallant Super	Thunder	Chlopythrine	
	Alazine	Emma Super	Moathrine	
	Thionex	Profenet		
	Califor G	Sting		
<b>Pesticides informels</b>				
<b>Herbicides</b>		<b>Insecticides</b>		
Atrazil , Adwuma wura		Dusiban, Sharp, Butaforce		

Source : Secteur Communal pour le Développement Agricole-Banikoara, 2016 ; Coopérative Villageoise des Producteurs du Coton-Batran, 2016



**Annexe 3 :** Fiches d'enregistrement des données biométriques prises en eau libre

**Exemple :** Prélèvement dans la retenue d'eau de Batran

Prélèvement 0 : eau libre de la retenue de Batran			
Individus	PT (g)	Pg (g)	Pf (g)
On B El 0,1			
On B El 0,2			
On B El 0,3			
On B El 0,4			
On B El 0,5			
On B El 0,6			
On B El 0,7			
On B El 0,8			
On B El 0,9			
On B El 0,10			
On B El 0,1			
On B El 0,2			
On B El 0,3			
On B El 0,4			
On B El 0,5			
On B El 0,6			
On B El 0,7			
On B El 0,8			
On B El 0,9			
On B El 0,10			

**Annexe 4 :** Fiches d'enregistrement des données biométriques prises les infrastructures  
expérimentales

**Exemple :** Enclos de la retenue d'eau de Songhaï

**Prélèvement 1 : Enclos de la retenue d'eau de  
Songhaï**

	PT (g)	Pg (g)	Pf (g)
Individus			
On SOEn1, 1			
On SOEn1, 2			
On SOEn1, 3			
On SOEn1, 4			
On SOEn1, 5			
On SOEn1, 6			
On SOEn1, 7			
On SOEn1, 8			
On SOEn1, 9			
On SOEn1, 10			
On SOEn1, 1			
On SOEn1, 2			
On SOEn1, 3			
On SOEn1, 4			
On SOEn1, 5			
On SOEn1, 6			
On SOEn1, 7			
On SOEn1, 8			
On SOEn1, 9			
On SOEn1, 10			

**Annexe 5:** Processus d'établissement des codes inscrits sur les tubes de prélèvement des organes

Eléments		Abréviation
Espèce	<i>Oreochromis niloticus</i>	On
sexes	Mâle	
	Femelle	
Retenues	Batran	B
	Songhaï	SO
infrastructures	Happa	Ha
	Enclos	En
	Eau libre	El
Organes	Foie	F
	Rein	R
	Gonade	G
Prélèvements	(Juin)	0
	Août	1

Les individus sont numérotés de 1 à 10. Le code d'un poisson prélevé est formé de la façon suivante : espèce-sexe-retendue d'eau - infrastructure -organe-numéro de prélèvement-numéro de l'individu.

**Exemple 1 :** On BEIF0, 1 signifie foie du premier individu de l'espèce *Oreochromis niloticus* mâle prélevé en eau libre de la retenue d'eau de Batran à l'empeisonnement.

**Exemple 2** On SOEnG1, 5 signifie gonade du cinquième individu de l'espèce femelle prélevé dans l'enclos de la retenue d'eau de Songhaï lors du prélèvement d'août.

## **Annexe 6 : Protocole de réalisation des coupes histologiques**

La réalisation des coupes histologiques a été faite en suivant les étapes classiques qui sont la fixation, la déshydratation et l'éclaircissement, l'inclusion en paraffine (imprégnation et enrobage), la coupe au microtome et les colorations.

### **Fixation**

Un morceau de chaque organe précédemment conservé dans des tubes contenant du formol tamponné 10%, a été prélevé et mis dans des cassettes préalablement marquées avec des codes. Ces cassettes ont été mises dans une solution de formol inactivé à 10% pendant 24 heures à température ambiante.

### **Déshydratation et éclaircissement**

Les cassettes égouttées ont été mises pendant quarante-cinq (45) minutes dans chacun des cinq (05) bains d'éthanol de concentrations croissantes (70°, 80°, 90°, 100° et 100°) afin que les organes soient déshydratés et imbibés d'éthanol. L'éclaircissement a consisté à remplacer l'éthanol par un bain de xylène et un autre de toluène, chacun de ces deux bains a duré quarante-cinq (45) minutes. L'éclaircissement est indispensable avant l'inclusion en paraffine car la paraffine n'est pas miscible à l'eau et à l'alcool mais plutôt à des hydrocarbures organiques.

### **Inclusion en paraffine**

L'inclusion des organes dans la paraffine (hydrocarbure saturé, solide à la température ambiante et liquide à une température  $> 56^{\circ}\text{C}$ ) est nécessaire pour réaliser les coupes afin de ne pas dégrader la structure des organes. Pour cela, les cassettes ont été mises pendant trente 30 minutes dans chacun des trois (03) bains de paraffine chauffés à  $60^{\circ}\text{C}$  (imprégnation). Ensuite la paraffine ( $50^{\circ}\text{C}$ ) a été distribuée dans les moules, les organes fixés en blocs dans ces moules sous un refroidisseur (enrobage). Les blocs d'organes ont été laissés refroidir et durcir au congélateur.

### **La coupe au microtome et étalement**

Les blocs durs ont été démoulés et placés sur le microtome manuel, appareil qui permet de réaliser des coupes très fines des organes à étudier. Après un dégrossissement de tous les

blocs, les coupes ont été faites à 3 - 5 $\mu$ m. Ces tailles de coupe constituent le gage d'une observation correcte au microscope photonique car la lumière traversera facilement la préparation et formera une bonne image. Chaque coupon de paraffine contient le tissu à analyser et adhère au coupon suivant, formant un ruban. Ce ruban est récupéré et les deux meilleures coupes ont été sélectionnées par organe. Les deux coupes ont été étalées à l'aide d'une solution de gélatine à 1% sur une lame porte-objet propre (nettoyée avec de l'acide acétique et de l'eau) portant les références de l'organe. Pour faciliter l'étalement, toutes les lames ont été séchées sur une plaque chauffante à 50°C et l'excès de paraffine absorbé avec du papier buvard. En effet, sous l'action de la chaleur, le fragment d'organe reprend ses dimensions d'origine et s'étale parfaitement.

### **La coloration (HE)**

Puisque la paraffine est hydrophobe et que les colorants sont hydrophiles, un déparaffinage et une réhydratation des coupes ont été faits. Cette étape est assurée par une succession de cinq bains d'éthanol de titre décroissant notamment 100°, 100° (compatible avec le solvant précédent), 90°, 80° et 70° (compatible avec l'eau). Ensuite, les lames sont blanchies par un bain dans l'eau courante assurant la réhydratation finale. Les lames réhydratées sont plongées successivement dans l'hématoxyline (couleur violette), le mélange éthanol à 70°-acide chlorhydrique, et dans l'eau ammoniacale (15 minutes). Les lames sont rincées à l'eau courante, puis immergées dans l'éosine. Après cela, avec l'éthanol à 70°, les lames ont été décolorées puis placées dans l'étuve. Enfin, les lames colorées ont été éclaircies au xylène et sont prêtes à l'observation.

Précisons que les deux colorants ont des affinités acido-basiques différentes. L'hématoxyline est basique (acidophile) et colore les acides nucléiques des noyaux cellulaires en bleu foncé ou violet/noir. Le second est acide (basophile) et colore les cytoplasmes et protéines cellulaires en rose/rouge. De ce fait, chaque colorant est conservé uniquement dans les éléments cellulaires qu'il doit colorer. Ainsi, à l'observation microscopique, les colorants permettent de facilement distinguer les structures cellulaires et d'identifier les altérations.

**Annexe 7 : Fiches utilisées lors des observations histologiques au microscope optique**

**Fiche 1 : stades de développement**

**Gonade :**

**Retenue de :**

Codes	Stades					
	I	II	III	IV	V	VI

--	--	--	--	--	--	--

**Fiche 2 : Altérations identifiées**

**Retenue :**

**Organe :**

<b>Codes</b>	<b>Altérations</b>	<b>Score d'occurrence ou étendue : (0) absente, (2) présente en faible quantité, (4) présente en quantité modérée, (6) présente en grande quantité</b>	<b>Facteur d'importance ou réversibilité de l'altération : (1) facilement réversible, (2) réversible après la disparation du polluant, (3) irréversible</b>	<b>Reaction pattern : (i) perturbations circulatoires, (ii) changements régressifs, (iii) changements progressifs, (iv) troubles inflammatoires, (v) néoplasie et (vi) intersexe (applicable seulement aux gonades)</b>