

Effet de la poudre des feuilles de *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) sur les juvéniles de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae)

Dougnon T. J.^{1,*}, Anago E.^{1,2}, Yedomonhan H.³

¹ Laboratoire de Recherches en Biologie Appliquée, École Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, 01BP2009, Rép. du Bénin

² Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Institut des Sciences Biomédicales Appliquées, Cotonou, 03 BP 0420, Rép. du Bénin

³ Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences e Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 4521, Cotonou, Rép. du Bénin

Date de réception : 14 avril 2015 ; Date de révision : 09 septembre 2015 ; Date d'acceptation : 01 octobre 2015

Résumé :

La présente étude a pour objectif d'évaluer l'effet de la toxicité de la poudre des feuilles de *Tephrosia vogelii*, une plante ichtyotoxique, sur les juvéniles de *Oreochromis niloticus*. Trois lots de 6 poissons chacun ont été constitués dans des aquariums contenant 20 litres d'eau chacun. Le lot 0 est le lot témoin. Les poissons ont été intoxiqués avec la poudre des feuilles de *T. vogelii* : 400mg/l (Lot 1) et 800 mg/l (Lot 2) d'eau de *T. vogelii*. Des coupes histologiques des branchies, du foie et de l'intestin des poissons ont été réalisées. A l'issue de cette expérimentation, le taux de mortalité des poissons face à cette intoxication a été de 100%. Le taux d'oxygène dissout a été de 8,8 mg/l (Lot 0) ; 2,0 mg/l (Lot 1) et 1,8 mg/l (Lot 2). L'intoxication à la poudre de *T. vogelii* a induit chez les poissons des changements comportementaux se traduisant par des mouvements vers la surface de l'eau en quête d'oxygène à partir de la 5^{ème} minute dans les lots 1 et 2. L'agonie suivie de la mort des poissons sont intervenues 15 minutes après intoxication pour le lot 1 et 19 minutes pour le lot 2. Les branchies des poissons intoxiqués ont présenté une érosion de l'épithélium recouvrant les lamelles branchiales. Les autres organes n'ont présenté aucune lésion. Il ressort de cette étude que l'usage de *Tephrosia vogelii* constitue une menace pour la survie de *Oreochromis niloticus*.

Mots-clés : *Tephrosia vogelii*, *Oreochromis niloticus*, intoxication, branchie, foie, intestin

Effect of powder of the leaves of *Tephrosia vogelii* (Fabaceae) on juvenile *Oreochromis niloticus* (Cichlidae)

Abstract :

This study aims to evaluate the toxicity of leaves' powder of *Tephrosia vogelii*, an ichthyotoxic plant, on juvenile *Oreochromis niloticus*. Three lots of 6 fish each were constituted in aquariums containing 20 liters of water each. Lot 0 is the control group. Fish were poisoned with the leaves' powder of *T. vogelii* : 400mg/L (Lot 1) and 800 mg/L (Lot 2) of water. Histological sections of gills, liver and intestines of the fish were performed. At the end of this experiment, the mortality rate of poisoned fish was 100%. The dissolved oxygen level was 8.8 mg/L (Lot 0); 2.0 mg/L (Lot 1) and 1.8 mg/L (Lot 2). The intoxication by powder of leaves of *T. vogelii* induced in fish behavior changes, resulting in movements towards the surface of the water in search of oxygen from the 5th minute in lots 1 and 2. The agony followed by death occurred 15 minutes after poisoning in Lot 1 and 19 minutes in Lot 2. The gills of fish poisoned showed an erosion of the epithelium covering the gill lamellae. The other organs showed no injury. It appears from this study that the use of *Tephrosia vogelii* threatens the survival of *Oreochromis niloticus*.

Keywords : *Tephrosia vogelii*, *Oreochromis niloticus*, poisoning, gills, liver, intestine

Introduction

De Les produits halieutiques jouent un rôle très important dans la nutrition humaine dans le monde entier et au Bénin en particulier. Il constitue la principale source de protéines alimentaires dans de nombreux pays d'Afrique de l'ouest où l'approvisionnement en viande est insuffisant et onéreux. Selon les statistiques de la FAO, en 2009, le poisson a représenté 16,6% des apports en protéines animales de la population mondiale et 6,5% de toutes les protéines consommées (FAO, 2012). Il représente pour les populations à faible revenu la seule source de protéines accessibles, surtout dans les villes où

les petits élevages sont rares (Gret, 1993). D'après la Direction des Pêches (2011), la production halieutique du Bénin est estimée à 40757,18 tonnes(t), alors que la demande correspondant au seuil de carence en protéines halieutiques avoisine 90000 tonnes. Ce déséquilibre entre l'offre et la demande amène notre pays à recourir à l'importation massive des produits halieutiques congelés. Ce déficit en protéines halieutiques est lié non seulement à l'explosion démographique mais aussi et surtout à la surexploitation des eaux. En effet, dans l'objectif de maximiser leur pêche en un temps record, plusieurs pêcheurs

(*) Correspondance : Dougnon T. J. ; e-mail : dougnonj@yahoo.fr ; Tel : (00229) 97396411

font recours à des pratiques inconvenantes incluant l'usage des filets à maille fin et des plantes toxiques aux poissons.

Une des plantes toxiques utilisées est *Tephrosia vogelii*. Il s'agit d'un fabacée, légumineuse ligneuse ubiquitaire cultivée en Afrique dont la tige et les rameaux sont tomenteux (Dzenda et al., 2008). *Tephrosia vogelii* est utilisé en pharmacopée traditionnelle pour les soins de divers maux (Adomou et al., 2012). En raison de ces propriétés toxiques, la poudre des feuilles sèches de *Tephrosia vogelii* est utilisée comme

2- Matériels et méthodes

Le matériel vivant utilisé est composé des juvéniles de *Oreochromis niloticus* obtenus par reproduction naturelle des géniteurs à l'Unité de Formation et de Recherche en Pisciculture (UFRP) du Laboratoire d'Hydrobiologie et d'Aquaculture de la Faculté des Sciences Agricoles de l'Université d'Abomey-Calavi.

Le matériel végétal utilisé est la feuille de *Tephrosia vogelii* récolté dans le Département de l'Atlantique-Littoral (République du Bénin). Un moulin électronique de marque YG-9FQ® a été utilisé pour réduire la plante en poudre. La

2- Matériels et méthodes

Dispositif expérimental : Le dispositif expérimental est constitué de trois aquariums contenant vingt litres d'eau chacun. Dix-huit poissons ont été pêchés dans les bassins et répartis en partie égale dans les trois lots à raison de six poissons par lot. A cet effet un lot témoin a été constitué, les deux autres étant des lots expérimentaux. Le sexe (mâle et femelle) des poissons utilisés a été identifié. La longueur et le poids des poissons mesurés avant intoxication et se présentent comme suit :

- Intoxication et autopsie des poissons

Afin de réaliser l'intoxication des poissons, trois lots ont été constitués suivant les modalités ci-après :

Lot 0 : poissons non intoxiqués de longueur et de poids égal respectivement à $10,06 \pm 0,33$ cm et $14,55 \pm 1,13$ g ;

Lot 1 : poissons intoxiqués de longueur et de poids égal respectivement à $10,53 \pm 0,26$ cm et $18,1 \pm 1,53$ g avec 400 g de la poudre de *T. vogelii* par litre d'eau ;

Lot 2 : poissons intoxiqués de longueur et de poids égal respectivement à $9,36 \pm 0,45$ cm et $13,93 \pm 1,76$ g avec 800 g de la poudre de *T. vogelii*

poison de pêche (Belmain et al., 2012) et comme répulsif contre les rongeurs (Ogendo et al., 2004; Koono et Dorn, 2005). Cette pratique n'est pas sans conséquences sur la biodiversité et surtout la survie des poissons. Un des poissons les plus consommés et répandus au Bénin, est *Oreochromis niloticus* encore connu sous le nom de tilapia du Nil. Ce poisson est une des premières victimes de l'utilisation des produits toxiques en pêche. La présente étude a pour but d'évaluer l'effet de la toxicité de *T. vogelii* sur *Oreochromis niloticus* au Bénin.

plante a été séchée au soleil puis réduite en poudre. Le matériel de mesure et de laboratoire est constitué d'une balance électronique de marque Kern® (portée : 200 g, sensibilité : 0,01g) et d'un oxythermomètre de marque VOLTICRAFT® pour mesurer le taux d'oxygène dissous et la température de l'eau. Un pH/Conductimètre Metrohm 914 a été utilisé pour la mesure du pH et de la conductivité de l'eau des aquariums. Un ichtyomètre gradué en centimètre a servi à la prise de la longueur des poissons.

par litre d'eau.

Les poissons ont été intoxiqués à huit heures trente-cinq minutes dans les lots 1 et 2. La poudre de *T. vogelii* a été versée dans les aquariums. Le mélange de la poudre à l'eau a été réalisé avec un agitateur pendant une minute jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Après intoxication des poissons avec la poudre des feuilles de *T. vogelii*, 100% de l'effectif de chaque lot ont été disséqués. Les branchies, le foie et l'intestin de chaque poisson ont été prélevés.

- Examen histologique des branchies, du foie et de l'intestin

Les foies, les branchies et les intestins des poissons ont été examinés, prélevés et pesés puis fixés avec du formol tamponné à 10%. Ces organes ainsi fixés ont servi à la confection de coupes histologiques de 5µm d'épaisseur après coloration à l'APS (réactif de Schiff) et à l'hématéine-éosine (HE). Les coupes ont été observées au microscope photonique de marque Olympus BX-41 muni d'une caméra (JVC, 1/2 pouce). Les observations ont été faites au grossissement X 20 et X 40.

3. Résultats

3.1. Comportement des poissons intoxiqués : La réaction des poissons quatre minutes après l'intoxication n'a rien de différent avec leur comportement habituel. Les poissons nageaient au fond de l'aquarium par des mouvements alternatifs de la bouche et des opercules. La bouche s'ouvre en même temps que les opercules et se referment et vice versa. Dès la cinquième minute, il a été noté l'agitation des poissons qui faisaient mouvoir l'eau dans les deux lots (1 et 2). Les poissons venaient régulièrement à la

surface de l'eau en quête d'oxygène. Ce mouvement a été observé dix minutes après l'intoxication dans le lot 1 et quinze minutes après dans le lot 2. Après dix-neuf minutes, l'eau était devenue calme, les poissons du lot 1 avaient cessé de s'agiter et visiblement affaiblis, ils agonisaient dans l'eau au fond de l'aquarium. En ce qui concerne le lot 2, les agitations des poissons avaient cessé quinze minutes après l'intoxication (figures 1, 2 et 3).



Figure 1 : Mouvement normal des poissons (lot 0)



Figure 2 : Poissons venant à la surface de l'eau en quête d'oxygène (lot 1)



Figure 3 : Poisson agonisant au fond de l'aquarium (lot 2)

3.3. Paramètres physico-chimiques de l'eau des différents lots : Les données prises au niveau des différents aquariums au cours de l'expérience sont présentées dans le tableau 2. Le taux d'oxygène dissout a été plus faible au niveau des lots traités avec la poudre des feuilles de *Tephrosia vogelii*.

3.4. Lésions microscopiques des organes des poissons intoxiqués avec la poudre de *T. vogelii* : Les branchies des poissons du lot 0 sont normales (figures 4, 5 et 6) tandis que celles des poissons du lot 1 présentent une disparition quasi complète des lamelles branchiales (figures 7 et 8).

Tableau I : Paramètres physico-chimiques au niveau des aquariums.

Paramètres	Lots		
	Lot 0	Lot 1	Lot 2
Oxygène dissout (Mg/L)	8,8 à 25,8°C	2,0 à 25,5°C	1,8 à 25,5°C
Conductivité ($\mu\text{S/cm}$)	376	460	492
pH	5,20	5,10	5,20
Phosphate (Mg/L)	0	0,10	0
Dureté Calcique ($^{\circ}\text{F}$)	03	06	05
Dureté totale ($^{\circ}\text{F}$)	07	08	08
Titre Alcalimétrique ($^{\circ}\text{F}$)	0	0	0
Titre Alcalimétrique ($^{\circ}\text{F}$) Complet	250	150	100
Couleur 465 nm (PtCo)	0	46	52

L'observation de la coupe des branchies des poissons du lot 2, montre une érosion de l'épithélium recouvrant les lamelles branchiales qui s'étend jusqu'au support de plusieurs arcs branchiaux (figure 9). Les figures 9, 10 et 11 présentent respectivement la structure histologique des foies des poissons du lot 0, lot 1

et lot 2. Aucun aspect anormal n'a été observé pour les différents lots. L'intestin des poissons du lot 0 (figure 12) et du lot 1 (figure 13) présente une architecture normale et alors que celui des poissons du lot 2, nous montre de nombreuses cellules caliciformes (figure 14).

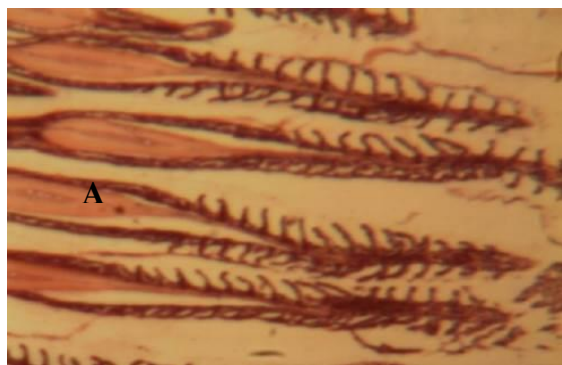


Figure 4 : Branchie normale du poisson du lot 0 (A : arcs branchiaux)

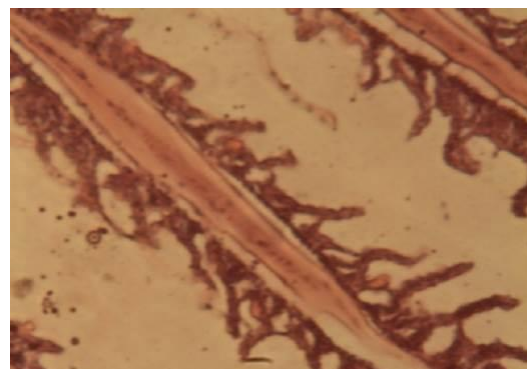


Figure 5 : Arc branchial normal du lot 0



Figure 6 : Lamelles branchiales normales du poisson du lot 0, C:Capillaires sanguins, E : épithélium.

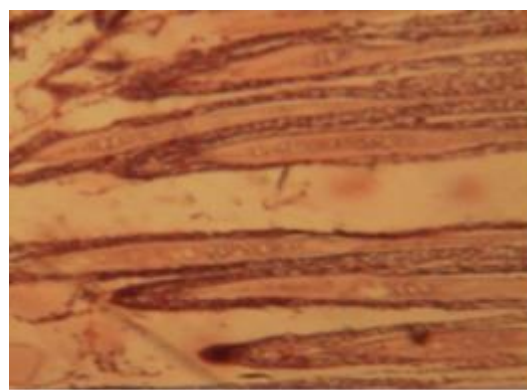


Figure 7 : Branchies (lot 1)

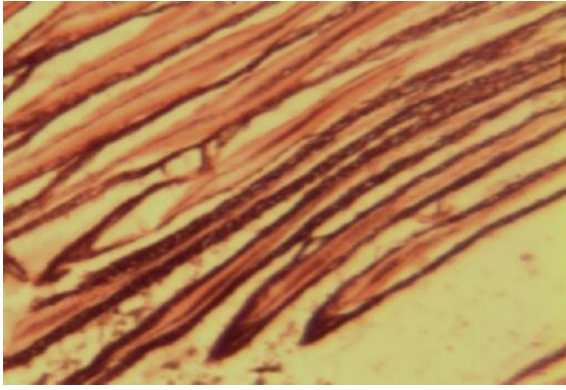


Figure 8 : Branchie du poisson du lot 2

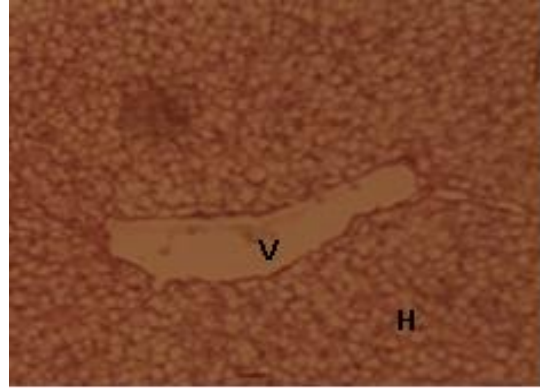


Figure 9 : Foie des poissons du lot 0,
V : veine centrolobulaire, H : hépatocytes.

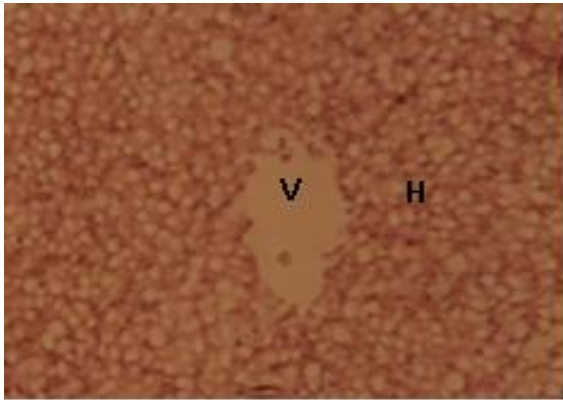


Figure 10 : Foie du poisson du lot 1

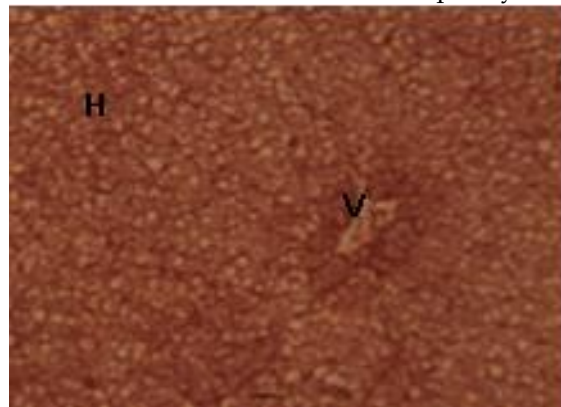


Figure 11 : Foie du poisson du lot 2



Figure 12 : Intestin du poisson du lot 0,
E: Epithélium, M: musculuse, V : villosités intestinales, SC : support cartilagineux

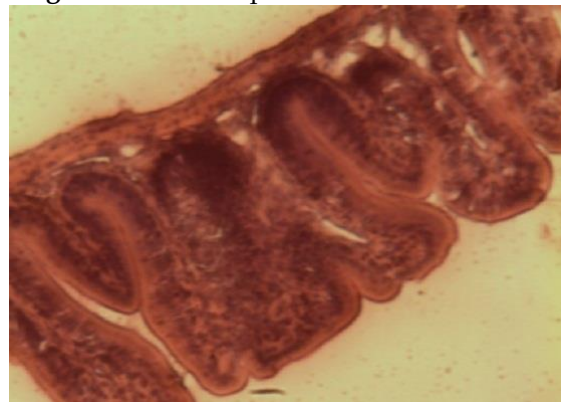


Figure 13 : Intestin du poisson du lot 1

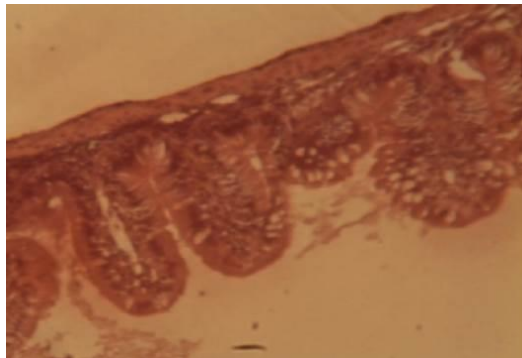


Figure 14 : Intestin du poisson du lot 2

4. Discussion

4.1. Influence de la concentration d'oxygène sur la mort des poissons : La respiration aérobie nécessite l'échange d'O₂ et de CO₂ entre le milieu intracellulaire et le milieu extérieur. Selon Genten et al. (2011), les branchies sont l'interface privilégiée permettant d'effectuer les échanges gazeux, à savoir l'extraction de l'O₂ dissous dans l'eau et le rejet du CO₂ sanguin. D'après De Kinkelin et al. (1985), les normes d'oxygène dissous sont situées entre 5,5 mg/l et 8,5 mg/l. Seul le lot témoin (Lot 1) a présenté un taux d'oxygène normal tandis que le taux d'oxygène dissous, après intoxication au *Tephrosia vogellii*, des lots 1 et 2 sont en dessous du minimum recommandé par ces auteurs. Selon Malcolm et al. (2000), *Oreochromis niloticus* manifeste un stress respiratoire traduisant une hypoxémie lorsque le taux d'oxygène dissout est en dessous de 3 mg/l. Chez les poissons, la lutte contre l'hypoxémie se manifeste par plusieurs réponses comportementales dont l'utilisation accrue de la respiration d'air ou respiration à la surface de l'eau (CCME, 1999). Ce transfert de respiration aquatique à la respiration aérienne serait à la base des mouvements de rotation étranges que nous avons observés chez ces poissons.

4.2. Lésions intestinales et hépatiques : Le foie et l'intestin des poissons intoxiqués avec *T. vogellii* présentent une architecture normale. Le manque de lésions apparentes laisse penser que la plante *T. vogellii* est sans effet nocif sur ces organes. Le foie et l'intestin font partie intégrante de l'appareil digestif du poisson. L'intégrité de ces organes est une preuve que la mort des poissons intoxiqués par *T. vogellii* n'est pas liée à leur éventuelle lésion. Cette constatation reconforte l'hypothèse d'absorption sans danger de la poudre de *T. vogellii* qui est pris oralement pour le traitement endogène des parasitoses internes au Bénin (Akoegninou et al., 2006). Ainsi, la voie d'intoxication par *T. vogellii* loin d'être la voie orale laisse soupçonner autres circuits de dommages organiques créés par la poudre de cette plante chez le poisson. Cependant l'abondance des cellules caliciformes notée au niveau du lot 2 serait due à la pénétration dans l'organisme des poissons, des corps étrangers (poudre de *T. vogellii*) lorsque ceux-ci se

débattaient. En effet, ces cellules caliciformes ont pour rôle à travers les mucus qu'elles sécrètent, d'absorber tout corps étranger à l'organisme ; ce qui pourrait expliquer leur multiplication chez ces poissons intoxiqués.

4.3. Lésions branchiales : Les poissons respirent au moyen des branchies, organes à parois très minces, de couleur rouge parce que fortement vascularisées. L'eau qui sert à la respiration, entre par la bouche et en ressort par les fentes branchiales (Amat, 2009). Le transfert de l'oxygène par le système respiratoire est réalisé par l'hémoglobine contenu dans le sang (Elouard et al., 1982).

La dilatation des capillaires sanguins observée après la coupe histologique des branchies serait liée à la poudre de *T. vogellii*. En effet, selon Hassan Al-Hazimi et al. (2005), cette plante contient de la roténone. Erikson (2006) rapporte que la roténone agit sur la respiration des poissons en bloquant le transfert de l'oxygène de l'eau vers le sang au travers des branchies. Pour conserver son niveau de métabolisme, le poisson doit donc augmenter la capacité de transport d'oxygène du sang en élevant la concentration d'hémoglobine ou en augmentant l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène (Lykkeboe et al., 1975). La dilatation des capillaires sanguins aurait perturbé ce processus de transport d'oxygène décrit par l'auteur. Ce blocage du transfert d'oxygène provoquerait l'agitation des poissons, observée lors de l'intoxication. L'hypoxie favorise le manque d'irrigation sanguine et par conséquent crée des lésions branchiales.

L'observation de la coupe histologique a montré une érosion massive des lamelles branchiales et des arcs branchiaux. Cette lésion branchiale confirme l'idée de Matsumura (1975) qui affirme que chez les poissons, la roténone agit dès le contact avec les branchies. Charlet (2002) décrit que, suite à l'action de la roténone, les poissons en quelques secondes sont asphyxiés et remontent à la surface avant de mourir alors que nous avons enregistré la mort des poissons 26 minutes après intoxication avec *T. vogellii*.

Conclusion

Dans Les modifications physiologiques et comportementales importantes, l'érosion massive des lamelles branchiales et des arcs branchiaux

entraînant la mort chez les poissons sont dus à l'action de la poudre de *T. vogellii*. Ces résultats démontrent le danger que constitue l'usage de

cette plante comme moyen de pêche massive. Ce danger réside principalement dans la destruction

de la faune aquatique et dans la pollution des eaux.

Références

- Adam K. et Boko M. (1983):** Le Bénin, *Edicef*, Paris 1983 – p.95.
- Adomou A. C., Yedomonhan H., Djossa B., Legba S. I., Oumorou M., Akoegninou A.,** 2012. Étude ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. *International Journal of Biological and Chemistry Sciences*, 6 (2): 745-772.
- Akoegninou A., van der Burg W. J., van der Maesen I. J. G., Adjakidjè V., Essou J. P., Sinsin B., Yedomonhan H.,** 2006. Flore analytique du Bénin. Ed. Backhuys Publishers Wageningen p 949.
- Belmain S. R., Amoah B. A., Nyirenda S. P., Kamanula J. F., Stevenson P. C.,** 2012. Highly variable insect control efficacy of *Tephrosia vogelii* chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 10055 – 10063.
- Charlet L.,** 2002. L'or et le poison. *La Recherche*, 359 : 52-59.
- Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement (CCME) :** 1999. Recommandations canadiennes pour la qualité des eaux : protection de la vie aquatique - oxygène dissous (eau douce), dans Recommandations canadiennes pour la qualité de l'environnement, 1999, Winnipeg, le Conseil.
- De Kinkelin P., Michel C., Ghittino P.,** 1985. Précis de pathologie des poissons. Office Internationale des Epizooties-INRA TEC & DOC; Ed. Lavoisier, pp 348.
- Direction des pêches (République du Bénin),** 2011. Statistiques de pêche.
- Dzenda T., Ayo J. O., Adelaiye A. B., Auda A. O.,** 2008. Ethnomedical and veterinary uses of *Tephrosia vogelii* Hook F (Fabaceae): a review. *The Australian Journal of Medical Herbalism*, 20 (2): 71-80.
- Elouard J. M., Dejoux C., Troubat J. J.,** 1982. Action de *Tephrosia vogelii* (Leguminosae) employé dans les pêches traditionnelles sur les invertébrés benthiques de la Maraoué (Côte d'Ivoire). *Revue d'hydrobiologie Tropicale*, 15 : 177-188.
- FAO.** 2012. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2012. Rome. 241p
- Genten F., Terwinghe, E., Danguy A.,** 2011. Histologie illustrée du poisson. Editions Quae.
- Gret.** 1993. Conserver et Transformer le poisson. Ministère de la coopération et le Gret. 285p.
- Hassan Al-Hazimi M. A., Nabila Al-Jaber A., Rafiq Siddiqui H.,** 2005. Phenolic compounds from *Tephrosia* plants (Leguminosae). *Journal of Saudi Chemical Society*, 9:597-622.
- Koona P., Dorn S.,** 2005. Extracts from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seeds against damage by three bruchid species. *Annals of Applied Biology*, 147: 43-8.
- Kramer D.L., Mc Clure M.** 1982 - Aquatic surface respiration, a widespread adaptation to hypoxia in tropical freshwater fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 7: 47-55.
- Lambert N., Trouslolot M.-F., Nef-Campa C., Chrestin H.,** 1993. Production of rotenoids by heterotrophic and photomixotrophic cell cultures of *Tephrosia vogelii*. *Phytochemistry*, 34: 1515-1520.
- Lykkeboe G., Johansen K., Maloiy G. M. O.,** 1975. Functional properties of hemoglobins in the teleost *Tilapia grahami*. *Journal of comparative physiology*, 104 (1): 1-11.
- Malcolm C., Beveridge H., McAndrew B. J.,** 2000. Tilapias: biology and exploitation. Institute of aquaculture. University of Stirling, Scotland. Kluwer Academic Publishers: 185 p
- Nonnotte G.,** 1981. Cutaneous respiration in six freshwater teleosts. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 70a : 41-543.
- Ogendo J. O., Deng A. L., Belmain S. R., Walker D. J., Musandu A. A. O.,** 2004. Effect of insecticidal plant materials, *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* Hook, on the quality parameters of stored maize grains. *Journal of Food Technology in Africa*, 9 (1): 29-36.