



HAL
open science

Stérilisation des testicules de guppies par des doses non létales de parathion

Roland Billard, Pierre de Kinkelin

► **To cite this version:**

Roland Billard, Pierre de Kinkelin. Stérilisation des testicules de guppies par des doses non létales de parathion. *Annales d'Hydrobiologie*, 1970, 1 (1), pp.91-99. hal-01600219

HAL Id: hal-01600219

<https://hal.science/hal-01600219>

Submitted on 2 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.

STÉRILISATION DES TESTICULES DE GUPPIES PAR DES DOSES NON LÉTALES DE PARATHION

R. BILLARD et P. de KINKELIN

avec la collaboration technique de Anna-Marie ESCAFFRE

*Station centrale de Physiologie animale,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Station de Virologie et d'Immunologie, 78 - Thiverval-Grignon
Institut national de la Recherche agronomique*

RÉSUMÉ

Le parathion, aux doses de 0,01 à 1 p.p.m. n'entraîne pas de mortalité importante. Une brève exposition de six jours ne provoque pas d'altération de la spermatogenèse chez les mâles adultes et n'affecte pas l'établissement de la spermatogenèse chez les mâles immatures. Une exposition prolongée de 40 jours provoque une dégénérescence de toutes les catégories de cellules germinales dans le testicule, à l'exception des spermatogonies de l'apex.

INTRODUCTION

L'influence néfaste des insecticides, et principalement du DDT, a été étudiée sur la survie des poissons dans ses effets directs (VIVIER et NISBET, 1965 ; OGLIVIE et ANDERSON, 1965 ; SAUNDERS, 1969 ; MACEK, 1968 *a* ; ANDERSON, 1968) ou indirects (IDE, 1967) et sur la reproduction (BURDICK *et al.*, 1964 ; CLEMENS *et al.*, 1966 ; CUERRIER *et al.*, 1967 ; MACEK, 1968 *b*). Cependant, les effets du parathion qui se révèlent extrêmement néfastes sur les cellules germinales d'Oiseaux (LUTZ-OSTERTAG et MEINIEL, 1968 ; LUTZ-OSTERTAG, MEINIEL et LUTZ, 1969) n'ont pas été étudiés chez les Poissons. Le présent travail traite de l'action du parathion sur la spermatogenèse du Guppy *Poecilia reticulata* PETERS (Poisson téléostéen).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel animal provient de la souche élevée au laboratoire. Les guppies sont élevés à la température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sous une photopériode de 14 L-10 N et sont nourris tous les jours avec un mélange de 80 p. 100 de « Tétramin » du commerce et de 20 p. 100 d'un aliment pour truite dosant 40 p. 100 de protéines. L'oxygénation est assurée par un barbotage d'air comprimé qui maintient le taux d'oxygène au voisinage de la saturation.

La toxicité des insecticides organophosphorés sur les poissons n'étant pas notablement influencée par les qualités de l'eau (pH, dureté, alcalinité) (PICKERING et HENDERSON, 1966), les caractéristiques de l'eau utilisée au cours des expériences rapportées ici n'ont pas été contrôlées.

Le parathion employé est un produit commercial dosant 40 p. 100 de thiophosphate de diméthyl-paranitrophénol.

Expérience I

Des guppies mâles adultes d'un poids moyen de 100 mg sont répartis en 5 lots de 20, dans des aquariums en chlorure de polyvinyle d'une contenance de 10 l et recevant respectivement 0 (témoin), 0,01-0,1-1-10 p.p.m. de produit pur. L'eau et le produit sont renouvelés deux fois par semaine pendant 40 jours. La mortalité est contrôlée tous les jours. Au 40^e jour, 5 mâles de chaque groupe sont sacrifiés. Les gonades des mâles sacrifiés au 40^e jour sont fixées dans le Bouin Hollande pendant au moins 3 jours. Les coupes de 10 μ sont colorées par la réaction de Feulgen (hydrolyse dans HCl, N, 10 minutes à 58-60°C).

Expérience II

Cette expérience, qui est analogue à la précédente, porte sur des jeunes guppies immatures âgés d'environ 10 jours et des mâles adultes qui sont soumis aux mêmes doses, mais pendant 6 jours seulement.

L'influence du traitement est évaluée par l'évolution, au cours du temps, de la mortalité et des différentes catégories cellulaires dénombrées selon la méthode déjà exposée (BILLARD, 1969 a et b).

RÉSULTATS

Analyse de la mortalité

La figure 1 montre que la mortalité est faible dans les groupes soumis à des doses de 0,01 à 1 p.p.m. de parathion pendant 40 jours. Par contre, à la dose de 10 p.p.m., la mortalité est très importante et tous les animaux meurent au bout de quelques heures.

*Évolution des différentes catégories de cellules germinales**Expérience I. — Animaux soumis au traitement pendant 40 jours*

Les résultats, résumés dans la figure 2, montrent qu'après 40 jours d'exposition à des doses non létales de parathion (0,01-0,1 et 1 p.p.m.), il y a une diminution de toutes les catégories de cellules germinales. Cependant, les premières générations spermatogoniales sont plus résistantes que les dernières. A la dose de 1 p.p.m. l'absence des spermatides est vraisemblablement due à la disparition quasi totale des dernières générations spermatogoniales.

Il subsiste toujours un certain nombre de spermatogonies dans les apex des tubules (fig. 6). Les cellules germinales qui subsistent dans le testicule restent vraisemblablement fonctionnelles, puisque deux mois après la fin du traitement la spermiogénèse est rétablie.

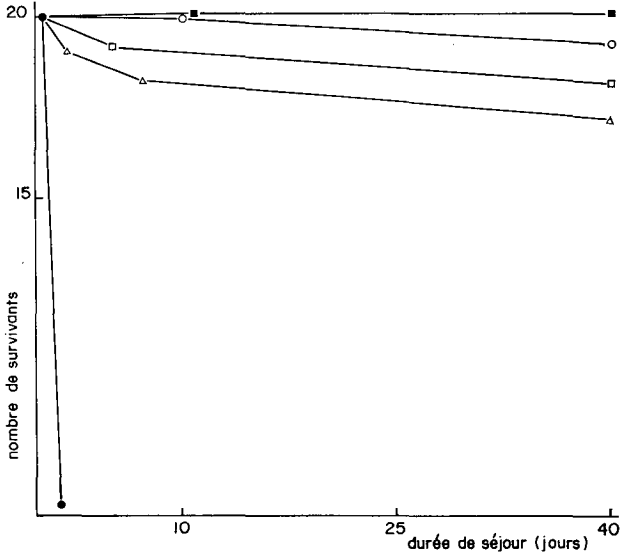


FIG. 1. — Évolution de la mortalité de mâles *Guppies* adultes placés dans des milieux contenant des doses croissantes de parathion

■ témoin : 0 p.p.m.
 ○ dose : 0,01 p.p.m.
 □ — : 0,1 —
 △ — : 1 —
 ● — : 10 —

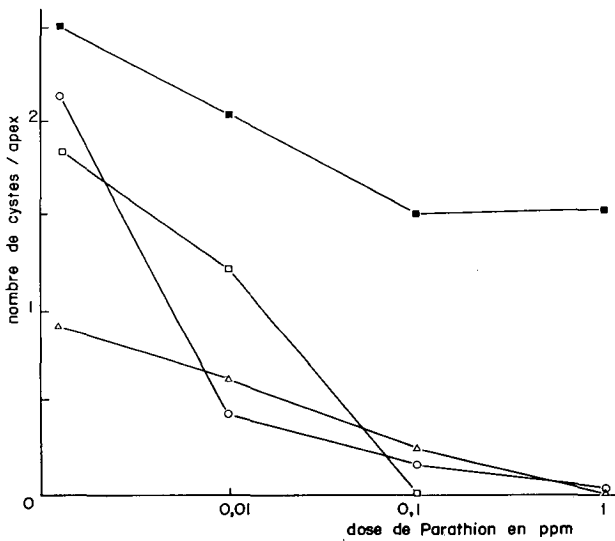


FIG. 2. — Évolution du nombre de cystes de cellules germinales chez le Guppy mâle adulte en fonction de la dose de parathion ajoutée dans l'eau d'élevage

■ Spermatozoons G₁-G₇
 ○ — G₈-G₁₄
 △ Spermatozoocytes I
 □ Spermatozooids S₁ à S₄

Pendant la période de traitement, la taille du testicule diminue, mais des spermatozoïdes subsistent au centre du testicule et seule la partie périphérique de la gonade est réduite du fait des dégénérescences (fig. 6). Le traitement aux doses de 0,01 à 1 p.p.m. n'entraîne pas de différence significative dans le poids des animaux par rapport aux témoins.

Expérience II. — Animaux soumis au traitement pendant une courte durée (6 jours)

Des contrôles histologiques effectués sur des gonades de mâles 4 jours après la fin du traitement ont montré que quelques cystes, qui correspondent aux dernières générations spermatogoniales et aux premières étapes de la spermiogenèse, étaient en dégénérescence dans les lots de 0,01-0,1 et 1 p.p.m. Dans les testicules des animaux sacrifiés au 40^e jour de l'expérience (c'est-à-dire 34 jours après la fin du traitement), la spermatogenèse est pratiquement rétablie ; il reste cependant des cystes en dégénérescence (fig. 5).

Chez les jeunes guppies mâles et femelles, l'établissement de la gamétogenèse et la différenciation sexuelle ne sont pas affectés par le traitement de courte durée (fig. 3 et 4).

DISCUSSION

Aux doses non létales et après 40 jours de traitement, le parathion est susceptible d'entraîner chez le Guppy mâle une stérilité qui se révèle cependant réversible, alors que des séjours de courte durée (6 jours) n'ont pas d'effets notables. Le parathion exerce une action sélective sur certaines catégories de cellules germinales, ce qui rappelle les résultats obtenus après hypophysectomie (BILLARD, 1969 *b* ; PANDEY, 1969) ou après administration de méthallibure (BILLARD *et al.*, 1970). Une similitude entre les résultats obtenus après hypophysectomie et après administration de méthallibure a été signalée par ailleurs sur la spermatogenèse du Rat (HEMSWORTH *et al.*, 1968). Ces constatations, associées aux résultats de LUTZ-OSTERTAG *et al.* (1969) qui montrent qu'en présence de parathion, la stéroïdogénèse ne serait pas normale dans les testicules de Caille, permettent de concevoir que l'intervention de cet insecticide pourrait se situer au niveau de la fonction gonadotrope. On sait, d'autre part, que les insecticides organophosphorés entraînent une inhibition de l'activité cholinestérasique chez les Mammifères (CASIDA, 1964) et chez les Poissons, dans le sérum (EISLER, 1967) et le cerveau (HOLLAND et LOWE, 1966 ; NICHOLSON, 1967 ; WEISS, 1965). Les effets de ces insecticides sont comparables à ceux d'autres composés anticholinestérasiques (WEISS, 1958). Il semble cependant que les effets observés ne résultent pas uniquement de l'inhibition de l'acétylcholinestérase (MATTON et LAHAM, 1969).

La vacuolisation observée dans les testicules de Caille soumis au parathion en culture *in vitro* (LUTZ-OSTERTAG et MEINIEL, 1968) ne se produit pas chez le Guppy. Dans cette espèce, la mortalité due au parathion apparaît ici moins forte que celle citée par ALDUNG *et al.* (1957) où la dose létale 100 p. 100 au bout de 24 heures (DL_{100-24 h}) est de 1 p.p.m., mais chez un autre cyprinodontidé, *Gambusia affinis*, FERGUSON et BOYD (1964) ont montré que la résistance au parathion est susceptible de varier selon les souches.

La résistance des Guppies au parathion est plus forte que celle des Gambusies

qui meurent dans la proportion de 50 p. 100 (DL_{50}) au bout de 48 heures à la concentration de 0,2 p.p.m. (CULLEY et FERGUSON, 1969). Le Guppy est également plus résistant que *Ictalurus punctatus* qui meurt à des doses de 0,3 p.p.m. de parathion (MOUNT et BOYLE, 1969) ou que la Carpe (DL_{100-96} h) pour une dose de 0,2 p.p.m. (LAHAV et SARIG, 1969). Par contre, les Guppies sont plus sensibles à d'autres insecticides, tels que le Dieldrin où la DL_{50} à 4 jours est atteinte aux concentrations de 0,021 p.p.m. (CAIRNS et LOOS, 1966) ou 0,022 p.p.m. (HENDERSON *et al.*, 1959). Il faut cependant noter que dans la présente expérience l'alimentation en parathion n'est pas continue, de sorte que les animaux ne sont pas soumis à des doses constantes ; les teneurs réelles de 0,01-0,1 et 1 p.p.m. n'existent qu'à chaque renouvellement.

Il semble qu'à doses comparables le parathion soit plus nocif sur la fertilité des poissons que des produits à base d'« arizidinyl » utilisés dans la stérilisation des insectes et qui se révèlent également moins toxiques — DL_{50} à 4 jours = 5 000 p.p.m. chez *Fundulus majalis* (EISLER, 1966) et 190 p.p.m. chez le Guppy (STOCK et COPE, 1969).

CONCLUSION

Des guppies mâles, soumis à un séjour de longue durée dans un milieu contenant des doses non létales de parathion présentent une inhibition presque complète de la spermatogenèse. Cette constatation confirme l'idée, actuellement fort répandue, selon laquelle l'évaluation de la dose létale 50 p. 100 n'est pas un critère suffisant pour rendre compte des dommages que peuvent causer les polluants des eaux sur les poissons. La gamétogenèse doit constituer l'un des critères complémentaires dont il convient de tenir compte dans la définition des doses de pesticide tolérables dans les eaux.

Reçu pour publication en avril 1970.

REMERCIEMENTS

Nous remercions MM. LEYNAUD et FROC pour les conseils qu'ils nous ont donnés.

SUMMARY

STERILIZATION OF THE TESTICLES OF GUPPIES BY MEANS OF NON-LETHAL DOSES OF PARATHION

Young immature guppies and adult males are treated in dilute parathion, at doses of 0.01-0.1-1 and 10 p.p.m. At the 10 p.p.m. dose, fish die within a few hours, other concentrations do not cause a high mortality rate (fig. 1) or alter spermatogenesis, if the exposure time is short (six days). On the contrary, if the fish remains in parathion over a prolonged period (40 days), there is a marked inhibition of spermatogenesis, expressed by a decrease in the number of germinal cells which is the greater, the higher is the dose of parathion. Results are similar to those obtained after hypophysectomy, which enables to suppose that parathion may play a role in the gonadotropic factors. These results confirm the necessity to define pesticide doses supportable in water, not using TLM but various criteria including gametogenesis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALDUNG K. G., BODENSTEING G., MULLER-BASTGEN G., KAUTH H., 1957. Ueber die Toxizität einiger Pflanzenschutzmittel für Fische. *Aquaristik*, 3, 4. Cité par BAUER K., 1961. *Mitt. biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtsch., Dtsch.*, **105**, 34-36.
- ANDERSON J. M., 1968. Effect of sublethal DDT on the lateral line of brook trout *Salvelinus fontinalis*. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **25**, 12, 2677-2682.
- BILLARD R., 1969 a. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**, 2, 251-271.
- BILLARD R., 1969 b. Hypophysectomie et spermatogenèse chez *Poecilia reticulata* (Poisson Cyprinodontidae). *C. R. Acad. Sci., Fr.*, série D, 268, 1856-1859.
- BILLARD R., BRETON B., JALABERT B., 1970. Inhibition de la spermatogenèse du Guppy (Poisson Cyprinodontidae) par le méthallibure. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10** (sous presse).
- BURDICK G. E., HARRIS E. J., DEAN H. J., WALKER T. M., SKEA J., COLBY D., 1964. The accumulation of DDT in lake trout and the effect on reproduction. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **93**, 2, 127-136.
- CAIRNS J. JR., LOOS J. J., 1966. Changes in Guppy population resulting from exposure to dieldrin. *Progr Fish Cult.*, **28**, 4, 220-226.
- CASIDA J. E., 1964. Esterase inhibitors as pesticides. *Science*, **146**, 3647, 1011-1017.
- CLEMENS H. P., BHINYOYING S., YOUNGSTAD N., 1966. An evaluation of dylox medication on growth and reproduction of the goldfish and guppy. *Progr Fish Cult.*, **28**, 3, 159-161.
- CUERRIER J. P., KEITH J. A., STONE E., 1967. Problems with DDT in fish culture operations. *Naturaliste canad.*, **94**, 315-320.
- CULLEY D. D. JR., FERGUSON D. E., 1969. Patterns of insecticide resistance in the mosquitofish *Gambusia affinis*. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **26**, 9, 2395-2401.
- EISLER R., 1966. Effects of apholate, an insect sterilant, on an estuarine fish, shrimp, and gastropod. *Progr Fish Cult.*, **28**, 3, 154-158.
- EISLER R., 1967. Tissue changes in puffers exposed to methoxychlore and methyl parathion. *Techn. Pap. Bur. Sp. Fish. Wildl.*, **17**, 15 p.
- FERGUSON D. E., BOYD C. E., 1964. Apparent resistance to methyl parathion in mosquitofish *Gambusia affinis*. *Copeia*, **4**, 706.
- HEMSWORTH B. N., JACKSON M., WALPOLE A. L., 1968. Effect of the pituitary inhibitor I. C. I., 38 828 (methallibure) on the reproductive system of male rats. *J. Endocr.*, **40**, 275-284.
- HENDERSON C., PICKERING Q. H., TARZWELL C. M., 1959. Relative toxicity of ten chlorinated hydrocarbon insecticides to four species of fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **88**, 1, 23-32.
- HOLLAND H. T., LOWE J. I., 1966. Malathion : chronic effects on estuarine fish. *Mosquito News*, **26**, 383-385.
- IDE F. P., 1967. Effects of forest spraying with DDT on aquatic insects of salmon streams in New Brunswick. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **24**, 4, 769-805.
- LAHAV M., SARIG S., 1969. Sensitivity of pond fish to cotnion (azinphosmethyl) and parathion. *Bamid-geh*, **21**, 3, 67-74.
- LUTZ-OSTERTAG Y., MEINIEL R., 1968. Action stérilisante du o,o-diéthyl-o-paranitrophénil thiophosphate sur les testicules de l'embryon de caille *Coturnix coturnix japonica*, en culture *in vitro*. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, série D, 267, 1, 96-97.
- LUTZ-OSTERTAG Y., MEINIEL R., LUTZ H., 1969. Embryologie expérimentale. Action du parathion sur le développement de l'embryon de caille. *C. R. Acad. Sci., Fr.*, **268**, 2911-2913.
- MACEK K. J., 1968 a. Growth and resistance to stress in brook trout fed sublethal levels of DDT. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **25**, 11, 2443-2451.
- MACEK K. J., 1968 b. Reproduction in brook trout *Salvelinus fontinalis* fed sublethal concentrations of DDT. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **25**, 9, 1787-1796.
- MATTON P., LAHAM W. N., 1969. Effect of the organophosphate dylox on rainbow trout larvae. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **26**, 8, 2193-2200.
- MOUNT D. I., BOYLE H. W., 1969. Parathion. Use of blood concentration to diagnose mortality of fish. *Envir. Sci. Technology*, **3**, 11, 1183-1185.
- NICHOLSON H. P., 1967. Pesticide pollution control. *Science*, **158**, 871-876.
- OGLIVIE D. M., ANDERSON J. M., 1965. Effect of DDT on temperature selection by young Atlantic salmon *Salmo salar*. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **22**, 2, 503-512.
- PANDEY S., 1963. Effects of hypophysectomy on the testis and secondary sex characters of the adult guppy *Poecilia reticulata* PETERS. *Can. J. Zool.*, **47**, 5, 775-781.
- PICKERING Q. H., HENDERSON C., 1966. The acute toxicity of some pesticides to fish. *Ohio J. Sci.*, **66**, 508-513.

- SAUNDERS J. W., 1969. Masse mortalities and behaviour of brook trout and juvenile Atlantic salmon in a stream polluted by agricultural pesticides. *J. Fish. Res. Bd Can.*, **26**, 3, 695-699.
- STOCK J. N., COPE O. B., 1969. Some effects of Tapa, an insect chemosterilant on the Guppy *Poecilia reticulata*. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **98**, 2, 280-287.
- VIVIER P., NISBET M., 1965. Toxicity of some herbicides, insecticides, and industrial wastes. In TARZ-WELL C. M., *Biological problems in water pollution. 3rd seminar, 1962*, 1 vol., 167-169, R. A. Taft Sanitary Engineering Center, Cincinnati.
- WEISS C. M., 1958. The determination of cholinesterase in the brain tissue of three species of fresh water fish and its inactivation *in vivo*. *Ecology*, **39**, 194-199.
- WEISS C. M., 1965. Use of fish to detect organic insecticides in water. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **37**, 647-658.
-

PLANCHE I

FIG. 3

Testicule d'un jeune mâle Guppy immature soumis à un traitement de 1 p.p.m. de parathion pendant 5 jours et sacrifié au 9^e jour.

L'aspect du testicule est normal, seules quelques cellules picnotiques peuvent être identifiées (*flèches*), *ct* : ébauche du canal testiculaire.

FIG. 4

Testicule d'un jeune mâle ayant subi le même traitement que précédemment, mais sacrifié au 40^e jour.

Le démarrage de la spermatogenèse a eu lieu ; les spermatogonies se sont multipliées et les canaux déférents (*cd*) se sont formés. Dans les apex (*a*) localisés à la périphérie du testicule, les spermatogonies se divisent également. Il subsiste encore quelques paquets de cellules germinales picnotiques (*flèches*).

FIG. 5

Testicule de mâle adulte soumis à un traitement de 1 p.p.m. de parathion pendant 5 jours et sacrifié au 40^e jour.

Les apex (*a*) localisés à la périphérie, les cystes à spermatogonies (*G*) et à spermatocytes (*Sp.c. I*) ont un aspect normal. Par contre des cystes à spermatides peuvent être en dégénérescence complète (*flèche*) ou partielle (*S3*).

FIG. 6

Testicule d'un mâle adulte placé dans une solution de 1 p.p.m. de parathion pendant 40 jours et sacrifié à la fin du traitement.

Il ne subsiste que des apex (*a*) et des cystes de spermatogonies dont certains peuvent se diviser. Il reste encore des spermatozoïdes (*Spz*) dans le canal testiculaire.

