

# TOXICITE A COURT TERME A L'EGARD DU VAIRON (*Phoxinus phoxinus* L) DE DIVERS FONGICIDES

B. BARBIER, P. CHAMP

Laboratoire de Physio-Toxicologie du C.T.G.R.E.F.  
Division Qualité des Eaux, Pêche et Pisciculture  
14, avenue de Saint-Mandé - 75012 PARIS

---

Sommaire : Des tests de toxicité à court terme réalisés sur le vairon (*Phoxinus phoxinus* L.) ont permis de définir la toxicité relative de 7 fongicides à usage agricole. Le thirame, avec une C L 50 — 96 heures, de 0,016 mg/l s'est révélé le plus toxique. Puis viennent, par ordre de toxicité aiguë décroissante, le manèbe, le mancozède, le benomyl, le quintozène, le méthirame de zinc et le zinèbe.

## 1 — CARACTERISTIQUES DES PRODUITS TESTES (1)

Ce sont des fongicides se présentant sous forme de poudres et susceptibles d'être utilisés en cressiculture pour combattre la maladie de la « Racine Tordue » (*Spongospora subterranea*) du Cresson. Ils nous ont été fournis par le Centre de Vulgarisation Horticole de l'Oise. Il s'agit des produits suivants :

### — Thirame ou TMDT —

Poudre claire à 80 % de matière active

Groupe des dithiocarbamates

Matière active : Disulfure de tétraméthylthiurane

Formule brute :  $C_6H_{12}N_2S_4$

---

(1) Caractéristiques extraites des documents fournis par le Centre de Vulgarisation Horticole de l'Oise.



Se décompose au-dessus de 240° C

Peu soluble dans l'eau

Dose létale pour le rat, par ingestion : 7 500 mg/kg

Noms commerciaux :	Dithane M 22	Rhodianèbe
	Manetol	Manganèbe
	Manesan	Sopranèbe
	Manerit	Manate
	Manoran	etc ...

— **Mancozèbe** —

(Dithane M 45)

Poudre d'un jaune verdâtre à 80 % de matière active

Groupe des dithiocarbamates

Dose létale pour le rat, par ingestion : 6750 mg/kg

Noms commerciaux : Dithane M 45  
Sandozèbe  
Turbozèbe

— **Quintozène ou P.C.N.B.** —

Poudre grise à 30 % de matière active

Dérivé du benzène

Noms commerciaux : Chloremol  
Brassicol  
Saniclor  
Fongiclor

— **Benomyl (Benlate)** —

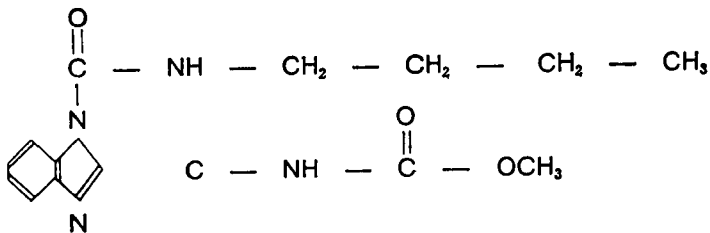
Poudre gris clair à 50 % de matière active

Matière active : Ester méthylique de l'acide 1 (butyl-carbamoyl)

— 2 — benzimidazole carbamique.

Formule brute :  $C_{14}H_{18}N_4O_3$

Formule développée :



Insoluble dans l'eau.

Dose létale pour le rat, par ingestion : 9600 mg/kg

— Méthirame de zinc —

Poudre d'un jaune très pâle.

Association de carbatène de zinc et de dithiocarbamate.

Toutes ces poudres ont été fournies sous leur forme commerciale. Il n'a pas été possible d'obtenir les produits purs.

Les toxicités évaluées sont donc celles des produits actifs accompagnés de leurs adjuvants respectifs. Cependant toutes les concentrations mentionnées dans le présent travail sont exprimées en milligrammes de matière active par litre de solution (ou encore ppm = parties par million).

## 2 — CONDITIONS EXPERIMENTALES

### 21 — Organisme test

- **espèce** : le **vairon** (*Phoxinus phoxinus* L.), espèce accompagnant la truite dans les rivières salmonicoles, a été utilisé pour la totalité des essais.
- **origine** : les sujets utilisés, de poids (3 à 4 g) et de tailles (7 à 8 cm) voisins, proviennent de lots prélevés parmi la population naturelle d'une petite rivière à truite de Seine-&Marne. Ils sont sains et en parfaite condition physique.

### 22 — Eau de dilution

L'eau employée pour les essais est une eau naturelle de source, assez minéralisée, dont les caractéristiques principales, au niveau des aquariums d'essai, sont les suivantes :

— Température .....	17 ± 1° C
— pH .....	7,2
— Oxygène dissous .....	9,2 mg/l
— Conductivité à 20° C .....	530 . 10 <sup>-6</sup> mho
— Oxydabilité à froid en 4 heures (milieu acide) ....	0,7 mg/l
— Matières en solution totales (E.S.) .....	402 mg/l
— Calcium en Ca <sup>++</sup> .....	122 mg/l

### 23 — Procédure

L'expérimentation a pour objectif la détermination de la concentration létale moyenne sur 96 heures (CL 50 — 96 h.), c'est-à-dire la concentration entraînant la mort de la moitié des sujets soumis au toxique pendant 96 heures, et des concentrations létales pour des pourcentages déterminés de l'effectif testé (CL 1, CL 10, CL 80 — 96 heures).

A cet effet, diverses concentrations du produit sont réalisées dans des aquariums avec l'eau de dilution et testées simultanément, chacune sur plusieurs sujets (5 vairons par 20 litres de solution). Le nombre de ceux-ci est porté à 10 au moins pour les concentrations voisines de la CL 50. Chaque série d'essais comporte toujours un aquarium témoin contenant 5 vairons dans l'eau de dilution pure. Aucune mortalité n'a été observée dans les aquariums témoins.

Les essais sont conduits de façon semi-statique pendant 96 heures : les solutions étant renouvelées toutes les 24 heures, le taux d'oxygène dissous reste supérieur à 5 mg/l.

A l'issue des tests les poissons sont remis dans l'eau naturelle et leur comportement est contrôlé pendant 4 jours, les mortalités éventuelles étant comptabilisées à part (chiffres entre parenthèses dans les 3ème et 7ème colonnes des tableaux de résultats) mais prises en compte dans les pourcentages de mortalité pour le calcul des concentrations létales.

### 3 — RESULTATS

#### 31 — Thirame (poudre à 80 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
0,20	5	0	5	—	—	—	100
0,15	5	0	5	—	—	—	100
0,12	5	0	0	3	5	—	100
0,10	5	0	0	4	4	5	100
0,08	10	0	1	6	9	10	100
0,05	10	1	6	7	8	9	90
0,04	5	0	1	3	4	5	100
0,036	5	0	1	2	2	5	100
0,032	15	1	1	6	12	14	93
0,028	15	3 (—1)	0	1	3	12 (+ 1)	86
0,024	15	10 (—2)	0	1	5	5 (+ 2)	46
0,020	15	4 (—1)	0	0	5	11 (+ 1)	80
0,016	15	7 (—1)	0	0	5	8 (+ 1)	60
0,012	10	7	0	0	0	3	30

Le thirame est le composé qui s'est révélé le plus toxique. La mort est généralement précédée par une phase de perte de l'équilibre qui peut durer jusqu'à 24 heures. Aux concentrations de 0,020 mg/l et plus les survivants présentaient parfois à la fin des tests des comportements anormaux : profonde torpeur ou nage déséquilibrée en spirale. Ces observations expliquent les mortalités fréquentes observées après retour en eau naturelle et consécutives aux tests.

#### 32 — Zinèbe (poudre à 65 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
100	5	0	1	4	5	—	100
90	10	3	0	3	7	7	70
80	10	6	0	2	3	4	40
70	10	6	1	1	4	4	40
60	10	6	0	3	4	4	40
50	10	7	1	3	3	3	30
45	15	13	0	1	2	2	13
40	15	10	2	5	5	5	33
35	10	9	0	0	0	1	10

Avec le zinèbe à 80 et 90 mg/l de matière active par litre de solution, il a été observé des modifications de pigmentation chez quelques sujets : des chromatophores rouges s'étalent au niveau de la base des nageoires ventrales et sur l'axe médio-ventral du corps, colorant ces régions en rouge.

**33 — Manèbe** (poudre à 80 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
10	5	0	0	2	4	5	100
8	5	0	0	1	3	5	100
7	10	0	1	8	9	10	100
6,5	10	2	1	7	8	8	80
6	20	3	4	12	17	17	85
5,5	15	0	11	15	—	—	100
5	14	3 (-2)	0	4	6	11 (+2)	92
4,5	20	6	1	6	13	14	70
4	20	6	3	8	10	14	70
3,5	20	3	7	8	15	17	85
3	25	12	3	6	11	13	52
2,5	25	16 (-4)	1	4	5	9 (+4)	52
2	20	13	0	2	4	7	35
1,5	10	10	0	0	0	0	0

Les concentrations supérieures à 4,5 mg/l ont entraîné chez certains sujets des perturbations pigmentaires conduisant à un assombrissement général du corps.

Par ailleurs, la poudre présentant des granulations a dû être finement écrasée et soigneusement homogénéisée dans les aquariums d'essai afin d'éviter son ingestion par les vairons.

**34 — Mancozèbe** (Dithane M45 à 80 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
10	5	0	5	—	—	—	100
8	5	0	5	—	—	—	100
7	5	0	1	4	5	—	100
6	10	0	8	10	—	—	100
5	5	0	0	5	—	—	100
4	15	1	3	5	11	14	93,3
3,5	20	3	1	6	14	17	85
3	20	6 (-1)	4	11	11	14 (+1)	75
2,5	20	6 (-5)	0	4	13	14 (+5)	95
2	20	17 (-2)	0	0	3	3 (+2)	25
1,5	5	5	0	0	0	0	0
1	5	5	0	0	0	0	0

Avec le dithane M 45, deux types de perturbations pigmentaires ont été observés chez certains sujets : quelques-uns présentaient ventralement une coloration rouge due à l'étalement de chromatophores rouges tandis que d'autres, par étalement des mélanophores, prenaient une teinte foncée sur les faces dorso-latérales.

Signalons que les survivants des tests effectués à 3 mg de matière active par litre de solution présentaient à la fin des essais une apathie caractérisée, d'où les mortalités observées après retour en eau naturelle.

**35 — Quintozène** (poudre à 30 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
50	5	3 (—3)	0	0	2	2 (+ 3)	100
45	10	2 (—1)	0	4	4	8 (+ 1)	90
40	10	3	0	3	3	7	70
35	11	4	0	0	2	7	64
30	15	8	0	3	5	7	46
25	14	14	0	0	0	0	0
20	15	9	1	5	5	6	40
17	5	5	0	0	0	0	0
15	10	9	0	0	0	1	10
10	10	10	0	0	0	0	0
5	10	10	0	0	0	0	0

A toutes les concentrations supérieures à 5 mg/l (de matière active), les poissons ont manifesté un état léthargique profond apparaissant dans un délai maximum de 48 heures. Cette phase léthargique était précédée par une perte progressive de l'équilibre : basculement sur le côté, incapacité de maintien en position normale, nage saccadée sur le flanc.

Ces troubles se sont révélés irréversibles chez les sujets exposés aux concentrations les plus élevées ainsi que l'indiquent les mortalités observées postérieurement aux tests (cf. tableau).

**36 — Benomyl** (Benlate à 50 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
8,5	5	1 (—1)	0	2	4	4 (+ 1)	100
8	10	4 (—2)	0	0	2	6 (+ 2)	80
7,5	5	2 (—1)	0	2	3	3 (+ 1)	80
7	15	7 (—3)	0	0	0	8 (+ 3)	73
6,5	10	1	0	2	3	9	90
6	15	11 (—3)	0	0	1	4 (+ 3)	46
5,5	10	7 (—1)	0	1	2	3 (+ 1)	40
5	10	9	0	0	0	1	10
4	5	5	0	0	0	0	0
3	5	5	0	0	0	0	0
2,5	5	5	0	0	0	0	0
2	5	5	0	0	0	0	0

A l'issue des tests sur Benomyl (Benlate), les poissons survivants sont très affectés par l'intoxication et beaucoup meurent des suites des essais. Certains sont restés jusqu'à 5 jours couchés sur le flanc après leur retour en eau naturelle avant de mourir.

Par ailleurs, lors des tests, on assiste à un étalement spectaculaire des chromatophores qui colorent les poissons en jaune rouge ventralement et en noir dorsalement.

**37 — Méthirame de zinc** (poudre à 80 % de matière active)

Concentration en mg/l (matière active)	Individus		Mortalités observées en				Pourcentage de mortalité
	testés n	survivants s	24 h	48 h	72 h	96 h	
70	5	0	2	5	—	—	100
65	20	8 (— 2)	7	11	12	12 (+ 2)	70
60	25	14	1	6	8	11	44
55	20	14	1	3	5	6	30
50	22	10	7	12	12	12	54
45	15	4	4	8	9	11	73
40	16	6 (— 1)	1	3	3	10 (+ 1)	68
35	15	7	0	7	7	8	53
30	10	0	3	6	9	10	100
27	15	15	0	0	0	0	0
25	15	8	0	5	6	7	46
22	15	15	0	0	0	0	0
20	15	13 (— 1)	0	1	2	2 (+ 1)	20
18	10	10	0	0	0	0	0
15	5	5	0	0	0	0	0
10	5	5	0	0	0	0	0
5	5	5	0	0	0	0	0

Les résultats obtenus avec le méthirame de zinc paraissent peu cohérents. L'effet toxique ne croît pas toujours dans le même sens que la concentration.

Les essais ont été réalisés avec le produit commercial et on ignore la nature des adjuvants de même que le degré de solubilité de la matière active pure qui semble faible. La poudre utilisée subit une forte décantation qui est probablement en partie responsable de la variabilité des résultats.



## ANALYSE DES RESULTATS

### 4.1. Méthode

Les résultats ont été exploités par la méthode des probits telle qu'elle est développée par Finney (1952). Pour chaque produit testé, est obtenue l'équation de la droite de régression qui exprime la relation entre les probits  $y$  et les logarithmes  $x$  des concentrations (ou d'un multiple décimal des concentrations) avec un intervalle de confiance à 95 % de sécurité sur la pente (figure 1).

De cette équation peuvent être tirées les concentrations susceptibles de causer tout pourcentage donné de mortalité dans les conditions du test et, notamment, la CL 50 (50 % de mortalité). Ces concentrations sont également exprimées avec un intervalle de confiance à 95 %. Pour les taux de mortalité éloignés de 50 %, cet intervalle s'élargit rapidement et enlève parfois toute utilité aux résultats.

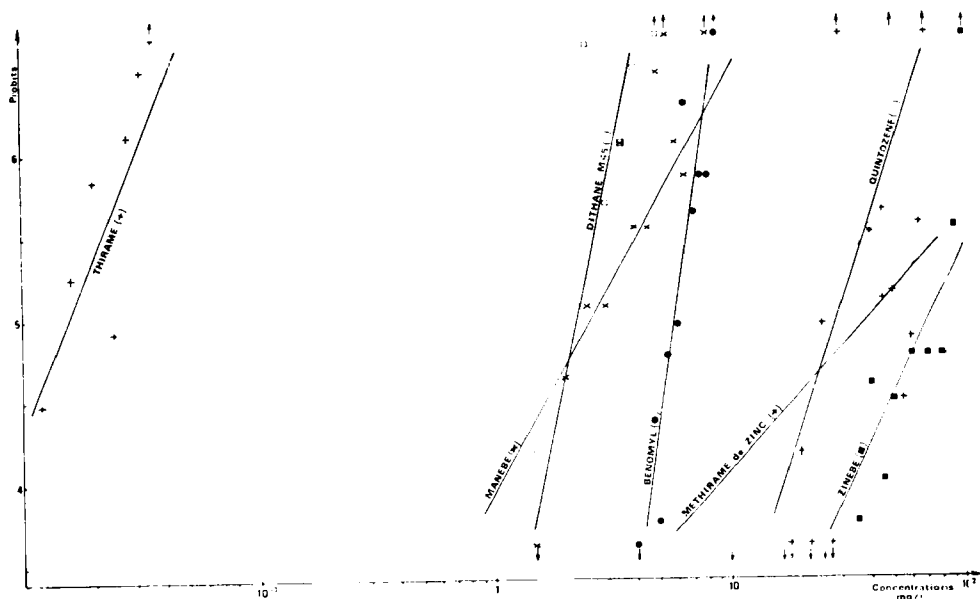


Fig. 1 — Toxicité de sept fongicides vis-à-vis du Vairon (*Phoxinus phoxinus* L.).

Les résultats concernant les divers produits testés sont résumés dans le tableau récapitulatif ci-après.

#### 4.2. Tableau récapitulatif

Le tableau suivant réunit les concentrations (en milligrammes de matière active par litre) des différents fongicides testés dont on peut prévoir qu'elles produiraient, dans les conditions du test, des taux de mortalité chez le vairon, par toxicité aiguë, égaux à 0,01 %, 0,1 %, 1 %, 10 %, 50 % et 80 %. Entre parenthèses sont indiquées les limites de confiance pour 95 % de sécurité.

Produits	% de mortalité					
	CL 0,01	CL 0,1	CL 1	CL 10	CL 50	CL 80
Thirame	—	—	—	0,00689 (0,00275 ; 0,0173)	0,0159 (0,0099 ; 0,0255)	0,0274 (0,0195 ; 0,0385)
Manèbe	—	—	0,328 (0,101 ; 0,974)	0,849 (0,416 ; 1,73)	2,71 (2,14 ; 3,44)	5,81 (4,27 ; 7,91)
Mancozèbe	0,64 (0,254 ; 1,62)	0,80 (0,36 ; 1,78)	1,04 (0,54 ; 1,97)	1,49 (0,975 ; 2,26)	2,31 (1,91 ; 2,81)	3,09 (2,23 ; 4,29)
Benomyl	2,45 (1,40 ; 4,32)	2,86 (1,77 ; 4,60)	3,44 (3,37 ; 4,99)	4,43 (3,52 ; 5,57)	6,04 (5,50 ; 6,64)	7,39 (6,53 ; 8,38)
Quintozène	4,22 (1,40 ; 12,7)	5,85 (2,45 ; 14,0)	8,64 (4,76 ; 15,7)	15,0 (11,2 ; 20,0)	29,2 (24,4 ; 35,0)	45,3 (33,5 ; 61,2)
Méthirame de zinc *	—	—	—	—	41 (21,9 ; 77)	—
Zinèbe	—	—	12,5 (4,49 ; 34,7)	27,8 (15,2 ; 50,8)	73,8 (53,6 ; 102)	140 (67,2 ; 292)

\* Ainsi que nous l'avons indiqué, les résultats de ce test présentent une hétérogénéité anormale, ce qui est vérifié par le test  $X^2$  : on trouve une valeur 34,08 pour un  $X^2$  à 12 degrés de liberté, valeur significative d'une hétérogénéité qui a une très faible probabilité (moins de 0,1 %) d'être due au hasard de l'échantillonnage seul. Les variances et les intervalles de confiance en sont fortement accrus.

CL 50 :  $x = 0,613 \pm 0,273$  (variance 0,0157 ; écart-type 0,125).

CL 50 = 41 mg/l. Intervalle de confiance à 95 % : [21,9 ; 77 mg/l]

## 5 — CONCLUSION

Il ressort des essais effectués que les 7 produits testés sont toxiques pour les vairons à des degrés différents.

Un premier produit, le thirame, avec une CL 50 — 96 heures de 0,016 ppm est extrêmement toxique et se détache très nettement du lot.

Trois autres produits présentent une toxicité 200 à 400 moins forte. Ce sont : le manèbe, le mancozèbe et le benomyl qui présentent des CL 50 respectives de 2,71 — 2,31 et 6,04 ppm.

Enfin, les trois derniers produits présentent une toxicité encore plus faible : ce sont le quintozène, le méthirame de zinc et le zinèbe qui ont des CL 50 respectives de 29,2 — 41 et 73,8 ppm.

Le choix des produits pour la protection des cultures doit donc tenir compte de leur efficacité mais aussi de leur toxicité afin d'éviter des nuisances graves à l'intérieur et en aval des zones d'utilisation.

L'attention des utilisateurs doit d'autre part être attirée sur les points suivants :

#### **51 — Sensibilité particulière de la faune aquatique**

Les indications données par les fabricants sur la toxicité des produits phytosanitaires ne concernent généralement que les animaux terrestres et l'homme (vertébrés homéothermes). Les mécanismes d'intoxication sont tout à fait différents pour les poissons et invertébrés aquatiques. Les toxiques présents dans l'eau pénètrent rapidement dans le sang au niveau des branchies. La dose effectivement absorbée par les organismes aquatiques est fonction de la **concentration** des toxiques dans l'eau **et du temps d'exposition**. D'autre part, la sensibilité de la faune aquatique à certains produits phytosanitaires est très élevée. La comparaison, pour les différentes substances testées, des doses létales données pour le rat et des concentrations létales en 96 heures déterminées pour le vairon, est particulièrement éloquent à cet égard.

#### **52 — Effets sublétaux**

Les tests, dont les résultats sont exposés ci-dessus, ont une durée insuffisante pour déceler tous les effets nocifs des produits soumis aux essais, certains n'apparaissant qu'après un temps de contact supérieur à 4 jours.

D'autre part, en l'absence de mortalités, pour des concentrations inférieures aux seuils létaux, ces substances sont susceptibles d'atteindre plus ou moins gravement le comportement ou la physiologie des organismes aquatiques. C'est ainsi qu'il a été observé, dans des piscicultures situées en aval de cressonnières dans lesquelles étaient réalisés des traitements à base de dithiocarbamates, des états plus ou moins léthargiques chez les poissons conduisant à des accidents divers (l'obstruction des grilles perturbant le renouvellement de l'eau des bassins).

### **BIBLIOGRAPHIE**

- APHA et al., 1965 — Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water Including Bottom Sediments and Sludges. Am. Pub. Health Assoc., New-York, 12th edition, 769 p.
- BARBIER B., LEYNAUD G. 1970 — Note sommaire sur l'interprétation des résultats des tests toxicologiques à court terme sur le poisson. CERAFER, note ronéotypée, 9 p.
- FINNEY D.J., 1952 — Probit Analysis : A statistical treatment of the Sigmoid Response Curve (2nd edition) London : Cambridge University Press.