



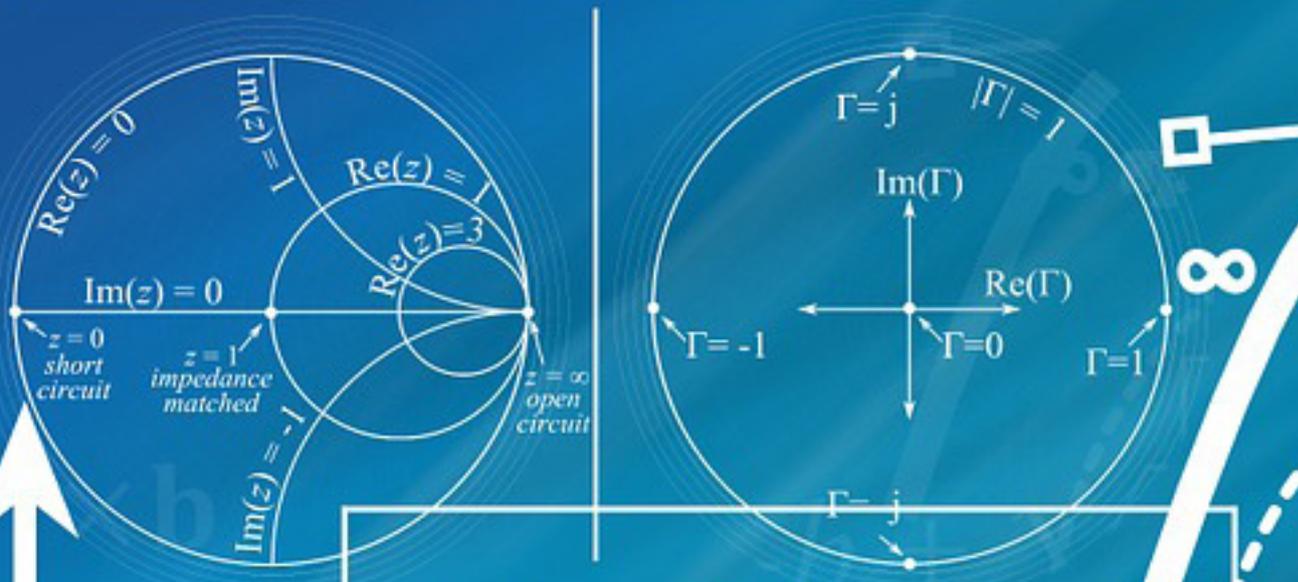
RAMRES

ISSN 2424-7235

Revue Africain et Malgache de REcherches Scientifiques

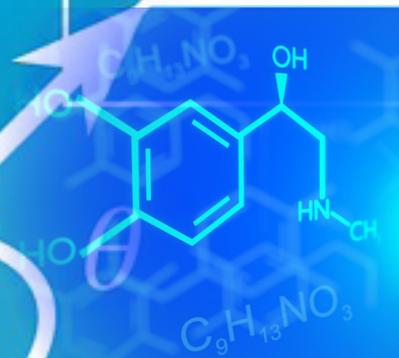
Science de la vie, de la terre et agronomie (SVT-A)

Année 2021, Volume 09, Numéro 2



$$a \times b = W$$

$$P = 2l + 2w$$



CAMES

Historique

Plusieurs réunions de spécialistes chargés de définir le rôle et les fonctions de l'Enseignement Supérieur ont conduit à la constitution d'une "Commission consultative d'expert pour la réforme de l'Enseignement en Afrique et à Madagascar". Une résolution de la Conférence des Ministres de l'Éducation nationale tenue à Paris en 1966 donnait mandat à la commission d'entreprendre une recherche approfondie sur les structures et les enseignements des Universités Africaines et malgaches, dans un large esprit de coopération interafricaine. Les conclusions de la réflexion menée par la Commission leur ayant été soumises à la Conférence de Niamey, tenue les 22 et 23 janvier 1968, les Chefs d'Etats de l'OCAM décidèrent la création du "Conseil Africain et Malgache pour l'Enseignement Supérieur", regroupant à ce jour seize (16) Etats francophones d'Afrique et de l'Océan Indien. La convention portant statut et organisation du CAMES fut signée par les seize (16) Chefs d'Etat ou de Gouvernement, le 26 Avril 1972 à Lomé. Tous les textes juridiques ont été actualisés en 1998-1999 et le Conseil des Ministres du CAMES, a lors de la 17ème Session tenue à Antananarivo en Avril 2000, adopté l'ensemble des textes juridiques actualisés du CAMES, qu'on peut retrouver sur le site web <http://www.lecames.org/spip.php?article1>

Missions

- Promouvoir et favoriser la compréhension et la solidarité entre les Etats membres ;
- Instaurer une coopération culturelle et scientifique permanente entre les Etats membres ;
- Rassembler et diffuser tous documents universitaires ou de recherche : thèses, statistiques, informations sur les examens, annuaires, annales, palmarès, information sur les offres et demandes d'emploi de toutes origines
- Préparer les projets de conventions entre les États concernés dans les domaines de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et contribuer à l'application de ces conventions ;
- Concevoir et promouvoir la concertation en vue de coordonner les systèmes d'enseignement supérieur et de la recherche afin d'harmoniser les programmes et les niveaux de recrutement dans les différents établissements d'enseignement supérieur et de recherche, favoriser la coopération entre les différentes institutions, ainsi que des échanges d'informations.

Organisation

Le Conseil des Ministres

Le Conseil des Ministres est l'instance suprême du CAMES. Il regroupe tous les Ministres ayant en charge l'Enseignement Supérieur et/ou la Recherche Scientifique des pays membres. Il se réunit une fois l'an en session ordinaire et peut être convoqué en session extraordinaire. L'actuel Président du Conseil des Ministres est le Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche de Côte d'Ivoire.

Le Comité des Experts

Le Comité des Experts prépare la session ministérielle. Il est composé de deux représentants par pays membre ou institution membre. Il se réunit une fois l'an en session ordinaire et peut être convoqué en session extraordinaire.

Le Comité Consultatif Général (CCG)

Il supervise et contrôle l'application de l'Accord portant création et organisation des Comités Consultatifs Interafricains. Ses membres sont des Recteurs ou Présidents d'Universités et des Directeurs des Centres Nationaux de Recherche. Les organismes signataires de l'Accord y sont représentés par leurs Directeurs.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Politique éditoriale

La Revue CAMES publie des contributions originales (en français et en anglais) dans tous les domaines de la science et de la technologie et est subdivisée en 9 séries :

- **Sciences des structures et de la matière.** Elle couvre les domaines suivants : mathématiques, physique, chimie et informatique,
- **Sciences de la santé :** médecine humaine, médecine vétérinaire, pharmacie, odonto-stomatologie, productions animales ;
- **Sciences de la vie, de la terre et agronomie ;**
- **Sciences appliquées et de l'ingénieur ;** Littérature, langues et linguistique ;
- **Sciences humaines :** Philosophie, sociologie, anthropologie, psychologie, histoire et géographie ;
- **Sciences économiques et de gestion ;**
- **Sciences juridiques et politiques ;**
- **Pharmacopée et médecine traditionnelles africaines ;**

Toutes les séries publient en moyenne deux numéros par an.

Les contributions publiées par la Revue CAMES représentent l'opinion des auteurs et non celle du comité de rédaction ou du CAMES. Tous les auteurs sont considérés comme responsables de la totalité du contenu de leurs contributions.

Soumission et forme des manuscrits

La soumission d'un manuscrit à la Revue CAMES implique que les travaux qui y sont rapportés n'aient jamais été publiés auparavant, ne soient pas soumis concomitamment pour publication dans un autre journal et qu'une fois acceptés, ne fussent plus publiés nulle part ailleurs sous la même langue ou dans une autre langue, sans le consentement du CAMES.

Les manuscrits, dactylographiés en interligne double en recto sont soumis aux rédacteurs en chef des séries.

Les manuscrits doivent comporter les adresses postales et électroniques et le numéro de téléphone de l'auteur à qui doivent être adressées les correspondances. Les manuscrits soumis à la Revue CAMES doivent impérativement respecter les indications cidessous:

Langue de publication

La revue publie des articles rédigés en français ou en anglais. Cependant, le titre, le résumé et les mots-clés doivent être donnés dans les deux langues.

Ainsi, tout article soumis en français devra donc comporter, obligatoirement, «un titre, un abstract et des keywords», idem, dans le sens inverse, pour tout article en anglais (un titre, un résumé et des mots-clés).

Page de titre

La première page doit comporter le titre de l'article, les noms des auteurs, leur institution d'affiliation et leur adresse complète. Elle devra comporter également un titre courant ne dépassant pas une soixantaine de caractères ainsi que l'adresse postale de l'auteur, à qui les correspondances doivent être adressées.

Résumé

Le résumé ne devrait pas dépasser 250 mots. Publié seul, il doit permettre de comprendre l'essentiel des travaux décrits dans l'article.

Introduction

L'introduction doit fournir suffisamment d'informations de base, situant le contexte dans lequel l'étude a été entreprise. Elle doit permettre au lecteur de juger de l'étude et d'évaluer les résultats acquis.

Corps du sujet

Les différentes parties du corps du sujet doivent apparaître dans un ordre logique.

Conclusion

Elle ne doit pas faire double emploi avec le résumé et la discussion. Elle doit être un rappel des principaux résultats obtenus et des conséquences les plus importantes que l'on peut en déduire.

La rédaction du texte

La rédaction doit être faite dans un style simple et concis, avec des phrases courtes, en évitant les répétitions.

Remerciements

Les remerciements au personnel d'assistance ou à des supports financiers devront être adressés en terme concis.

Références

Les noms des auteurs seront mentionnés dans le texte avec l'année de publication, le tout entre parenthèses.

Les références doivent être listées par ordre alphabétique, à la fin du manuscrit de la façon suivante:

- **Journal** : noms et initiales des prénoms de tous les auteurs, année de publication, titre complet de l'article, nom complet du journal, numéro et volume, les numéros de première et dernière page.

- **Livres** : noms et initiales des prénoms des auteurs et année de publication, titre complet du livre, éditeur, maison et lieu de publication.

- **Proceedings** : noms et initiales des prénoms des auteurs et année de publication, titre complet de l'article et des proceedings, année et lieu du congrès ou symposium, maison et lieu de publication, les numéros de la première et dernière page.

Tableaux et figures

Chaque tableau sera soumis sur une feuille séparée et numéroté de façon séquentielle. Les figures seront soumises sur des feuilles séparées et numérotées,

selon l'ordre d'appel dans le texte.

La numérotation des tableaux se fera en chiffres romains et celle des figures en chiffres arabes, dans l'ordre de leur apparition dans le texte.

Photographies

Les photographies en noir & blanc et couleur, sont acceptées.

Procédure de révision

Les manuscrits sont soumis à la révision des pairs. Chaque manuscrit est soumis au moins à deux référés spécialisés. Les auteurs reçoivent les commentaires écrits des référés. Il leur est alors notifié, par la même occasion, l'acceptation ou le rejet de leur contribution.

NB : Le manuscrit accepté doit, après correction conformément aux recommandations des référés, être retourné aux différents rédacteurs en chef des séries, en format WORD ou DOC.

REDACTEURS EN CHEF DES REVUES

Les auteurs sont invités à envoyer directement leurs articles aux rédacteurs en chef des différentes séries:

- **Sciences des structures et de la matière:**

Pr ABDOULA YB Alassane: aabdouy@yahoo.com (Niamey)

- **Sciences de la santé:**

Pr TOURE Meissa mtoure@ised.sn (Dakar)

- **Sciences de la vie, de la terre et agronomie:**

Pr GLITHO Adolé I. iglitho@yahoo.fr (Lomé)

- **Sciences appliquées et de l'ingénieur:**

Pr FALL Meissa meissaJall@univ-thies.sn (Thiès)

- **Littérature, langues et linguistique:**

Pr AINAMON augustin ainamonaugustin@yahoo.fr (Cotonou)

- **Sciences humaines:**

Pr KADANGA Kodjona kkadanga59@yahoo.fr (Lomé)

- **Sciences économiques et de gestion:**

Pr ONDO Ossa Albert saon4@yahoo.fr (Gabon)

- **Sciences juridiques et politiques:**

Pr SOMA Abdoulaye tikansonsoma@yahoo.fr (Ouagadougou)

- **Pharmacopée et médecine traditionnelles africaines**

Pr OUAMBA Jean Maurille jm_maurille@yahoo.fr (Brazzaville)

Conformément à la **note d'information N° 0011.2018//CAMES/SG/KP du 28/02/2018**, adressée aux Rédacteurs en chef des Revues du **CAMES** (qui devient **RAMres : Revue Africaine et Malgache de Recherches Scientifiques**). Vous êtes priés de bien vouloir vous acquitter des **frais d'évaluation** de votre article qui s'élèvent à **25 000 F CFA** et d'envoyer votre reçu de paiement et une copie de votre manuscrit à l'adresse **iglitho_at_yahoo.fr**

Si votre article est accepté pour publication, après révision, vous paierez des **frais de publication** qui s'élèvent à **75 000 F CFA** avant sa parution dans la revue sur la plate-forme de gestion des publications.

NB: - **WARI**; - **Express union Internationale**; - **Rapid Transfert ECOBANK**; - **Africash UBA**.

Au Comptable du CAMES (**M. BOUROBOU Orphé Tuburse**) et le code par **SMS** au **+226 66897033**. Les reçus doivent être scannés et envoyés à l'adresse suivante **<pocoulibaly_at_yahoo.fr>**. avec copie au **Professeur GLITHO A. <iglitho_at_yahoo.fr>** (PS: Prendre soin de remplacer **_at_** par **@** dans les e-mail ci-dessus.)

APRES RETRAIT DE L'ARGENT, LE COMPTABLE DU CAMES VOUS DÉLIVRERA UNE ATTESTATION DE RETRAIT QUE VOUS ENVERREZ à **iglitho_at_yahoo.fr** ACCOMPAGNEE DE VOTRE MANUSCRIT (DEUX FICHIERS WORD AU MAXIMUM).

SOMMAIRE

Redynamisation des programmes de diffusion de la traction animale en Côte d'Ivoire Seu KAMBIRE ^{1*} , Emmanuel ASSIDJO ² , Michel HAVARD ³	06
Biodiversité des foraminifères planctoniques du Cénozoïque de la marge continentale ouest-africaine au Sénégal : implication paléoenvironnementale Malick Thiam	13
An in vitro model to study myelin maintenance using small interfering ribonucleic acid in cocultures of neurons and Schwann cells. Adama OUEDRAOGO ^a , Basile TINDANO ^a , Maurice OUEDRAOGO ^a , Laurence RICHARD ^b , Prisca LEBEAU ^b , Franck STURTZ ^{b, d} , Jean-Michel VALLAT ^{b, c} , Benoît FUNALOT ^{b, c, d} , Balé BAYALA ^a	18
Caractérisation morphologique, pathologique et moléculaire des isolats de <i>phytophthora</i> sp responsable de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer en côte d'ivoire FOFANA Balakissa ¹ , CAMARA Braïma ¹ , TUO Seydou ¹ , SILUE Nakpalo ¹ , AMARI Ler-N'ogn Dadé Georges Elisée ¹ , KONE Daouda ¹ , ZOOUZOU Michel ¹	23
Optimisation d'un biomarqueur salivaire d'exposition des bovins aux piqûres de la mouche tsé-tsé basé sur une combinaison de peptides synthétiques Martin Bienvenu Somda ^{1,2*} , Jacques Kaboré ^{1,3} , Ernest Wendemangedé Salou ^{1,3} , Dieudonné Ouattara ¹ , Emilie Dama ³ , Soumaïla Pagabeleguem ^{4,5} , Sèssèya Arnaud Soha ⁶ , Issa Sidibé ^{1,5} , André Zongo ⁷ , Adrien Marie Gaston Belem ² , Zakaria Bengaly ¹	30
Estimation de la biomasse aérienne du genre <i>Rhizophora</i> des mangroves des rivières Lowé et Igoumié à Owendo (Gabon) Igor AKENDENGUE AKEN ¹ , Marjolaine OKANGA-GUAY ² , Emmanuel ONDO ASSOUMOU ¹ , Jean Bernard MOMBO ¹	38
Influence des facteurs climatiques sur les insectes pollinisateurs potentiels du moringa oleifera lam. Au Burkina Faso BAZIE Babou Frédéric ^{1,2*} , DAO Madjelia Cangré Ebou ¹ , DRABO Fogné Samuel ² , DA Nomwine ¹ , KABRE Salifou ^{1,2} , GNANKINE Olivier ^{2*}	47
Dynamique spatio-temporelle et vulnérabilité des unités d'occupation du sol de la Forêt Classée de Pénésoulou de 1995 à 2015 (Bénin, Afrique de l'Ouest) Léonce Ogoubé Sourou Nounagnon DOSSA ^{1*} , Gbèwonmèdéa Hospice DASSOU ¹ , Aristide Cossi ADOMOU ¹ , Fiacre Codjo AHONONGA ² , Sévérin BIAOU ² .	55
<i>Cucumber Mosaic Virus</i> and their associated satellite RNAs infecting banana (<i>Musa sp. Genomic group AAA</i>) in Côte d'Ivoire : A molecular characterization. Dominique Koua ^{1*} , Anicet Ebou ^{1*} , Theodore K. Kouadio ² , Philippe Lepoivre ³ , Sébastien Massart ³ , Thérèse A. Agneroh ²	64
Risques agro-météorologiques et production du riz pluvial (<i>Oryza spp.</i>) au Bénin Moudjahid Akorédé Wabi ^{(1,2)*} , Wouter Vanhove ⁽¹⁾ , Rodrigue Idohou ^(2,3) , Achille Hounkpèvi ⁽²⁾ , Romain Lucas Glèlè Kakai ⁽²⁾ , Patrick Van Damme ^(1,4)	73
Dynamic of the vegetation and climatic variables in Dimbokro Department, Central Côte d'Ivoire Rita Massa Biagne ^{1*} , Anthelme Gnagbo ² and François N'Guessan Kouame ³	81

Redynamisation des programmes de diffusion de la traction animale en Côte d'Ivoire

Seu KAMBIRE^{1*}, Emmanuel ASSIDJO², Michel HAVARD³

Résumé

Pour réduire les disparités régionales, l'Etat de Côte d'Ivoire a soutenu la culture du coton par l'introduction de la traction animale (TA) visant l'intensification des systèmes de production. Grâce à sa multifonctionnalité, la TA est devenue l'un des intrants essentiels des facteurs de production. Mais la crise économique de 1990, ayant conduit au retrait de l'Etat des activités de la filière, a abouti à la privatisation de la CIDT en 1998. Cet article vise à faire un bilan des dynamiques du développement de la TA en Côte d'Ivoire, afin de tirer des enseignements des expériences passées et de faire des propositions de trajectoires pour faciliter son adoption. La méthode utilisée s'appuie sur une analyse historique des programmes de développement de la TA, des enquêtes menées auprès de chefs d'exploitations et d'artisans forgerons. Ainsi, 725 chefs d'exploitation et 104 artisans forgerons tirés aléatoirement, dans 66 Sous-Préfectures des sept districts des zones cotonnières, ont été interrogés. Les résultats mettent en évidence trois périodes de développement : échec des premières tentatives, ère des sociétés d'Etat, ère des sociétés privées. Les différentes analyses montrent que le développement de la TA passe par la mise en place d'une politique de financement des paysans et des artisans forgerons soutenue par l'Etat ivoirien et le secteur privé. Elles révèlent la nécessité de mettre en place une stratégie nationale de développement de la TA impliquant tous les acteurs, ainsi que la promotion de systèmes de production durable basée sur l'emploi de technologies agricoles productives et respectueuses de l'environnement.

Mots-clés : *Mécanisation, traction animale, coton, Côte d'Ivoire*

Abstract

Revitalization of animal traction programs in Ivory Coast

To reduce regional disparities, the State of Ivory Coast has supported cotton cultivation by introducing animal traction (AT) to intensify production systems. Thanks to its multifunctionality, AT has become one of the essential inputs of the production factors. However, the economic crisis of 1990, which led to the withdrawal of the State from the sector's activities, resulted in the privatization of CIDT in 1998. This paper aims to assess the dynamics of AT development in Côte d'Ivoire, in order to draw lessons from past experiences and to propose trajectories to facilitate its adoption. The method used is based on a historical analysis of AT development programs and surveys of farm managers and artisanal blacksmiths. Thus, 725 farm managers and 104 blacksmiths were randomly selected in 66 sub-prefectures of the seven districts of the cotton zones and interviewed. The results highlight three periods of development: the failure of the first attempts, the period of the state companies, and the era of the private companies. The various analyses show that the development of AT requires the establishment of a financing policy for farmers and artisanal blacksmiths supported by the Ivorian state and the private sector. They reveal the need to put in place a national AT development strategy involving all stakeholders, as well as the promotion of sustainable production systems based on the use of productive and environmentally friendly agricultural technologies.

Keywords: *Mechanization, animal traction, cotton, Ivory Coast*

Seu KAMBIRE^{1*} : Laboratoire de Machinisme Agricole, Unité Mixte de Recherche Sciences Agronomiques et Génie Rural de l'Institut National Polytechnique Houphouët Boigny, BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire
E-Mail : kambire.seu@inphb.ci

Emmanuel ASSIDJO² : Ecole Supérieure d'Agronomie de l'Institut National

Polytechnique Houphouët Boigny, BP 1094 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

E-Mail : assidjo@yahoo.fr

Michel HAVARD³ : Cirad, département Tera, 73 rue Jean-François Breton, 34398 Montpellier Cedex 5, France

E-Mail : michel.havard@cirad.fr

INTRODUCTION

En Côte d'Ivoire, la TA a fait partie des axes forts des politiques de mécanisation agricole. Son introduction s'inscrivait dans le cadre des programmes de développement et d'intensification de la culture cotonnière dans les régions nord, jusque-là, en retard en comparaison avec les régions forestières où se concentrent, le plus grand nombre de cultures d'exportation (café, cacao, hévéa etc.). Ces programmes s'inséraient dans les politiques publiques de mécanisation agricole, visant la réduction des déséquilibres de revenus, afin de limiter l'exode des populations des savanes vers les zones de forêt et encourager les jeunes au retour à la terre. C'est dans ce cadre que la Compagnie Française pour le Développement des Fibres Textiles (CFDT), remplacée ensuite par la Compagnie Ivoirienne pour le Développement des textiles (CIDT) ont mené des actions très déterminantes dans la diffusion et la promotion de la TA dans les zones cotonnières. Les services nécessaires de soutiens pour encourager les paysans à l'adoption de la TA étaient assurés par les sociétés de développement,

les banques publiques et les projets de développement. Grâce aux nombreux efforts et aux actions bien structurées, la TA a contribué au développement socio-économique des régions de savane. Mais, la mise en place des politiques d'ajustement structurel proposées par la banque mondiale, va induire des réformes qui vont aboutir à la privatisation de la CIDT en 1998 et la libéralisation économique de la filière coton. Conséquent à ces réformes, on assiste à la réduction ou à la suppression des moyens d'intervention des services d'appui à la TA. Face à un tel contexte économique, la redynamisation des programmes de la TA posent les préoccupations suivantes : (i) Quelle place occupe aujourd'hui, la TA sous l'ère des sociétés privées ? (ii) Quel est l'état des services d'appui et de soutien à son développement ? (iii) Quelles propositions et recommandations pour son intégration durable ?

Pour répondre à ces questionnements, cet article se propose de faire un bilan diagnostique de la TA, de tirer les leçons des expériences passées, d'analyser les nouveaux programmes et

projets de développement et de faire des recommandations pour son intégration durable dans les systèmes de production.

1 MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.1 Présentation de la zone de notre étude

Notre étude s'est déroulée dans les sept districts qui forment les zones cotonnières du pays. Elles s'étendent sur une superficie de 201 693 km² (Decoula et al., 2018) avec une population estimée à près de 7,5 millions d'habitants. Trois régimes agroclimatiques caractérisent ces zones: soudanien, soudano-guinéen nord et soudano-guinéen sud. Mais à la suite des différentes réformes entreprises dans la filière, l'Etat a adopté par décret n°2016-1153 du 28 décembre 2016, le découpage des zones cotonnières en zones exclusives d'activité (ZEA) et de développement du coton (ZDC) (*figure 1*). Les ZEA sont constituées de zones optimales de production et sont attribuées aux sociétés privées, tandis que les ZDC sont des zones propices à la culture du coton dans lesquelles de nouveaux projets agro-industriels peuvent être autorisés. Le présent décret vise à corriger les dysfonctionnements constatés dans le processus d'encadrement des producteurs: concurrences entre plusieurs sociétés pour le contrôle d'une localité souvent loin de leurs ZEA; l'absence de coordination de véritables programmes d'intensification agricoles, rendant inefficaces les appuis apportés aux producteurs; et enfin, le détournement de production au détriment de la société qui a assuré la fourniture des intrants.

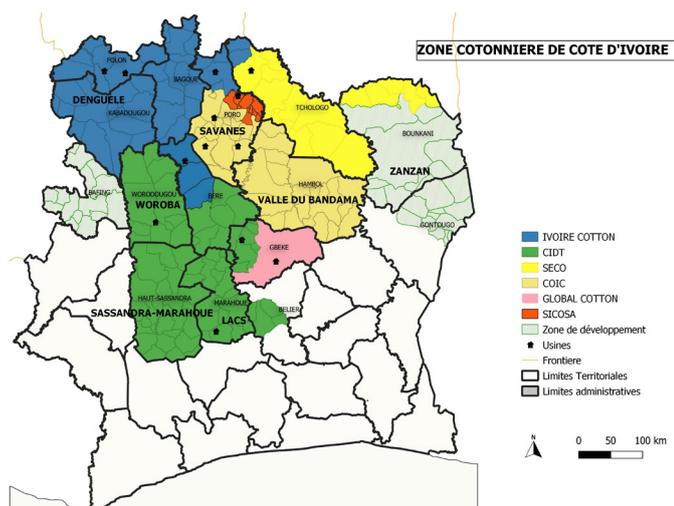


Figure 1 : Zone cotonnière de Côte d'Ivoire

1.2 Méthode

Les données de cet article proviennent de sources primaires et secondaires. La collecte des données primaires s'est faite en deux étapes. Nous avons dans un premier temps, conduit des enquêtes auprès des producteurs et des artisans forgerons en collaboration avec les techniciens des sociétés privées cotonnières. Ensuite, nous avons procédé à des séries d'entretiens avec les entités des structures étatiques, des structures de gestion de la filière, des sociétés cotonnières et des personnes ressources ayant participé à des projets et/ou des programmes de TA. Quant aux données secondaires, elles sont issues d'analyses documentaires (rapports, projets, articles, et mémoires de fin d'études) de l'environnement politique et historique de la TA.

Les bases de sondage ayant servi pour le tirage des échantillons des chefs d'exploitations (CE) et des artisans forgerons (AF) sont fournies par les sociétés privées cotonnières. Elles contiennent les listes des CE et des AF spécialisés en TA de chaque Sous-Préfecture des sept districts. Notre méthode d'échantillonnage

est un sondage stratifié à deux degrés. Les strates sont constituées par les districts. Dans chaque strate, le plan de sondage adopté est à deux degrés. Les Sous-Préfectures constituant les unités primaires et les CE et les AF les unités secondaires. Au premier niveau sont tirés les Sous-Préfectures proportionnellement à leur taille en nombre de CE et des AF. Au second niveau, les listes de tous les CE et des AF de chaque Sous-Préfecture ont été établies pour servir de base de sondage pour le tirage des individus à enquêter au second degré. Afin d'assurer une bonne représentativité de l'échantillon, nous avons effectué une sous-stratification en fonction des modes de culture et des catégories de forges existantes. A l'intérieur de chacune des sous strates définies, nous avons procédé à un sondage aléatoire simple. Ainsi, 524 producteurs et 104 forgerons ont été tirés dans 66 Sous-Préfectures pour être enquêtés.

2 RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les différentes analyses mettent en évidence les évolutions chronologiques des processus de développement de la TA en Côte d'Ivoire, montrent la nécessité aujourd'hui de relancer la TA, et aboutissent à des éléments de discussions pour une intégration durable de cette technologie dans les systèmes de production à base de coton.

2.1 Evolutions chronologiques des processus de développement de la TA en Côte d'Ivoire

○ Echecs des premières tentatives de 1950 à 1969

Les premières tentatives de diffusion de la TA ont eu lieu vers 1950 et se sont matérialisées par la distribution de 60 charrues aux paysans du cercle d'Odienné. Le mauvais dressage des bœufs entrava cette opération. En 1959, on assiste à une nouvelle tentative de relance avec le soutien des Sociétés Mutuelles de Production Rurale. Cette fois-ci, 50 paires de bœufs sont mis à la disposition des paysans des cercles d'Odienné et de Korhogo. Mais, celle-ci se solda aussi par un échec pour diverses raisons: la distribution de matériels de TA à des producteurs moins intéressés (parcelles de cultures non défrichées); l'importation de matériels coûteux et trop lourds pour les animaux locaux de petits gabarits; une orientation agricole axée sur la productivité du sol (la TA n'a d'intérêt pour les paysans que si celle-ci réduit la pénibilité et améliore la productivité de leur travail) et l'absence de suivis permettant de réajuster les actions d'encadrement.

○ Ere des sociétés d'Etat de 1970 à 1998

Après les expériences des échecs passés, une nouvelle phase de diffusion soutenue et à grande échelle est déployée sous l'impulsion des actions structurées et menées successivement par les sociétés de développement industrielles de la culture du coton. Le démarrage réel intervient en 1970 avec la CFDT. De 1970 jusqu'en 1973, la CFDT a réussi à équiper 23 paysans, à dresser 46 bœufs et à mettre en culture 62 ha. Dans les mêmes périodes, l'Etat et ces partenaires techniques et financiers ont aussi conduit plusieurs programmes et projets de vulgarisation de la TA de 1971 à 1979. Mais, c'est surtout avec la création de la CIDT en 1974, par le décret n°74-282 du 20 juin 1974 en remplacement de la CFDT, que la TA va connaître un développement véritable par le nombre de paysans qu'elle touche. Son financement était assuré à 75 % par l'Etat et à 25 % par la CFDT. A partir de 1975, la CIDT a mis en œuvre de vastes programmes de fourniture d'équipements de TA et d'intrants aux producteurs comportant des dispositifs d'appui et d'accompagnement nécessaires aux producteurs. A partir de la campagne 1976, la TA se généralise grâce aux actions amplifiées

sur le terrain, mais à des degrés divers en fonction des régions. Le taux de croissance s'infléchit quelque peu par la suite, mais le rythme reste soutenu. Jusqu'en 1989, le taux d'adoption de la TA était de 87,55 % au nord, 10,53 % à l'ouest et seulement 1,92 % au centre. Cette forte ascension au nord s'explique en grande partie par les habitudes pastorales des paysans, la disponibilité sur place de bœufs de trait, et de l'accommodation des cultures vivrières avec la TA. En revanche, dans l'ouest et le centre, les populations sont sans véritables traditions d'élevage et le cheptel de trait est un peu rare (Sokouri et al., 2010). Pour équiper les paysans, la CIDT achète les bœufs, les dresse et les rétrocède à ceux qui sont bénéficiaires d'un crédit de la Banque Nationale de Développement Agricole (BNDA). Cet engagement de la CIDT a permis d'atteindre des exploitations de tailles moyennes soit de 4 ha dans le nord, de 5,3 ha à l'ouest et 2,5 ha au centre, ce qui représente un gain par rapport à la culture manuelle qui est de 1,5 ha au nord, 1 ha à l'ouest et 0,75 ha au centre.

Ce développement de la TA résulte de la combinaison de plusieurs mesures incitatives: (i) l'existence d'un cheptel de bovins dans le nord du pays et dans les pays frontaliers (Burkina Faso, Guinée et Mali); (ii) la disponibilité de ressources en terres cultivables; (iii) l'existence de culture monétaire dont le prix d'achat est garanti par la Caisse de Stabilisation; (iv) la réalisation de défrichements et de dessouchements de parcelles au profit des paysans; (v) la création de ranchs et de centres de dressage; (vi) un encadrement rapproché des paysans; (vii) la mise sur pied d'un réseau d'artisans forgerons (AF); (viii) la diffusion de matériels adaptés aux conditions naturelles et à la rotation coton-vivriers; (ix) la mise en place de systèmes de crédits et de subventions; (xi) la mise en place d'une assurance mortalité pour les bœufs de trait.

A partir de 1990, la chute des cours mondiaux du prix du coton qui avait jusque-là connu une augmentation régulière, va entraîner une baisse importante des recettes publiques générées par la filière. Pour soulager les finances publiques, l'Etat a réduit les investissements et les prestations destinées au financement des activités de la CIDT (Aïwa, 2015). C'est dans cette atmosphère de crise économique qu'intervient brusquement en 1994, la dévaluation du franc CFA avec pour conséquence, la hausse des coûts des équipements et des intrants de production agricoles. Malgré ce contexte économique difficile, la CIDT a maintenu et soutenu les systèmes de crédits pour financer l'équipement des paysans et assurer le développement de la TA. Cette initiative a permis de diffuser un nombre important de chaînes d'attelage aux paysans (*figure 2*).

En raison de la crise économique aigue qui a secoué la filière coton depuis 1990, différentes réformes ont été entreprises par l'Etat pour soulager la filière. Celles-ci ont abouti huit ans après, à la privatisation de la CIDT en 1998. Par conséquent, tous les services et dispositifs d'appui (dressage et santé des animaux, appui-conseil, encadrement, financement, etc.) qui constituaient le socle de base du développement de la TA ont tous été démantelés. Désormais, les producteurs se doivent eux-mêmes de faire fassent aux charges d'acquisition et d'entretien des chaînes de TA et des intrants qui ont subi des augmentations du fait de la dévaluation du franc CFA.

Jusqu'à fin 1998, l'encadrement de la CIDT a permis le suivi et l'équipement de 26,63 % des paysans, la mise à disposition de 50 342 attelages et de 103 307 bœufs de trait et l'exploitation de 53,10 % de surface de coton.

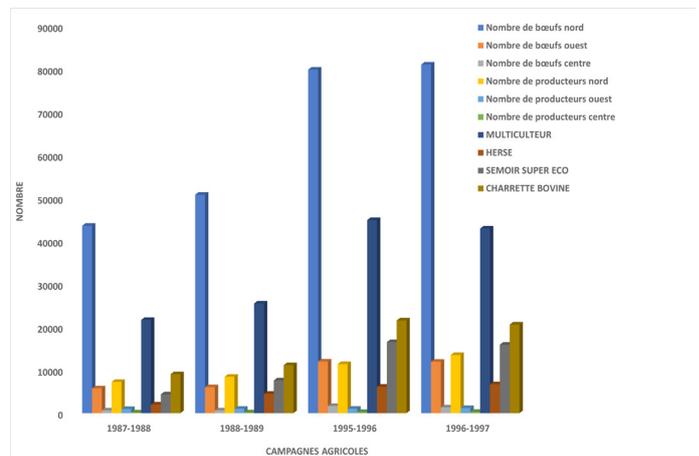


Figure 2 : Evolution des paramètres d'encadrement de 1987/1988 à 1996/1997

○ Ere des sociétés privées depuis 1999 à nos jours

En 1998, au terme du processus de privatisation de la CIDT, les activités d'encadrement ont été reprises par de nouvelles sociétés privées cotonnières. Mais le coup d'état survenu en 1999 et la baisse des prix du coton sur le marché international, n'ont pas permis à ces nouvelles sociétés privées de soutenir les mêmes qualités d'encadrement qu'offrait la CIDT. Ces difficultés ont été amplifiées par la crise militaro-politique qui a secoué le pays à partir de 2002. Au cours de cette crise, plusieurs équipements de TA ont été soit détruits ou soit volés. Bien qu'il n'existe pas de statistiques officielles des impacts de ces crises sur le matériel agricole, les acteurs de la filière estiment la baisse du niveau d'équipement des exploitations à près de 50 %. Hormis ce constat, le manque de financement, l'absence d'encadrement, la vétusté du matériel, l'indisponibilité des pièces de rechange et l'absence des services sanitaires pour les bœufs de trait ont concouru au recul de la TA.

Depuis 2009/2010, le contexte du développement de la TA s'est profondément modifié en Côte d'Ivoire. On assiste à la restructuration de nouvelles offres de services d'appui à la modernisation des exploitations. Les sociétés privées équipent certains de leurs meilleurs producteurs en leur fournissant du crédit pour l'acquisition de chaînes de TA (*figure 3*). Les recouvrements sont faits lors de la commercialisation du coton. Ils s'étalent sur une période de 3 à 5 ans en fonction du montant du prêt. De même, des systèmes de crédits à caution solidaires sont conclus entre les sociétés privées et les coopératives agricoles et destinés exclusivement pour l'acquisition de chaînes de TA. La durée des remboursements s'étend sur une ou deux campagnes en fonction du montant du prêt. En dehors de ces derniers, certains producteurs s'équipent à partir de ressources propres (*figure 3*) et les recouvrements se font selon deux modalités : comptant ou à crédit selon les liens de familiarité entre le paysan et l'artisan forgeron (AF) dont la durée est déterminée par consensus.

A partir de la campagne 2008/2009, un Projet de Relance de la Culture Attelée (PRCA) a été initié par le ministère de l'Agriculture avec un financement de l'Union Européenne (UE) pour un montant de 2,2 milliards de francs CFA. Il visait le rééquipement des exploitations ayant subi des pertes de matériels de TA du fait de la crise militaro-politique de 2002 à 2011. Fort des résultats obtenus, l'UE a financé à nouveau, dans le prolongement du précédent projet, un second dénommé Projet de Poursuite de Relance de la Culture Attelée (PPRCA).

Il était destiné aux producteurs n'ayant pas pu bénéficier du premier projet et cultivant au moins 2 ha de coton. Les chaînes étaient subventionnées à hauteur de 50 % par l'UE et les sociétés cotonnières assuraient 50 % sous forme de prêts remboursables sur deux campagnes agricoles. En touchant environ 21 % des exploitations agricoles, ces deux projets sont venus en appui aux efforts des sociétés cotonnières. Ils ont permis de reconstituer une partie du matériel de TA, de contribuer à accroître la superficie moyenne par paysan (7 ha par paire de bœufs) et d'améliorer les rendements moyens (≈ 1000 kg/ha) (Tillie et al., 2018). Les différents types d'équipements reçus par les producteurs dans le cadre de ces deux projets sont indiqués dans le **tableau 1**.

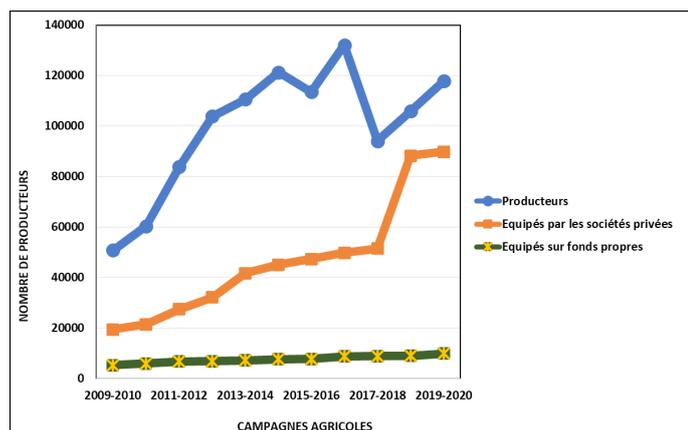


Figure 3: Répartition des paysans équipés de matériel à TA selon le type de financement

Tableau 1 : Equipements Projet de Relance de la Culture Attelée (PRCA) et Projet de Poursuite de Relance de la Culture Attelée (PPRCA)

PROJET	PRCA 2008-2010	PPRCA 2014-2016
Producteurs bénéficiaires	14 480	9329
Animaux de trait	4141	2750
Multiculteurs ARARA	1028	1000
Multiculteurs ARCOMA	592	600
Charrue mono soc	328	300
Semoirs Super Eco	674	600
Charrettes bovines	717	600

De façon générale, les équipements détenus par les producteurs sont fournis à 80 % par les sociétés privées et à 20 % par les différents projets. Ils sont constitués majoritairement de 51,55 % de multiculteurs à cause de leurs multifonctionnalités, de 26,59 % de charrettes, de 19,47 % de semoirs et de seulement 2,29 % de charrues monosocs (**figure 4**). Ces attelages sont composés pour la plupart de 75 % de matériels importés et de 25 % issus de la fabrication locale. Il faut noter que les équipements issus des AF ne sont souvent pas usités. Pour ces raisons, les projets et programmes de développement optent pour du matériel importé. Néanmoins, les AF locaux jouent des rôles très déterminants dans le processus car ils assurent la maintenance, la réparation et les adaptations des équipements selon les besoins des producteurs.

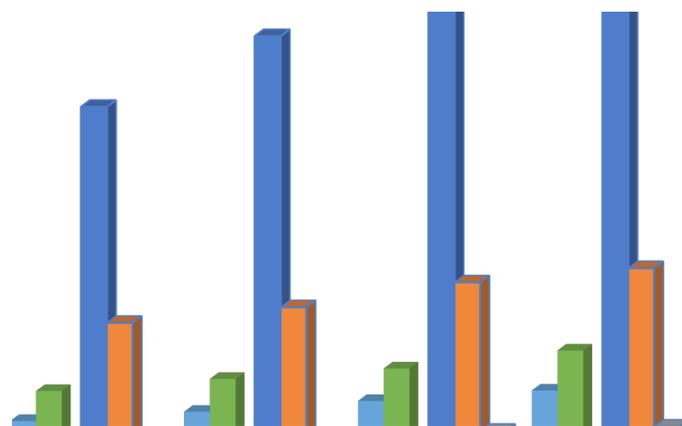


Figure 4 : Matériel de TA utilisé par les paysans de 2009 à 2020

2.2 Démarches pour une intégration durable de la TA dans les zones cotonnières

2.2.1 Faire de la TA l'une des composantes des stratégies de mécanisation agricole du pays

Les perspectives de développement de la filière coton en Côte d'Ivoire montrent qu'il existe de nombreuses potentialités et possibilités d'emploi de la TA dans le secteur agricole. Cependant, avec la libéralisation de la filière, on constate que l'offre de financement pour soutenir la TA est pratiquement inexistante. Elle repose sur le financement privé qui n'est surtout pas à la portée des paysans à cause des conditions difficiles d'accès et des taux d'intérêts appliqués. Dans la pratique, la réforme de la filière coton, n'a pas encore pour l'instant permis de mettre en place des offres de financement exclusives de la TA par le secteur privé. Même quand quelques rares institutions financières (banques et microfinances) décident d'accorder des prêts aux producteurs, leurs offres sont très faibles comparées aux demandes formulées. En général, elles s'adressent aux grandes exploitations qui présentent des garanties fiables. Pourtant, les besoins en chaînes de TA formulés sont croissants. Mais, le gros souci avec les petites exploitations familiales, est que l'expression de leurs besoins ne tiennent souvent pas compte de la viabilité économique de leurs exploitations (Pirot et al., 2004), car, dans certains cas, le coût de la chaîne de TA est plus élevé que le revenu annuel de leur exploitation. Ce qui rend souvent contraignantes, les conditions d'accès à la TA pour ces petites exploitations familiales. Pour répondre à ces préoccupations, les sociétés privées devraient mettre en place des services de soutiens intégrés capables de trouver une adéquation entre les demandes exprimées par les producteurs et les offres disponibles, afin de contribuer à sécuriser et à rentabiliser les investissements réalisés.

Dans le dispositif actuel de développement de la TA, la plupart des ingénieurs et techniciens qui assurent l'encadrement des producteurs n'ont rien appris sur la TA durant leur cursus de formation. A ce titre, pour une meilleure maîtrise et diffusion en milieu agricole, une place doit être accordée à la TA dans les programmes de formation des écoles agricoles. La mise en œuvre d'une telle politique agricole doit être solidairement soutenue par les pouvoirs publics, les structures de gestion et les partenaires techniques de la filière, le secteur privé et les organisations des producteurs (Roesch, 2004).

2.2.2 Développer des produits bancaires adapter au financement de la TA

Depuis le désengagement de l'Etat de la filière coton, les institutions financières (microfinances et banques commerciales) se résignent à financer la TA. Mais celles qui décident de s'y engager, s'intéressent

plutôt aux grandes exploitations qui présentent des garanties viables. Dans un tel contexte économique moins favorable au financement de la TA, l'Etat à travers ses démembrements et tous les acteurs (structures de gestion de la filière, sociétés privées, partenaires techniques, organisations de producteurs, structures financières) doivent ensemble élaborer et définir des canevas de financement plus adaptées à la situation économique des cotonculteurs. A ce propos, la bonification du crédit à l'équipement en accord avec les institutions financières peut s'avérer comme une voie intéressante à explorer par les acteurs (Westlake et al., 2014). Dans ce système, l'Etat intervient en bonifiant les taux d'intérêt des crédits aux bénéficiaires des emprunteurs sous forme de prime. Cette stratégie regorge un avantage considérable, parce qu'elle peut faciliter et garantir l'accès au financement de la TA. Pour ce faire, les principaux acteurs doivent étudier les conditions de faisabilité dans lesquelles pourrait être envisagé la bonification des taux d'intérêt des crédits accordés et les modalités de son application. Par ailleurs, mettre en place, un mécanisme de suivi et de vérification de la bonne utilisation des crédits bonifiés dans les activités pour lesquelles ils ont été octroyés (Kendo, 2012). Ce système de crédit s'avère intéressant, car il pourrait permettre de résoudre en grande partie, les difficultés liées au financement de la mécanisation à TA.

Aujourd'hui, la mécanisation de l'agriculture en zone cotonnière ne peut se faire sans un système de financement de l'équipement des producteurs. En effet, selon Djato, (2001), l'accès au crédit agricole est un facteur d'accélération du développement du secteur agricole. Cette hypothèse est confirmée par Roesch, (2004) lorsqu'il affirme qu'un accès sécurisé et adapté au financement permet aux exploitations de développer avec sérénité leurs activités agricoles.

2.2.3 Redynamiser le secteur de la fabrication de matériel de TA

Selon les acteurs de la filière coton, les AF bien encadrées, pourraient jouer un rôle déterminant par la réduction des importations de matériels de TA. Les conseillers agricoles confirment cette hypothèse, en affirmant à leur tour que les AF sont aujourd'hui, indispensables à la diffusion de la TA eu égard aux multiples sollicitations pour apporter soit des corrections ou faire des montages de matériels importés, soit assurer les réparations des pièces cassées ou les approvisionnements en pièces de rechange et aux parcs des outils divers fabriqués qui ne cessent d'augmenter. Cependant, il n'existe pas de financements spécifiques orientés vers cette activité. Les AF pour la plupart financent à partir de ressources propres la création et la mise en fonctionnement de leur atelier. Certains par contre ont pu bénéficier de l'appui financier de membres de leur famille. Plus de 75 % de ces ateliers fonctionnent comme une structure familiale avec un chef qui en est le fondateur. En sa qualité de premier responsable, il assure tous les besoins vitaux des travailleurs. Les personnels apprenants et confirmés sont composés en majorité des membres de la famille. Leur statut informel (plus de 80 % des ateliers rencontrés) ne leur permet pas de bénéficier d'un accès aux crédits.

En l'état actuel de son développement, le financement des AF demeure difficile pour les institutions financières, surtout pour les microfinances dont la fragilité étant grande, limite leur capacité à prendre des risques. Souvent, celles-ci ne maîtrisent pas le secteur de la forge et ne disposent généralement pas de repères technico-économiques capables d'évaluer la qualité et la pertinence des dossiers de demande de crédits d'équipements. Ce qui implique avant tout de faire une analyse globale de sa viabilité économique, que les institutions financières ne sont pas disponibles à effectuer.

Par ailleurs, les taux d'intérêt élevés (10 à 12 %, selon les données de nos enquêtes) appliqués entraînent des coûts de financement très lourds à supporter par les AF.

Pour faciliter une meilleure intégration de la forge dans le processus de développement de la TA, il est indispensable qu'une stratégie commune soit définie avec l'ensemble des acteurs dans le but de déterminer des axes prioritaires d'accompagnement des AF. Ainsi, le développement de la TA en Côte d'Ivoire invite donc à une restructuration et une professionnalisation du métier des AF pour les rendre plus compétitifs et viables sur les marchés locaux. Au plan organisationnel, il faut donc encourager le regroupement des AF en sociétés coopératives afin de faciliter leurs participations aux appels d'offres de fournitures de matériels agricoles. Solliciter par la même occasion l'appui institutionnel de la chambre des métiers pour formaliser leur statut. Sur le plan structurel, mettre un fort accent sur la modernisation et la réhabilitation des ateliers par le renouvellement des équipements vétustes. En ce qui concerne la promotion du métier des AF, faciliter leur accès au crédit et instaurer un partenariat entre les structures agréées (les centres de formations professionnels, etc.) et ceux-ci afin de leur permettre de bénéficier de formation aux nouvelles technologies de soudure (Vall et al., 2011).

Le contrôle de la qualité des outils et des équipements doit faire partie des dispositions à mettre en vigueur. Favoriser l'ouverture sur le marché extérieur pour encourager la concurrence entre les matériels produits localement et ceux importés. Cette stratégie vise à inciter les petites et moyennes industries locales de TA à renforcer leurs capacités technologiques afin de produire du matériel de qualité équivalente à ceux importés et de fournir des services d'accompagnement adéquat aux paysans. Mais, cette perspective d'ouverture sur le marché extérieur pourrait avoir des répercussions à plusieurs niveaux: commercialisation de matériel tout venant, difficultés d'approvisionnement en pièces de rechange, création de sociétés fictives juste pour fournir du matériel sans accompagnement (Vall et al., 2002). Pour pallier cette situation, l'Etat peut créer un organe comme le Centre Ivoirien du Machinisme Agricole (CIMA) avec les mêmes attributs qui se chargera d'effectuer les contrôles et les procédures administratives, les tests et les essais afin de définir des normes pour tout matériel importé ou produit localement. A ce titre, les pouvoirs publics doivent non seulement réguler la création, mais aussi encourager et faciliter la formalisation administrative du statut des ateliers en réduisant les taxes fiscales, les impôts afin de les intégrer dans les programmes de crédits de matériels agricoles.

2.2.4 Promouvoir une mécanisation à TA plus écologique dans les systèmes de production

Dans le cadre de l'intégration de l'agriculture et de l'élevage, la définition des choix des techniques et des types de matériels adaptés pour les opérations de préparation des sols est très déterminante, surtout avec les changements climatiques qui perturbent gravement les calendriers culturels.

Selon l'état des sols, les travaux de préparation des terres qui visent à restaurer leurs propriétés physiques peuvent provoquer l'érosion et la dégradation de la matière organique, s'ils sont mal menés (Blavet et al., 2004; Richard, 2012). Lorsque les paysans effectuent les travaux de préparation des lits de semis qui ameublissent la surface du sol, ils l'exposent aux intempéries du vent et de la pluie. Ces opérations peuvent provoquer alors la perte de la fertilité du sol et occasionner la réduction

de la productivité du travail agricole et du rendement (Vall et al., 2004). Mais, une meilleure intégration de l'agriculture et l'élevage permet une intensification des systèmes de production et contribue au maintien de la fertilité des sols (Vall et al., 2011), de réduire les achats des engrais en lieu et place de l'utilisation du fumier comme fertilisant qui permettrait d'améliorer la durabilité des systèmes de production (Sib et al., 2018; Lhoste et al., 2010). Dans cette quête d'une agriculture plus écologique, les structures de recherche doivent s'impliquer pour accompagner les paysans en proposant une amélioration de la qualité des pratiques agricoles à travers la diversification des techniques culturales combinées à une meilleure utilisation optimale des attelages. La prise en compte des changements induits par la TA dans les activités de recherche des sociétés cotonnières permettra de circonscrire les impacts des outils sur la fertilité des sols grâce à leur adaptation aux conditions naturelles des régions agricoles (Johansen et al., 2012; Sims et al., 2012; Friedrich et al., 2010). Pour parvenir à une telle agriculture en zone cotonnière, les acteurs de la filière devraient inscrire leurs démarches dans la même dynamique que celui du Programme National de lutte contre le Changement Climatique mis en place par le gouvernement en 2012.

Conclusion

Cette étude nous a permis de faire un état des lieux de la TA et de mettre en évidence les répercussions des différents programmes et projets de son développement. Elle révèle que la culture du coton a été le précurseur de sa vulgarisation en Côte d'Ivoire. Elle montre que la diffusion de la TA a été soutenue durant des décennies par un mécanisme public de financement piloté par la CIDT, une société d'Etat. Elle avait pour mission de garantir et d'administrer le développement de la culture du coton en fournissant tous les intrants nécessaires aux producteurs pour stimuler l'adoption de la TA. Cette politique de développement agricole a été bouleversé par le PAS avec pour corollaire, la privatisation de la CIDT, la libéralisation de la filière et la suppression des services d'appuis fournis par l'Etat à partir de 1998 faisant place à des services reformés en privés. Avec l'avènement des sociétés privées cotonnières, une nouvelle dynamique de développement de la TA se construit avec le soutien des partenaires techniques et financiers de la filière. Ces nouveaux programmes visent l'équipement des producteurs afin de rehausser le niveau de mécanisation des exploitations agricoles. Cependant, les services nécessaires comme le marché de fourniture de matières premières de fabrication, la formation et l'appui conseil, le financement ainsi que les activités de recherche et développement restent encore très peu déployés. Le bilan de cette analyse révèle que l'Etat doit créer les conditions favorables à la mécanisation agricole, concevoir des programmes de recherche-développement plus dynamiques pour promouvoir une triple performance des exploitations cotonnières sur le plan économique, environnemental et social.

Bibliographie

Aïwa, A. E. (2015). L'impact de la culture du coton sur le développement socioéconomique : Étude de cas de la région de Korhogo, au nord de la Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 11(31), 253-271.

Blavet, D., Noni, G. D., Roose, E., Maillo, L., Laurent, J.-Y., et Asseline, J. (2004). Effets des techniques culturales sur les risques de ruissellement et d'érosion en nappe sous vigne en Ardèche (France). *Science et changements planétaires / Sécheresse*, 15(1), 111-120.

Decoula, S. C., Kouame, B., N'goran, E. K., Yao, F., Ehounou, J.-N., et Soro, N. (2018). Impact de la variabilité pluviométrique sur la saison culturale dans la zone de production cotonnière en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 14(12), 143-159. doi: 10.19044/esj.2018.v14n12p143

Djato, K. K. (2001). Crédit agricole et efficacité de la production agricole en Côte d'Ivoire. *Économie rurale*, 263, 92-104. doi: 10.3406/ecoru.2001.5245

Friedrich, T., Kienzle, J., Sims, B., and Kassam, A. (2010). Mechanizing Sustainable Crop Production Intensification in Developing Countries scaling conservation agriculture. *International Conference on Agricultural Engineering*, 1-10.

Johansen, C., Haque, M. E., Bell, R. W., Thierfelder, C., et Esdaile, R. J. (2012). Conservation agriculture for small holder rainfed farming: Opportunities and constraints of new mechanized seeding systems. *Field Crops Research*, 132, 18-32. doi: 10.1016/j.fcr.2011.11.026

Kendo, S. (2012). Développement du secteur financier et financement de l'activité agricole dans un contexte de crise alimentaire : Quelle place pour la micro-finance ? *Développement durable et territoires. Économie, géographie, politique, droit, sociologie*, 3(3), 1-19. doi: 10.4000/dveloppementdurable.9433

Lhoste, P., Vall, E., et Havard, M. (2010). *La traction animale (Agricultures tropicales en poche)*. éditions Quae, 243p. doi: 10.35690/978-2-7592-0887-6

Pirot, R., Havard, M., Vall, E., Kemtsop Tchinda, G. A., et Fall, A. (2004). Conditions d'émergence et de pérennisation des services d'appui à la traction animale en Afrique subsaharienne : Farm equipment. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 57(4), 219-224. doi: 10.19182/remvt.9893

Richard, G. (2012). Evaluation et maîtrise du risque de tassement, de la parcelle au territoire national. *Innovations Agronomiques*, 21, 45-57.

Roesch, M. (2004). Financement de la culture attelée et stratégies d'équipement. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 57(3-4), 191-199. doi: 10.19182/remvt.9890

Sib, O., Havard, M., Vall, E., Kanwé, A., Ouedraogo, S., Coulibaly, A., Fantodji, A., et Yapi-Gnaore, C. V. (2018). Intégration agriculture-élevage au coeur des stratégies d'intensification des exploitations agropastorales au Nord de la Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 1(30), 57-71.

Sims, B. G., Thierfelder, C., Kienzle, J., Friedrich, T., et Kassam, A. (2012). Development of the Conservation Agriculture Equipment Industry in Sub-Saharan Africa. *Applied Engineering in Agriculture*, 28(6), 813-823. doi: 10.13031/2013.42472

Sokouri, D. P., Yapi-Gnaore, C. V., N'guetta, A. S. P., Loukou, N. E., Kouassi, A., et Sangare, E. A. (2010). Performances de reproduction des races bovines locales de Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 36, 2353-2359. doi: 10.4314/ijbcs.v8i3.9

Tillie, P., Louhichi, K., et Gomez-Y-Paloma, S. (2018). La culture attelée dans le bassin cotonnier en Côte d'Ivoire : Analyse et modélisation des impacts d'un programme de relance de la culture attelée. *Office of the European Union*, 1-70.

Vall, E., Dongmo, A. L., Abakar, O., et Meyer, C. (2002). La traction animale dans le nouveau contexte des savanes cotonnières du Tchad, du Cameroun et de la République centrafricaine : Diffusion de la traction animale et sa place dans les exploitations. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*,

55(2), 117-128.

Vall, E., Dongmo Ngoutsop, A. L., Ndao, T., et Ilboudo, I. (2004). Evolution des pratiques de traction animale et conséquences sur la durabilité des systèmes de culture. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 57(3-4), 145.

Vall, E., Koutou, M., Blanchard, M., Coulibaly, K., Diallo, M. A., & Andrieu, N. (2011). *Intégration agriculture-élevage et*

intensification écologique dans les systèmes agrosylvopastoraux de l'Ouest du Burkina Faso, province du Tiy, 1-13.

Westlake, J. M., Antwi, V., Best, R., Koko, S. P., et Wagubi, P. (2014). Commerce et chaînes de valeur : Vers des chaînes de valeur agricoles inclusives, écologiques et durables dans les pays ACP. *CTA et FAO*, 1-111.

Biodiversité des foraminifères planctoniques du Cénozoïque de la marge continentale ouest-africaine au Sénégal : implication paléoenvironnementale

Malick Thiam

Résumé

A travers une approche basée sur des analyses multivariées, nous avons caractérisé la diversité des foraminifères planctoniques du Paléocène supérieur (biozone P4a) à l'Eocène supérieur (biozone E₁₆). Leur forte répartition dans les sédiments détritiques (argile, sable, sable argileux) et carbonatés (calcaire et marne) au Sud du bassin Sénégal-Mauritanien en Casamance a permis de suivre les variations de la biodiversité. Un clustering des échantillons réalisé sur la base des foraminifères planctoniques a donné 4 groupes d'associations réparties dans les différentes unités lithologiques. Les résultats obtenus avec l'Analyse Factorielle des Composantes Redressées (AFCR) montrent que le Paléocène supérieur est caractérisé par les genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina* et *Parasubbotina*. L'Eocène est surtout marqué par les genres *Subbotina*, *Acarinina*, *Turborotalia*, *Paragloborotalia*, *Globoturborotalita* et *Globigerina*. Des corrélations basées sur le pourcentage de foraminifères planctoniques ont permis de déterminer les variations des paléop profondeurs et les indices de diversité.

Mots clés : Foraminifères planctoniques, Analyse factorielle des composantes redressées, Biodiversité, Paléoenvironnements, Paléocène, Eocène, Casamance, Sénégal.

Abstract

Planktonic foraminiferal biodiversity in Cenozoic West African Continental margin deposits in Senegal: paleoenvironmental implication

Through an approach based on multivariate analyses, the diversity of planktonic foraminifera from the Upper Paleocene (biozone P4a) to the Upper Eocene (biozone E16) was characterised. Their high distribution in detrital (clay, sand, clayey sand) and carbonate (limestone and marl) sediments in the southern region of the Senegalo-Mauritanian basin in Casamance made it possible to monitor biodiversity variations. Samples clustering based on planktonic foraminifera distribution gave 4 faunal associations distributed in the different lithological units. The results obtained with the Detrended Correspondent Analysis (DCA) show that the Upper Paleocene is characterised by the genera *Morozovella*, *Pseudohastigerina* and *Parasubbotina*. The Eocene is mainly marked by the genera *Subbotina*, *Acarinina*, *Turborotalia*, *Paragloborotalia*, *Globoturborotalita* and *Globigerina*. Correlations based on percentage of planktonic foraminifera have made it possible to determine the palaeodepth changes and diversity index.

Keywords: Planktonic foraminifera, Detrended Correspondance Analysis, Biodiversity, Paleoenvironments, Paleocene, Eocene, Casamance.

Département de SVT, Faculté des Sciences et Technologies de l'Éducation et de la Formation, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal - Email : malick22.thiam@ucad.edu.sn

1. Introduction

La région de Casamance est située au Sud du bassin Sénégal-Mauritanien (Fig. 1). Ce bassin est caractérisé par une épaisse série sédimentaire méso-cénozoïque dont les caractères lithologiques et micropaléontologiques mettent en évidence une ouverture océanique progressive. Les études lithologiques et micropaléontologiques effectuées dans les différents secteurs du bassin (Tessier, 1952 ; Monciardini, 1966 ; Spengler et al., 1966 ; Castelain, 1965 ; Diop et al., 1982 ; Ly, 1985 ; Prian, 1986 ; Sarr, 1995 ; Thiam, 2007, Thiam, 2014 ; Thiam & Sarr, 2014) montrent un Paléogène quasi complet caractérisé par des dépôts chimiques et biochimiques (calcaire, calcaire marneux et marnes) qui se rajeunissent en direction de l'Est (Ly, 1985 ; Thiam, 2014). L'Eocène est dominé par une sédimentation carbonatée (calcaire et marnes). Les foraminifères sont très diversifiés dans le bassin avec des formes planctoniques très riches à l'Ouest qui passent à l'Est à des formes benthiques (Ly, 1985 ; Carbonnel, 1986 ; Thiam, 2014). Le présent travail a pour but d'étudier la biodiversité des foraminifères planctoniques durant la période Paléocène-Eocène à partir d'indices de biodiversité et d'associations de foraminifères planctoniques. Leur interprétation permet de déterminer l'évolution des paléoenvironnements. L'utilisation d'une analyse factorielle des correspondances redressées (AFCR) a permis de minimiser les écarts liés à la grande variabilité taxonomique des foraminifères planctoniques.

2. Matériel et méthode

L'étude a porté sur les foraminifères planctoniques triés à la suite d'un traitement micropaléontologique de 57 échantillons provenant du sondage de référence situé à Bounkiling (Longitude 15° 41' 25" W; Latitude 13° 02' 35" N, Profondeur 403m) en Casamance (Fig. 2). Pour chaque échantillon nous avons déterminé l'indice de pélagisme sur la base du pourcentage de foraminifères planctoniques par rapport au nombre total de foraminifères (Murray, 1976). Par ailleurs, le calcul de l'indice de Shannon (HS) et du nombre d'individus par gramme de sédiment (n/g) nous permet d'interpréter les variations de la diversité des foraminifères planctoniques au cours du temps. Environ 300 spécimens de foraminifères planctoniques ont été utilisés pour le clustering et l'analyse factorielle. Nous avons utilisé la méthode d'analyse factorielle des correspondances Redressées (AFCR) développées par Benzecri (1983) ; Hill et Gauch (1980) ; Oxanen et Minchin (1997) qui permet de caractériser la distribution des variables espèces dans un échantillon. Les axes factoriels [AF] retenus, rendent compte de la contribution des variables espèces par rapport à l'inertie totale obtenue. Pour caractériser les paléobathymétries, nous avons utilisé les subdivisions bathymétriques de Van Morkhoven et al. (1986) : néritique (0-200m), supra-bathyal (200-600m), moyen bathyal (600-1000m), infra-bathyal (1000-2000m) et abyssal (> 2000m).

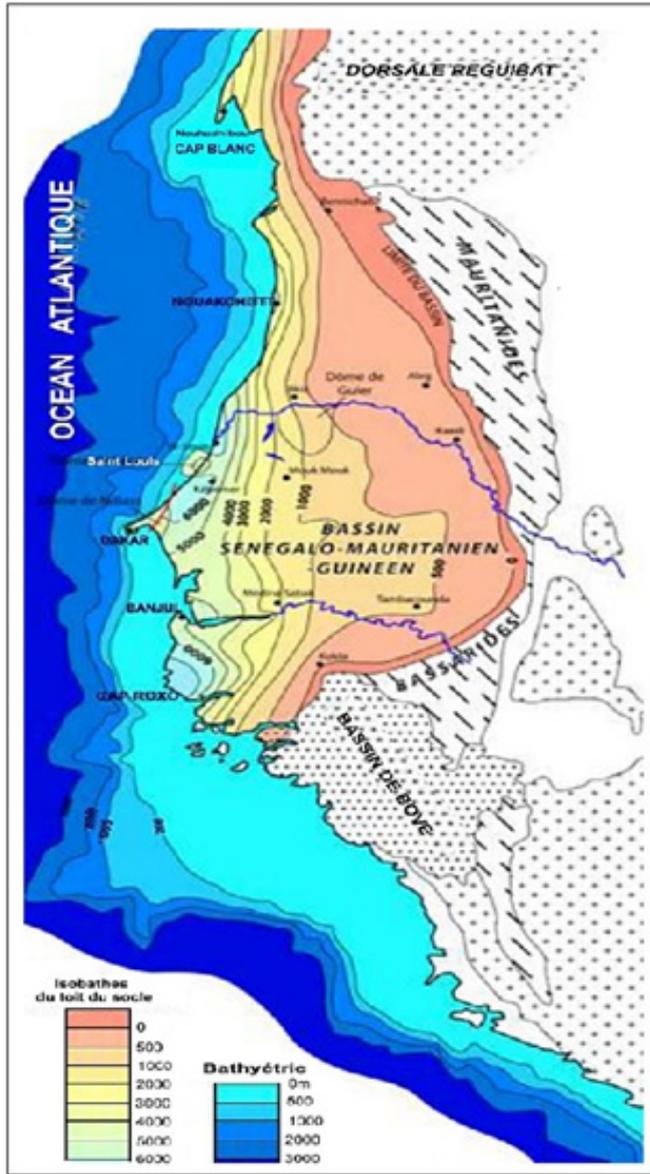


Figure 1 : Le Bassin sédimentaire sénégalo-mauritanien dans son cadre régional (Liger, 1979 ; Ly, 1985 ; Roger et al., 2009).

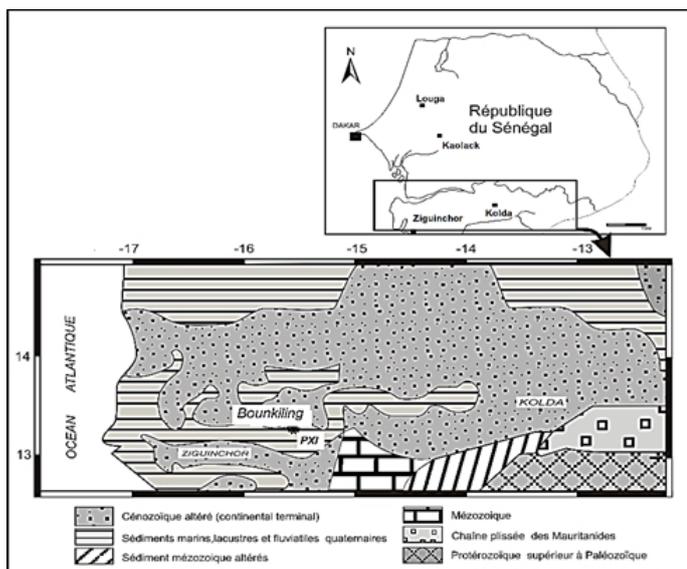


Figure 2 : Carte géologique de la zone étudiée.

3. Résultats et discussions

3.1. Biostratigraphie

Les 59 espèces de foraminifères planctoniques répertoriées ont permis de définir des biozones allant du Paléocène supérieur à l'Oligocène inférieur (*in* Thiam 2014). Les taxons index répertoriés dans deux unités lithologiques dénommées UA et UB sont présentés dans le Tableau 1. L'unité A (UA) est datée du Paléocène supérieur (P4a-P5) et l'unité B englobe les biozones de l'Éocène inférieur (SUB1), de l'Éocène moyen (SUB2) et de l'Éocène supérieur à Oligocène inférieur (SUB3).

4. Analyse multivariée

4.1. Clustering

Il a permis de mettre en évidence les groupes A, B1a et B1b qui se trouvent dans la sous-unité B1 [SUB1] datée du sommet de l'Éocène inférieur. L'unité lithologique [UA] ne renferme qu'une partie du groupe A d'âge Paléocène supérieur. La sous-unité B2 [SUB2] est représentée par le groupe B1c alors que les groupes B2, C et D caractérisent la sous-unité B3 [SUB3] (Fig. 3). Les groupes sont d'âge Éocène moyen à Oligocène inférieur. Les limites des unités lithologiques sont bien corrélées à celles des groupes à l'exception de [UA] (Fig. 3).

Tableau 1 : Répartition des espèces marqueurs de biozones foraminifères planctoniques dans les unités lithologiques

Profondeur (m)	Unité lithologique	Sous-unité lithologique	Espèces répertoriées	Biozones de foraminifères planctoniques	Age
403 à 382m	UB	SUB1	<i>Globobulborotalia granuchi</i> <i>Globobulborotalia angulioffensis</i> <i>Paraglobobulborotalia griffinoidea</i> <i>Subotina yeguiensis</i> <i>Turbotalia cerroazulensis</i> <i>G. praebulloidis</i> <i>Globigerina officinalis</i> <i>G. sellii</i> <i>Globobulborotalia quadrocamerata</i>	E15 - O2	Éocène supérieur - Oligocène inférieur
		SUB2	<i>Acanthina bulbrooki</i> <i>Acanthina praetropilensis</i> <i>Pyrilicoxensis</i> <i>Morozovella velascoensis</i> <i>Morozovella formosa</i> <i>Morozovella gracilis</i> <i>Morozovella aequa</i> <i>Morozovella marginulenta</i> <i>Morozovella subbotinae</i> <i>Acanthina pentacamerata</i> <i>Acanthina canalicamerata</i>	E8 - E11	Éocène moyen
		SUB3	<i>Subbotina velascoensis</i> <i>Subbotina triangularis</i> <i>Subbotina triloculinoidea</i> <i>Morozovella subbotinae</i> <i>Morozovella aequa</i> <i>Pseudolastigerina wilcoxensis</i>	E1 - E7	Éocène inférieur
	UA			P4a - P5	Paléocène supérieur

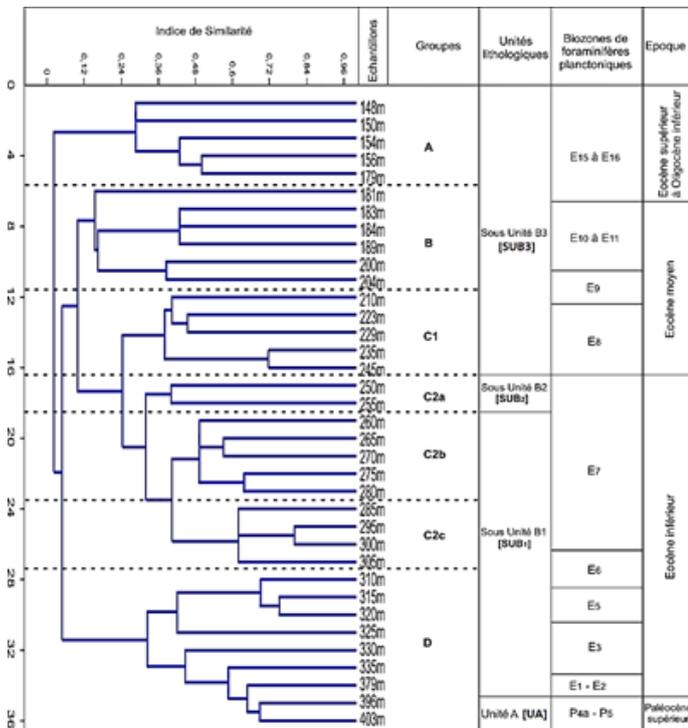


Figure 3 : Clustering des foraminifères planctoniques du sondage de Bounkiling.

4.2. Analyse factorielle des correspondances redressées (AFCR)

Les groupes sont bien individualisés entre eux et permettent de bien caractériser les biozones. L'AFRC des genres planctoniques (Fig. 4) montre que les groupes se succèdent suivant le gradient de l'axe factoriel 1 [AF1] qui exprime 93% de l'inertie totale. Suivant ce gradient, on a successivement le groupe A, les groupes B1 et B2, le groupe C et le groupe D.

Cette répartition des genres et des espèces, suit l'évolution des biozones de foraminifères planctoniques du Paléocène à l'Éocène supérieur (Fig. 4).

Nous remarquons que :

- le groupe A caractérise [UC] et [SUB3] (Fig. 3) et montre de fortes corrélations entre les échantillons du cluster et les genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina*, et *Parasubbotina*. Il contribue très peu à l'inertie de [AF1]. Par ailleurs, les espèces *Acarinina pseudotopilensis*, *A. nitida*, *Pseudohastigerina micra*, *Globanomalina chapmanni*, *Turborotalia carcosellensis* et *Subbotina cancellata* sont très isolées du groupe (Fig. 5), ce qui prouve qu'elles ont une incidence très faible ou nulle dans la biozotation du Paléocène. Cela signifierait que les genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina* et *Parasubbotina* caractérisent mieux les biozones P4a à E6 de Berggren et Pearson (2005) ;
- le groupe B a des contributions élevées sur [AF1] et [AF2] aussi bien au niveau des genres que des espèces (Fig. 4 et 5). Dans ce groupe B, on remarque des relations fortes entre les échantillons de B1a, B1b, B1c et B2 avec les espèces (Fig. 5). L'AFCR des genres planctoniques montre que les genres *Acarinina* et *Subbotina* ont des valeurs absolues très proches de celles du groupe B sur [AF1]. De plus, on note une corrélation positive des *Subbotina* avec les échantillons 250 à 265m [SUB2 et SUB1] (Fig. 4), alors que les *Acarinina* se rapprochent davantage des échantillons 201 à 229m (SUB3). Suivant l'axe factoriel 2 [AF2], on observe une faible contribution des échantillons. De plus, l'analyse des distances (similarités) entre les échantillons et les genres (Fig. 3) montre que les *Subbotina* caractérisent le groupe B1c alors que B2 est

plus marqué par les *Acarinina*. Il en résulte que les *Subbotina* caractérisent l'Éocène inférieur tandis que les *Acarinina* semblent plus typiques de l'Éocène moyen ;

- le groupe C, bien qu'ayant une forte contribution à l'inertie de [AF1], est mal caractérisé par les espèces planctoniques. En effet, la forte inertie sur [AF1] est surtout liée aux espèces du genre *Turborotalia* (Fig. 5). Sur [AF2], l'inertie résulte de la contribution de *S. eocaena*, *S. hagni*, *P. griffinoides* et *Globigerinatheka kugleri*. De ce fait, le groupe C est mieux caractérisé par les genres *Turborotalia*, *Subbotina* et *Paragloborotalia* (Fig. 4). Ces genres sont donc caractéristiques de l'Éocène moyen à supérieur ;

- le groupe D exprime la contribution la plus importante sur [AF1] mais participe faiblement à l'inertie de [AF2]. Les espèces caractéristiques de ce cluster appartiennent aux genres *Globigerina* (*G. officinalis*) et *Globoturborotalita* (*G. ouachitaensis*, *G. gnaucki*, *G. anguliofficialis*, *G. angustiumblicata*) et ont des scores très élevés sur cet axe. Ce groupe étant typique de la [SUB3] (Fig. 5), on en déduit que les espèces des genres *Globoturborotalita* et *Globigerina* définissent mieux l'Éocène supérieur.

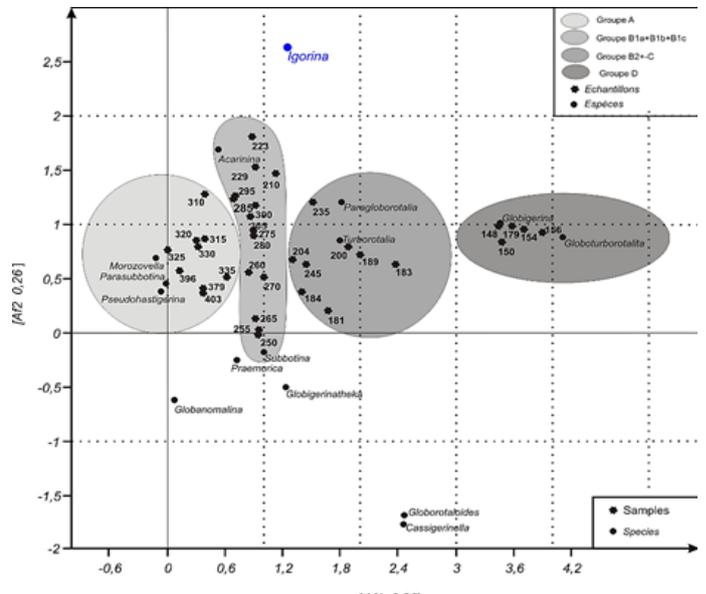


Figure 4 : Analyse factorielle de composantes redressées des genres de foraminifères planctoniques du sondage de Bounkiling.

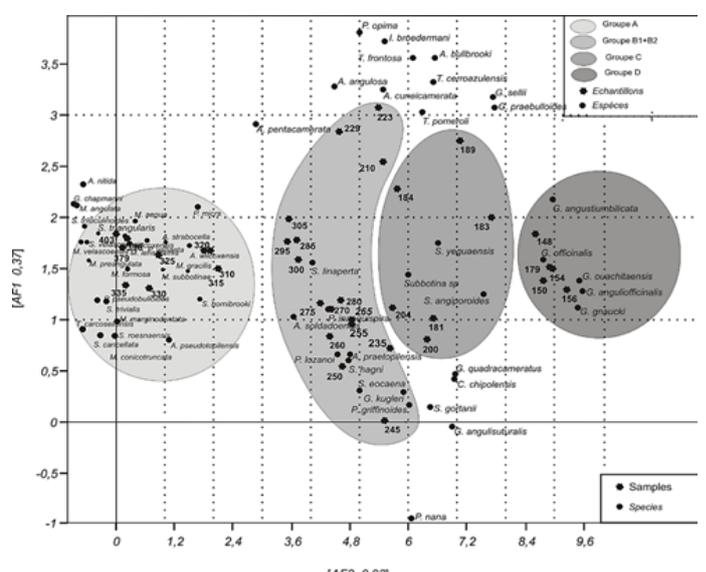


Figure 5 : Analyse factorielle de composantes redressées des foraminifères planctoniques du sondage de Bounkiling.

5. Étude de la biodiversité des foraminifères planctoniques

5.1. Au Paléocène

L'indice de pélagisme obtenu est relativement élevé (60%), ce qui indique un milieu marin de type plateforme externe et une profondeur d'environ 200m (Fig. 6). Cette valeur élevée de l'indice de pélagisme est liée à la transgression du Paléocène mis en évidence par Ly en Casamance (1985). Durant cette période, l'indice de Shannon H(S) reste élevé ce qui traduit une grande hétérogénéité des populations planctoniques. Cela s'expliquerait en partie par l'existence de conditions physico-chimiques favorables à la survie des espèces présentes durant la période (Fig. 6). La corrélation avec les résultats obtenus sur les AFCR montre que les espèces planctoniques des genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina* et *Parasubbotina* sont les mieux adaptées aux eaux chaudes des basses à moyennes latitudes (Thiam, 2013 ; Thiam, 2014). Ainsi, les argiles sableuses du Paléocène se sont déposées dans une mer profonde du milieu épibathyal supérieur où circulent les eaux chaudes (Thiam, 2014).

5.2. À l'Éocène

À l'Éocène inférieur et moyen, s'installe un milieu de dépôt mésobathyal avec un épisode néritique à la cote 303m. À l'Éocène inférieur, on assiste à une succession de transgression et de régression qu'on peut mettre en rapport avec les variations eustatiques mises en évidence à la même période en Californie, en Libye et dans le New Jersey (Vail et al., 1977). La transgression qui débute au Paléocène supérieur atteint son maximum au sommet de l'Éocène

inférieur (Yprésien). La biodiversité augmente globalement par rapport au Paléocène avec un renouvellement des faunes marqué par une extinction importante des genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina*, *Parasubbotina* et une diversification des genres *Subbotina* et *Acarinina*. Ce changement de microfaunes est lié à l'installation des eaux tempérées dans le bassin. La régression qui suit à partir de l'Éocène moyen provoque chez les foraminifères planctoniques la réduction du nombre d'individus bien que le nombre d'espèces augmente (Fig. 6). À l'Éocène supérieur, la population planctonique comprend en majorité des espèces des genres *Turborotalia* et *Paragloborotalia* associées à quelques espèces du genre *Subbotina* (*S. yeguaensis*). Aucune variation significative de la biodiversité n'est observée durant la seconde transgression marquée par un HS compris entre 1,2 et 1,4 et un nombre d'individu inférieur à 20/g (Fig. 6). Les espèces du genre *Acarinina* s'adaptent mieux aux dépens de ceux du genre *Subbotina*. À l'Éocène moyen (Lutétien), la baisse du niveau marin entraîne une baisse de la biodiversité en relation avec l'élévation de la température des eaux (Thiam, 2014).

Les eaux chaudes persistent jusqu'à l'Éocène supérieur avant d'être remplacées par des eaux plus froides à l'Oligocène (Thiam, 2014). Ce refroidissement des températures s'accompagne d'une extinction massive des foraminifères planctoniques. Seules subsistent les espèces des genres *Globoturborotalita* et *Globigerina* qui supportent les eaux froides (Molina et al., 2006 ; Wade et Pearson, 2008).

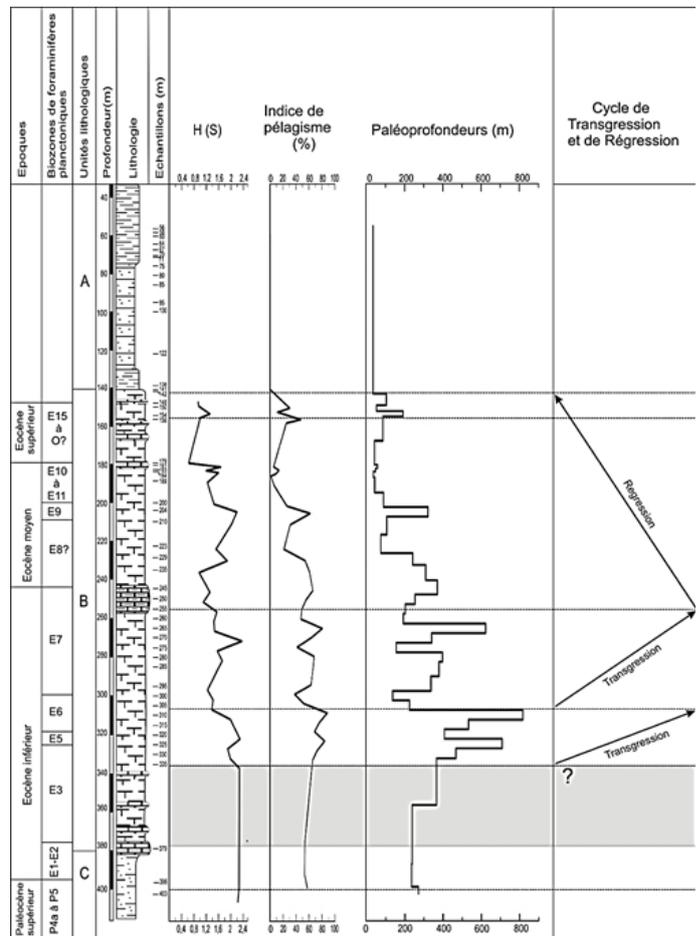


Figure 6 : Variation des indices de biodiversité et de pélagisme en fonction des paléoprofondeurs dans le sondage de Bounkiling.

Conclusion

Dans le bassin sénégalo-mauritanien, les analyses biostratigraphiques (foraminifères planctoniques) effectuées en Casamance permettent de dater la série sédimentaire étudiée dans le sondage de Bounkiling du Paléocène supérieur à l'Oligocène inférieur (P4a-O2). La lacune entre l'Éocène moyen et l'Éocène supérieur qui a été mise en évidence à l'Ouest (Ly, 1985) a été confirmée dans ce travail. Les études lithologiques mettent en évidence une sédimentation détritique au Paléocène et des dépôts carbonatés à l'Éocène. L'analyse factorielle des correspondances redressées permet de suivre la répartition des genres planctoniques dans les sédiments au cours du temps. Le degré de liaison entre les variables espèces et échantillons permet de déduire que :

- le Paléocène est caractérisé par les genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina* et *Parasubbotina* dont le maximum de diversité se situe au cours de la transgression ;
- l'Éocène inférieur est marqué par l'épanouissement des *Subbotina* et *Acarinina* en dépit des fluctuations du niveau marin. Le développement de ces genres est consécutif à la baisse de la diversité des genres *Morozovella*, *Pseudohastigerina* et *Parasubbotina* ;
- l'Éocène moyen se caractérise surtout par les genres *Turborotalia* et *Paragloborotalia* qui évoluent sous une faible tranche d'eau ;
- les genres *Globoturborotalita* et *Globigerina* caractérisent l'Éocène supérieur et la base de l'Oligocène.

L'analyse factorielle des correspondances redressées a permis de minimiser les écarts liés à la grande variabilité taxonomique

qui pose des problèmes dans la délimitation des biozones. Les résultats obtenus montrent que la méthode permet de réduire ces problèmes taxonomiques et par conséquent les problèmes liés à la biozonation. Par ailleurs, elle pourrait être utile dans l'étude des lignages pour les foraminifères planctoniques. La présente étude a mis en évidence un renouvellement faunistique dans le bassin du Paléocène supérieur à l'Éocène supérieur et ce renouvellement semble être contrôlé par les fluctuations du niveau marin et par la température des eaux.

Remerciements

Mes remerciements à l'Agence allemande d'échanges universitaires qui a entièrement financé les recherches. Ils s'adressent également au laboratoire de Biostratigraphie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar et au laboratoire de micropaléontologie de l'Université Eberhards Karls de Tübingen.

Références

Benzecri J.P. (1983). Analyse de l'inertie intra classe par l'analyse d'un tableau de correspondance. *Les Cahiers d'Analyse des Données*, 8, 351-358.

Berggren W.A. and Pearson, P.N. (2005). A revised tropical to subtropical Paleogene planktonic foraminiferal zonation. *Journal of Foraminiferal Research*, 35, 279 -298.

Castelain J. (1965). Aperçu stratigraphique et micropaléontologique du bassin du Sénégal occidental : historique de la découverte paléontologique. *Bur. Rech. Géol. Min. (B.R.G.M), Mém. 32, Coll. Intern. Micropal., Dakar*, 135-161.

Carbonnel G. (1986). Ostracodes tertiaires (Paléogène à Néogène) du bassin sénégal-guinéen. *Bureau de Recherches Géologiques et Minières*, 101, 33-243.

Diop A., Guernet C. and Poignant A. (1982). Microfaune du Paléocène de quelques sondages du dôme du Sénégal occidental : observations sur les Ostracodes. *Geobios*, Lyon, 15, 19-31.

Hill M.O. and Gauch Jr. H.G. (1980). Detrended Correspondence analysis: an improved ordination technique. *Vegetation*, 42, 47-58.

Liger J. L. (1979). Structure profonde du bassin côtier Sénégal-mauritanien interprétation de données gravimétriques et magnétiques. Thèse 3ème cycle, Marseille St. Jérôme, 156p.

Ly A. (1985). Le Tertiaire de Casamance (Sénégal) : biostratigraphie et sédimentologie d'après les données de subsurface. Thèse Doctorat, Université d'Aix-Marseille III, 215p.

Molina E., Gonzalvo C., Ortiz S. and Cruz L.E. (2006). Foraminiferal turnover across the Eocene - Oligocene transition at Fuente Caldera, Southern Spain: no cause - effect relationship between meteorite impacts and extinctions. *Marine Micropaleontology*, 58, 270 -286.

Monciardini C. (1966). La sédimentation éocène du Sénégal. *Mémoires du Bureau de Recherches Géologiques et Minières*, Paris, 43, 1- 65.

Murray J.W. (1976). A method of determining proximity of marginal seas to ocean. *Marine Geology*, 22, 103-119.

Oxanen J. and Minchin P.R. (1997). Instability of ordination

results under changes in input data order: explanation and remedies. *Journal of Vegetation Science*, 8, 447- 454.

Prian J.P. (1986). Géologie de la bordure méridionale du golfe tertiaire de Casamance (Sénégal, Guinée Bissau). *Documents du Bureau de Recherches Géologiques et Minières*, 101, 1-32.

Roger J., Nehlig P., Serrano O., Barusseau J.P., Duvail C., Sarr R., Dabo B., Diagne E. and Sagna R. (2009). Notice explicative des cartes géologiques à 1/200 000 du Bassin sédimentaire sénégalais. *Projet PASMI, Direction des Mines et de la Géologie*, p 121.

Sarr R. (1995). Étude biostratigraphique et paléoenvironnementale des séries d'âge Crétacé terminal à Éocène moyen du Sénégal occidental. *Systématique et migration des ostracodes*. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 1- 406.

Spengler A., Castelain J., Cauvain J. and Leroy M. (1966). Le bassin secondaire et tertiaire du Sénégal. *Symposium New Dehli 1964, Ass. Ser. Geo. Afr. Dakar*, 163-193.

Tessier F. (1952). Contribution à la stratigraphie et à la paléontologie de la partie Ouest du Sénégal (Crétacé et Tertiaire). Thèse Doctorat ès Sciences, Université de Marseille et *Bulletin de la Direction des Mines de l'Afrique Occidentale Française*, Dakar, 14, 1-570.

Thiam M. (2007). Le Paléogène dans la partie méridionale du Bassin Sénégal-mauritanien (Haute Casamance). *Mémoire de DEA, Université Cheikh Anta Diop Dakar*, 1-80.

Thiam M. (2013). Eocene-Oligocene planktic foraminifera of the West African margin in Casamance: biostratigraphy and paleoecology *in* Foraminifera: Aspects of Classification, Stratigraphy, Ecology and Evolution (Ed. Dan Georgescu) *Nova Sciences Publishers*, 189-208.

Thiam M. (2014). Étude biostratigraphique et paléoenvironnementale du cénozoïque de la marge continentale ouest africaine en Casamance (Sénégal) d'après les foraminifères et les ostracodes. Thèse de Doctorat ès Sciences, Université Cheikh Anta Diop Dakar, 1-207.

Thiam M. and Sarr R. (2014). Etude des paléoenvironnements du paléocène au miocène du bassin sédimentaire sénégalais (Casamance, Afrique de l'Ouest) par analyse factorielle des populations de foraminifères benthiques. *Revue de Paléobiologie*, Genève, 33 (1), 143-159.

Vail P.R., Mitchum R.M. and Thompson S. (1977). Seismic stratigraphy and global changes of sea level, part 4: Global cycles of relative changes of sea level. *American Association of Petroleum Geologist Memory*, 26, 83-97.

Van Morkhoven F.P.C.M., Berggren W.A. and Edwards A.S. (1986). Cenozoic Cosmopolitan Deep-water Benthic Foraminifera. *Bulletin des Centres de Recherches Exploration-Production Elf-Aquitaine*, Mémoire 11, 421p.

Wade B.S. and Pearson P.N. (2008). Planktonic foraminiferal turnover, diversity fluctuations and geochemical signals across the Eocene/Oligocene boundary in Tanzania. *Marine Micropaleontology*, 68, 244 -255.

An *in vitro* model to study myelin maintenance using small interfering ribonucleic acid in cocultures of neurons and Schwann cells.

Adama OUEDRAOGO^a, Basile TINDANO^a, Maurice OUEDRAOGO^a, Laurence RICHARD^b, Prisca LEBEAU^b, Franck STURTZ^{b, d}, Jean-Michel VALLAT^{b, c}, Benoît FUNALOT^{b, c, d}, Balé BAYALA^a

Abstract

The synthesis of the myelin sheath by Schwann cells in the peripheral nervous system is controlled by several transcription factors including Early Growth Response 2 gene (Egr2). This latter factor is also involved in the maintenance of peripheral myelin. The current study was aimed to set up a new method to study the involvement of various genes in peripheral myelin maintenance. Modified self-delivery small interfering RNAs (siRNAs) are used to silence candidate genes *in vitro*, without using transfection reagents. These siRNAs were used on organotypic cocultures of neurons and Schwann cells contained in dorsal root ganglia (DRG). DRG were extracted from embryonic rat. Control non-targeting siRNAs tested did not induce significant demyelination in cocultures. Anti-Egr2 siRNAs down-regulated *in vitro* their target gene expression by 60%. Furthermore, treatment with anti-Egr2 siRNAs resulted in abnormalities of the myelin sheaths in cocultures. The current results are in line with previous findings involving Egr2 in active myelin maintenance, which were obtained using conditional knockout experiments in mice. The results obtained constitute a proof of concept for the use of self-delivery siRNAs to investigate the molecular mechanisms of myelin maintenance *in vitro*.

Key words: Dorsal root ganglion, cell culture, Schwann cells, myelin maintenance, small interfering RNAs.

Résumé

Un modèle *in vitro* pour l'étude de la maintenance myélinique par utilisation de petits acides ribonucléiques interférents (siRNA) sur des cocultures de neurones et de cellules de Schwann.

La synthèse de la gaine de myéline par les cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique est contrôlée par plusieurs facteurs de transcription dont Egr2. Ce dernier facteur est aussi impliqué dans la maintenance de la myéline périphérique. L'objectif de la présente étude est de développer une nouvelle technique pour étudier l'implication de divers gènes dans la maintenance de la myéline du système nerveux périphérique. De petits ARN interférents (siARN) modifiés ont été utilisés en auto-administration pour induire *in vitro* l'extinction de l'expression de gènes candidats sans utiliser des réactifs de transfection. Ces siARN ont été utilisés sur des cocultures organotypiques de neurones et de cellules de Schwann contenus dans des ganglions rachidiens postérieurs provenant d'embryons de rat. Les siRNA contrôles, sans cibles n'ont pas entraîné de démyélinisation significative des cocultures. Les siARN anti-Egr2 ont régulé à la baisse l'expression de leur gène cible à 60% *in vitro*. En outre, le traitement avec les siARN anti-Egr2 a provoqué des anomalies des gaines de myéline des cocultures. Ces présents résultats sont en accord avec ceux des études antérieures impliquant Egr2 dans la maintenance active de la myéline, qui ont été obtenus en utilisant des expériences KO (knockout) sur des souris. Les résultats présentés constituent une preuve de concept pour l'utilisation des siARN auto-administrés pour l'étude des mécanismes moléculaires de la maintenance de la myéline *in vitro*.

Mots clés : ganglions rachidiens postérieurs, culture cellulaire, cellules de Schwann, maintenance myélinique, petits ARN interférents.

^a Laboratory of animal physiology, Joseph KI-ZERBO University, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso;

^b EA 6309, School of Medicine, University of Limoges, 2 rue du Dr Marcland 87025 Limoges Cedex -Tel 0033 5 55 43 59 38 France;

^c National Referral Center for Rare Peripheral Neuropathies and Department of Neurology, University hospital, 2 Avenue Martin Luther King, 87000 Limoges- Tel 0033 5 55 05 55 55, France;

^d Department of Biochemistry and Molecular Genetics, University Hospital, 2 Avenue Martin Luther King, 87 000 Limoges- Tel 0033 5 55 05 55 55, France.

Corresponding author e. mail: ouedraogoadams2000@gmail.com

1. Introduction

The coexistence of neurons and glial cells is a specific characteristic of all higher vertebrate nervous systems. In peripheral nerves, Schwann cells produce segments of myelin, a multilamellar lipid-rich membrane that is wrapped around axons. The main function of myelin is to serve as an insulator to facilitate signal propagation along axons. The Egr2 transcription factor is a prime regulator of Schwann cells myelination. Nerves from Egr2- knockout mice being hypomyelinated and populated with Schwann cells that fail to exit the cell cycle (Topilko et al., 1994). Mutations in Egr2 are found in patients with congenital hypomyelinating neuropathy, Charcot-Marie-Tooth disease or Dejerine-Sottas syndrome (Warner et al., 1998; Timmerman et al., 1999).

During the last two decades, many molecular effectors of peripheral nerve myelination have been identified (Woodhoo et al., 2009). Egr2 is permanently expressed in myelinating Schwann cells and is down-regulated after axonal injury. This phenomenon provokes elimination of myelin sheath, a process known as Wallerian degeneration (Ghislain and Charnay, 2006). Consequently, Egr2 expression might be required for myelin maintenance. Very little knowledge is available on the maintenance of peripheral myelin (Canu et al., 2009; Bremer et al., 2011).

Therefore, a new method in the current work is set up to study the involvement of genes in peripheral myelin maintenance using small interfering RNAs (siRNAs) to silence target genes *in vitro*. For this purpose, "self-delivery" siRNAs

(Accell siRNA, Dharmacon) is used to silence candidate genes without using transfection reagents. These modified siRNAs were previously shown to be able to down-regulate target genes *in vivo* after direct injection in skin ([Gonzalez-Gonzalez et al., 2010; Lara et al., 2012-]). Another siRNA targeting Krüppel like factor 6 splice variant 1 (KLF6-SV1) was shown to inhibit ovarian cancer development after intraperitoneal injection (DiFeo et al., 2009). In the current study, anti-Egr2 and anti-Dicer siRNAs were used on cocultures of myelinating Schwann cells and neurons extracted in DRG from E17 embryonic rat (*in vitro* model).

2. Materials and methods

2.1. Animal materials

For cocultures of dorsal root ganglia (containing neurons and Schwann cells), embryos of days 15 to 17 (E15-E17) from adult pregnant female Sprague-Dawley rats were used. All rats were obtained from DEPRE breeding center, Saint-Doulchard, France.

Two animals per cage were housed, in a temperature and humidity-controlled room with 12:12 h light/dark cycle. They were fed with standard chow and water *ad libitum*. Adequate measures were taken to minimize pain and discomfort. The animals were housed for at least one week before entering the experiments. All procedures were performed with the approval of the animal ethics committee of the University of Limoges (authorization number 15-2013-15).

2.2. Methods

2.2.1. Organotypic DRG culture

- Dissection of dorsal root ganglia

The procedure used for dissection is a modification of the method described by Svenningsen et al. (2003) for the preparation of neuron-Schwann cell cocultures. A pregnant, E15 to E17 female Sprague-Dawley rat was anesthetized by inhalation of isoflurane mixed to O₂, which is delivered by an anesthesia system adapted to rats. The uterus with embryos (mean number of embryos/ uterus: 12) was extracted under sterile conditions and placed in 100 mm Petri dish with cold sterile L15 medium. The embryos were removed and transferred into a new dish containing cold L15 medium. The rat was sacrificed by intracardiac injection of 0.5 ml ketamine at 10 mg/ml (PANPHARMA). In each embryo, the spinal cord was removed under a dissecting microscope (Leica MZ 6) and the DRG were cut one by one using microscissors and transferred to an eppendorf tube containing 1 ml cold L15 medium. All embryos extracted from uterus were dissected.

- Dissociation and plating

The dissociation of embryonic Dorsal Roots Ganglia (DRG) was performed using the method described by Svenningsen et al. (2003). All DRG were dissociated in 0.25% trypsin in L-15 medium at 37°C for 15 min. The dissociation was realized mechanically through a plastic Pasteur pipette. The step of DRG dissociation give an important cluster of isolated cells. Afterwards, the cells were pelleted and resuspended in Neurobasal medium (Gibco) containing 2% of B27 (Gibco), 0.3% of glutamax (Gibco), 100 ng/ml of nerve growth factor (Beckton-Dickinson) and 1% of penicillin-streptomycin (Invitrogen). This medium was prepared in advance and frozen in aliquots to feed the cultures. The cells were plated on Matrigel (1:3) coated 12-well plates (Thermo Fischer Scientific

Nunc A/S) at 1-5.10⁴ cells/ ml and incubated at 37°C with 5% CO₂ and 90% humidity. Seven days after plating, 50 µg/ml of ascorbic acid (Sigma) was added to the medium to trigger myelination by the endogenous Schwann cells. Medium was changed every two days.

- Treatment of organotypic cultures with self-delivery siRNAs

Pools of modified self-delivery Accell siRNAs (Thermo scientific Dharmacon) diluted at 1µM in culture medium were used. No ascorbic acid was added to the culture medium during the siRNA treatment to avoid stimulating myelination during the experiment. Each pool of Accell siRNAs contains 4 different short sequences targeting the same mRNA (Table 1). Non-targeting (NT) Accell siRNAs were used as control. The cocultures were treated at 1 µM for each pool of siRNAs (following the manufacturer instructions) for three days, five days and one week, respectively. The medium was changed on day 3 (with new siRNAs added) in the case of a five-day treatment and on day 5 in the case of a one-week treatment.

Table 1. Oligonucleotide primers used for RT-qPCR

Dicer	Sequence 1 5'CCCCUAUCGUGAAAUAUG 3'(13546.4 g/mol)
	Sequence 2 5'CCAGGAUCCACAAAACGAA 3' (13514.0 g/mol)
	Sequence 3 5'UGAUCAGCCUCAUCGAUUU 3' (13572.2 g/mol)
	Sequence 4 5'GUCUGAAGCUCGUAUAGGC 3' (13566.6 g/mol)
Egr2	Sequence 1 5'CCAGAAGGCAUCAAAUA 3' (13510.8 g/mol)
	Sequence 2 5'CUGACUUGUUUGGUUAUA 3' (13546.3 g/mol)
	Sequence 3 5'GGUUUAAGUAUGGCUGUAU 3' (13535.2 g/mol)
	Sequence 4 5'CCAGUACUCUCAGUGGUU 3' (13561.4 g/mol)

- Relative quantification of mRNA by RT-qPCR in cocultures

For real-time PCR, total RNA was extracted using the RNeasy mini kit (Qiagen). Extraction was carried out according to the protocol recommended by the kit supplier. The concentration and purity of total RNA were measured using a Nanodrop ND-1000 spectrophotometer (Labtech). The reverse transcription was performed using Quantitect reverse transcription kit (Qiagen) according to the supplier protocol. The quantification was carried out in a Rotor- Gene 6000 apparatus (Corbett Life Science, series software 1.7) in a final volume of 25 µl, with 12.5 µl of 2x Rotor-Gene SYBR Green PCR master mix (Qiagen), 1µM of forward primer and reverse primer, 2 µl of template cDNA (≤100 ng/reaction), completed with RNease-free water. Quantification was performed according to the supplier recommendations.

Gapdh (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) and Hprt (Hypoxanthine Phosphoribosyl

Transferase) were used as reference genes. The primers used for RT-qPCR are mentioned in table 2.

Table2. Self-delivery siRNA nucleotide sequences

Gapdh	Forward primer TGCACCACCAACTGCTTAG
	Reverse primer GGATGCAGGGATGATGTT
Hprt	Forward primer CTCATGGACTGATTATGGACAGGAC
	Reverse primer GCAGGTCAGCAAAGAAGCTATAGCC
Egr2	Forward primer CAGTACCCTGGTGCCAGCTG
	Reverse primer TGTGGATCTCTCTGGCACGG
Dicer	Forward primer GAGTCTCTTGCTGGTGCCAT
	Reverse primer CGCCTGTGAGTCTGGAAGC

- Immunostaining of cocultures

The cocultures were fixed with 4% paraformaldehyde in phosphate-buffer saline (PBS) for 15 min at room temperature. They were rinsed with PBS 3x5 min and permeabilized with 0.5% triton x-100 in PBS for 5 min. The saturation was carried out with 3% bovine serum albumin (BSA) in PBS for 30 min. A mouse monoclonal anti-myelin basic protein (MBP) antibody (clone SMI-94, Covance) diluted at 1:1000 in 1.5% BSA was added and incubated overnight at 4°C. Cells were rinsed with PBS 3x5 min and a secondary goat anti-mouse antibody conjugated to Alexa 488 (Invitrogen) diluted 1:500 was added for 2 hours at room temperature and rinsed 3x5 min. Cultures were treated with Hoechst 33342 (Sigma-Aldrich, France) diluted at 1:5000 in PBS for 5 min; finally rinsed 3x5 min with PBS and examined under an inverted fluorescence microscope (Leica DM IRB).

2.2.2. Statistical analysis

The relative mRNA expression was calculated using the conventional delta-delta Ct method (Livak et Schmittgen 2001). Student t-test was used to analyze the results. GraphPad Prism was used to present the results as graphs with standard error bars. Each value was expressed as mean \pm s.e.m (standard error of the mean). Values of $p < 0.05$ were considered as statistically significant.

3. Results

3.1. Effect of self-delivery siRNAs on Egr2 expression *in vitro*

To determine whether self-delivery siRNAs were able to down-regulate Egr2 mRNA in cocultures of DRG neurons and Schwann cells, cultured cells were incubated with Accell siRNAs diluted at 1 μ M in culture medium. Control cultures receiving no siRNAs, non-targeting siRNAs and cultures receiving anti-Egr2 siRNAs were treated simultaneously. Quantification of Egr2 expression after treatment with anti-Egr2 siRNAs showed a significant

decrease (63%) of Egr2 expression relative to GAPDH. By contrast, treatment with non-targeting siRNAs (NT-siRNA) did not induce significant changes in Egr2 mRNA expression (Fig. 1).

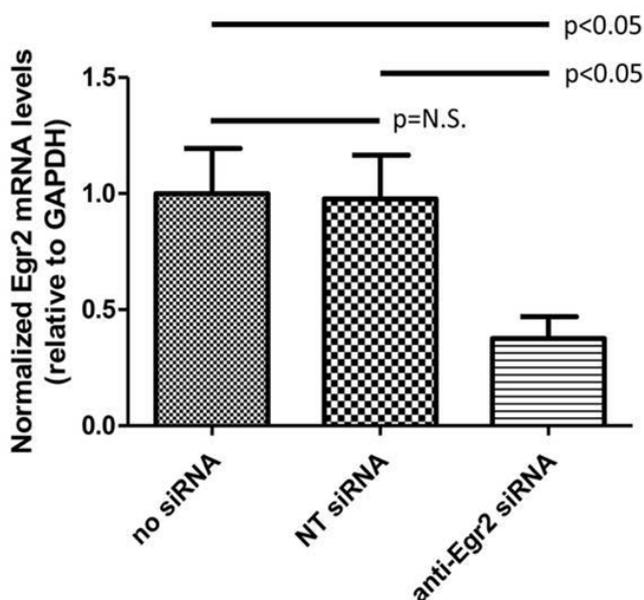


Fig. 1: Real-Time qPCR quantification of Egr2 expression three days after treatment with self-delivery siRNAs.

Using Hprt, another stable reference gene, as an internal control resulted in very similar

results. For this latter treatment, data were not shown.

The level of expression of Egr2 (relative to GAPDH) was normalized to the mean expression level in the absence of siRNAs.

- Effect of siRNAs targeting Egr2 on myelin maintenance *in vitro*

To detect the effect of anti-Egr2 siRNAs on myelin maintenance *in vitro*, MBP immunostaining on cocultures was performed at various times after siRNA treatment (3 days, 5 days and one week). Cocultures treated with anti-Egr2 siRNAs showed moderate signs of demyelination at day 3, manifesting as an irregular and weaker MBP immunostaining in myelinated fibers (Fig. 2 A-B).

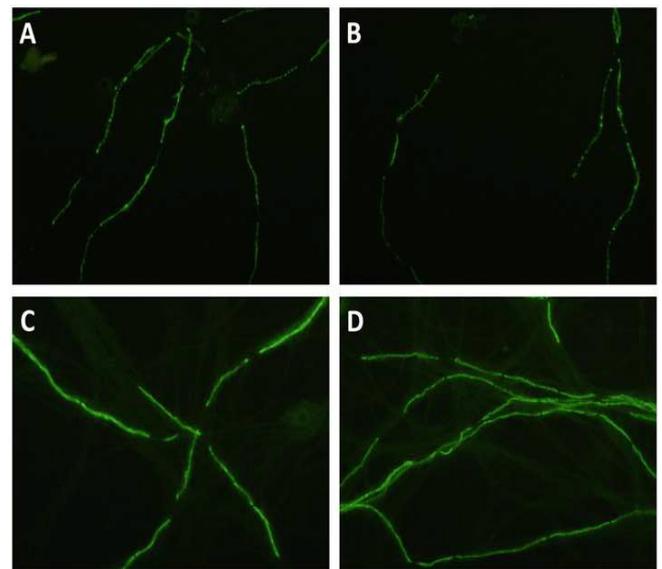


Fig. 2: Effect of siRNAs on myelin sheath in neuron-Schwann cell cocultures: cocultures treated with anti Egr2 siRNAs (A, B) and cocultures treated with non-targeting siRNAs (C, D).

Treatment of cocultures during 5 or 7 days with anti-Egr2 siRNAs did not result in more marked areas of demyelination (data not shown). Treatment with non-targeting siRNAs (Fig. 2 C-D) did not result in any significant demyelination.

In particular, anti-Egr2 siRNA did not induce a diffuse and massive demyelination, as can be observed with some chemical demyelinating agents such as lysophosphatidylcholine [250 μ g/ml for 15 hours] (Fig 3A). The myelin sheath control which was not treated with lysophosphatidylcholine did not show signs of demyelination (Fig. 3B).

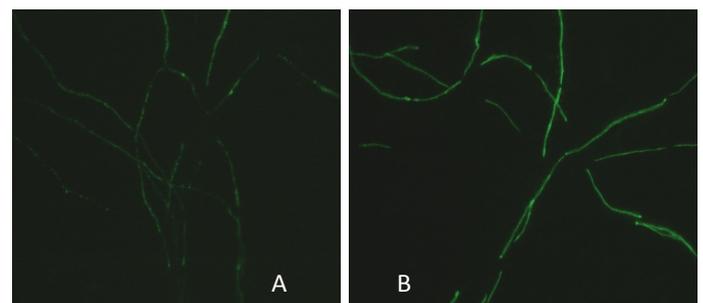


Fig. 3: Effect of lysophosphatidylcholine (LPC) on myelin sheath in neuron-Schwann cell cocultures: cocultures treated with LPC (A) and cocultures which did not treat with LPC (B)

- Effect of siRNAs targeting Dicer on gene expression and myelin maintenance

Treatment of neurons and Schwann cells cocultures with anti-Dicer siRNAs was associated with 72% reduction of Dicer mRNA relative to control (Fig. 4).

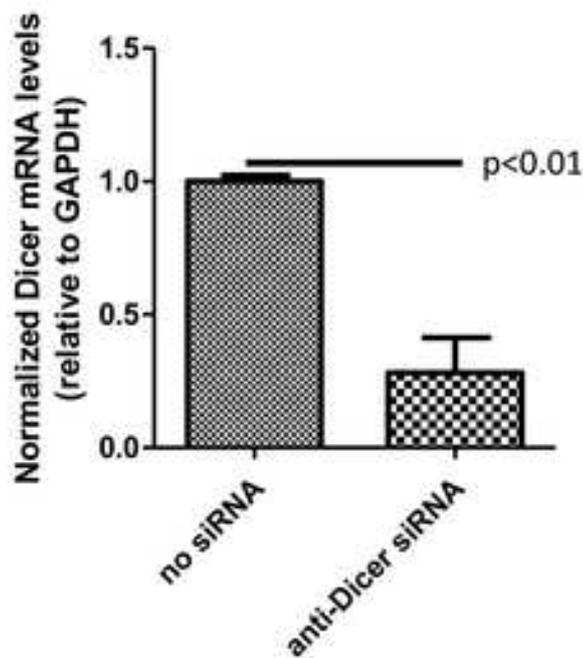


Fig. 4: Quantification of Dicer mRNA expression three days after treatment with self-delivery siRNAs in neuron-Schwann cell cocultures.

Patterns of demyelination were not significantly different from those observed with anti-Egr2 siRNAs. These last results demonstrate that expression of Dicer is necessary for peripheral myelin maintenance *in vitro*.

The level of expression of Dicer mRNA (relative to GAPDH) was normalized to the mean expression level in the absence of siRNAs.

4. Discussion

Egr2 is a key regulator of the peripheral nervous system myelination. It is activated in Schwann cells after axonal contact, before myelination and then drives peripheral nerve myelination (Murphy *et al.*, 1996; Topilko *et al.*, 1997). In the peripheral nerve, Egr2 is expressed in myelinating Schwann cells but remains expressed at high levels throughout life, which led to the hypothesis that Egr2 could also be involved in peripheral myelin maintenance. In experiments using inducible knockout of the Egr2 gene in mouse sciatic nerves (Cre-Lox excision of the Egr2 gene using estrogen receptor-induced Cre expression), Decker *et al.* (2006) showed that focal excision of the Egr2 gene after injection of hydroxytamoxifen resulted in active demyelination in the injected area. This suggested that Egr2 constant expression in the peripheral nervous system is required for peripheral myelin maintenance. In the absence of Egr2 gene expression, a specific program of dedifferentiation would be engaged, leading to active myelin destruction. One possible mechanism for this active demyelination would be the reactivation of Egr2-silenced genes involved in maintaining the immature stage of Schwann cells (Decker *et al.*, 2006).

The advantage of self-delivery siRNAs was their efficiency for

in vitro inactivation of target genes. Through this, it has been confirmed that Egr2 silencing results in active demyelination in the absence of non-specific effect of the siRNAs (no significant demyelination after treatment with non-targeting siRNAs). The current study, which uses a completely different technique, confirms the findings of Decker *et al.* (2006), suggesting that peripheral myelin maintenance is a dynamic phenomenon requiring constant expression of Egr2 in the peripheral nervous system.

The siRNA induced demyelination could also constitute a clever model of demyelination, because chemically-induced PNS demyelination also results in significant axonal injury because of non-specific toxic effect of the chemical agents (as is the case with lyso-phosphatidyl-choline).

Finally, the involvement in peripheral myelin maintenance of microRNA-processing enzyme Dicer was tested. It was previously shown that Dicer inactivation results in defective peripheral nerve myelination (Pereira *et al.*, 2010). This led to speculate that the persistent expression of Dicer mRNA in the peripheral nerves (which is mostly attributable to its expression by Schwann cells) could also be necessary for adequate peripheral myelin maintenance. The down-regulation of target mRNA in cell cultures by anti-Dicer siRNAs was showed.

Contrary, with Egr2 which is only expressed by Schwann cells in the peripheral nervous system, it cannot be rule out that anti-Dicer siRNAs could also target Dicer in neurons, which could indirectly contribute to the observed demyelination through perturbed axon-Schwann cell interactions.

A question regarding the relatively moderate demyelinating effect of anti-Egr2 siRNAs in cocultures of DRG neurons and Schwann cells remains. The down-regulation of Egr2 in cocultures of neurons and Schwann cells did not result in a complete demyelination but rather in a partial demyelinating effect, the myelin sheaths appearing as irregular and less intensely stained by anti-MBP antibodies. Over the course of time, new axons continue to develop from cultured neurons and new myelin sheaths are formed, which may represent a protracted myelination process rather than the maintenance of stable myelin sheaths. In addition, the level of inhibition of Egr2 in these cocultures (about two thirds of basal level) could be insufficient to impair myelin maintenance in the absence of “adjuvant” demyelinating agents, such as macrophages which contribute to demyelination in peripheral nerves.

5. Conclusion

The results obtained confirm the central role of Egr2 constant expression in peripheral myelin maintenance and demonstrate that Dicer expression is required for myelin maintenance. These results also constitute a proof of concept for the use of self-delivery siRNAs to investigate the molecular mechanisms of myelin maintenance *in vitro* and suggest that this simple technique could be a versatile means to induce a gene-driven demyelination.

Acknowledgements

Our thanks go to the University of Limoges and the Limousin region for hosting and funding this research work.

Bibliographic References

- Bremer J., Baumann F., Tiberi C., Wessig C., Fischer H., Schwarz P., Steele A.D., Toyka K.V., Nave K.A., Weis J. and Aguzzi A. (2010). Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance. *Nature Neuroscience*, 13, 310–318. doi: 10.1038/nn.2483
- Bremer M., Fröb F., Kichko T., Reeh P., Tamm E.R., Suter U. and Wegner M. (2011). Sox10 is required for Schwann-cell homeostasis and myelin maintenance in the adult peripheral nerve. *GLIA*, 59, 1022–1032. doi: 10.1002/glia.21173
- Bremer J., O'Connor T., Tiberi C., Rehrauer H., Weis J. and Aguzzi A. (2010). Ablation of Dicer from Murine Schwann Cells Increases Their Proliferation while Blocking Myelination. *PLoS One*, 5, e12450. doi: 10.1371/journal.pone.0012450
- Canu M.H., Carnaud M., Picquet F. and Goutebroze L. (2009). Activity-dependent regulation of myelin maintenance in the adult rat. *Brain Research*, 1252, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.10.079>
- Decker L., Desmarquet-Trin-Dinh C., Taillebourg E., Ghislain J., Vallat J.M. and Charnay P. (2006). Peripheral Myelin Maintenance Is a Dynamic process requiring Constant Krox20 Expression. *Journal of Neuroscience*, 26, 9771–9779. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0716-06.2006>
- DiFeo A., Huang F., Sangodkar J., Terzo E.A., Leake D., Narla G. and Martignetti J.A. (2009). KLF6-SV1 Is a Novel Antiapoptotic Protein That Targets the BH3- Only Protein NOXA for Degradation and Whose Inhibition Extends Survival in an Ovarian Cancer Model. *Cancer Research*, 69, 4733–4741. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4282
- Ghislain J. and Charnay P. (2006). Control of myelination in Schwann cells: a Krox20 cis regulatory element integrates Oct6, Brn2 and Sox10 activities. *EMBO Reports*, 7, 52–58. doi: 10.1038/sj.embor.7400573
- Gonzalez-Gonzalez E., Speaker T.J., Hickerson R.P., Spittler R., Flores M.A., Leake D., Contag C.H. and Kaspar R.L. (2010). Silencing of Reporter Gene Expression in Skin Using siRNAs and Expression of Plasmid DNA Delivered by a Soluble Protrusion Array Device (PAD). *Molecular Therapy*, 18, 1667–1674.
- Hickerson R.P., Flores M.A., Leake D., Lara M.F., Contag C.H., Leachman S.A. and Kaspar R.L. (2011). Use of Self-Delivery siRNAs to Inhibit Gene Expression in an Organotypic Pachyonychia Congenita. *Journal of Investigative Dermatology*, 131, 1037–1044. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.426>
- Lara M.F., Gonzalez-Gonzalez E., Speaker T.J., Hickerson R.P., Leake D., Milstone L.M., Contag C.H. and Kaspar R.L. (2012). Inhibition of CD44 Gene Expression in Human Skin Models, Using Self-Delivery Short Interfering RNA Administered by Dissolvable Microneedle Arrays. *Human Gene Therapy*, 23, 816–823. doi: 10.1089/hum.2011.211
- Livak K.J. and Schmittgen T.D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data using
- Real- Time Quantitative PCR and the 2DDCT Method. *Methods*, 25, 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Murphy P., Topilko P., Schneider-Maunoury S., Seitanidou T., Baron-Van Evercooren A. and Charnay P. (1996). The regulation of Krox-20 expression reveals important steps in the control of peripheral glial cell development. *Development*, 122, 2847–2857. <https://doi.org/10.1242/dev.122.9.2847>
- Özcelik M., Cotter L., Jacob C., Pereira J.A., Relvas J., Suter U. and Tricaud N. (2010). Pals1 Is a Major Regulator of the Epithelial-Like Polarization and the Extension of the Myelin Sheath in Peripheral Nerves. *Journal of Neuroscience*, 30, 4120–4131. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5185-09.2010
- Pereira J.A., Baumann R., Norrmén C., Somandin C., Mieke M., Jacob C., Lühmann T., Hall-Bozic H., Mantei N., Meijer D. and Suter U. (2010). Dicer in Schwann cells is required for myelination and axonal integrity. *Journal of Neuroscience*, 30, 6763–6775. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0801-10.2010>
- Svenningsen A.F., Shan W.S., Colman D.R. and Pedraza L. (2003). Rapid Method for Culturing Embryonic Neuron–Glial Cell Cocultures. *Journal of Neuroscience Research*, 72, 565–573. doi: 10.1002/jnr.10610
- Timmerman V., De Jonghe P., Ceuterick C., De Vriendt E., Lofgren A., Nelis E., Warner L.E., Lupski J.R., Martin J.J. and Van Broeckhoven C. (1999). Novel missense mutation in the early growth response 2 gene associated with Dejerine-Sottas syndrome phenotype. *Neurology*, 52, 1827–1832. doi: 10.1212/wnl.52.9.1827
- Topilko P., Schneider-Maunoury S., Levi G., Baron-Van Evercooren A., Chennoufi A.B., Seitanidou T., Babinet C. and Charnay P. (1994). Krox-20 controls myelination in the peripheral nervous system. *Nature*, 371, 796–799. doi: 10.1038/371796a0
- Topilko P., Levi G., Merlo G., Mantero S., Desmarquet C., Mancardi G. and Charnay P. (1997). Differential regulation of the zinc finger genes Krox-20 and Krox-24 (Egr-1) suggests antagonistic roles in Schwann cells. *Journal of Neuroscience Research*, 50, 702–712. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19971201\)50:5<702::AID-JNR7>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19971201)50:5<702::AID-JNR7>3.0.CO;2-L)
- Verrier J.D., Semple-Rowland S., Madorsky I., Papin J.E. and Notterpek L. (2010). Reduction of Dicer Impairs Schwann Cell Differentiation and Myelination. *Journal of Neuroscience Research*, 88, 2558–2568. <https://doi.org/10.1002/jnr.22418>
- Warner L.E., Mancias P., Butler I.J., McDonald C.M., Keppen L., Koob K.G. and Lupski J.R. (1998). Mutations in the early growth response 2 (EGR2) gene are associated with hereditary myelinopathies. *Nature Genetics*, 18, 382–384. doi: 10.1038/ng0498-382
- Woodhoo A., Alonso M.B., Droggiti A., Turmaine M., D'Antonio M., Parkinson D.B., Wilton D.K., Al-Shawi R., Simons P., Shen J., Guillemot F., Radtke F., Meijer D., Feltri M.L., Wrabetz L., Mirsky R. and Jessen K.R. (2009). Notch controls embryonic Schwann cell differentiation, postnatal myelination and adult plasticity. *Nature Neuroscience*, 12, 839–847. doi: 10.1038/nn.2323
- Yun B., Andereg A., Menichella D., Wrabetz L., Feltri M.L. and Awatramani R. (2010). MicroRNA-Deficient Schwann Cells Display Congenital Hypomyelination. *Journal of Neuroscience*, 30, 7722–7728. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0876-10.2010>

Caractérisation morphologique, pathologique et moléculaire des isolats de *Phytophthora* sp responsable de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire

FOFANA Balakissa¹, CAMARA Braïma¹, TUO Seydou¹, SILUE Nakpalo¹, AMARI Ler-N'ogn Dadé Georges Elisée¹, KONE Daouda¹, ZOUZOU Michel¹

Abstract

Black pod rot, caused by the fungus *Phytophthora* sp. remains the most important and most damaging cocoa pod disease in Côte d'Ivoire with an estimated loss of production of between 30 and 40%. This work is part of the morphological and molecular characterization of strains of *Phytophthora* sp and the pathogenicity test of these strains. After purification and morphological characterization of the isolates, diagnostic and sequencing PCRs were performed with the primers *P. palmivora*, *P. megakarya*, ITS4 and ITS5 for the identification of the isolates. The sex sign of the isolates was identified. Finally, a pathogenicity test was performed with these identified isolates. The results of the PCR showed that the isolates from the south-eastern region of Côte d'Ivoire are *Phytophthora palmivora* mating type A2. Sequencing also showed that these isolates were 100% similar to the species *P. palmivora*. The pathogenicity of the *P. palmivora* strains tested on the leaves of cocoa clones showed a significant difference in the level of aggressiveness between the strains and the clones. Average aggressiveness scores ranged from 2.20 to 3.37 between strains of *P. palmivora* and from 2.03 to 3.87 in cocoa clones.

Keywords : Cocoa trees, PCR, *Phytophthora* spp, Black pod rot, pathogenicity, Sequencing

Résumé

La pourriture brune, causée par le champignon *Phytophthora* sp., demeure la maladie des cabosses de cacaoyers la plus importante et la plus dommageable en Côte d'Ivoire, avec une perte de production estimée entre 30 et 40 %. Des études pour la caractérisation morphologique et moléculaire des souches de *Phytophthora* sp et du test de leur pouvoir pathogène a été entreprise. Treize isolats ont été identifiés sur cinquante au cours de cette étude. Après purification et caractérisation morphologique des isolats, des PCR de diagnostic et de séquençage ont été réalisées avec les amorces *P. palmivora*, *P. megakarya*, ITS4 et ITS5 pour l'identification des isolats. Le test du pouvoir pathogène des souches de *P. palmivora* sur feuilles de clones de cacaoyers a montré une différence significative du niveau d'agressivité entre les souches et les clones, avec des notes moyennes d'agressivité variant de 2,20 à 3,37 entre les souches de *P. palmivora* et de 2,03 à 3,87 entre les clones de cacaoyers. Les résultats des PCR ont montré que les isolats issus de la région Sud-Est de la Côte d'Ivoire sont des *Phytophthora palmivora* de type sexuel A2. Le séquençage a montré que ces isolats étaient similaires à 100 % à l'espèce *P. palmivora*.

Mots clés : Cacaoyers, PCR, *Phytophthora* spp., pourriture brune, pouvoir pathogène, Séquençage

1 UPR d'Agrophysiologie et Pathologie Végétale, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire
Email auteur : balakisfof@yahoo.fr / +2250708633210

Introduction

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) appartient à la famille des Malvaceae. C'est une des plantes les plus importantes des systèmes agroforestiers tropicaux (Motamayor *et al.*, 2008). Il est cultivé pour ses fèves qui sont utilisées en chocolaterie, en cosmétique, en pharmacie etc (Barrel, 2009). La production mondiale est estimée à 4,726 millions de tonnes dont 76,1 % provenant de l'Afrique et la Côte d'Ivoire, premier producteur mondial depuis 1970, a fourni à elle seule 2,150 millions de tonnes en 2020/2021 (ICCO, 2021). Toutefois, la production de fève est menacée par les effets conjugués des facteurs biotiques et abiotiques (Jagoret, Bastide et Deheuvelds, 2014). Parmi les facteurs biotiques, la pourriture brune des cabosses est la maladie cryptogamique la plus importante, la plus répandue et la plus dommageable dans le monde avec une perte de production estimée à 30 voire 60 % (Akaza M *et al* 2009 ;Berry et Cilas, 1994 ; Kébé B.I., 1999 et Opoku *et al.*, 2000). En Côte d'Ivoire où la production est assurée majoritairement par les petits producteurs dont les exploitations familiales varient entre 1 et 15 ha, les rendements qui sont de l'ordre de 400 à 500 Kg/ha, tendent à baisser sous l'influence de la pourriture brune des cabosses. Les pertes de production estimées entre 20 et 45 %, peuvent atteindre 60 % en absence de protection phytosanitaire (Coulibaly *et al.*,

2017). Les espèces impliquées dans la pourriture des cabosses en Côte d'Ivoire, sont *Phytophthora palmivora* et de plus en plus *Phytophthora megakarya*. Toutefois, *P. megakarya* est l'espèce la plus agressive avec des pertes de production allant de 80 à 100 % (Nyassé *et al.*, 1995 ; Pohe, 2013). Face à cette menace, plusieurs stratégies de lutte ont été menées à savoir, la lutte génétique (utilisation de variétés résistantes à *P. palmivora* non durable en générale), les pratiques culturales (les récoltes sanitaires, la taille, etc.), la lutte chimique (utilisation de fongicides de synthèse) et la lutte biologique avec l'utilisation d'antagonistes naturels et des plantes à effets pesticides (Mpika *et al.*, 2009 ; Pohé *et al.*, 2013 ; Gadji *et al.*, 2015 ; Ngoh *et al.*, 2015). Cependant, l'utilisation des produits chimiques de synthèse demeure la plus pratiquée. Pendant des décennies en effet, les fongicides chimiques ont fait leur preuve à travers le contrôle de la pourriture brune des cabosses au champ et ont permis aux producteurs d'accroître leur revenu. Pour autant, ce moyen de lutte s'avère onéreux et néfaste sur l'environnement, la biodiversité et la santé de l'homme, d'où l'urgence de recherche de méthodes alternatives. Cette dernière pourrait être l'utilisation des plantes à effets pesticides, associée à la lutte intégrée. Il va donc sans dire que la maîtrise des doses d'application de ces biofongicides est primordiale et impose au préalable une connaissance parfaite de l'identité des espèces de *Phytophthora* spp. En Côte d'Ivoire, très peu d'études sur la

caractérisation moléculaire de *Phytophthora* spp ont été réalisées malgré l'existence de technique fiable. C'est pour ces raisons, que cette étude s'inscrit dans le cadre de la caractérisation morphologique et moléculaire des isolats de *Phytophthora* spp à partir de marqueurs moléculaires ITS4 et ITS5 et du test de leur pouvoir pathogène.

Matériel et Méthodes

L'objectif principal de cette étude réside essentiellement dans l'identification morphologique, pathologique et moléculaire des souches isolées sur les cabosses de cacaoyer. Telle que formulée, cette quête nous a donc logiquement conduit à faire des tests pathologiques, des extractions d'ADN, des PRC de diagnostic avec des amorces spécifiques *P. palmivora* et *P. megakarya* d'une part pour identifier l'espèce de *Phytophthora* spp collectée en Côte d'Ivoire et d'autre part, une PCR de séquençage avec des amorces ITS4 et ITS5 pour identifier les espèces de nos champignons pathogènes. À terme, l'identification des souches s'avèrera être une étape décisive dans la suite de nos travaux de thèse en l'occurrence pour le choix de produits biologiques formulés (mais aussi, les doses et la fréquence d'application adéquate) comme moyens de lutte alternative efficace et écologique contre la pourriture brune des cabosses de cacaoyer au champ.

Zone d'échantillonnage

Les échantillonnages ont été réalisés principalement dans sept localités de la région de l'Agnéby-Tiassa : Agboville, Grand Morié, Rubino, Céchi, Loviguié, Oress-Krobou et Azaguié. Cette région est située dans le Sud forestier de la Côte d'Ivoire (6°Nord - 4°Ouest). C'est une zone humide dont l'altitude varie entre 0 et 200 m avec une pluviométrie annuelle comprise entre 1400 et 2500 mm et une température moyenne de 29° C. Le sol est argileux et de type ferrallitique faiblement désaturé. Les plantations sont vieillissantes de tradition en plein soleil et caractérisées par une forte pression de la pourriture brune des cabosses (Halle et Bruzon en 2006).

Matériel végétal

Dans cette étude, le pouvoir pathogène a été testé sur 11 clones de cacaoyer qui présentent différents niveaux de résistance aux *Phytophthora* spp: (clone1), clone2 (serre expérimentale du Cirad), le ATP120 (Papouaisie Nouvelle Guinée), GU230 B, GU230 C (Guyanais), VEN4.4, VEN4.2 (Venezuela), EPL40 B, PINA, GF23 et GUI38 A (Guyanais Français).

Matériel fongique pathogène

Le matériel fongique pathogène était constitué de 14 isolats de *P. palmivora* isolés sur cabosses infectées dans les plantations villageoises en Côte d'Ivoire (Tableau 1).

Tableau 1 : Dosage de l'ADN

Numéro des souches	Quantité d'ADN (ng/μl)
AZAP34	350
AZAP40	429
RUBP3	329
LOVP47	249
AZAP46	492
LOVP30	313
CECP4	368
GRMP38	378
AGBP48	368
AZAP37	200
AGBP25	416
CECP7	418
AZAP32	358

Méthodologie

Echantillonnage, isolement et purification des isolats de *Phytophthora* spp.

Echantillonnage : Il a été fait en Juin-Juillet 2017 puis en Septembre-Octobre 2018 dans les sept localités de la région d'Agnéby-Tiassa. Dans chacune des sept localités, trois cabosses vertes immatures atteintes de pourriture brune ont été prélevées dans cinq champs, soit au total 210 échantillons. Les coordonnées géographiques de chaque site ont été relevées.

Isolement :

L'agent pathogène (*Phytophthora* spp.) a été isolé sur un milieu de culture eau gélosée à 11 %. La cabosse infectée est lavée à l'eau de robinet. La partie nécrosée est nettoyée avec l'alcool à 90 %. Ensuite, un fragment de forme cubique est prélevé au front de croissance de la pourriture c'est-à-dire entre la partie de cabosse infestée et la partie saine. Trois fragments ont été alors placés sur le milieu de culture, puis incubés à 26 °C à l'obscurité pendant 4 jours. Après la formation du thalle, un fragment mycélien est prélevé sur le front de croissance et placé sur le milieu de culture petit-pois gélosé (Huguenin et Boccas, 1971) pour la purification de la souche. Après isolement 50 isolats ont été transférés à Montpellier pour caractérisation moléculaire. Seulement 13 souches de *Phytophthora* spp ont été caractérisées à cause de la non spécificité du marqueur moléculaire.

Culture monozoospore des isolats de *Phytophthora* spp.

Les isolats ont été cultivés sur un milieu V8 agar. L'incubation a été effectuée dans l'obscurité totale à 26 °C pendant 4 jours et les boîtes de Pétri ont ensuite été exposées à une photopériode de 12 heures pendant 7 jours pour induire la formation de sporocystes. Afin de provoquer la libération des zoospores par des sporocystes mûres, les cultures ont été inondées chacune de 10 ml d'eau distillée stérile et placées au réfrigérateur (4 °C) pendant 15 minutes. Les cultures ont ensuite été ramenées à la température ambiante du laboratoire (26 °C) pendant 2 heures. La suspension de zoospores obtenue a été comptée avec une cellule de Malassez. La concentration de 50 à 60 zoospores ml⁻¹ a été obtenue par dilution successive d'une partie aliquote dans laquelle les zoospores étaient immobilisées par deux gouttes d'acide chlorhydrique à 10 %. Cent microlitres de la suspension ont été étalés sur un milieu d'agar dilué à l'eau à 1,5 % à l'aide d'une tige de verre courbée, préalablement flammée et refroidie dans de l'eau distillée stérile. L'incubation a été effectuée à l'obscurité à 26 °C pendant 12 à 24 heures. Après incubation, les zoospores germées ont été collectées individuellement sous une loupe binoculaire avec une aiguille à micropointe stérile, puis ensemencées dans un milieu de culture de carotte gélosé à raison de trois mono-zoospores par isolat. Après 7 jours d'incubation dans l'obscurité à 26 °C, le faciès des fils identique au faciès parental a été sélectionné pour des études ultérieures.

Caractéristiques morphologiques de *Phytophthora* spp

Détermination du signe sexuel

La détermination du signe sexuel des isolats de *Phytophthora* spp., a été faite dans le but d'identifier la distribution des signes sexuels dans les différentes parcelles prospectées. Elle a été réalisée sur un milieu de culture carotte gélosé. Le procédé consistait à mettre en confrontation deux isolats de

Phytophthora spp purifiés dans une même boîte de Pétri. Les isolats ont été séparés de 6 cm. Les cultures ont ensuite été incubées à l'obscurité pendant 10 jours à 25 °C. L'un des isolats, de signe sexuel était inconnu provenant de la Côte d'Ivoire, est mis en confrontation avec l'un ou l'autre des deux isolats de la collection du CIRAD, NS269 qui est une souche de *P. megakarya* de type sexuel A1 provenant du Cameroun et Tri1 de type sexuel A2, provenant de Trinidad et Tobago. Les observations au microscope optique ont porté sur la présence ou l'absence d'oospores en rapport avec le type de signe sexuel.

Caractéristiques moléculaires de *Phytophthora* spp.

Mise en culture, extraction et dosage de l'ADN

Les isolats ont été transférés au laboratoire du CIRAD en France pour analyse. Les extractions d'ADN ont été menées en suivant les étapes fournies dans le protocole d'extraction d'ADN version CTAB (Cétyl triméthylammonium bromide) décrit par Murray & Thompson (1980), Chandellier (1995) et Vroh Bi *et al.* (1996). L'ADN génomique total obtenu a été dilué à l'eau distillée pour l'amplification par PCR. Les différentes étapes pour l'extraction sont les suivantes: la digestion de la paroi par le tampon de digestion, l'extralyse, la lyse des cellules par le cétyl triméthylammonium bromide (CTAB), la purification par le CIAA, la précipitation par l'isopropanol, le lavage avec l'éthanol et la récupération de l'ADN dans l'eau distillée. L'ADN obtenu a été dosé à l'aide d'un Nanodrop 2000.

La réaction en chaîne par polymérase (PCR) de l'ADN

Après dosage, un volume V_x d'ADN de la solution mère a été prélevé dans chaque échantillon pour constituer des aliquotes concentrés à 20 ng/ μ l dans les tubes Eppendorf (par exemple préparer les solutions d'ADN de 20 ng/ μ l, une plaque = 100 échantillons, 3 μ l/PCR). Le volume V_x d'ADN à prélever dépend de la concentration obtenue après dosage.

Deux PCR ont été réalisées au cours de cette étude. La première avec les amorces ITS_5F GGAAGTAAAAGTAACAAGG ; MEG_651R CCATAGCAGGGAAAAACGCC ; et PALM_651R ACCACAGCTGAAGAAATATT pour le diagnostic de *P. palmivora* et *P. megakarya* et la seconde avec les amorces ITS5-F GGAAGTAAAAGTTCGTAACAAGG et ITS4-R TCCTCCGCTTATTGATATGC pour le séquençage des souches de *P. palmivora*, les amorces marquées (Forward), à 10 nmol et fournies sous forme lyophilisée ont été diluées comme décrit par White *et al.*, 1990, Cooke and Duncan, 1997; Cooke *et al.* 2000). Les PCR ont été réalisées dans un volume réactionnel de 40. Le même Mix a été réalisé pour le diagnostic de *P. palmivora* et *P. megakarya* avec cette fois un volume réactionnel de 25 μ l. L'amplification a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur Eppendorf (Biometra, An Analytic Jena Company).

Le séquençage

Les séquences simples brins obtenues lors du séquençage avec les amorces ITS4 et ITS5 ont été corrigées à partir de l'interprétation des électrophorégrammes avec le logiciel Codoncode Aligner afin de nettoyer les séquences. La recherche de similarité dans les régions ITS4 et ITS5 du génome a été réalisée en utilisant le logiciel BLAST dans la banque de gènes NCBI. Les isolats ont été comparés à ceux énumérés dans la banque de données GenBank du Centre national d'information sur la biotechnologie (NCBI, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Les recherches

effectuées par BLAST (Basic Local Alignment and Search Tool) au NCBI fournissent la liste des résultats probables correspondant à notre séquence, avec les valeurs de similarités des séquences. Les programmes de comparaison de séquences ont pour but de repérer les endroits où se trouvent des régions identiques ou très proches entre deux séquences et d'en déduire celles qui sont significatives et qui correspondent à un sens biologique de celles qui sont observées dans les banques internationales. BLAST détecte de courts segments qui sont localement homologues à la séquence inconnue (Altschul *et al.*, 1997). Les résultats des comparaisons de séquences sont présentés sous forme du ratio d'homologie entre les séquences obtenues et les séquences de référence les plus proches.

Étude du pouvoir pathogène des souches de *P. palmivora* sur feuilles détachées de cacaoyer

Préparation d'inoculum de *Phytophthora palmivora* et dispositif expérimental

Des cultures de *P. palmivora* âgées de 7 sept jours sont repiquées sur milieu V8 contenant du bétasistostérol pour la formation des zoospores. Après quatre jours d'incubation à l'obscurité, ces cultures sont exposées à la lumière continue pendant sept jours permettant ainsi au champignon de former les sporocystes. Les zoospores ont été obtenues après un choc thermique. En effet, les suspensions de zoospores ont été préparées par l'ajout de 10 ml d'eau distillée stérile dans chaque culture de *P. palmivora*. Les boîtes de Pétri ont été mises au réfrigérateur à 4°C pendant 15 minutes, puis laissées à la température ambiante du laboratoire pendant 2 heures. Les zoospores présentes dans l'inoculum ont été calibrées à 3. 10⁵ spores/ml à l'aide d'une cellule de Malassez.

Des mousses imbibées d'eau distillée stérile ont été disposées dans des plateaux pour maintenir l'humidité. Sur ces mousses six feuilles de chaque clone ont été disposées selon un sens bien défini. Il est à noter que chaque plateau contenait un clone de six feuilles en randomisation totale et sur chaque feuille 10 μ l d'inoculum de toutes les souches de *P. palmivora* ont été inoculés sur la face inférieure de la feuille à l'aide d'une micropipette calibrée à 10 μ l. L'inoculum d'une souche a été appliqué deux fois sur chaque feuille aux extrémités gauche et droite de la nervure principale de la feuille. Les inocula étaient disposés de part et d'autre de la nervure principale. Les plateaux ont été recouverts, scellés puis incubés à l'obscurité à 25 °C. Cette expérience a été répétée 3 fois dans le temps pour six souches de *P. palmivora* et pour les 8 autres souches une répétition a été réalisée.

Évaluation des lésions de pourriture brune sur feuilles détachées de cacaoyer au 3^e et 7^{ème} jour et analyse statistique

L'évaluation des taches de pourriture brune sur les feuilles inoculées par la suspension de zoospores a été réalisée aux, troisième et septième jour à l'aide de l'échelle 0-5 de notation développée par Nyassé *et al.*, 1995 : 0 (absence de symptôme), 1 (très petites taches nécrotiques), 2 (plus grand nombre et taille nécrotique ou taches brunes), 3 (coalescence de taches brunes en lésions de taille moyenne), 4 (grandes lésions brunes uniformes et 5 (très grosses lésions brunes).

Résultats

Caractérisation morphologique et moléculaire de *P. palmivora*

Les résultats sur gel d'électrophorèse sont le reflet de la bonne amplification des ADN par la PCR. La première PCR réalisée

avec les amorces ITS_5F GGAAGTAAAAGTAACAAGG ; MEG_651R CCATAGCAGGGAAAAACGCC ; et PALM_651R ACCACAGCTGAAGAAATATT pour le diagnostic de *P. palmivora* et *P. megakarya* a été positive avec l'amorce *P. palmivora* et négative avec celle de *P. megakarya*. En effet, sur les 15 échantillons déposés sur le gel, seul le gel 1 contenant l'amorce *P. megakarya* (témoin) a été amplifié et aucune amplification n'a été faite avec les autres échantillons de *Phytophthora*. Par contre, tous les échantillons ont été amplifiés avec l'amorce *P. palmivora* hormis l'échantillon P40. Les fragments générés par l'amorce ITS *palmivora* et les 12 échantillons de *Phytophthora* spp avaient une taille approximative de 850 paires de bases. Ce qui signifie que les 13 souches de *Phytophthora* sont des *palmivora* (Figure 1). L'analyse des produits PCR sur gel d'agarose des amorces ITS4-R TCCTCCGCTTATTGATATGC et ITS5-R GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG pour le séquençage des souches de *Phytophthora* spp, a montré que l'ADN de toutes ces souches a été amplifié comparativement au témoin négatif. Le gel a révélé des bandes de poids moléculaire de 850 paires de base pour le *Phytophthora* spp (Figures 2 et 3).

La comparaison des séquences d'ADN avec celles des banques de donnée GENBANK (tableau 2), montre une similarité de 100 % avec les séquences nucléotidiques étudiées et indiquent *Phytophthora palmivora* comme le plus similaire aux isolats.

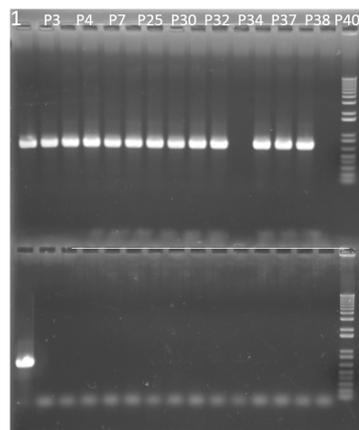


Figure 1 : Gel d'agarose contenant des échantillons pour le diagnostic de *Phytophthora* spp

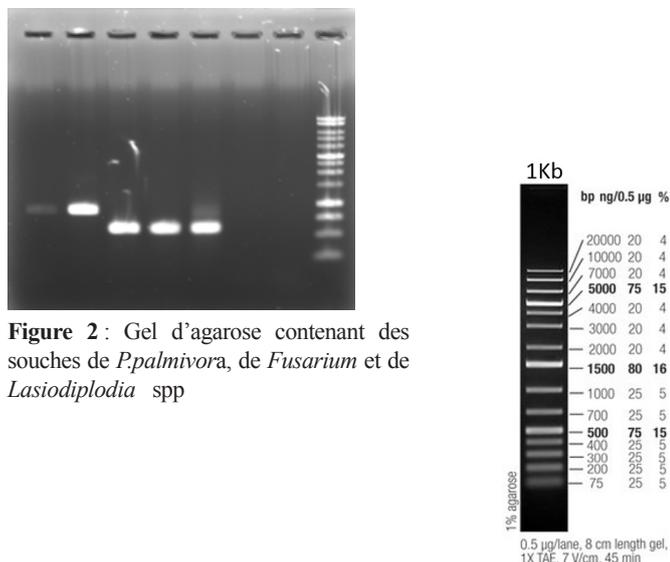


Figure 2 : Gel d'agarose contenant des souches de *P.palmivora*, de *Fusarium* et de *Lasiodiplodia* spp

Figure 3 : Marqueur de poids moléculaire Promega (1kb)

Tableau 2 : Séquences d'ADN de *Phytophthora palmivora*, issues des vergers de cacao

Localités	Codes isolats	Séquences	Espèces	Référence GENBANK
Azaguié	AZAP34	Seq1	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 1
Azaguié	AZAP40	Seq2	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 2
Rubino	RUBP3	Seq3	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 3
Loviguié1	LOVP47	Seq4	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 4
Azaguié	AZAP46	Seq5	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 5
Loviguié1	LOVP30	Seq6	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 6
Céchi	CECP4	Seq7	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 7
Grand-Morié	GRMP38	Seq8	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 8
Agboville	AGBP48	Seq9	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 9
Azaguié	AZAP37	Seq10	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 10
Agboville	AGBP25	Seq11	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 11
Céchi	CECP7	Seq12	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 12
Azaguié	AZAP32	Seq13	<i>Phytophthora palmivora</i>	KU308392 13

Test du pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène de 13 souches de *P. palmivora* testé sur feuilles de 12 clones de cacaoyer au laboratoire a montré une différence significative du niveau d'agressivité entre les souches et les clones pour six souches testées (Tableau 3). En effet, les feuilles inoculées avec les suspensions de zoospores de *P. palmivora* ont présenté des taches brunes, symptômes provoqués par *Phytophthora palmivora*. Les notes moyennes d'agressivité ont varié de 2,20 à 3,37 entre les souches de *P. palmivora* et de 2,03 à 3,87 dans les clones de cacaoyers. La souche P47 s'est montrée la plus agressive et le clone GU230C est le plus sensible (Figures 4 et 5). Pour les huit autres souches, aucune différence significative n'a été observée entre elles et entre les clones et les notes moyennes ont variées de 1,82 à 2,85 pour les souches et de 0,24 à 3,61 pour les clones (Tableau 4).

Tableau 3 : Notes moyennes d'agressivité de 6 souches de *P. palmivora* en fonction de 7 clones de cacaoyer

Clones de cacaoyer	Souches de <i>P. palmivora</i>						Moyenne clones
	P3	P4	P32	P37	P46	P47	
clone1	2.47±0.38ab	3.3 ±0.43ab	2.83±0.58ab	3.60±0.56ab	2.50±0.50ab	3.40±0.53ab	3.01
clone 2	2.11±0.40ab	2.19±0.37ab	2.27±0.50ab	3.55±0.43ab	1.97±0.47ab	2.91±0.46ab	2.50
GU230B	1.87±0.31ab	2.64±0.25ab	2.50±0.10ab	2.72±0.22ab	2.20±0.28ab	3.25±0.29ab	2.53
GU230C	3.22±0.41ab	3.58±0.44ab	4.33±0.24b	3.9 ±0.16ab	3.70±0.27ab	4.45±0.18ab	3.87
VEN42	1.08±0.27a	1.97±0.37ab	2.12±0.34ab	2.50±0.35ab	1.83±0.35ab	2.70±0.46ab	2.03
VEN44	2.9 ± 0.39ab	3.91±0.34ab	3.37±0.42ab	3.56±0.33ab	3.43±0.41ab	4.14±0.42ab	3.56
ATP20	1.7±0.26ab	2.12±0.35ab	2.21±0.31ab	2.72±0.42ab	2.12±0.34ab	2.77±0.43ab	2.27
Moyenne souches	2.20	2.81	2.80	3.23	2.53	3.37	
P<0,005	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

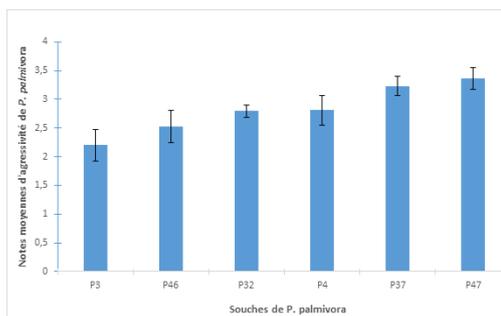


Figure 4 : Sensibilité foliaire de 7 clones de cacaoyers vis-à-vis de 6 souches de *P. palmivora*

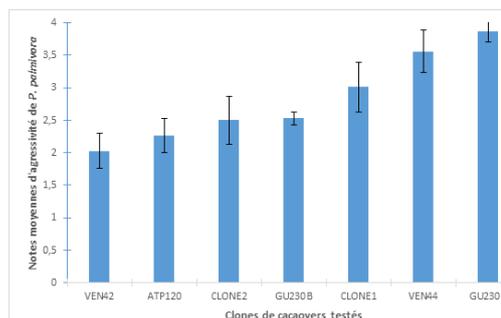


Figure 5 : Sensibilité foliaire de sept clones de cacaoyers vis-à-vis de *P. palmivora*

Tableau 4 : Notes moyennes d'agressivité de 8 souches de *P. palmivora* en fonction de 7 clones de cacaoyer

Clones	Souches de <i>Phytophthora palmivora</i>									Moyenne clone
	P7	P25	P30	P33	P34	P35	P38	P46		
GU138A	3± 0,56	2,66 ± 0,54	2,58 ± 0,61	3,5 ± 0,53	3,5 ± 0,68	1,66 ± 0,52	1,75 ± 0,68	2,75 ± 0,72		3,05
GF23	1,66 ± 0,58	2,08 ± 0,8	2,08 ± 0,66	3,33 ± 0,6	2,16 ± 0,27	2,33 ± 0,72	2,25 ± 0,33	3,25 ± 0,49		2,39
PINA	2,75 ± 0,7	2,91 ± 0,67	3,25 ± 0,66	4 ± 0,36	4,08 ± 0,35	3,5 ± 0,63	2,91 ± 0,62	3,916 ± 0,41		3,41
EPL40B	2 ± 0,53	1,91 ± 0,45	2,91 ± 0,62	3,6 ± 0,44	3,25 ± 0,57	2,75 ± 0,51	2,58 ± 0,32	3,66 ± 0,49		2,83
ATP120	0,5 ± 0,12	0,25 ± 0,17	0,5 ± 0,18	0,16 ± 0,10	0,08 ± 0,0	0,08 ± 0,8	0 ± 0	0,41 ± 0,15		0,24
VEN42	2 ± 0,73	3,58 ± 0,71	3,58 ± 0,53	4,5 ± 0,4	4,33 ± 0,49	3,4 ± 0,53	3,75 ± 0,79	3,75 ± 0,62		3,61
GU230C	0,83 ± 0,27	1,91 ± 0,66	1,5 ± 0,25	3 ± 0,31	2,25 ± 0,25	2,5 ± 0,4	1,7 ± 0,31	2,75 ± 0,21		2,05
Moyenne souche	1,82	2,18	2,34	3,15	2,8	2,31	2,13	2,95		

Discussion

Le dosage des ADN avec le NANODROP 2000 a montré qu'ils étaient purs et en quantité suffisante pour l'étude moléculaire. Cela confirme la pureté des cultures de champignon et confirme de ce fait la bonne qualité de la méthode d'extraction. Il est à noter que la pureté et la quantité de l'ADN extrait dépend non seulement de la pureté de la culture du champignon mais également de la méthode d'extraction utilisée. La pureté de l'ADN a été mise en évidence par SUONG Malina en 2011. En effet, cet auteur a montré que les carpophores des champignons trop anciens n'étaient pas purs et en quantité insuffisante pour l'analyse moléculaire contrairement aux carpophores des champignons jeunes.

L'amplification des produits PCR sur gel d'agarose avec les amorces ITS4 et ITS5 a montré des amplifiats de 850 paires de base pour *Phytophthora* spp avec le marqueur de poids moléculaire 1kb Promega. Ce qui signifie que les 13 souches de *Phytophthora* sont des *palmivora*. La PCR de contrôle réalisée avec les amorces *P. palmivora* et *P. megakarya* a révélé que les souches provenant de la Côte d'Ivoire étaient toutes des *P. palmivora*. Cette hypothèse a été confirmée par le séquençage des séquences ITS de ces souches. La comparaison a montré que les souches P3 et P4 sont similaires à 100% à *P. palmivora* isolée sur cacaoyer en Taiwan par Ann *et al.*, 2009 (WWW.NCBI). Nos résultats corroborent ceux de Inès Nelly Moussavou, 2021. Cet auteur a utilisé les marqueurs moléculaires ITS spécifiques aux basidiomycètes pour identifier les champignons responsables de la carie des arbres au Gabon. En effet les séquences d'ADN correspondaient aux espèces de champignons polypores appartenant aux ordres des Hymenochaetales et Polyporales associées aux polypores responsables de la carie des arbres sur pied. Aussi, Coulibaly *et al.* (2018), ont montré que les séquences des souches provenant de la Côte d'Ivoire étaient similaires avec un taux de 97% comparées à celles présentes dans les banques de données. Les résultats des travaux de recherche menés par Appiah *et al.* (2003) ont confirmé un degré de similitude élevé dans la région ITS1 entre les différentes espèces étudiées. Par exemple, les régions ITS1 de *P. capsici* et *P. citrophthora* ne différaient que de 21 bases. Les séquences des deux souches de *P. palmivora* P3 et P4 sont identiques. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'il n'existe pas de variabilité interspécifique ou très peu entre les espèces pour les amorces ITS. Le marqueur de poids moléculaire a généré 850 paires de base alors qu'on s'attendait à 900 paires de base pour *P. palmivora*. Cette différence serait probablement liée à une délétion ou à une perte des fragments. Des résultats similaires ont été trouvés par Ristaino *et al.* (1998). En effet, l'identification des espèces du genre *Phytophthora* sp par PCR des ADN ribosomique, a permis d'identifier *P. palmivora* parmi neuf autres espèces de *Phytophthora*

Les *Phytophthora* spp notamment *P. palmivora* et *P. megakarya* sont des organismes diploïdes, hétérothalliques pouvant se multiplier par voie sexuée ou asexuée (Attard *et al.*, 2008). La formation de oospores après le test de croisement entre les 14 souches de *Phytophthora* spp et la souche de référence NS269 de type sexuel A1 megakarya a révélé que les 14 souches sont de type A2 et sont de ce fait des *P. palmivora*. Nos résultats sont similaires à ceux de AMANI en 2017 dont l'étude a révélé l'existence de deux types sexuels (A1 et A2) au sein de la population étudiée. Les travaux de Campbell et Carter (2006) et de Harutyunyan *et al.* (2008) ont montré que les hétérothalliques produisent des gamétanges mâles (anthéridie) et femelles (oogone). Ces derniers fusionnent et produisent des oospores qui sont des structures à parois épaisses, capables dans la nature, de résister aux conditions extrêmes et à l'absence prolongée d'hôte.

Le pouvoir pathogène des 14 souches de *P. palmivora* testé au laboratoire sur feuilles de 12 clones de cacaoyer, a montré une différence significative (seuil de 5 %) du niveau d'agressivité entre les souches et entre les clones pour 6 souches de *P. palmivora*. Pour les huit autres souches, aucune différence significative (seuil de 5 %) n'a été observée entre les souches et entre les clones.

Cette étude a montré trois groupes de souches ayant un niveau d'agressivité différent selon les clones. Le premier groupe présente une note moyenne d'agressivité entre 1,08 et 1,5 (pas agressif), le deuxième entre 1,5 et 4,14 (agressif) et le troisième entre 4,33 et 4,45 (très agressif). Cette variation d'agressivité a été remarquée parmi les souches isolées sur cabosses dans les parcelles et/ou localités différentes ou identiques. Ces résultats sont en concordance avec les travaux antérieurs (Nyassé *et al.*, 1995 ; Iwaro *et al.*, 1998 ; Coulibaly *et al.*, 2018) qui ont montré que des groupes de niveau d'agressivité différents pouvaient être observés chez *P. palmivora*.

Conclusion

Cette étude a permis de connaître l'identité des souches et leur niveau d'agressivité vis-à-vis des clones de cacaoyers. Elle vient confirmer la présence de *P. palmivora* dans la région Sud-Est de la Côte d'Ivoire. Les résultats ont permis de mettre en évidence des souches de *Phytophthora palmivora* de type sexuel A2. Par ailleurs, les tests de pathogénicité ont montré que les souches de *P. palmivora* sont agressives ou très agressives selon les clones.

Remerciements

Cette étude a été financée par la banque mondiale à travers le Centre d'excellence Africain en Changement climatique, Biodiversité et Agriculture Durable (CEA-CCBAD) et aussi par l'Agence Universitaire de la Francophonie (L'AUF) et l'Institut de la Recherche pour le Développement (L'IRD) à travers le projet PARFAO (Promouvoir l'agroécologie à partir de la Recherche et la Formation en Afrique de l'Ouest). Nous leur remercions toute notre gratitude.

Références bibliographiques

- Akaza M.J., N'goran J.A. K., N'guetta S. P. A., Kébé B. I., Thai G. M. and Sangare A. (2009). Resistance to *P. palmivora* (Butler) Butler assessed on Leaf Discs of cocoa (*Theobroma cacao* L) hybrid trees. *Asian Journal of Plant Pathology*: 3(4) : 106-118.
- Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang J., Zhang Z., Miller W. and Lipman D. J. (1997). Gapped BLAST and

- PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 25,3389-402.
- AMANI Y. F. C. (2017). Distribution géographique des espèces de *Phytophthora* spp. agents de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) dans cinq départements de l'ouest de la Côte d'Ivoire. Mémoire de Master de Biotechnologie – Biosécurité – Bioressources, UFR Biosciences, université Félix Houphouët – Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 63 p.
- Appiah A. A., Flood J., Archer A., and Bridge P.D. (2003). Molecular analysis of the major *Phytophthora* species on cocoa. *Plant Pathol.* 53, 209-219.
- Attard A., Gourgues M., Galiana E., Panabieres F., Ponchet M. and Keller H. (2008). Strategies of attack and defense in plant-oomycete interactions, accentuated for *Phytophthora parasitica* Dastur (syn. *P. Nicotianae* Breda de Haan). *J Plant Physiol*, 165, 83-94.
- Barrel M. (2009). Le cacaoyer. [auteur du livre] Collectif. *Le memento de l'agronome*. p 1617.
- Berry D. and Cilas C. (1994). Etude génétique de la réaction à la pourriture brune des cabosses chez des cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) issus d'un plan de croisement diallèle. *Agronomie* 14, 599–609.
- Blaha G., Eskes A. B., Kebe B. I., Tahi G. M. and Nyasse S. (2000). Early screening of resistance to *Phytophthora* spp. by means of disc inoculation. In: Eskes A.B and Efron Y., Proceedings of the CFC/ICCO/IPGRI Project workshop on working procedures for cocoa germplasm evaluation and selection. 1-6 February 1998. Montpellier (France), 103-107.
- Campbell L. T. and Carter D. A. (2006). Looking for sex in the fungal pathogens *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Fems Yeast Research*, 6:588-598.
- Chandellier A. (1995). Structure du génome mitochondrial de l'épicéa commun (*Picea abies* L. Karst) lors de l'embryogenèse somatique in vitro. Thèse Doct. Sci. agron. Gembloux, Fac. univ. Sci. agron. 240 p.
- Cooke D. E. L. and Duncan J. M. (1997). Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on ITS1 and ITS2 sequences of the ribosomal RNA gene repeat. *Mycol. Res.* 101:667-677.
- Coulibaly K., Kébé B.I., Aka A.R., Kouakou K., N'Guessan W.P., Tahi G.M., Kassim K.E., Guiraud S.B., Assi M.E., Koné B., N'Guessan K.F. (2017). Bien lutter contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Fiche technique cacaoyer n° 6. Centre National de Recherche Agronomique, 2p.
- Cooke D. E. L., Drenth A., Duncan J. M., Wagels G. and Brasier C. M. (2000). A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genet Biol.*30:17-32.
- Coulibaly K., Aka R. A., Camara B., Kassim E., Kouakou K., Kebe B. I., Koffi N. K., Tahi M. G., Walet N. P., Guiraud S. B., Assi M. E., Kone B., N'guessan K. F. and Kone D. (2018). Molecular Identification of *Phytophthora palmivora* in the Cocoa Tree Orchard of Côte d'Ivoire and Assessment of the Quantitative Component of Pathogenicity, *International Journal of sciences*. 7: 2305-3925.
- Dabo S.M., Mitchel E.D. and Melcher U. (1993). A method for the isolation of nuclear DNA from cotton (*Gossypium*) leaves. *Ann. Biochem.*210, p. 34–38.
- Gadji A. A. G., Yapo O. B., Abo K., Coulibaly K., Kebe B. I., Gnepe J. R. and Tyagi R. D. (2015). In vitro assessment of biopesticide bacillus thuringiensis var. Kurstaki hd- 1 effectiveness on *Phytophthora palmivora*, agent of cocoa black pod rot in Côte d'Ivoire. *European Scientific*,11 (21):1857- 7431.
- Harutyunyan S. R., Zhao Z., Den Hartog T., Bouwmeester K., Minnaard A. J., Feringa B. L. and Govers F. (2008). Biologically active *Phytophthora* mating hormone prepared by catalytic asymmetric total synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 8507-8512.
- Halle B. and Bruzon V. (2006). Profil Environnemental de la Côte d'Ivoire. Rapport final. Commission Européenne, offre de service dans le secteur de la coopération relatif au : Contrat Cadre EuropeAid/119860/C/SV/Multi Lot 6 : Environnement Pays Bénéficiaire : Côte d'Ivoire Lettre de Contrat N°2006/119741/1.
- Huguenin B. and Boccas B. (1971). Rôle de quelques facteurs dans la formation et la germination des zoospores chez le *Phytophthora palmivora* Butl. *Annales de Phytopathologie* 3,353–71.
- ICCO. (2021). ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLXII, No. 1, Cocoa Year 2020/21 London, UK: International Cocoa Organization, 1p.
- Inès N. M. (2021). Les champignons endophytes et ceux associés aux caries des arbres et du bois mort de *Julbernardia bifoliolata*, *Desbordesia glaucescens* et *Scyphocephalium ochococa* dans les forêts du Sud-est du Gabon. Thèse de Doctorat en sciences forestières de l'université LAVAL Québec, Canada, 341 p.
- Iwaro A. D., Sreenivasan T. N. and Umaharan P. (1998). Cacao resistance to *Phytophthora*: effect of pathogen species, inoculation and pod maturity. *European Journal of Plant Pathology*,104 : 11-15.
- Kebe B. I. (1999). Rapport Annuel d'Activité 1998, Programme Café- Cacao- Cola, CNRA, Côte d'Ivoire, 39 p.
- Motamayor J. C., Lachenaud P., Da Silva e Mota J. W., Loor R., Kuhn D. N., Brown S.J. and Schnell R.J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). *PLoS ONE*, 3 (10): e3311. doi: 10.1371/journal.pone.0003311.
- Murray M. and Thompson W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acids. Res.*8, p. 4321–4325.
- Mpika J., Kebe I.B., Druzhinina I. S., Komon-Zélazowska M., Kubicek C.P. and Aké S. (2009). Inhibition de *Phytophthora palmivora*, agent de pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire, par *Trichoderma* sp. *Sciences & Nature*, 6. (1) : 49-62.
- Ngho Dooh J.P., Ambang Z.B., Ndongo W.N., Kuete Tueguem A.H. and Ntsomboh N. G. (2015). Development of Cocoa Black Pod Disease (Caused by *Phytophthora megakarya*) in Cameroon when Treated with Extracts of *Thevetia peruviana* or Ridomil. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 2 (3) : 47-59.
- Nyassé S., Cilas C., Herail C. and Blaha G. (1995). Leaf inoculation as an early screening test for cocoa (*Theobroma*

cacao L.) resistance to *Phytophthora* black pod disease. *Crop Protection*, 14 (8) : 657-663.

PATRICK J., PHILIPPE B. AND OLIVIER D. (2014). PRODUCTION DURABLE DE CACAO. S'INSPIRER DE L'AGROFORESTERIE. PERSPECTIVE, CIRAD 42, RUE SCHEFFER 75116 PARIS. FRANCE, P 5.

Opoku IY, Appiah A.A, Akrofi AY, Owusu GK 2000. *Phytophthora megakarya*: a potential threat to the cocoa industry in Ghana. *J. Agri. Sci.* 33:237-248.

Pohe J., Koula J., Rabe G. R., Dezai L R. (2013). Agressivité de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer dans le sud-est de la Cote d'Ivoire. *Journal of Animal et Plant Sciences.* 20:(2): 3126-3136.

Pohe J. (2013). Sources d'inoculum primaire de *Phytophthora katusurae* (Ko et Chang) agent de la pourriture du coeur et des noix immatures du cocotier en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal et Plant Sciences.* 16 : (3). 11 p.

Ristaino J.B., Madritch M., Truot C.L. and Parra G. (1998). PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 : 948-954.

SUONG M. (2011). Caractérisation moléculaire des ITS des champignons dégradant les bois de Guyane. Rapport de stage CIRAD,34398, Montpellier Cedex 5- France, 47 p.

Vroh Bi I., Harvengt L., Chandelier A., Mergeai G. and Du Jardin P. (1996). Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction. *Plant. Breed.*115, p. 205–206.

White T. J., Bruns T., Lee S. and Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Dans : PCR protocols: a Guide to Methods and Applications, (eds.) Innis M.A., Gelfand D. H., Sninsky J.J. et White T.J. Academic Press Inc., San Diego, Californie, 315-322.

Optimisation d'un biomarqueur salivaire d'exposition des bovins aux piqûres de la mouche tsé-tsé basé sur une combinaison de peptides synthétiques

Martin Bienvenu Somda^{1,2*}, Jacques Kaboré^{1,3}, Ernest Wendemanegdé Salou^{1,3}, Dieudonné Ouattara¹, Emilie Dama³, Soumaïla Pagabeleguem^{4,5}, Sèssèya Arnaud Soha⁶, Issa Sidibé^{1,5}, André Zongo⁷, Adrien Marie Gaston Belem², Zakaria Bengaly¹

Résumé

Le développement de biomarqueurs d'exposition basés sur l'évaluation de la réponse anticorps dirigée contre des peptides synthétiques, a été proposé comme méthode alternative / complémentaire aux stratégies d'évaluations entomologiques par piégeages, dans beaucoup de maladies vectorielles. Cette étude avait pour objectif de développer un biomarqueur d'exposition des bovins aux piqûres de glossines basé sur une combinaison de peptides salivaires synthétiques. La réactivité sérologique de quatre peptides individuels (Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsall₅₂₋₇₅, Tsall₁₄₅₋₁₆₆, Tsgfl₁₈₋₄₃) et en combinaison de deux, a été évaluée par ELISA-indirect. La spécificité du biomarqueur a été évaluée à partir d'échantillons provenant de bovins exposés à d'autres vecteurs hématophages. L'aptitude du meilleur biomarqueur candidat à discriminer différents niveaux d'exposition a ensuite été étudiée chez 10 Zébus (race trypanosensible) et 10 Baoulés (race trypanotolérante) exposés pendant 10 semaines en conditions expérimentales. La combinaison Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ a montré la plus forte réactivité sérologique ($p = 0,0003$). Des réactions croisées entre cette combinaison bipeptidique et les tabanidés ont été mises en évidence. De plus, le suivi du biomarqueur chez les bovins exposés, a montré qu'il semble être spécifique à une sous-classe d'IgG apparaissant tôt et dont la clairance a été observée avant la fin de l'exposition. Ces résultats ont montré que le biomarqueur bipeptidique présente une bonne sensibilité sérologique. Il n'est cependant pas spécifique du genre *Glossina* et est peu pertinent dans la discrimination de l'hétérogénéité d'exposition inter-individuelle. Des études ultérieures seraient nécessaires pour améliorer le pouvoir discriminatoire du biomarqueur salivaire afin de le mettre à la disposition des programmes de lutte anti-vectorielle.

Mots-clés : Trypanosomose Animale Africaine, mouche tsé-tsé, biomarqueur d'exposition, combinaison de peptides, lutte anti-vectorielle.

Abstract

The development of biomarkers of exposure based on the evaluation of the antibody response against synthetic peptides has been proposed as an alternative/complementary method to entomological assessment strategies by trapping in many vector-borne diseases. The objective of this study was to develop a biomarker of exposure of cattle to tsetse bites based on a combination of salivary synthetic peptides. The serological reactivity of four individual peptides (Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsall₅₂₋₇₅, Tsall₁₄₅₋₁₆₆, Tsgfl₁₈₋₄₃) and their combination in two, has been evaluated by indirect-ELISA. The biomarker specificity was evaluated using samples from cattle exposed to different haematophagous vectors. The ability of the best candidate biomarker to discriminate different levels of exposure was then studied in 10 Zebus (trypanosusceptible race) and 10 Baoulés (trypanotolerant race) exposed for 10 weeks in experimental settings. The combination Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ showed the highest serological reactivity ($p = 0.0003$). Cross-reactions between this bipeptide combination and horse flies were demonstrated. In addition, monitoring of the biomarker in exposed cattle showed that it appears to be specific to an early-emerging IgG subclass with clearance before the end of exposure. These results showed that the bipeptide biomarker has good serological sensitivity. But it does not happen to be specific to *Glossina* genus and fails to accurately measure host-vector contact. Further investigations are needed to improve the antigenicity of this biomarker in order to make it available to vector control programmes.

Keywords: African Animal Trypanosomosis, tsetse flies, biomarker of exposure, combination of peptides, vector control.

¹Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES), Unité de recherche sur les maladies à vecteurs et biodiversité (UMaVeB), 01 BP 454 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

²Université Nazi BONI (UNB), Institut du Développement Rural (IDR), 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

³Université Nazi BONI (UNB), Unité de Formation et de Recherche en Sciences et Techniques (UFR/ST), 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

⁴Université de Dédougou (UDDG), BP 176, Dédougou, Burkina Faso

⁵Insectarium de Bobo-Dioulasso-Campagne d'Éradication de la mouche Tsé-tsé et

de la Trypanosomose (IBD-CETT), 01 BP 1087 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

⁶Unité de Recherche en Microbiologie Appliquée et Pharmacologie des Substances Naturelles, Laboratoire de Recherche en Biologie Appliquée, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 2009 Cotonou, Bénin

⁷Centre Universitaire Polytechnique de Gaoua (CUP/G), Université Nazi Boni BONI (UNB), 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

* Auteur correspondant : Martin Bienvenu Somda, e-mail : somdabienvenu@yahoo.fr, adresse postale : UNB, IDR, 01 BP 1091 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso

1. Introduction

Les glossines ou mouches tsé-tsé sont les vecteurs cycliques des trypanosomes, pathogènes responsables de la maladie du sommeil ou Trypanosomose Humaine Africaine (THA) chez l'homme et de la *Nagana* ou Trypanosomose Animale Africaine (TAA) chez le bétail. On estime que 60 millions de personnes

et plus de 50 millions de bovins répartis dans 38 pays d'Afrique subsaharienne sont exposés au risque de ces trypanosomoses africaines dont les conséquences socio-économiques sont importantes (Vreysen *et al.*, 2013). Les possibilités de mise au point d'un vaccin ayant échoué en partie à cause de la grande variabilité antigénique du trypanosome (Duvallat *et al.*, 2003), et les principales stratégies de lutte développées avec pour

objectif final l'éradication des THA et TAA demeurent (i) la chimioprophylaxie et la chimiothérapie utilisant des molécules trypanocides, (ii) la promotion du bétail trypanotolérant dans les zones endémiques et (iii) la lutte anti-vectorielle (LAV) utilisant diverses techniques (Vreysen *et al.*, 2013). Bien que des ressources importantes soient investies chaque année, ces méthodes de lutte montrent aujourd'hui des limites telles que la ré-invasion des zones assainies, la toxicité ou l'inefficacité des trypanocides, la chimiorésistance des trypanosomes, la perte de pureté des races trypanotolérantes due aux mélanges anarchiques, etc.

Parmi toutes ces méthodes de lutte, la LAV semble être la stratégie de lutte la plus appliquée contre les TAA et THA (Rayaisse *et al.*, 2020). Elle est cependant tributaire d'une bonne évaluation entomologique utilisant des pièges à mouches tsé-tsé afin de mieux cibler les zones à risque de transmission et d'évaluer l'efficacité de cette LAV. Ces méthodes d'évaluation entomologiques classiques se heurtent aujourd'hui à des contraintes liées à l'attractivité variable des pièges surtout dans les zones à faibles densités glossiniennes (Bouyer *et al.*, 2010), l'inaccessibilité de certaines zones (mangroves, localités difficiles d'accès en saison pluvieuse) (Kagbadouno *et al.*, 2011) et la couverture de vastes zones géographiques. De plus, les pièges à tsé-tsé qui sont des appâts fixes sont également moins adaptés pour l'évaluation entomologique, car ils ne tiennent pas compte de l'hétérogénéité de l'exposition des hôtes aux arthropodes hématophages qui peut résulter de certains facteurs tels que l'âge, l'activité quotidienne des populations humaines étudiées, le parcours des troupeaux, etc. L'estimation biaisée des densités de glossines par ces méthodes entomologiques ne représente donc qu'une évaluation indirecte du contact hôte / glossine. Il apparaît donc nécessaire de développer de nouveaux outils complémentaires ou alternatifs à ces méthodes classiques d'évaluation entomologiques dont l'efficacité s'amenuise avec les difficultés rencontrées sur le terrain.

La salive n'est pas neutre dans la relation hôte vertébré-arthropode hématophage. En effet, l'efficacité du repas de sang chez les vecteurs hématophages est assurée par les protéines salivaires (Ribeiro *et al.*, 1995). Au cours des deux dernières décennies, est né le concept de biomarqueurs salivaires d'exposition aux piqûres des arthropodes vecteurs hématophages basé sur la détection chez l'homme et chez l'animal (souris, lapins, chiens, porcs, bovins, etc) des anticorps dirigés contre les antigènes salivaires totaux de ces vecteurs (Fontaine *et al.*, 2011).

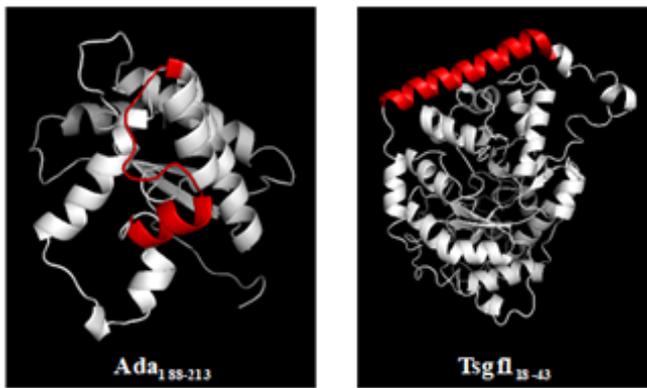
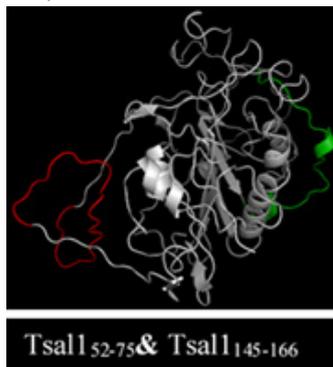
Ces biomarqueurs ont été validés pour certaines maladies liées aux vecteurs comme les tiques (Lane *et al.*, 1999), les moustiques (Remoue *et al.*, 2006; Ndille *et al.*, 2012), les triatomés (Schwarz *et al.*, 2009) ou encore les phlébotomes (Barral *et al.*, 2000; Vlkova *et al.*, 2012). Nous avons montré que la réponse anticorps dirigée contre les antigènes salivaires totaux de glossines constitue un indicateur potentiel de l'exposition de l'homme (Dama *et al.*, 2013b) et des bovins (Somda *et al.*, 2013) aux piqûres de tsé-tsé. Cependant l'utilisation des antigènes salivaires totaux fait face à des problèmes de spécificité, de conservation (dégradation même à -80°C), de production

de masse et de reproductibilité des tests immunologiques (Drame *et al.*, 2010; Fontaine *et al.*, 2011). Dans le souci d'optimisation de ces biomarqueurs, nos recherches ont été orientées vers l'utilisation des peptides synthétiques et spécifiques. C'est ainsi que nous avons récemment identifié par une approche *in silico* quatre peptides sur les séquences de trois protéines salivaires reconnues par des plasmas humains provenant de zones infestées de glossines (Dama *et al.*, 2013b) et de bovins expérimentalement exposés aux tsé-tsé (Somda *et al.*, 2016). Le mono-peptide Tsgf1₁₈₋₄₃ identifié pour le volet humain, a été utilisé pour valider l'efficacité d'une campagne de LAV dans un foyer actif de la maladie du sommeil dans le foyer de Boffa en Guinée (Courtin *et al.*, 2015). Ces peptides, susceptibles de porter un ou deux épitopes connaissent cependant des problèmes de sensibilité lors des tests sérologiques chez le bovin, d'où l'idée de les combiner à deux. Cette stratégie de combinaison d'épitopes a été réalisée avec succès sur le gain de la sensibilité et de la spécificité, en utilisant des protéines recombinantes de la salive de phlébotomes en zone endémique de leishmaniose (Souza *et al.*, 2010; Vlkova *et al.*, 2012). L'objectif général de cette étude était de développer un biomarqueur d'exposition des bovins aux piqûres de glossines basé sur une combinaison de peptides salivaires synthétiques. Il s'est agi spécifiquement (i) d'évaluer le potentiel biomarqueur de la meilleure combinaison de deux peptides salivaires synthétiques et (ii) d'étudier l'aptitude de la meilleure combinaison à discriminer l'hétérogénéité d'exposition inter-individuelle.

2. Matériel et méthodes

2.1. Peptides synthétiques salivaires

Les candidats biomarqueurs sont des peptides prédits par une analyse *in silico* à partir des protéines salivaires immunogéniques spécifiques de l'exposition des bovins ou des humains aux mouches tsé-tsé. Les antigènes salivaires de *Glossina (G.) morsitans (m.) morsitans* ont été utilisés pour ces analyses de prédiction et de bioinformatique car c'est la seule espèce pour laquelle il existe des données dans les banques protéiques (Alves-Silva *et al.*, 2010). Nous avons au total quatre peptides candidats dont deux sont reconnus par l'Homme et représentés en rouge sur les protéines salivaires Ada (adenosine deaminase) et Tsgf1 (*tsetse saliva growth factor-1*) (**Figure 1A**) (Dama *et al.*, 2013a) et deux reconnus par les bovins et représentés en rouge et en vert sur la protéine salivaire Tsall1 (*tsetse salivary gland protein 1*) (**Figure 1B**) (Somda *et al.*, 2016). Ces peptides salivaires ont été synthétisés par voie chimique avec une pureté de 95% par Genepep SA (St-Jean de Vedas, Montpellier, France). Pour améliorer l'antigénicité des peptides, une queue adénylée a été ajoutée aux extrémités C-terminales des peptides (---AAAA) et un groupement acétyle aux extrémités N-terminales. Ils ont été expédiés sous forme lyophilisée et ont ensuite été ré-suspendus dans de l'eau ultra-pure (1 mg/mL), aliquotés et stockés à -80° C jusqu'à leur utilisation.

(A) Peptides candidats en rouge reconnus par l'Homme (Dama *et al.*, 2013a)(B) Peptides candidats en rouge et vert reconnus par le bovin (Somda *et al.*, 2016)**Figure 1** : Modèle 3D des protéines immunogéniques et les positions des peptides candidats.

2.2. Echantillonnage de sérums

Les échantillons de sérums ayant servi à la réalisation de cette étude provenaient de bovins (i) antérieurement exposés en conditions contrôlées à différentes intensités de piqûres de *G. m. submorsitans* et d'autres arthropodes hématophages (*Amblyomma variegatum*, *Anopheles gambiae*, *Tabanidae spp*, *Stomoxys spp*) et (ii) vivant dans une zone non infestée de glossines au Nord du Burkina Faso comme échantillons négatifs. Ces différents échantillons étaient disponibles dans la sérothèque bovine du CIRDES.

Les échantillons (n = 20) issus de bovins fortement exposés en conditions contrôlées aux piqûres de glossines (exposés à 50 glossines, 2 fois par semaines) ont été utilisés dans l'évaluation de la réactivité sérologique des peptides candidats. Ces bovins avaient de fortes réponses anticorps dirigées contre les antigènes salivaires totaux de glossines (Somda *et al.*, 2013). Le seuil de positivité a été déterminé à partir des 15 échantillons négatifs provenant du Nord du Burkina Faso.

La spécificité analytique du test a été étudiée à partir d'échantillons provenant de bovins exposés à différents arthropodes hématophages, dont 10 sérums choisis par type d'arthropode. Ce paramètre évalue l'aptitude du biomarqueur à identifier de manière spécifique les individus exposés aux piqûres de glossines.

L'étude de l'hétérogénéité d'exposition inter-individuelle a été réalisée avec des sérums de 20 vaches de deux races (10 Zébus, trypanosensibles et 10 Baoulés trypanotolérants) : 4 vaches fortement exposées (50 glossines, 2 fois par semaine), 4 vaches

faiblement exposées (10 glossines, une fois par semaine) et 2 vaches témoins non exposées (Somda *et al.*, 2013). L'exposition avait une durée de 10 semaines et 10 échantillons de sérums prélevés ont été analysés par animal.

Les échantillons ainsi sélectionnés (n = 285) ont été analysés par la méthode ELISA-indirect (*Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*) contre les peptides en individuel et en combinaison de deux.

2.3. Evaluation de la réponse anti-peptide par ELISA-indirect

Les réponses anticorps dirigés contre les peptides ont été mesurées par la technique ELISA-indirect selon le protocole développé antérieurement par Somda *et al.* (2016) avec de légères modifications. Son principe repose sur la fixation d'antigènes solubles ou sensibilisation de microplaques en polystyrène Maxisorp à fonds plats (Nunc, VWR, France) avec 100 µl de peptides synthétiques dilués à 20 µg/ml dans du tampon carbonate-bicarbonate (0,05 M, pH 9,6). Les plaques ont été incubées pendant 1h à 37°C, suivi d'une incubation à 4°C toute la nuit. Après une série de trois lavages en eau-Tween20 0,1%, suivie de la saturation des sites non spécifiques à 37°C par du tampon de saturation (lait écrémé 5%-PBS-Tween20 1%) ; les sérums dilués individuellement au 1/60 dans le tampon de saturation, ont été incubés pendant 1h30 à 37°C. Après 4 séries de lavage à l'eau-Tween20 0,1%, les anticorps secondaires anti-bovins IgG totaux couplés à la peroxydase de Raifort (AbD Serotec, France), dilués à 1/4000 dans du tampon de saturation, ont été déposés dans tous les puits à raison de 100 µl/puits. Les plaques ont été ensuite incubées à 37°C pendant 1h30. Après incubation de l'anticorps secondaire, les plaques ont été lavées 4 fois avec de l'eau-Tween20 0,1% et rincées une fois avec de l'eau distillée afin d'éliminer toute trace de détergent qui pourrait perturber l'activité enzymatique. La révélation a été faite à l'aide de l'eau oxygénée (H₂O₂) et de l'ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethyl-benzthiazoline 6-sulfonic acid) diammonium). La lecture des plaques a été faite à 405 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les résultats bruts ont été obtenus sous forme de densités optiques (DO). Chaque échantillon de sérum a été testé en double dans des puits avec antigènes ou puits Ag+ (DO_m, moyenne des DO de ces puits, DO_m=(DO1+DO2)/2) et une fois dans un puits sans antigène ou puits Ag- (pour évaluer les réactions non spécifiques entre les anticorps et les réactifs ELISA, DO_n). Les résultats finaux ont été exprimés en ΔDO selon la formule suivante : ΔDO = DO_m - DO_n. Par contre les résultats du suivi de la réponse anti-peptide ont été calculés en ΔDOTi-ΔDOT0, où ΔDOTi est la réponse anticorps à une date donnée et ΔDOT0 la réponse avant l'exposition.

2.4. Traitement et analyse statistiques des données

La constitution des différentes bases de données et le tracé des courbes moyennes de suivi de la réponse anticorps anti-peptide ont été réalisés avec le logiciel Excel 2016. La normalité des réponses anticorps a été vérifiée en utilisant le test de Shapiro-Wilk. Si les données ne suivaient pas la loi normale, les tests non paramétriques de Man-Whitney ou celui de Kruskal-Wallis ont été utilisés pour comparer respectivement deux ou plusieurs moyennes des réponses anticorps. Ces différents tests et les nuages de points ont été réalisés avec le logiciel GraphPad Prism

5.0. Ce logiciel a aussi permis de créer un modèle linéaire pour une analyse stratifiée de la réponse anti-peptide à chaque date des groupes exposés (fort ou faible) de chaque race (Zébu, Baoulé) en fonction du groupe témoin non exposé. Le groupe fortement exposé a également été comparé au groupe faiblement exposé pour chacune des races. Le seuil de significativité était fixé à 5%.

Le seuil de positivité “S” a été déterminé à partir des échantillons négatifs. Il correspond à la borne supérieure de l’intervalle de confiance calculé à partir d’une distribution “t” autour de la moyenne des DO des échantillons négatifs contre la meilleure combinaison de peptides retenus ($\alpha = 0,01$) (Sokal et Rohlf, 1981). La formule suivante a été utilisée :

$$S = m + t \times s \sqrt{\frac{n+1}{n}}$$

S : seuil de positivité ;

m : moyenne des échantillons négatifs ;

t : valeur donnée dans la table t de Student ($\alpha = 0,01$) ;

s : écart-type de la distribution des Δ DO des échantillons négatifs ;

n : nombre d’échantillons négatifs.

3. Résultats

3.1. Antigénicité des différents peptides candidats biomarqueurs salivaires

La **figure 2** montre le profil des réponses anticorps IgG totaux contre les quatre peptides candidats biomarqueurs. Chacune des barres rouges représente les différents niveaux médians d’IgG spécifiques. Les réponses IgG médianes sont significativement différentes entre les quatre peptides ($p < 0,0001$). Par ordre décroissant d’antigénicité, on a Tsall₁₄₅₋₁₆₆, Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsall₅₂₋₇₅ et Tsgfl₁₈₋₄₃. Ces résultats montrent que le peptide Tsgfl₁₈₋₄₃ présente une faible antigénicité, d’où la décision de l’écartier pour la suite de l’étude.

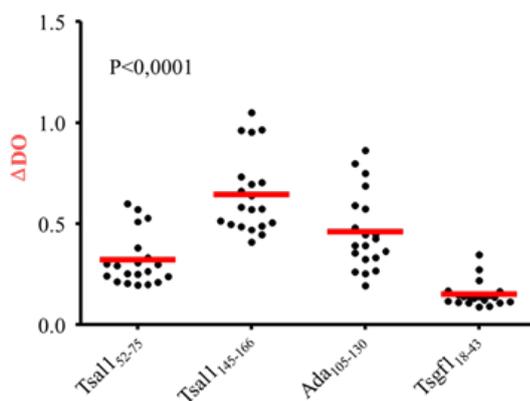


Figure 2 : Niveaux d’IgG anti-peptide détectés par les différents peptides.

3.2. Antigénicité des différentes combinaisons de peptides biomarqueurs

Les meilleurs peptides retenus en termes de sensibilité à l’issue du screening des différents candidats biomarqueurs, Tsall₁₄₅₋₁₆₆, Ada₁₀₅₋₁₃₀ et Tsall₅₂₋₇₅, ont été associés deux à deux. On a ainsi obtenu trois combinaisons de peptides synthétiques. La

réponse IgG spécifique des 20 sérums précédemment utilisés a été évaluée contre chacune de ces trois combinaisons.

Les niveaux médians d’IgG spécifiques individuellement détectés par chacun des peptides Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et Tsall₅₂₋₇₅ ont été comparés à celui détecté par la combinaison des deux (**Figure 3**). En effet, la combinaison a détecté un niveau médian d’IgG spécifique significativement plus élevé que celui détecté par le peptide Tsall₅₂₋₇₅ ($p = 0,0002$). Par contre le peptide Tsall₁₄₅₋₁₆₆ a détecté un niveau médian significativement plus élevé que celui détecté par la combinaison ($p = 0,0086$). Ces résultats montrent que la combinaison présente une réactivité immunologique plus faible que celle dont est dotée le peptide Tsall₁₄₅₋₁₆₆. Ce constat a donc motivé l’abandon de cette combinaison.

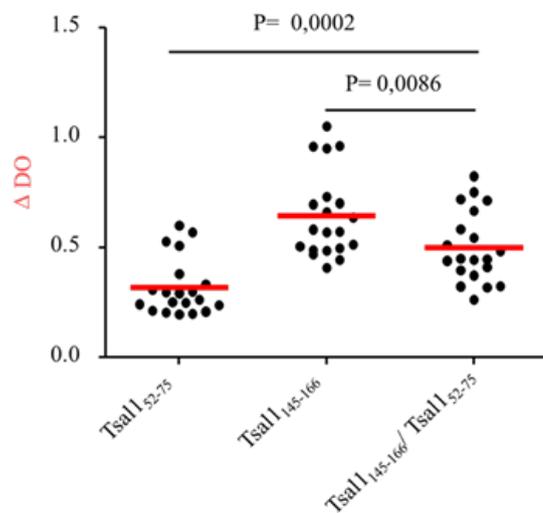


Figure 3 : Comparaison des titres d’IgG anti-peptide détectés par chacun des peptides Tsall₁₄₅₋₁₆₆, Tsall₅₂₋₇₅ et de leur combinaison.

De plus, la comparaison entre le niveau médian d’IgG spécifiques reconnus par Ada₁₀₅₋₁₃₀ et celui détecté par la combinaison Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₅₂₋₇₅ (**Figure 4**) n’a montré aucune différence significative ($p = 0,1584$). Néanmoins, une différence significative était bien établie entre la réponse détectée contre le peptide Tsall₅₂₋₇₅ et celle détectée contre la combinaison ($p = 0,0104$). Ces résultats montrent que la combinaison Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₅₂₋₇₅ n’améliore pas la réactivité sérologique. Ainsi, cette combinaison a été également abandonnée.

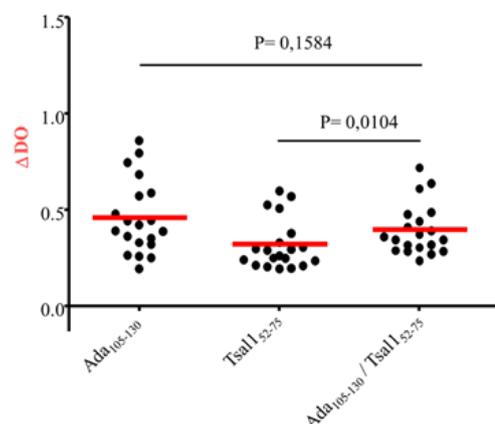


Figure 4 : Comparaison des titres d’IgG anti-peptide détectés par chacun des peptides Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsall₅₂₋₇₅ et de leur combinaison.

Une différence significative a été notée en comparant les niveaux d'IgG spécifiques individuellement détectés par Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et Ada₁₀₅₋₁₃₀ à celui affiché par la combinaison de ces épitopes, respectivement (**Figure 5**; $p < 0,0001$). Ce qui signifie que l'association de ces deux candidats biomarqueurs permet d'obtenir un gain de sensibilité immunologique. Par ailleurs, une comparaison des réponses IgG spécifiques contre les trois combinaisons de peptides rapporte une différence significative ($p = 0,0003$) entre ces derniers. Ce niveau médian d'IgG était de 0,59 pour la combinaison Tsall₁₄₅₋₁₆₆/Ada₁₀₅₋₁₃₀, de 0,45 pour Tsall₅₂₋₇₅/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et enfin de 0,35 pour Tsall₅₂₋₇₅/Ada₁₀₅₋₁₃₀. L'ensemble des résultats suggèrent que la combinaison formée par Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et Ada₁₀₅₋₁₃₀ présente la meilleure réactivité immunologique. Cette combinaison a donc été retenue pour la suite de l'étude.

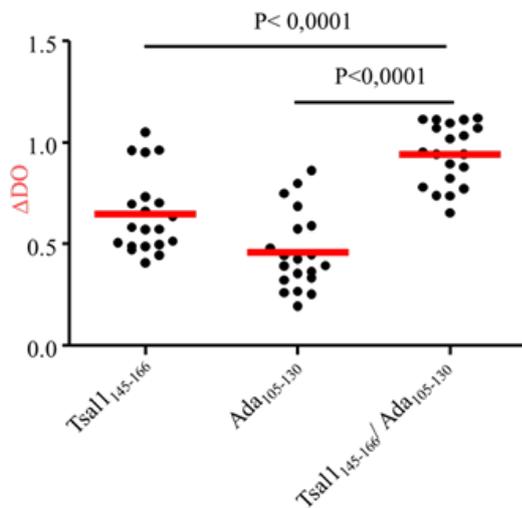
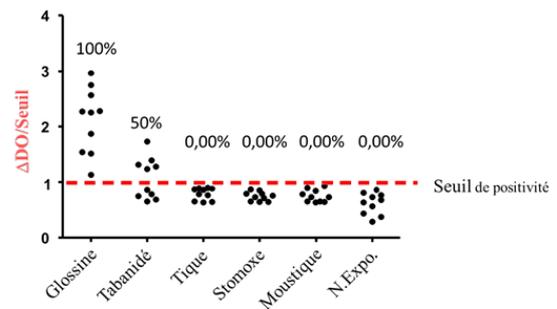


Figure 5 : Comparaison des titres d'IgG anti-peptide détectés par chacun des peptides Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et de leur combinaison.

3.3. Spécificité analytique de la meilleure combinaison candidate biomarqueur

L'intensité de la réponse IgG anti-peptide par type d'exposition hétérologue montre un seuil de positivité en tirets représenté par la droite $y = 1$ (**Figure 6**). Tout ratio au-delà de cette droite, est représentatif d'un échantillon positif et celui inférieur à 1, est négatif. Ainsi, tous les échantillons provenant d'animaux fortement exposés aux piqûres de glossines ont présenté des ratios élevés. La moitié des échantillons prélevés chez les animaux exposés aux piqûres de tabanidés ont également présenté des ratios élevés ; suggérant ainsi des réactions croisées entre les antigènes salivaires de ces deux vecteurs hématophages. Par contre les ratios des échantillons provenant des bovins exposés aux piqûres des autres vecteurs et les animaux témoins non exposés sont inférieurs au seuil de positivité. Ceci montre que ces échantillons ne contiennent pas d'anticorps reconnaissables par la meilleure combinaison biomarqueur, par conséquent l'outil séro-épidémiologique d'exposition aux piqûres de glossines est spécifique vis-à-vis de ces vecteurs.

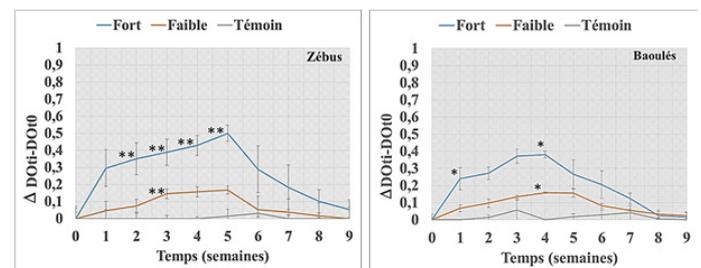


Légende : N. Expo : bovins non exposés aux piqûres de tsé-tsé

Figure 6 : Réponses anticorps anti-Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ induites par les expositions hétérologues.

3.4. Réponse IgG anti-peptide et hétérogénéité d'exposition inter-individuelle

Les moyennes de suivi de la réponse IgG contre la meilleure combinaison de peptides Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ en fonction des niveaux d'exposition (groupes non exposé, faiblement exposé et fortement exposé) et de la race (Zébu, Baoulé) montrent une variabilité de la réponse entre les individus du même groupe d'exposition (**Figure 7**). Ce constat est valable chez les deux races de bovins utilisées dans l'étude. Cette variabilité intra-groupe est remarquable à travers les barres verticales représentant les erreurs standards de la réponse anti-peptide moyenne entre les individus d'un même groupe. De manière générale, la cinétique de la réponse anti-peptide est commune dans les groupes exposés aux piqûres de glossines et quelle que soit la race. Cependant, les plateaux de réponses permettent une distinction de ces groupes d'exposition avant la 4^{ème} semaine pour les Baoulés et la 5^{ème} semaine pour les Zébus.



Légende : (*) quand $p < 0,05$ et (**) quand $p < 0,01$.

Figure 7 : Suivi de la réponse anti-Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₁₄₅₋₁₆₆ induite par différents niveaux d'exposition des bovins Zébus (A) et Baoulés (B) aux piqûres de glossines.

Par ailleurs, une analyse stratifiée par date de la réponse anticorps anti-peptide a permis de faire une comparaison des groupes exposés (faiblement ou fortement) aux groupes témoins. En fonction du niveau d'exposition, des différences ont été mises en évidence. En effet, chez les Zébus, la réponse anti-peptide était significativement plus élevée de la 2^{ème} semaine jusqu'à la 5^{ème} dans le groupe fortement exposé. Par contre dans le groupe faiblement exposé, la réponse anti-salive était significative uniquement à la 3^{ème} semaine. De même, en comparant le groupe fortement exposé au groupe faiblement exposé, des différences statistiquement significatives se dégagent de la 1^{ère} semaine à la 5^{ème} semaine (**Figure 7A**). En ce qui concerne les Baoulés, seules les 1^{ère} et 4^{ème} semaines ont connu une réponse

humorale IgG anti-peptide capable de discriminer de manière significative le groupe fortement exposé du groupe contrôle. Quant au groupe faiblement exposé, il se distingue du groupe contrôle uniquement à la 4^{ème} semaine de l'exposition. En outre, dans le groupe fortement exposé, la réponse IgG anti-peptide était significativement plus élevée à la 2^{ème} semaine, à la 3^{ème} semaine et à la 4^{ème} semaine en comparaison au groupe faiblement exposé (**Figure 7B**).

A partir de la 5^{ème} semaine chez les Zébus et de la 4^{ème} chez les Baoulés, une surprenante baisse de la réponse IgG dirigée contre la meilleure combinaison peptidique a été enregistrée, malgré la poursuite de l'exposition (**Figure 7**).

4. Discussion

Le premier screening de la réponse anticorps dirigée contre les quatre candidats en individuel, Ada₁₀₅₋₁₃₀, Tsgfl₁₈₋₄₃, Tsall₅₂₋₇₅ et Tsall₁₄₅₋₁₆₆, a révélé une différence significative ($p < 0,0001$). Seul le peptide Tsgfl₁₈₋₄₃ a enregistré la faible réactivité immunologique, si bien qu'il était préférable de continuer avec les trois autres peptides. De façon étonnante, le peptide Ada₁₀₅₋₁₃₀ identifié sur une protéine immunogénique chez l'homme (Dama *et al.*, 2013a), a fait preuve d'une réactivité immunologique assez intéressante chez le bovin. Ce résultat, bien qu'inattendu affiche de meilleures perspectives notamment de mise au point d'un outil unique d'évaluation de l'exposition des bovins et des humains aux piqûres de tsé-tsé.

Par ailleurs, l'idée de combiner les épitopes dans la deuxième étape de notre étude, dans le but d'améliorer la réactivité immunologique de l'outil séro-épidémiologique d'évaluation du contact hôte-vecteur, a déjà été efficacement mise en application dans la lutte contre la leishmaniose. En effet, dans une zone endémique de leishmaniose viscérale humaine au Brésil, une combinaison de protéines salivaires recombinantes LJM17 (AF132518) et LJM11 (AY445935) de *Lutzomyia longipalpis* utilisée comme antigènes, a permis non seulement une amélioration de la sensibilité du biomarqueur mais aussi et surtout une augmentation de sa spécificité par rapport aux antigènes salivaires natifs de phlébotomes (Souza *et al.*, 2010). De plus, des souris BALB/c et C57BL/6 pré-exposées aux piqûres de phlébotomes, ont présenté des réactivités différentes vis-à-vis de quatre protéines salivaires recombinantes de ce vecteur. Mais une combinaison de ces antigènes recombinants a pu pallier cette variabilité inter-individuelle chez ces hôtes (Vlkova *et al.*, 2012). En nous basant sur ces acquis, nous avons évalué la réactivité immunologique des trois combinaisons contre les sérums provenant de bovins forts répondeurs, antérieurement utilisés dans la première étape. Les résultats obtenus montrent que les combinaisons Tsall₁₄₅₋₁₆₆/Tsall₅₂₋₇₅ et Ada₁₀₅₋₁₃₀/Tsall₅₂₋₇₅ ont des réponses plus faibles que celles des peptides en individuel. Ceci pourrait s'expliquer par une éventuelle perturbation des épitopes suite à de probables interactions stériques entre des résidus d'acides aminés des différents peptides engagés dans la combinaison. En associant les deux candidats biomarqueurs Ada₁₀₅₋₁₃₀ et Tsall₁₄₅₋₁₆₆, on a obtenu un gain de sensibilité immunologique significativement plus forte que celles des deux peptides présentant des épitopes individuels. Pour cette combinaison, l'interaction entre les deux peptides semblent apporter un regain de sensibilité au candidat

biomarqueur bipeptide.

Les réponses contre la meilleure combinaison de peptides des sérums provenant de bovins exposés aux piqûres des glossines étaient supérieures au seuil de positivité. Les sérums bovins exposés aux piqûres de tabanidés ont réagi à 50%. Ceci montre que cette exposition hétérologue a été à l'origine de réactions croisées avec la combinaison de peptides candidats biomarqueurs. Ces résultats corroborent ceux de Somda *et al.* (2013) qui avaient mis en évidence ces réactions croisées entre le sialome de deux espèces de glossines riveraines (*G. p. gambiensis* et *G. tachinoides*) et celui des tabanidés. Des réactions croisées ont été également documentées entre les sialomes de beaucoup d'arthropodes hématophages (Fontaine *et al.*, 2011), d'où l'idée de développer un biomarqueur d'exposition spécifique. Quant aux animaux exposés aux autres vecteurs, aucune réponse supérieure au seuil de positivité n'a été relevée ; ce qui suggère une absence de réactivités croisées entre les antigènes salivaires de glossine et ceux de ces différents vecteurs. Ces résultats obtenus montrent dans l'ensemble que le biomarqueur basé sur la combinaison Tsall₁₄₅₋₁₆₆ / Ada₁₀₅₋₁₃₀ a une bonne sensibilité, mais semble ne pas être très spécifique du genre *Glossina*. Cette réaction croisée avec la salive des tabanidés ne devrait pas être un frein, vu que ces derniers constituent des vecteurs mécaniques des TAA (Desquesnes et Dia, 2004) et devraient être pris en compte par les programmes de LAV.

L'analyse des réactivités sérologiques chez des bovins (Zébus et Baoulés) exposés à différentes intensités de piqûres de glossines a montré une bonne cinétique d'apparition de la réponse liée aux expositions répétées aux tsé-tsé. Cette réponse augmente graduellement jusqu'à la 4^{ème} ou 5^{ème} semaine avant de décroître de façon étonnante, malgré la poursuite de l'exposition chez les bovins exposés, indépendamment de la race. Cette cinétique d'apparition différente de celle obtenue avec les antigènes salivaires totaux (Somda *et al.*, 2013), serait celle d'une sous-classe IgG très labile spécifiquement reconnue par le candidat bipeptidique antigénique. A partir d'une certaine intensité de piqûres, le biomarqueur perd l'aptitude à discriminer l'hétérogénéité d'exposition inter-individuelle. Pourtant, de la 1^{ère} à la 4^{ème} semaine, le biomarqueur permettait de discriminer les bovins en fonction de leurs niveaux d'exposition aux piqûres de tsé-tsé. Par ailleurs, notre étude a révélé une variabilité entre les animaux du même groupe d'exposition. Ces résultats, similaires à ceux obtenus avec les antigènes salivaires totaux ou le mono-peptide Tsall₅₂₋₇₅ suggèrent qu'au niveau individuel, l'évaluation de la réponse contre la combinaison de peptides peut donc être influencée par le fond génétique du bovin ou d'autres facteurs qui pourraient affecter la réactivité des lymphocytes B vis-à-vis des antigènes salivaires (Somda *et al.*, 2013; Somda *et al.*, 2016). Cela signifie que le biomarqueur basé sur le candidat bipeptidique à développer pourrait seulement être un outil d'évaluation du niveau populationnel d'exposition aux tsé-tsé. Par ailleurs, des réactivités sérologiques plus élevées vis-à-vis de la meilleure combinaison ont été observées chez les Zébus comparés aux Baoulés. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces Baoulés provenant des zones infestées de glossines (Gaoua, Sud-Ouest du Burkina Faso) (Souvenir Zafindrajaona *et al.*, 1999) ont été inclus dans l'étude avec des fonds de réponse anticorps déjà

forts par rapport aux Zébus provenant d'une zone indemne de glossines (Nord du Burkina Faso) (Courtin *et al.*, 2010) qui ont été sensibilisés peut-être pour la première fois par les piqûres de tsé-tsé lors de notre étude.

5. Conclusion

Les résultats montrent que la combinaison des mono-peptides Tsall₁₄₅₋₁₆₆ et Ada₁₀₅₋₁₃₀ est assez sensible. La réponse contre celle-ci a permis de discriminer pendant les 5 premières semaines de l'exposition les bovins en fonction des niveaux d'exposition (groupe témoin non exposé, faiblement ou fortement exposés) et quel que soit la race bovine (Zébu, Baoulé). Cependant elle semble être spécifique à une sous classe d'IgG apparaissant tôt et dont la clairance s'observe avant la fin de l'exposition. De plus, ce biomarqueur bipeptidique est l'objet de réactivités croisées avec des antigènes salivaires de tabanidés. D'autres perspectives d'amélioration du biomarqueur bipeptidique sont à explorer, notamment l'ajout d'une queue composée d'un dérivé lysine-biotine-amide aux extrémités C-terminales des peptides (---lysine-biotine-CONH₂), afin que les épitopes salivaires soient plus accessibles aux anticorps. Ce rajout de cette queue a été antérieurement utilisé dans un protocole ELISA pour une meilleure détection de la réponse contre des mimotopes des glycoprotéines variables de surface des trypanosomes (Van Nieuwenhove *et al.*, 2012). La recherche d'autres peptides salivaires utilisant d'autres algorithmes (Sima *et al.*, 2019) sont également à explorer.

Remerciements

La présente étude a bénéficié du soutien financier de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA, Autriche) et de la Fondation Internationale pour la Science (FIS, Suède). Nous remercions également le Centre International de Recherche-Développement sur l'Élevage en zone Subhumide (CIRDES, Burkina Faso) pour avoir accueilli les travaux de laboratoire.

Références bibliographiques

Alves-Silva J., Ribeiro J.M., Van Den Abbeele J., Attardo G., Hao Z., Haines L.R., Soares M.B., Berriman M., Aksoy S., and Lehane M.J. (2010). An insight into the sialome of *Glossina morsitans morsitans*, BMC Genomics, 213, 1-28.

Barral A., Honda E., Caldas A., Costa J., Vinhas V., Rowton E.D., Valenzuela J.G., Charlab R., Barral-Netto M. and Ribeiro J.M. (2000). Human immune response to sand fly salivary gland antigens : a useful epidemiological marker ? American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 62 (6), 740-745. doi: 10.4269/ajtmh.2000.62.740.

Bouyer J., Solano P., Cuisance D., Itard J., Frézil J.L. and Authié E. (2010). Control methods in Trypanosomosis, Infectious and parasitic diseases of livestock (Eds P, C, Lefèvre, J, Blancou, J, Chermette, G, Uilenberg), Editions Médicales Internationales, Lavoisier, Paris (France).

Courtin F., Rayaissé J.B., Tamboura I., Serdébéogo O., Koudougou Z., Solano P. and Sidibé I. (2010). Updating the Northern Tsetse Limit in Burkina Faso (1949 – 2009): Impact of Global Change. International Journal of Environmental Research and Public Health, 7 (4), 1708-1719. doi: 10.3390/ijerph7041708.

Courtin F., Camara M., Rayaissé J.B., Kagbadouno M., Dama E., Camara O., Traore I.S., Rouamba J., Peyllhard M., Somda M.B., Leno M., Lehane M.J., Torr S.J., Solano P., Jamonneau V. and Bucheton B. (2015). Reducing human-tsetse contact significantly enhances the efficacy of sleeping sickness active screening campaigns : a promising result in the context of elimination. PLoS Neglected Tropical Diseases, 9 (8), e0003727. doi: 10.1371/journal.pntd.0003727.

Dama E., Cornelie S., Camara M., Somda M.B., Poinsignon A., Ilboudo A., Elanga E., Jamonneau V., Solano P., Remoue F., Bengaly Z., Belem A.M.G. and Bucheton B. (2013a). *In silico* identification of a candidate synthetic peptide (Tsgf1₁₈₋₄₃) to monitor human exposure to tsetse flies in West Africa, PLoS Neglected Tropical Diseases, 7, e2455.

Dama E., Cornelie S., Somda M.B., Camara M., Kambiré R., F., C., Jamonneau V., Demette E., Seveno M., Bengaly Z., Solano P., Poinsignon A., Remoue F., Belem A.M.G. and Bucheton B. (2013b). Identification of *Glossina palpalis gambiensis* specific salivary antigens : towards the development of a serologic biomarker of human exposure to tsetse flies in West Africa, Microbes and Infection, 15, 416-427.

Desquesnes M. and Dia M.L. (2004). Mechanical transmission of *Trypanosoma vivax* in cattle by the African tabanid *Atylotus fuscipes*. Veterinary Parasitology, 119 (1), 9-19.

Drame P.M., Poinsignon A., Besnard P., Cornelie S., Le Mire J., Toto J.C., Foumane V., Dos-Santos M.A., Sembene M., Fortes F., Simondon F., Carnevale P. and Remoue F. (2010). Human antibody responses to the *Anopheles* salivary gSG6-P1 peptide: a novel tool for evaluating the efficacy of ITNs in malaria vector control, PLoS One, 5, e15596.

Duvallet G., Frézil J.-L. and Itard J. (2003). Trypanosomoses : agents pathogènes, Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes, Maladies bactériennes, mycoses, maladies parasitaires (Eds P, C, Lefèvre, J, Blancou, R, Chermette), Editions Médicales Internationales, Lavoisier, Paris (France).

Fontaine A., Diouf I., Bakkali N., Misse D., Pages F., Fusai T., Rogier C. and Almeras L. (2011). Implication of haematophagous arthropod salivary proteins in host-vector interactions. Parasites and Vectors, 4 (1), 2-17. doi: 10.1186/1756-3305-4-187.

Kagbadouno M.S., Camara M., Bouyer J., Courtin F., Onikoyamou M.F., Schofield C.J. and Solano P. (2011). Progress towards the eradication of tsetse from the Loos islands, Guinea, Parasites and Vectors 4, 2-9.

Lane R.S., Moss R.B., Hsu Y. P., Wei T., Mesirov M. L. and Kuo M. M. (1999). Anti-arthropod saliva antibodies among residents of a community at high risk for Lyme disease in California. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 61 (5), 850-859. doi: 10.4269/ajtmh.1999.

Ndille E., Doucoure S., Damien G., Mouchet F., Drame P.M., Cornelie S., Noukpo H., Yamadjako S., Djenontin A., Moiroux N., Misse D., Akogbeto M., Corbel V., Henry M.C., Chandre F., Baldet T. and Remoue F. (2012). First attempt to validate

- human IgG antibody response to Nterm-34kDa salivary peptide as biomarker for evaluating exposure to *Aedes aegypti* bites, PLoS Neglected Tropical Diseases, 6, e1905.
- Rayaisse J.B., Courtin F., Mahamat M.H., Cherif M., Yoni W., Gadjibet N.M.O., Peka M., Solano P., Torr S.J. and Shaw A.P.M. (2020). Delivering 'tiny targets' in a remote region of southern Chad: a cost analysis of tsetse control in the Mandoul sleeping sickness focus, Parasites and Vectors, 13, 1-16.
- Ribeiro J.M., Schneider M. and Guimaraes J.A. (1995). Purification and characterization of prolixin S (nitrophorin 2), the salivary anticoagulant of the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus*, Biochemical Journal, 308, 243-249.
- Remoue F., Cisse B., Ba F., Sokhna C., Herve J.P., Boulanger D. and Simondon F. (2006). Evaluation of the antibody response to *Anopheles* salivary antigens as a potential marker of risk of malaria, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 100, 363-370.
- Schwarz A., Helling S., Collin N., Teixeira C.R., Medrano-Mercado N., Hume J.C., Assumpcao T.C., Marcus K., Stephan C., Meyer H.E., Ribeiro J.M., Billingsley P.F., Valenzuela J.G., Sternberg J.M. and Schaub G.A. (2009). Immunogenic salivary proteins of *Triatoma infestans*: development of a recombinant antigen for the detection of low-level infestation of triatomines, PLoS Neglected Tropical Diseases, 3, e532.
- Sima M., Ferencova B., Bhattacharyya T., Miles M.A., Litvinov S.V., Hailu A., Baneth G. and Volf P. (2019). Synthetic peptides as a novel approach for detecting antibodies against sand fly saliva, PLoS Neglected Tropical Diseases, 13, e0007078.
- Sokal R.R. and Rohlf J.F. (1981). Biometry: the principals and practice of statistics in biological research. W.H. Freeman, New York, 859p.
- Somda M.B., Bengaly Z., Dama E., Poinignon A., Dayo G. K., Sidibe I., Remoue F., Sanon A. and Bucheton B. (2013). First insights into the cattle serological response to tsetse salivary antigens: a promising direct biomarker of exposure to tsetse bites, Veterinary Parasitology, 197, 332-340.
- Somda M.B., Cornelié S., Bengaly Z., Mathieu-Daudé F., Poinignon A., Dama E., Bouyer J., Sidibe I., Demette E., Remoue F., Seveno M., Sanon A. and Bucheton B. (2016). Identification of a Tsall₅₂₋₇₅ salivary synthetic peptide to monitor cattle exposure to tsetse flies, Parasites and Vectors, 149, 1-12.
- Souvenir Zafindrajaona P., Zeuh V. and Moazami-Goudarzi K.E.A. (1999). Study on the phylogenetic status of Lake Chad Kuri cattle using molecular markers, Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux, 52, 155-162.
- Souza A.P., Andrade B.B., Aquino D., Entringer P., Miranda J.C., Alcantara R., Ruiz D., Soto M., Teixeira C.R., Valenzuela J.G., de Oliveira C.I., Brodskyn C.I., Barral-Netto M. and Barral A. (2010). Using recombinant proteins from *Lutzomyia longipalpis* saliva to estimate human vector exposure in visceral Leishmaniasis endemic areas, PLoS Neglected Tropical Diseases, 4, e649.
- Van Nieuwenhove L., Büscher P., Balharbi F., Humbert M., Dieltjens T., Guisez Y. and Lejon V. (2012). Identification of mimotopes with diagnostic potential for *Trypanosoma brucei gambiense* variant surface glycoproteins using human antibody fractions, PLoS Neglected Tropical Diseases, 6, e1682.
- Vlkova M., Rohousova I., Hostomska J., Pohankova L., Zidkova L., Drahota J., Valenzuela J.G. and Volf P. (2012). Kinetics of Antibody Response in BALB/c and C57BL/6 Mice Bitten by *Phlebotomus papatasi*, PLoS Neglected Tropical Diseases, 6, e1719.
- Vreysen M.J., Seck M.T., Sall B. and Bouyer J. (2013). Tsetse flies: Their biology and control using area-wide integrated pest management approaches, Journal of Invertebrate Pathology, 112, S15-S25.

Estimation de la biomasse aérienne du genre *Rhizophora* des mangroves des rivières Lowé et Igoumié à Owendo (Gabon)

Titre courant : Estimation de la biomasse du genre *Rhizophora*

Igor AKENDENGUE AKEN¹, Marjolaine OKANGA-GUAY², Emmanuel ONDO ASSOUMOU¹, Jean Bernard MOMBO¹

Résumé

L'évaluation du stock de carbone des écosystèmes est une des principales recommandations de la Convention-cadre des Nations Unies sur les Changements Climatiques en 1994. Le choix d'une méthode fiable, sans biais d'estimation, est une préoccupation des études scientifiques. Les équations allométriques représentent une méthode précise de quantification du carbone. Cependant, elles peuvent varier suivant les espèces et/ou les écosystèmes. Cette étude a évalué la précision d'estimation du carbone de deux équations allométriques, pour trois espèces du genre *Rhizophora* des mangroves des rivières Lowé et Igoumié dans la commune d'Owendo, au Sud de Libreville (Gabon). Une collecte de données (diamètre à hauteur de poitrine et hauteur à la cime) a été effectuée sur 2020 m² de mangroves. La régression, sur les variables biomasse aérienne (AGB) et diamètre à hauteur de poitrine (DBH), a permis de tester deux modèles : l'un linéaire ($AGB = 0,017*DBH - 0,083 + 0,045$), et l'autre, non-linéaire ($AGB = 0,0001073*DBH^{2,71}$). Sur la base des valeurs du coefficient de détermination, du critère d'information d'Akaïke (AIC) et de l'homoscédasticité des résidus, le modèle non linéaire est plus adéquat pour une bonne estimation de la biomasse aérienne des espèces du genre *Rhizophora* des mangroves étudiées. L'erreur quadratique moyenne (RMSE) est de 0,0014 et le biais est de -0,35%. Les mangroves échantillonnées ont une biomasse aérienne de 57,6416 Mg ha⁻¹. Cela équivaut à un stock de carbone aérien de 28,821 Mg C ha⁻¹, et représente un taux d'émission atmosphérique de 105,772 Mg CO₂ ha⁻¹.

Mots clés : Mangrove, Biomasse aérienne, Stock de carbone (C), Equation allométrique, Gabon.

Abstract

TITLE : Aboveground biomass estimation of the genus *Rhizophora* in the mangroves of the Lowé and Igoumié rivers in Owendo (Gabon)

Ecosystem carbon stock assessment is one of the main recommendations of the United Nations Framework Convention on Climate Change in 1994. The choice of a reliable estimation method without bias is a concern in scientific studies. Allometric equations represent an accurate method of quantifying carbon. However, equations can vary between species and/or ecosystems. This study evaluated the accuracy of carbon estimation of two allometric equations for three species of the genus *Rhizophora* from the mangroves of the Lowé and Igoumié Rivers in the Owendo commune, south of Libreville (Gabon). Regression on the above ground biomass (AGB) and diameter at breast height (DBH) was run to test two models: a linear model ($AGB = 0.017*DBH - 0.083 + 0.045$) and a non-linear one ($AGB = 0.0001073*DBH^{2.71}$). Based on the coefficient of determination, Akaike information criterion (AIC) and homoscedasticity of the residus, the non-linear model has been proven more accurate for a good AGB estimation of the *Rhizophora* genus. Its root mean square error (RMSE) was 0.0014 and the bias was -0.35%. The mangroves have an aboveground biomass of 57.6416 Mg ha⁻¹. This is equivalent to an above-ground carbon stock of 28.821 Mg C ha⁻¹, and represents an atmospheric emission rate of 105.772 Mg CO₂ ha⁻¹.

Key words : Mangroves, Above-ground biomass (AGB), Carbon (C) stock, Allometric equation, Gabon.

¹ Laboratoire de Géomatique, de Recherche Appliquée et de Conseil (LAGRAC). Département des Sciences Géographiques, Environnementales et Marines. Université Omar Bongo, B.P. 17043, Libreville, Gabon.

² Auteur correspondant. Contacts : Mail m_okanga_guay@yahoo.fr ; Tél. (+241) 66630673 ; Adresse postale : LAGRAC,

BP. 17043, Campus Université Omar Bongo, Libreville, Gabon
Autres auteurs :

Akendengue Aken : 2014aken@gmail.com ; Ondo Assoumou : ondoassoumou@yahoo.fr ;

Mombo : jb.mombo@yahoo.fr

1. INTRODUCTION

L'une des principales mesures de la Convention-cadre des Nations Unies sur les Changements Climatiques en 1994 est l'évaluation de la capacité de stockage du carbone des écosystèmes forestiers. Ainsi, chaque pays et région devrait mettre en place ses outils d'estimation du carbone dans les écosystèmes forestiers et en faire un suivi régulier (Picard *et al.*, 2012). Les pays comme les États-Unis, la Chine et le Canada sont très productifs en terme d'évaluation de la séquestration de carbone de ces écosystèmes (Huang *et al.*, 2020). Les estimations des stocks de carbone aux échelles nationales impliquent couramment des outils d'inventaires forestiers parfois combinés avec la télédétection, techniques employées

par exemples au Canada (Kurz et Apps, 2006), en Chine (Wei *et al.*, 2014), aux États-Unis (Fleming *et al.*, 2015 ; Ma *et al.*, 2021), en France (Dupouey *et al.*, 2010), en Norvège (Puliti *et al.*, 2020), en Tanzanie (Ene *et al.*, 2016), etc. Depuis son lancement en 2008, le programme UN-REDD (UN-REDD, 2016) incite les pays en développement à la création et l'application de tels outils. Ainsi, la République Démocratique du Congo, la République du Congo, le Paraguay, l'Équateur, l'Argentine ou le Cambodge ont lancé leur système national de surveillance des forêts (UN-REDD, 2021).

Parmi les écosystèmes forestiers, les mangroves ont les plus grandes capacités de séquestration de carbone (1023 Mg ha⁻¹ en moyenne) (Donato *et al.*, 2011). Cependant, la superficie

mondiale des mangroves a régressé, passant de 18,8 millions d'hectares à 15,2 millions hectares en 25 ans (FAO, 2005). Bien qu'elles ne représentent que 0,07% de la forêt tropicale (Giri et al., 2010), la destruction des mangroves émet entre 0,02 à 0,12 Pg de carbone par an (Donato et al., 2011).

Les mangroves de l'Afrique représentent 11 % de la superficie des mangroves du monde (UNEP-WCMC, 2007). Estimées à une superficie totale de 2500 km² (Lebigre, 1990), les mangroves gabonaises constituent environ 12,41 % des mangroves d'Afrique centrale. Elles sont composées de neuf espèces de plante avec six (6) espèces de mangroves pures (Tomlinson, 1986) ou strictes (FAO, 2005), parmi lesquelles trois du genre *Rhizophora* (*mangle*, *harrisonii* et *racemosa*) (Ondo Assoumou, 2006 ; Ajonina et al., 2014a), puis *Avicennia germinans* (Avicenniaceae), *Laguncularia racemosa* et *Conocarpus erectus* (Combretaceae). A ces dernières s'ajoutent les espèces dites accompagnatrices et occasionnelles, *Phoenix reclinata* (Palmaceae) assez répandue dans les écosystèmes mangroves du Gabon, la fougère dorée *Acrostichum aureum* (Pteridaceae), la graminée *Paspalum vaginatum* et les *Pandanus* (Pandaneaceae) (Ondo Assoumou, 2017). Les travaux antérieurs réalisés sur les mangroves du Gabon (Lebigre, 1983 et 1990 ; Ondo Assoumou, 2006 et 2017 ; Ajonina et al., 2014a) montrent que les *Rhizophora* sont les mieux représentés en termes de diversité spécifique et de couverture spatiale. Ils s'implantent aussi bien en zone frontale qu'au contact avec la terre ferme, et participent considérablement au stockage de la biomasse et du carbone.

Les mangroves de la province de l'Estuaire ont enregistré une perte de 53,87 km² de leur superficie en 14 ans (Okanga et al., 2019), soit un taux annuel de changement de - 0,36%. Les secteurs les plus affectés sont situés dans l'agglomération de Libreville, ou dans sa périphérie proche. Par exemple, les mangroves de la rivière Lowé ont perdu 23% de leur surface entre 2007 et 2021, soit un taux annuel de changement de -1,64% (Okanga-Guay et al., 2021). Leur potentiel en biomasse aérienne et en stockage de carbone aérien dans l'agglomération de Libreville n'est pas documenté.

En l'absence d'équation allométrique permettant d'estimer la biomasse aérienne dans les mangroves locales, le recours à d'autres équations générales ou spécifiques aux espèces est une pratique assez commune (Kauffman et al., 2012 ; Jachowski et al., 2013 ; Rovai et al., 2015 ; Chatting et al., 2020 ; etc.). Cependant, ces équations générales comportent malgré tout des inadéquations. En effet, l'utilisation d'équations non adaptées peut apporter des différences importantes d'estimation. Kauffman et al. (2012) relèvent l'exemple de l'estimation de la biomasse d'un *Brughiera* dans les mangroves de Yap (Micronésie) : pour un diamètre de 69 cm, les équations de Komiyama et al. (2008) et de Kauffman and Cole (2010) donnent respectivement des valeurs très disparates (7014 kg et de 2588 kg).

Pour estimer la biomasse des mangroves gabonaises, il est habituel de recourir aux équations allométriques générales calibrées pour d'autres mangroves dans le monde, par exemples celles de Fromard et al., 1998 ; Chave et al., 2005 ; Komiyama et al., 2005 ; ou autres. Ce type d'équation n'est toutefois spécifique qu'aux sites de collecte de données (Ajonina, 2008), avec des espèces qui peuvent différer, et est donc inapproprié pour prédire avec précision la biomasse des mangroves d'une autre localité. Idéalement, l'utilisation

d'une équation spécifique à l'espèce et à la région étudiée devrait être priorisée (Kauffman, 2012). En effet, les écosystèmes de mangroves sont très complexes et très différents, tant sur les plans diamétrique, de hauteur ou de diversité spécifique. En particulier, le caractère exceptionnel des mangroves gabonaises (Simard et al., 2019) requiert l'établissement d'équations allométriques locales pour l'amélioration de la précision des estimations des stocks de carbone aérien.

L'objectif principal de cette étude est d'estimer la biomasse aérienne (AGB) du genre *Rhizophora*, plus répandu dans la zone. Les objectifs spécifiques sont de (i) proposer une équation allométrique du genre (*Rhizophora*) pour une bonne estimation de la biomasse aérienne et de (ii) estimer le taux d'émission de dioxyde de carbone aérien des mangroves défrichées des rivières Lowé et Igoumié.

Les principales questions de recherche sont (i) quelle forme d'équation allométrique permet d'estimer de façon précise la biomasse aérienne des mangroves de Libreville et Owendo ? (ii) quelle est la capacité de stockage de la biomasse aérienne (AGB) des mangroves à *Rhizophora* des rivières Lowé et Igoumié? (iii) quel est le taux d'émission de dioxyde de carbone aérien des mangroves défrichées des rivières Lowé et Igoumié?

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Milieu d'étude

Pour construire une équation allométrique des *Rhizophora spp* de la zone Libreville-Owendo, deux sites d'étude ont été échantillonnés : les mangroves des rivières Lowé et Igoumié. Lowé et Igoumié sont deux cours d'eau dont les rives sont occupées par des mangroves (Fig. 1) à la fois intactes (naturelles), anthropisées (fortement dégradées) et semi-naturelles.

La rivière Lowé est longue de 10 km et sert de limite naturelle entre les communes de Libreville au Nord et Owendo au Sud. Elle prend sa source dans le quartier Bizango, à l'Est de Libreville, et se jette dans l'estuaire du Komo, au pont Nomba. Sur le pourtour de la rivière Lowé, les mangroves couvrent une superficie de 162,62 ha. Les zones d'échantillonnage ont été choisies à l'intérieur des mangroves. La première placette, dénommée Jean Violas et dont le centroïde est situé à 0,3507°N, 9,4897°E, est composée à 96,23% de *Rhizophora racemosa* et à 3,77% de *Laguncularia racemosa* (données de terrain). La seconde placette, dénommée Mindoubé et située aux coordonnées 0,3627°N, 9,4928°E, est constituée à 100% de l'espèce *Rhizophora racemosa* (données de terrain).

La rivière Igoumié, longue de 8 km, sépare le premier et le deuxième arrondissements de la Commune d'Owendo. Elle prend sa source au quartier Igoumié et rejoint l'estuaire du Komo à l'Est du complexe portuaire d'Owendo, face à l'île Coniquet. Les mangroves de l'enclave Igoumié et Ikoy-Komo ont une superficie de 2025 ha. La placette 3, dénommée Alénakiri 1, est située à 0,3181°N, 9,5197°E. Elle compte 48,48% de *Rhizophora harrisonii*, 27,27% de *Rhizophora mangle* et 24,24% d'*Avicennia germinans* (données de terrain). La placette Alénakiri 2, localisée au point 0,32001°N, 9,5185°E, est formée à 89,22% de *Rhizophora harrisonii* et 10,78% d'*Avicennia germinans* (données de terrain).

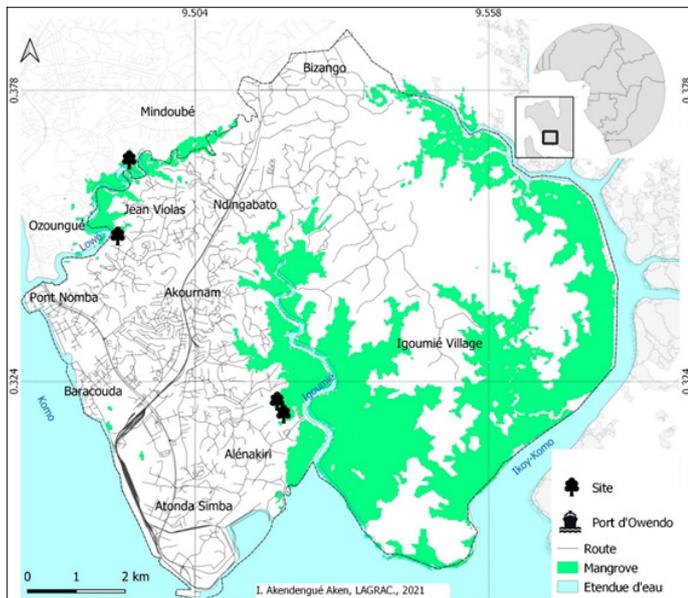
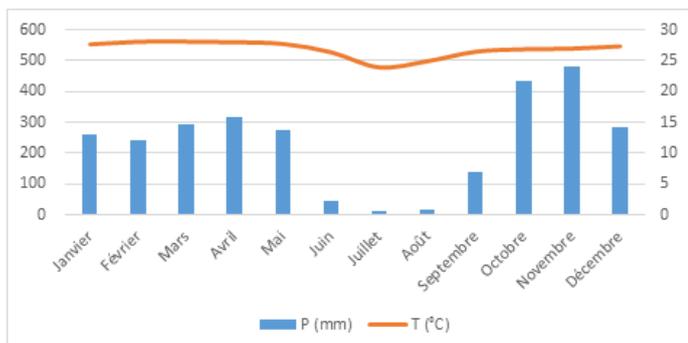


Figure 1 : Localisation des placettes (sites) dans les mangroves des rivières Lowé et Igoumié de la Commune d'Owendo

Le climat gabonais est très favorable à la présence des mangroves. La zone d'étude a un climat de type équatorial marqué par quatre saisons en alternance : deux saisons sèches et deux saisons de pluies. La saison sèche est courte, soit trois mois pour chaque période. Mais la plus marquée est celle située entre mi-juin et mi-septembre. Les précipitations moyennes annuelles de l'ensemble du pays varient entre 1400 mm et 3400 mm, avec 2870 mm d'eau à Libreville (Maloba Makanga, 2010). Ces précipitations de région équatoriale sont très orageuses. Le nombre de jours de pluie atteint facilement 170 à 200 par an. L'analyse fréquentielle des précipitations annuelles a montré au niveau de la station de Libreville des moyennes maximales atteignant 3 270 mm d'eau entre 1951 et 1990 (Maloba Makaga, 2010) et 3 345,5 mm en 2000 (Menié Ovono et al., 2017). Octobre et novembre constituent les mois plus arrosés avec 445,5 mm et 496 mm tandis que juillet et août sont moins arrosés avec une chute d'eau inférieure à 100 mm, de 1989 à 2018 (fig.2). Les températures annuelles varient en fonction des saisons. Ainsi, les températures plus faibles sont enregistrées en saison sèche (juillet-août) et plus élevées en saison des pluies (mars-avril), avec des moyennes minimales et maximales respectives à 23°C et 27°C (Maloba Makaga, 2004). Le taux d'humidité atmosphérique varie entre 79,3% en août et 96% novembre.



Source : Direction Générale de la météorologie (2017).
Figure 2 : Diagramme climatique gabonais

La démographie est caractérisée par une forte concentration humaine autour des rivières Lowé et Igoumié, donnant une

densité de la population élevée à la commune d'Owendo (809,2 hab/km²) (Direction Générale de la Statistique, 2013). A l'Est de la zone d'étude, vers la rivière Ikoy-Komo, la situation démographique est complètement différente. L'occupation humaine est très faible avec la présence des villages peu peuplés et clairsemés dans la forêt encore intacte. En général, ces villages ont connu un exode rural massif. Les habitants préfèrent vivre en ville et ne se retournent dans les villages que pendant les week-end et les vacances.

2.2 Collecte de données

En vue de l'estimation de la biomasse aérienne selon les techniques de foresterie, la taille de l'échantillon, soit le nombre d'arbres cubés ou pesés, est déterminée par l'expérience et s'adapte au milieu, au temps, aux moyens matériels, humains et financiers (Picard et al., 2012). Ainsi, en tenant compte des difficultés d'accès aux mangroves, les équations allométriques sont généralement construites avec peu d'arbres et sur peu de sites. Pour exemples, Fromard et al. (1998) ont établi une équation avec 9 *Rhizophora* rencontrés dans 7 sites, Komiyama et al. (2005) avec 104 individus de 10 espèces sur 5 sites, et Chave et al. (2005) avec 84 individus d'espèces de mangroves non spécifiées sur 2 sites. Pour les mangroves du Bénin, Ajonina (2013) a créé l'équation du volume des *Avicennia germinans* et *Rhizophora racemosa* avec 233 individus.

L'établissement d'une équation allométrique pour l'espèce *Rhizophora spp* des rivières Lowé et Igoumié a été réalisé en mesurant 243 arbres dans 4 placettes sur 2 sites relativement homogènes. De ces quatre placettes, 3 sont de forme carrée et de 625 m² chacune. La quatrième est rectangulaire et de 145 m². La superficie totale inventoriée est de 2020 m². Deux placettes sont localisées le long de la rivière Lowé, et deux autres le long de la rivière Igoumié (Fig. 1). Dans chaque placette, le diamètre à hauteur de poitrine ou au-dessus la première racine (DBH) a été mesuré à l'aide d'un ruban mètre forestier ou d'un pied à coulisse. Un télémètre laser (*Forestry Pro*) a permis de calculer la hauteur à la cime de chaque arbre. Les espèces ont été identifiées et les paramètres mesurés sont consignés dans des fiches de collecte de données. Seuls les individus de genre *Rhizophora* ont été retenus. Le GPS (*Global Positioning System*) a permis de prendre toutes les coordonnées géographiques individuelles des arbres.

2.3 Analyse des données

2.3.1 Caractérisation structurale des écosystèmes de mangrove

Les données collectées ont été saisies dans le tableur *Excel*. A partir de ces données brutes, plusieurs paramètres ont été calculés, parmi lesquels : la surface terrière, le volume et la biomasse aérienne (AGB).

La surface terrière individuelle et le volume de chaque arbre ont été déterminés selon la méthode de Husch et al. (2003) appliquée dans les mangroves par Ajonina (2008) (équations 1 et 2) :

$$\text{Surface terrière } (g) = \pi \frac{d^2}{4} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{Volume } (m^3) (V) = g \times h \times f \dots\dots\dots(2)$$

Où $\pi = 3,14$; d = diamètre en mètre (m), g = surface terrière en m² ha⁻¹, h = hauteur en mètre (m) et f = facteur forme ($f=0,6$; Ajonina et Usongo, 2001).

La biomasse aérienne individuelle (AGB) (Équation 3) a été obtenue par la formule standard de Husch et al. (2003).

$$\text{Biomasse (AGB)} = p \times V \times \text{BEF} \dots\dots\dots(3)$$

Où AGB = biomasse aérienne, p = densité moyenne du bois de mangrove (déterminée à 0,890 t/m³; Feamside, 1997), (Ajonina et al., 2014b) et BEF = facteur d'expansion de biomasse dans les mangroves (déterminé à 1,18; Ajonina, 2008).

2.3.2. Élaboration et évaluation d'équation allométrique

Les données et les paramètres, précédemment calculés, ont été exportés dans le logiciel R 4.3 pour établissement des modèles de régression linéaire. Un modèle à entrée unique utilisant le diamètre (DBH) a été préféré vu que le DBH est le paramètre le plus facile à mesurer dans des mangroves parfois hautes ou denses, comme c'est le cas dans certains des sites. Etant difficile à mesurer avec précision sans que l'arbre ne soit coupé, la hauteur n'est pas recommandée comme paramètre (Kauffman et al., 2012) dans l'établissement d'une équation allométrique.

Pour la mise en place de l'équation allométrique, une régression a été faite sur l'AGB en fonction du DBH.

La première étape, dite exploratoire, a consisté à tester le type de relation (non linéaire et linéaire) qui existe entre les variables. Cette phase a permis de détecter une relation favorable aux données de type: $y = \alpha x^\beta$. Néanmoins, la relation de type: $y = \alpha x + \beta + \varepsilon$ a été également testée. Le modèle a été apprécié à partir des coefficients de détermination (r^2 et r^2 ajusté), et du critère d'information d'Akaike (AIC) intervenant dans le choix entre plusieurs modèles de même variable. Le meilleur modèle est généralement celui qui a le plus petit AIC.

La deuxième étape a consisté à établir le modèle, en déterminant les paramètres alpha (α) et béta (β) sur un jeu de données de 146 individus tirés aléatoirement, soit 60% de la base de données de 243 individus (Tableau 1 ; équations 4 et 5).

Les diamètres sont répartis en 4 classes selon la classification d'Ajonina et al. (2008). Les données de modélisation se distribuent selon ces mêmes classes (Tableau 1) : 5% des individus dans la classe [1–2,5] cm de DBH, 23% dans la classe de [2,5–5], 32% dans la classe de [5–10] et 40% dans la classe de [10–30]. Les données de validation se répartissent respectivement selon ces mêmes classes à 8%, 34%, 47% et 8%.

Tableau 1 : Données échantillonnées par classes de diamètre et de hauteur ayant servi à la création du modèle et sa validation

Classes	Modélisation				Validation			
	DBH	%	Hauteur	%	DBH	%	Hauteur	%
[1 - 2,5]	8	5,48	12	8,22	8	8,25	12	12,37
[2,5 - 5]	33	22,60	32	21,92	34	35,05	44	45,36
[5 - 10]	47	32,19	43	29,45	47	48,45	39	40,21
[10 - 30]	58	39,73	59	40,41	8	8,25	2	2,06
Somme	146	100	146	100	97	100	97	100
			60%				40%	

Les données de hauteur se catégorisent selon ces mêmes classes ; mais, elles sont mesurées en mètres. Ainsi, pour les données de modélisation, 8% des individus échantillonnés relèvent de la classe [1–2,5], 22% de la classe [2,5–5], 29% de la classe [5–10] et 40% de la classes [10–30].

$$\alpha = \frac{\text{cov}(y; y')}{v(y)} = \frac{\bar{y}y' - \bar{y}\bar{y}'}{\bar{y}^2 - (\bar{y})^2} \dots\dots\dots(4)$$

$$\beta = \bar{y}' - \alpha \cdot \bar{y} \dots\dots\dots(5)$$

Un modèle linéaire ajusté sur des données log-transformées engendre un biais dû à la transformation dont le facteur de correction est égal à $\exp(\sigma^2/2)$. De ce fait, α devient: $\alpha = \exp(a + \sigma^2/2)$ avec β inchangé (Parresol, 1999).

Enfin, le modèle a été validé avec un jeu indépendant de données

de 97 individus, soit 40% de la base globale de données n'ayant pas servi dans la mise en place du modèle. Cette validation s'est faite en comparant la biomasse prédite et la biomasse observée (Chave et al., 2005), en vérifiant la racine carrée de l'erreur quadratique moyenne (RMSE ; équation 6), le biais (équation 7) et le biais en pourcentage (équation 8).

$$\text{RMSE} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n ((P_i - O_i)^2 / N) * 0,5 \dots\dots\dots(6)$$

$$\text{biais} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i) \dots\dots\dots(7)$$

$$\text{biais (\%)} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^n (P_i - O_i) / \text{absolue}(O_i) \dots\dots\dots(8)$$

Où RMSE = erreur quadratique moyenne, P = biomasse prédite, O = biomasse observée et N = le nombre d'observations. La RMSE est utilisée dans la mesure de dispersion des prédictions par rapport aux observations (Chave et al., 2005).

3. RÉSULTATS

3.1 Caractéristiques structurales des mangroves étudiées

Le site d'Alénakiri 1 est composé des *Rhizophora harrisonii* et de *Rhizophora mangle*. Le DBH est compris entre 1,2 et 6,6 cm, avec une moyenne de 3,34 ± 0,339 cm (Tableau 2). La hauteur maximum est de 5,3 m contre un maximum de 1 m, soit une moyenne de 2,926 ± 0,356 m. La surface terrière varie entre 0,0001 m² ha⁻¹ et 0,0131 m² ha⁻¹, avec une moyenne de 0,0011 ± 0,0002 m² ha⁻¹. Les moyennes des volumes et de la biomasse sont respectivement de 0,0034 ± 0,0008 m³ et 0,0035 ± 0,0008 t.

Tableau 2 : Paramètres statistiques des mangroves échantillonnées à Alénakiri 1 à Igoumié

Statistiques	DBH (cm)	Hauteur (m)	g (m ² ha ⁻¹)	Volume (m ³)	AGB (kg)
Moyenne	3,34	2,926	0,0011	0,0034	3,5
Erreur-type	0,339	0,3560	0,0002	0,0008	0,8
Médiane	3,2	1,85	0,0008	0,0011	1,1
Mode	1,3	1,1	0,0001NA	NA	NA
Écart-type	1,6973	1,7801	0,0010	0,0039	4,1
Minimum	1,2	1	0,0001	0,0001	1
Maximum	6,6	5,3	0,0034	0,0131	13,8
Somme	83,5	73,15	0,0273	0,0844	88,6
N	25	25	25	25	25

DBH : diamètre à hauteur de poitrine ; g : surface terrière ; AGB : biomasse aérienne.

Le site d'Alénakiri 2 abrite essentiellement l'espèce *Rhizophora harrisonii* dont le DBH varie entre 1,5 et 15,6 cm avec une moyenne de 6,6753 ± 0,3840 cm (Tableau 3). La hauteur est comprise entre 1,85 et 8,7 m, avec une moyenne de 4,7294 ± 0,1980 m. La moyenne de la surface terrière est de 0,0043 ± 0,0005 m² ha⁻¹, avec un minimum et un maximum respectifs de 0,0002 m² ha⁻¹ et 0,0191 m² ha⁻¹. Le volume, quant à lui, varie entre 0,0003 m³ et 0,1100 m³, soit une moyenne de 0,0191 ± 0,0028 m³. La biomasse aérienne est comprise entre 0,0003 t et 0,1156 t, avec une moyenne de 0,0201 ± 0,0029 t.

Tableau 3: Paramètres statistiques des mangroves échantillonnées à Alénakiri 2 à Igoumié

Statistiques	DBH (cm)	Hauteur (m)	g (m ² ha ⁻¹)	Volume (m ³)	AGB (kg)
Moyenne	6,6753	4,7294	0,0043	0,0191	20,1
Erreur-type	0,3840	0,1980	0,0005	0,0028	2,9
Médiane	6,45	4,75	0,0033	0,0133	14
Mode	8,5	5,4	0,0057	0,0009	0,9
Écart-type	3,1668	1,6326	0,0039	0,0229	24,1
Minimum	1,5	1,85	0,0002	0,0003	3
Maximum	15,6	8,7	0,0191	0,1100	115,6
Somme	453,92	321,6	0,2906	1,3020	1367,4
N	68	68	68	68	68

DBH : diamètre à hauteur de poitrine ; g : surface terrière ; AGB : biomasse aérienne.

Les espèces de mangrove du site de Jean Violas, dans la zone de la rivière Lowé, ont un DBH moyen de $8,6011 \pm 0,5548$ cm (Tableau 4). Le DBH varie entre 2,2 cm et 22 cm. La hauteur varie entre 2,3 m et 14,4 m, avec une moyenne de $7,8034 \pm 0,4299$ m. La surface terrière moyenne est de $0,0079 \pm 0,0010$ m² ha⁻¹ avec un minimum et un maximum de $0,0004$ m² ha⁻¹ et $0,0380$ m² ha⁻¹. Le volume moyen est de $0,0656 \pm 0,0092$ m³ avec un minimum et un maximum respectifs de $0,0009$ m³ et $0,3295$ m³. La biomasse aérienne moyenne est de $0,0689 \pm 0,0097$ t avec un minimum et un maximum respectifs de $0,0009$ t et $0,3461$ t.

Tableau 4: Paramètres statistiques des mangroves échantillonnées à Jean Violas à la Lowé

Statistiques	DBH (cm)	Hauteur (m)	g (m ² ha ⁻¹)	Volume (m ³)	AGB (kg)
Moyenne	8,6011	7,8034	0,0079	0,0656	68,9
Erreur-type	0,5548	0,4299	0,0010	0,0092	9,7
Médiane	7	7,2	0,0038	0,0212	22,3
Mode	4,2	6,1	0,0014	0,0068	7,1
Écart-type	5,1745	4,0095	0,0090	0,0858	90,2
Minimum	2,2	2,3	0,0004	0,0009	0,9
Maximum	22	14,4	0,0380	0,3295	346,1
Somme	748,3	678,9	0,6860	5,7062	5992,7
N	87	87	87	87	87

DBH : diamètre à hauteur de poitrine ; g : surface terrière ; AGB : biomasse aérienne.

Le site de Mindoubé a un DBH compris entre 2 cm et 26 cm, soit une moyenne de $11,0016 \pm 0,8596$ cm (Tableau 5). La hauteur oscille entre 2 m et 18 m, avec une moyenne de $11,2286 \pm 0,6349$ m. La surface terrière est comprise entre $0,0003$ m² ha⁻¹ et $0,0531$ m² ha⁻¹, soit une moyenne de $0,0131 \pm 0,0018$ m² ha⁻¹. Le volume est compris entre $0,0007$ m³ et $0,5004$ m³, avec une moyenne de $0,1080 \pm 0,0175$ m³. L'AGB oscille entre $0,0007$ t et $0,5256$ t, soit une moyenne de $0,1134 \pm 0,01783$ t.

Tableau 5 : Paramètres statistiques des mangroves échantillonnées à Mindoubé à la Lowé

Statistiques	DBH (cm)	Hauteur (m)	g (m ² ha ⁻¹)	Volume (m ³)	AGB (kg)
Moyenne	11,0016	10,2286	0,0131	0,1080	113,4
Erreur-type	0,8596	0,6349	0,0018	0,0175	18,3
Médiane	8,5	10	0,0057	0,0285	29,9
Mode	8,5	4	0,0057	0,0023	2,4
Écart-type	6,8227	5,0393	0,0143	0,1386	145,6
Minimum	2	2	0,0003	0,0007	0,7
Maximum	26	18	0,0531	0,5004	525,6
Somme	693,1	644,4	0,8251	6,8027	7144,2
N	63	63	63	63	63

DBH : diamètre à hauteur de poitrine ; g : surface terrière ; AGB : biomasse aérienne.

Pour toutes les placettes, le DBH moyen est de $8,14 \pm 0,350$ cm, avec des minima et maxima de $1,2$ cm et 26 cm (Tableau 6). La hauteur moyenne se situe à $7,07 \pm 0,282$ m, avec des minima et maxima de 1 m et 18 m. Les moyennes de la surface terrière (g), du volume et de la biomasse aérienne (AGB) sont respectivement de $0,00753 \pm 0,00612$ m² ha⁻¹, $0,05718 \pm 0,00612$ m³ et $60 \pm 6,423$ kg. Le minimum de biomasse aérienne (AGB) est de $0,091$ kg, contre un maximum de $525,559$ kg.

Tableau 6 : Paramètres statistiques des mangroves échantillonnées des rivières Lowé et Igoumié

Statistiques	DBH (cm)	Hauteur (m)	g (m ² ha ⁻¹)	Volume (m ³)	AGB (kg)
Moyenne	8,143	7,070	0,00753	0,05718	60,053
Erreur-type	0,350	0,282	0,00064	0,00612	6,423
Médiane	6,5	5,7	0,00332	0,01452	15,248
Mode	6,5	4,8	0,00332	0,00231	2,424
Écart-type	5,449	4,402	0,01004	0,09534	100,129
Minimum	1,2	1	0,00011	0,00009	0,091
Maximum	26	18	0,05307	0,50044	525,559
Somme	1978,82	1718,05	1,8291	13,895	14592,869
n	243	243	243	243	243

DBH : diamètre à hauteur de poitrine ; g : surface terrière ; AGB : biomasse aérienne.

3.2 Stock de biomasse et de carbone aérien des mangroves de la Lowé et de l'enclave Igoumié et Ikoy Komo

La biomasse aérienne de la surface échantillonnée (2020 m²) est de $14,593$ Mg, soit environ $72,24$ Mg ha⁻¹. Ainsi, le stock de carbone aérien est évalué à $36,12$ Mg C ha⁻¹.

Les mangroves de l'enclave Igoumié et Ikoy-Komo, d'une superficie de 2025 hectares, accumulent $146218,97$ Mg de biomasse aérienne et $73109,48$ Mg C de carbone. Les mangroves de Lowé, d'une superficie de $162,36$ ha, ont une biomasse aérienne de $11728,88$ Mg, soit un stock de carbone de $5864,44$ Mg C.

La destruction d'un hectare de mangroves rejeterait au minimum $132,56$ Mg CO₂ dans l'atmosphère, pour la partie aérienne seulement.

3.3 Comparaison des modèles linéaire et non-linéaire de la biomasse aérienne

Après analyse de la base de données des mangroves échantillonnées, les modèles produits sont $AGB = 0,017*DBH - 0,083 + 0,045$ pour le linéaire, et $AGB = 0,0001073*DBH^{2,71}$ pour le non-linéaire (Tableau 7).

Tableau 7 : Paramètres d'appréciation des modèles testés

Modèles	α	β	r ²	AIC	p-value
$y = \alpha x + \beta$	0,017	-0,083	0,85	-452,23	< 2,2e-16
$y = \alpha x^\beta$	0,0001073	2,71	0,96	155	< 2,2e-16

Avec un coefficient de détermination (r²) de 96% , le type non-linéaire a une meilleure prédiction de la biomasse aérienne (AGB) des mangroves des rivières Lowé et Igoumié, que le modèle linéaire à 85% . Toutefois, malgré un critère d'information d'Akaike (AIC) plus élevé, le modèle non-linéaire présente une homoscedasticité favorable de la distribution des résidus (Fig. 3). En effet, la variance de l'erreur résiduelle du modèle linéaire n'est pas constante, ce qui impacte sur l'intervalle de confiance du modèle (Picard et al., 2012). De facto, le modèle non-linéaire, qui a la plus forte variance expliquée et remplit l'hypothèse d'homoscedasticité, est adéquat pour prédire la biomasse des *Rhizophora* dans les rivières Lowé et Igoumié.

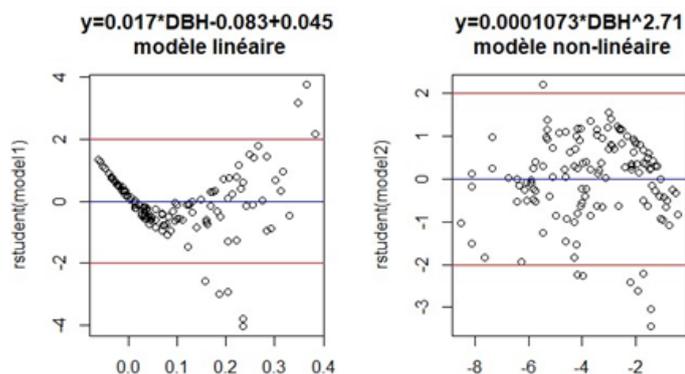


Figure 3 : Distribution des résidus des modèles testés

3.4 Validation du modèle non-linéaire

En comparant la biomasse aérienne observée et la biomasse aérienne estimée, il ressort une erreur quadratique moyenne (RMSE) de 0,0014 et un biais de -0,0056, soit -0,35% de biais (Tableau 8). Ainsi, le modèle non-linéaire $y = 0,000107 * DBH^{2,71}$ prédit correctement la biomasse aérienne des mangroves de la zone d'étude.

Tableau 8 : Paramètres du modèle retenu

Modèle	α	β	rmse	biais	biais %
$y = \alpha x^\beta$	0,000107	2,71	0,0014	-0,0056	-0,35

Le croisement de la biomasse observée et du DBH de la base de données de validation confirme une relation non-linéaire entre ces deux variables (Fig. 4a). Aussi, la projection de la biomasse aérienne estimée et de la biomasse aérienne observée montre-t-elle un nuage de points superposé à la droite de régression (Fig. 4b).

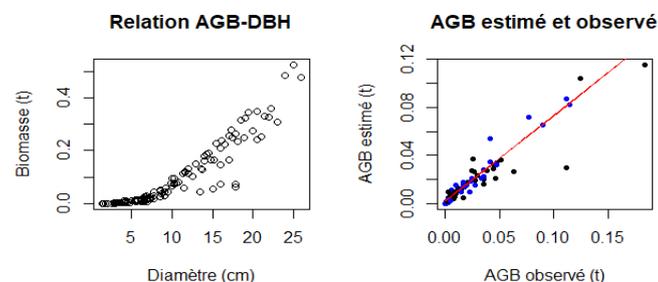


Figure 4 : Type de relation AGB-DBH et projection de l'AGB estimée et observée.

4. DISCUSSION

Les mangroves échantillonnées présentent des caractéristiques structurales assez communes avec des hauteurs variant de 1 à 18m, qualifiées de petites à moyennes par Lebigre (1983, 1990). Replacés dans le contexte national, les *Rhizophora spp* n'atteignent pas les hauteurs maximales enregistrées au Gabon par Ajonina et al. (2014a) avec 41m ou Simard (2019) avec 62,8m. Par contre, avec un diamètre moyen de 8,1cm, les mangroves de Lowé et Igoumié entrent dans le registre des diamètres moyens de la sous-région (Cameroun, Gabon, République du Congo, République Démocratique du Congo) (Ajonina et al., 2014a). La structure chez *Rhizophora racemosa*, *Rhizophora harrisonii* et *Rhizophora mangle* (racine échasse, tronc et houppier) est caractéristique de ces espèces, et est la même d'un site à un autre (Lebigre, 1990 ; Ondo Assoumou, 2006).

Cette structuration, relative au diamètre et à la hauteur des

arbres, influence nécessairement la comptabilisation de la biomasse aérienne. En effet, quoique le stock moyen de biomasse aérienne au Gabon soit estimé à 341 Mg ha⁻¹ par Ajonina et al. (2014a), les mangroves des rivières Lowé et Igoumié ont plutôt révélé un stock moyen de 72,24 Mg ha⁻¹. Cette valeur ne représente donc que 21,18% de la biomasse aérienne moyenne à l'hectare des mangroves du Gabon. L'écart est tout aussi grand avec la biomasse aérienne des mangroves du Congo (évaluée à 251 Mg ha⁻¹), de la République Démocratique du Congo (409 Mg ha⁻¹) ou du Cameroun (505 Mg ha⁻¹) (Ajonina et al., 2014a).

Lors de la construction d'une équation allométrique pour l'estimation de la biomasse aérienne, la détermination des variables à prendre en compte et l'amplitude des valeurs de DBH et de hauteur sont des éléments déterminants (Chave et al., 2005). En outre, l'utilisation d'une même densité de bois (ici déterminé à $p=0,890$; Feamside, 1997) pour deux espèces de genre identique sur des sites différents est admise, contrairement à des espèces de genres différents sur des sites similaires (Clough et Scott, 1989 ; Komiyama et al., 2005). L'utilisation ici de cette densité de bois moyen n'a pas de grande influence sur les résultats comparables aux prédictions avec l'équation d'Ajonina et al. (2014b).

L'équation développée ici, avec le DBH comme seule variable explicative, présente un coefficient de détermination de Pearson élevé avec $r^2 = 0,96$. Les prédictions du modèle pourraient être légèrement améliorées en éliminant toute erreur de mesure sur le terrain ou par l'intégration d'une seconde variable, telle que la hauteur des arbres. Ce taux de détermination démontre que le DBH est un indicateur fort de la biomasse aérienne chez les *Rhizophora*, fait corroboré par Ajonina (2008) et Ajonina et al. (2014a).

Le modèle a été réalisé à partir d'un DBH_{min} de 1 cm et d'un DBH_{max} de 26 cm. En principe, une équation n'est valable que dans son intervalle DBH et dans son étendue spatiale de calibration et de validation initiale (Rykiel, 1996 ; Picard et al., 2012). L'extrapolation au-delà de leur gamme de DBH de calibration peut induire à des erreurs d'estimation de biomasse liées à la variabilité des grands arbres et des sites (Brown et Lugo, 1984). Toutefois, le présent modèle établi est de type puissance ($y = \alpha x^\beta$). Les modèles sous cette forme ont l'avantage d'être extrapolable avec une bonne fiabilité, en dehors de leur intervalle de DBH et de leur espace géographique de calibration et de validation d'origine. En effet, les modèles de ce type obéissent au principe allométrique fractal (Zianis et Mencuccini, 2004). Tout comme le modèle d'Ajonina et al. (2014a), où les diamètres échantillonnés variaient entre 1 cm et 102,08 cm, l'équation ici obtenue pour les mangroves de la Lowé et d'Igoumié est invariante à toutes les échelles spatiales et structurales. De prime abord, elle peut servir à prédire la biomasse des mangroves genre *Rhizophora*, aussi bien estuarienne, deltaïque que lagunaire.

Confrontées, les biomasses aériennes prédites par le modèle établi pour les mangroves de la Lowé et d'Igoumié et celles du modèle d'Ajonina et al. (2014a) sont similaires. En effet, l'erreur est infime avec un RMSE de 0,0009 et un biais de 0,0007, soit 0,08 % de biais entre les prédictions des deux modèles. Bien que leur intervalle d'application ne soit pas la même, soit 1cm <D<102,8 cm pour Ajonina et al. (2014) et 1 cm <D<26 cm pour le présent modèle, la différence entre les deux prédictions est très faible et leurs distributions se

superposent quasiment. Dans un jeu de données de $n = 97$, l'intervalle de prédiction du modèle établi est compris entre $[0,0197 \text{ Mg} - 0,0253 \text{ Mg}]$ avec une moyenne de $0,0221 \text{ Mg} \pm 0,0032$. L'intervalle du modèle d'Ajonina et al. (2014a) est compris entre $[0,0181 \text{ Mg} - 0,0245 \text{ Mg}]$, avec une moyenne de $0,0213 \pm 0,0032 \text{ Mg}$. L'écart de moyenne entre les deux prédictions est de $0,0008 \text{ Mg}$. L'écart autour de la moyenne est $0,0313 \text{ Mg}$ pour le modèle Lowé-Igoumié, et $0,0312 \text{ Mg}$ pour le modèle Ajonina et al. (2014a) ; soit une différence de $0,0001$ entre ces deux prédictions des modèles respectifs.

5. CONCLUSION

Cette étude a permis d'établir une équation allométrique non-linéaire de type puissance invariante à toutes échelles spatiales puisqu'elle repose sur un principe allométrique fractal. L'équation a un coefficient de détermination égale à 96% pour un biais de $-0,0056$, soit 0,35 %. Les mangroves du genre *Rhizophora* (*mangle*, *harrisonii* et *racemosa*) de la Lowé et d'Igoumié ont une biomasse aérienne de $14,593 \text{ Mg}$ pour 2020 m^2 , ce qui représente $57,6416 \text{ Mg ha}^{-1}$. Le stock de carbone aérien est de $28,821 \text{ Mg C ha}^{-1}$ et représente un taux d'émission atmosphérique de $105,772 \text{ Mg CO}_2 \text{ ha}^{-1}$. Il est nécessaire que des équations allométriques soient également établies pour les *Avicennia germinans* (Avicenniaceae), *Laguncularia racemosa* et *Conocarpus erectus* (Combretaceae) dans ces mêmes zones.

6. REMERCIEMENTS

L'équipe du LAGRAC remercie la Direction Générale des Écosystèmes Aquatiques du Ministère des Eaux, des Forêts, de la Mer, de l'Environnement, Chargé du Plan Climat, et du Plan d'Affectation des Terres (Gabon), le projet OSFACO de l'Institut de Recherche pour le Développement (France) et de l'IGN-FI, ainsi que l'Agence Universitaire de la Francophonie pour leur soutien financier. Elle remercie les étudiants Elyard Glen Mbaya Diwa, Guy Cardel Mba Ekore, Melvin Megne M'Ndong, Robert Obiang Zogo, Jordan Stephan Pounah, Guevane Gérald Youba, Médard Mamouaka Bayadi, du Département des Sciences Géographiques, Environnementales et Marines de la Faculté des Lettres et des Sciences Humaines de l'Université Omar Bongo de Libreville (Gabon) pour avoir participé à la collecte des données.

7. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ajonina G.N. and Usongo L. (2001). Preliminary quantitative impact assessment of wood extraction on the mangroves of Douala-Edea Forest Reserve, Cameroon. *Tropical Biodiversity*, 7 (2-3), 137-149.

Ajonina G.N. (2008). Inventory and modelling mangrove forest stand dynamics following different levels of wood exploitation pressures in the Douala-Edea Atlantic Coast of Cameroon, Central Africa. *Mitteilungen der Abteilungen für Forstliche Biometrie, Albert-Ludwigs- Universität: Freiburg*. 2008-2, 232p. DOI: 10.13140/RG.2.2.12879.79526

Ajonina G.N. (2013). Etablissement du bilan carbone des mangroves des zones humides du Complexe Ouest du Sud-Bénin en vue de la préparation d'un projet MDP. Rapport de Consultation. Eco-Bénin et Ecosystem Alliance, 85p.

Ajonina G.N., Kairo J., Grimsditch G., Sembres T., Chuyong G. and Diyouke E. (2014a). Assessment of mangrove carbon stocks in Cameroon, Gabon, the Republic of Congo (RoC) and the Democratic Republic of Congo (DRC) including

their potential for reducing emissions from deforestation and forest degradation (REDD+). *The Land/Ocean Interactions in the Coastal Zone of West and Central Africa*, (Eds. Diop S., Barousseau J.P. and Descamps C.), Springer International Publishing Switzerland, 177-189. DOI: 10.1007/978-3-319-06388-1_15

Ajonina G.N., Agardy T., Lau W., Agbogah K., and Gormey B. (2014b). Mangrove conditions as indicator for potential payment for ecosystem services in some estuaries of western region of Ghana, West Africa. *The Land/Ocean Interactions in the Coastal Zone of West and Central Africa, Estuaries of the World*, (Eds. Diop S., Barousseau J.P. and Descamps C.), Springer International Publishing Switzerland, 151-166. DOI: 10.1007/978-3-319-06388-1_13

Brown S., Lugo A.E. (1984). Biomass of Tropical Forest: A New Estimate Based on Forest Volume. *Science*, 223, 1290-1293. <http://dx.doi.org/10.1126/science.223.4642.1290>

Chatting M., LeVay L., Walton M., Skov M.W., Kennedy H., Wilson S. and Al-Maslamani I. (2020). Mangrove carbon stocks and biomass partitioning in an extreme environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 244, Elsevier, 8p. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106940>

Chave J., Andalo C., Brown S., Cairns M.A., Chambers J.Q., Eamus D., Fölster H., Fromard F., Higuchi N., Kira T., Lescure J.P., Nelson B.W., Ogawa H., Puig H., Riéra B. and Yamakura T. (2005). Tree allometry and improved estimation of carbon stocks and balance in tropical forests. *Oecologia*, 145(1), 87-99. DOI: 10.1007/s00442-005-0100-x

Clough B.F. and Scott K. (1989). Allometric relationships for estimating above-ground biomass in six mangrove species. *Forest Ecology and Management*, 27, 117-127. [https://doi.org/10.1016/0378-1127\(89\)90034-0](https://doi.org/10.1016/0378-1127(89)90034-0)

Direction Générale de la Statistique (2015). Résultats globaux du Recensement Général de la Population et des Logements de 2013 du Gabon (RGPL-2013). 195p. + annexes.

Donato D.C., Kauffman J.B., Murdiyarto D., Kurnianto S., Melanie S.M. and Kanninen M. (2011). Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience*, 4, 293-297. DOI: 10.1038/ngeo1123

Dupouey J.L., Pignard G., Hamza N., Dhôte J.F. (2010). Chapter 5 : Estimating carbon stocks and fluxes in forest biomass: 2. Application to the French case based upon National forest Inventory data. *Forests, Carbon Cycle and Climate Change*, (Ed. Loustau D.), Éditions Quae, France, 101-129

Ene L.T., Naesset E., Gobakken T., Mauya E.W., Bollandss O.M., Gregoire T.G., Ståhl G., Zhabu E. (2016). Large-scale estimation of aboveground biomass in miombo woodlands using airborne laser scanning and national forest inventory data. *Remote Sensing of the Environment*, 186, december, 626-636. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2016.09.006>

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) (2005). *Global Forest Resources Assessment 2005: Progress towards sustainable forest management*, FAO Forestry Paper, Vol. 147, Rome, 320 p. <http://www.fao.org/3/A0400E/A0400E00.pdf>

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) (2005). *Evaluation des ressources forestières*

- mondiales 2005 : Etude thématique sur les mangroves, Gabon profil national. <http://www.fao.org/forestry.pdf>.p.5
- Feamside P.M. (1997). Wood density for estimating forest biomass in Brazilian, Amazonia. *Forest Ecology and Management*, 90, 59–87. DOI: 10.1016/S0378-1127(96)03840-6
- Fleming A.L., Wang G., McRoberts R.E. (2015). Comparison of methods toward multi-scale forest carbon mapping and spatial uncertainty analysis: combining national forest inventory plot data and landsat TM images. *European journal of forest research*, 134(1), 125-137. DOI: 10.1007/s10342-014-0838-y
- Fromard F., Puig H., Mougin E., Marty G., Betoulle J.L., Cadamuro L. (1998). Structure above-ground biomass and dynamics of mangrove ecosystems: new data from French Guiana. *Oecologia*, 115, 39–53. DOI: 10.1007/s004420050489
- Giri C., Ochieng E., Tieszen L.L., Zhu Z., Singh A., Loveland T., Masek J. and Duke, N. (2010). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology Biogeography*, 20, 154-159. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00584.x>
- Huang L., Zhou M., Lv J., Chen K. (2020). Trends in global research in forest carbon sequestration: A bibliometric analysis. *Journal of Cleaner Production*, 252, 119908. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119908>
- Husch B., Beers T.W. and Kershaw J.A.J. (2003). *Forest mensuration*, 4th ed. John Wiley Publishers, 456 p.
- Jachowski N.R.A., Quak M.S.Y., Friess D.A., Duangnamon D., Webb E.L. and Ziegler A.D. (2013). Mangrove biomass estimation in Southwest Thailand using machine learning. *Applied Geography*, 45, Elsevier, 311-321. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeog.2013.09.024>
- Kauffman J.B. and Cole. T. (2010). Micronesian mangrove forest structure and tree response to a severe typhoon. *Wetlands*, 30, 1077-1084. <https://doi.org/10.1007/s13157-010-0114-y>
- Kauffman J.B. and Donato D.C. (2012). Protocols for the measurement, monitoring and reporting of structure, biomass and carbon stocks in mangrove forests. Working Paper 86 CIFOR, CIFOR Bogor Indonesia, 40p. <https://doi.org/10.17528/cifor/003749>
- Kauffman J.B. and Bhomia R.K. (2017). Ecosystem carbon stocks of mangroves across broad environmental gradients in West-Central Africa: Global and regional comparisons. *PLoS ONE*, 12(11), 17p. DOI: 10.1371/journal.pone.0187749
- Komiyama A., Pongpam S. and Kato S. (2005). Common allometric equations for estimating the tree weight of mangroves. *Journal of Tropical Ecology*, 21, 471-477. doi:10.1017/S0266467405002476
- Komiyama A., Ong J.E. and Pongpam S. (2008). Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany*, 89, 128-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2007.12.006>
- Kurz, W.A., Apps, M.J. (2006). Developing Canada's National Forest Carbon Monitoring, Accounting and Reporting System to Meet the Reporting Requirements of the Kyoto Protocol. *Mitigation Adaptation Strategies for Global Change*, 11, 33–43. <https://doi.org/10.1007/s11027-006-1006-6>
- Lebigre J.M. (1983). Les mangroves des rias du littoral gabonais. Essai de cartographie typologique. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*, 199, 3-28.
- Lebigre J.M. (1990). Les marais maritimes du Gabon et de Madagascar : contribution géographique à l'étude d'un milieu naturel tropicale, Thèse de doctorat d'État, Géographie tropicale, Université de Bordeaux III, 651p.
- Ma L., Hurtt G., Tang H., Lamb R., Campbell E., Dubayah R., Guy M., Huang W., Lister A., Lu J., O'neil-Dunne J., Rudee A., Shen Q., Silva C. (2021). High-resolution forest carbon modelling for climate mitigation planning over the RGGI region, USA. *Environmental Research Letters*, 16(4), 045014. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/abe4f4>
- Maloba Makaga J.D. (2010). Les précipitations au Gabon : climatologie analytique en Afrique, Paris, L'Harmattan, 143p.
- Maloba Makaga J.D. (2004). Climat. Atlas du Gabon, Les Editions Jeune Afrique, 1ère Ed., 12-13.
- Menié Ovono Z., Itongo M.T. et Moukana Lebongui J.A. (2017). Les villes littorales du Gabon. Les régions littorales du Gabon : Eléments de réflexion pour une planification stratégique du territoire, Coédition LETG-Nantes Géolittomer et Raponda Walker (Gabon), 289-313.
- Ndong Mba J.C., Beka Beka A. (2019). Urbanisation anarchique et glissement de terrain à Libreville : cas du quartier p.k. 6. *Annales de l'Université Omar Bongo*, 20, décembre, Presses Universitaires du Gabon, 51-66. <http://www.pug-uob.org/pdf/Annales/numeros/Annales20.pdf>
- Okanga-Guay M., Ondo Assoumou E., Mombo J. B., Rogombé L., Lembé Békale A. J., Ndonghan Iyangu N.N., Mouketou-Tarazewicz D., Akendengue Aken I., Mbadinga M., Nyinguema C. et Nkouanzie Mabika C.O. (2021). Étude de cas : Les mangroves de la rivière Lowé. LAGRAC/Université Omar Bongo, Direction Générale des Écosystèmes Aquatiques, Ministère des Eaux, des Forêts, de la Mer, de l'Environnement, Chargé du Plan Climat, et du Plan d'Affectation des Terres, Libreville, 74p.
- Okanga-Guay M., Ondo Assoumou E., Akendengue Aken I., Mpie Simba C., Mombo J.B., Obiang Ebanega M., Mbadinga M., Rogombé L. et Mouketou-Tarazewicz D. (2019). Suivi des changements spatiaux et environnementaux dans les mangroves de la province de l'Estuaire du Gabon. Actes de la Conférence : Des images satellites pour la gestion durable des territoires en Afrique, (Eds Mertens B. et Orekan V.), Cotonou, Bénin, 313-339. hal-02189534
- Ondo Assoumou E. (2006). Dynamique des paysages végétaux du littoral centre-ouest du Gabon autour de Port-Gentil: approche spatiale et analyse des données de terrain, Thèse de doctorat, Biogéographie, Université de Montpellier 3, France, 302p. <http://www.mgm.fr/UMR/Ondo/These.pdf>
- Ondo Assoumou E. (2017). Les paysages végétaux du littoral gabonais. Régions littorales du Gabon : Eléments de réflexion pour une planification stratégique du territoire, Coédition LETG-Nantes Géolittomer (Nantes) et Raponda Walker (Gabon), 47-57.
- Parresol B.R. (1999). Assessing Tree and stand biomass: a review with examples and critical comparisons. *Forest*

Science, 45(4), 573-593. <https://doi.org/10.1093/forestscience/45.4.573>

Picard N., Saint-André L. et Henry M. (2012). Manuel de construction d'équations allométriques pour l'estimation du volume et la biomasse des arbres : De la mesure de terrain à la prédiction, Food and Agricultural Organization (FAO) of the United Nations, 215p. 978-92-5-107347-6. fhal-02811488f

Puliti S., Hauglin M., Breidenbach J., Montesano P., Neigh C.S.R., Rahlf J., Solberg S., Klingenberg T.F., Astrup R. (2020). Modelling above-ground biomass stock over Norway using national forest inventory data with ArcticDEM and Sentinel-2 data. *Remote Sensing of Environment*, 236, 111501. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2019.111501>.

Rovai A.S., Riul P., Twilley R.R., Castañeda-Moya E., Rivera-Monroy V.H., Williams A.A., Simard M., Cifuentes-Jara M., Lewis R.R., Crooks S., Horta P.A., Schaeffer-Novelli Y., Cintrón G., Pozo-Cajas M. and Pagliosa P.R. (2015). Scaling mangrove aboveground biomass from site-level to continental-scale. *Global Ecology and Biogeography*, John Wiley & Sons Ltd, 44p. <https://doi.org/10.1111/geb.12409>

Rykiel E.J.J. (1996). Testing ecological models: the meaning of validation. *Ecological Modelling*, 90, 229–244. DOI: 10.1016/0304-3800(95)00152-2

Simard M., Fatoyinbo L., Smetanka C., Rivera-Monroy V.H., Castaneda E., Thomas N. and Van der Stocken T. (2019).

Global Mangrove Distribution, Aboveground Biomass, and Canopy Height (Gabon Dataset). ORNL DAAC, Oak Ridge, Tennessee, USA. <https://doi.org/10.3334/ORNLDAAAC/1665>

Tomlinson P.B. (1986). *The botany of mangroves*, Cambridge Tropical Biology Series, Cambridge, 419p.

UNEP (United Nations Environment Program) -WCMC (World Conservation Monitoring Centre) (2007). *The mangroves of West-Central Africa*, UNEPWCMC report, 92p. <https://archive.org/details/mangrovesofweste07corc>

UN-REDD (2016). *UN-REDD Programme Fact Sheet: About REDD+*, UN-REDD Programme, FAO, UNPD, UNEP, 4p.

UN-REDD (2021). *Systèmes nationaux de surveillance des forêts pour la REDD+ et niveaux d'émission de référence pour les forêts/niveaux de référence pour les forêts (FREL/FRL)*, en ligne, consulté le 21 juillet 2021, <https://www.unredd.net/knowledge/redd-plus-technical-issues/nfms-rel.html>

Wei, Y., Yu, D., Lewis, B.J., Zhou L., Zhou W., Fang X., Zhao W., Wu S., Dai L. (2014). Forest carbon storage and tree carbon pool dynamics under natural forest protection program in northeastern China. *Chinese Geographical Science*, 24, 397–405. <https://doi.org/10.1007/s11769-014-0703-4>

Zianis D. and Mencuccini M. (2004). On simplifying allometric analyses of forest biomass. *Forest Ecology and Management*, 187(2-3), 311–332. DOI : 10.1016/j.foreco.2003.07.007

Influence des facteurs climatiques sur les insectes pollinisateurs potentiels du *moringa oleifera* lam. Au Burkina Faso

BAZIE Babou Frédéric^{1,2*}, DAO Madjelia Cangré Ebou¹, DRABO Fogné Samuel², DA Nomwine¹, KABRE Salifou^{1,2}, GNANKINE Olivier^{2*}

Résumé

Les paramètres climatiques tels que la température, la pluviométrie, l'humidité relative et le vent sont essentiels dans la répartition et l'abondance des insectes visiteurs floraux. *Moringa oleifera* Lam. espèce ligneuse cultivée dans les différentes zones climatiques du Burkina Faso présente une floraison abondante avec de nombreuses et fréquentes visites d'insectes. Cette étude vise à montrer les effets des variations climatiques sur l'abondance et l'organisation des visites des insectes pollinisateurs en zones sahélienne, nord et sud soudanienne du Burkina Faso. Des collectes d'insectes ont été réalisées dans des plantations de Moringa en floraison en 2018 et 2019 à l'aide du filet fauchoir. Les Hyménoptères ont été le plus représentés avec 27 espèces, suivi des Diptera avec 14 espèces et des Lepidoptera avec 09 espèces. Les insectes pollinisateurs potentiels communs aux trois zones climatiques ont été répertoriés: *Alophora hemiptera*, *Anthophora* sp, *Apis mellifera*, *Bombus* sp, *Hypolimnas misippus*, *Sphcodes spinolosus* *Xylocopa* sp, *ylcopa violacea*. Les analyses Canoniques des Correspondances (ACC) réalisées sur les abondances des pollinisateurs et les variables climatiques ont montrées que les facteurs environnementaux présentant une corrélation significative avec l'abondance des pollinisateurs potentiels dans les zones climatiques sont la température maximale et la pluviométrie annuelle. Les trois plus abondants pollinisateurs potentiels ont été négativement corrélés dans le GLM, avec la température maximale (p-value <0,05). Le nombre d'insectes pollinisateurs diminue avec la température du milieu. Les principaux pollinisateurs potentiels se répartissent différemment dans les zones climatiques en réponse aux conditions environnementales.

Mots clés: *Moringa oleifera*, insectes pollinisateurs, température, humidité relative, facteurs climatiques, Burkina Faso.

Abstract

Title : Effects of climatic factors on potential insect pollinators of moringa oleifera lam. In Burkina Faso

climatic parameters such as temperature, rainfall, relative humidity and wind are essential in the distribution and abundance of floral insect visitors. *Moringa oleifera* Lam., a woody species cultivated in the different climatic zones of Burkina Faso, presents an abundant flowering with numerous and frequent insect visits. This study aims to show the effects of climatic variations on the abundance and organization of pollinating insect visits in the Sahelian, northern and southern Sudanian zones of Burkina Faso. Insect collections were conducted in flowering Moringa plantations in 2018 and 2019 using the swath net. Hymenoptera were the most represented with 27 species, followed by Diptera with 14 species and Lepidoptera with 09 species. The potential pollinating insects common to the three climatic zones were noticed: *Alophora hemiptera*, *Anthophora* sp, *Apis mellifera*, *Bombus* sp, *Hypolimnas misippus*, *Sphcodes spinolosus* *Xylocopa* sp, *ylcopa violacea*. Canonical Correspondence Analyses (CCA) performed on pollinator abundances and climatic variables showed that the environmental factors with significant correlation with the abundance of potential pollinators in the climatic zones were maximum temperature and annual rainfall. The three most abundant potential pollinators were negatively correlated in the GLM with maximum temperature (p-value <0.05). The number of insect pollinators decreased with environmental temperature. The main potential pollinators distributed differently in climatic zones in response to environmental conditions.

Key words: *Moringa oleifera*, insect pollinators, temperature, relative humidity, climatic factors, Burkina Faso.

(1): Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles Ouagadougou / Burkina Faso (INERA) 03 BP 7047 Ouagadougou 03
(2): UFR/SVT Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée,

Université Joseph Ky-ZERBO, 03 BP 7021 Ouagadougou 03

Auteur pour correspondances: Email: bazie524@yahoo.fr;
Tél: +22670604033

1. Introduction

Moringa oleifera Lam. est une plante originaire des vallées du sud de l'Himalaya en Inde (Foidl *et al.*, 2001). Il aurait été introduit au début du 20^{ème} siècle en Afrique par le biais du commerce et des échanges maritimes durant cette période. Les plus vieux spécimens africains proviennent du Sénégal et d'Égypte (NIGG, 1993). De nos jours le moringa est cultivé partout en Afrique mais sa propagation naturelle reste faible (Zhang *et al.*, 2018). Cette faible propagation pourrait s'expliquer selon (Goulson *et al.*, 2015), par le déclin des pollinisateurs, la dégradation des habitats, la perte d'habitats, ainsi que par le changement climatique entraînant des pertes de colonies d'abeilles mellifères et un déclin des pollinisateurs sauvages. Cependant, les parasites/maladies et les facteurs

environnementaux tels que la température, l'humidité affectent le rythme d'apparition des insectes pollinisateurs au cours de la floraison, pouvant réduire le succès de la pollinisation et donc le rendement de nombreuses espèces de plantes cultivées et sauvages (Taimanga *et al.*, 2018). Ainsi, différentes espèces de pollinisateurs réagissent de façon différente aux facteurs climatiques, et les résultats de ces changements influencent, à des degrés variables, leur diversité et l'abondance de leurs populations Chagnon, (2008). Aussi, l'absence de pollinisation, la limitation de photoassimilat et les conditions météorologiques défavorables sont-elles susceptibles d'influencer les fruits en développement (Nyoka *et al.*, 2015).

Cependant, les travaux de Shiwani *et al.*, (2018) menés en Inde ont permis d'identifier les Hyménoptères tels que les abeilles

domestiques (*Apis* sp), les abeilles sauvages et les guêpes comme les pollinisateurs visitant le plus les fleurs de *Moringa oleifera*. La plupart des pollinisateurs se nourrissent de substances végétales (pollen, nectar, pièces florales) et sont considérés de ce fait comme des suceurs. Ainsi les insectes pollinisateurs à la recherche de leur nourriture participent au transport du grain de pollen sur le stigmate du pistil. Cette relation s'inscrit dans un contexte de mutualisme entre les pollinisateurs et leur hôte (Tankoano, 2008). Elle ne peut être durable que s'il y a un gain réciproque (Dao, 2002). Selon Zhang et al., (2018), la production de fruits de moringa a tendance à être faible par rapport à sa forte production florale ; les raisons de cette faible fructification ne sont pas clairement établies. Certains auteurs ont avancé les hypothèses selon lesquelles d'une part, les changements climatiques modifieraient ou dérègleraient les relations entre les plantes et leurs pollinisateurs, autant à l'échelle locale que régionale (Chagnon, 2008). D'autre part l'absence des insectes pollinisateurs ou du nombre insuffisant de ceux-ci au cours de la floraison, réduirait fortement ou rendrait nul les rendements fruitiers (Taimanga et al., 2018; Tchuenguem, 2005; Vaughton et al., 2010). Au Burkina Faso, la connaissance des relations entre les espèces végétales et leurs insectes floricoles est en forte progression grâce aux recherches menées par certains chercheurs (Diallo, 2001; Dao, 2002; Tankoano, 2008). *Moringa oleifera* Lam. fait partie des espèces forestières de plus en plus exploitées au Burkina Faso et constitue un potentiel important en termes de revenus générés aussi bien pour les populations que pour l'Etat (PNDES, 2016). Elle est en cours de vulgarisation partout au Burkina Faso par les institutions de recherche et les partenaires au développement (Bationo, 2007). De par la commercialisation de ses feuilles et fruits pour des usages dans l'alimentation, la médecine traditionnelle dans la cosmétique, elle constitue d'importante source de devises pour les populations et contribue à la lutte contre la pauvreté et la malnutrition.

Malgré l'importance de l'espèce et les travaux menés, les interactions entre plusieurs plantes cultivées dans diverses régions et les insectes floricoles sont méconnues. Krieg et al. (2017) ont identifié *Apis mellifera adansonii* et les fourmis comme étant des pollinisateurs de moringa dans la partie sud soudanienne du Burkina Faso. La présente étude vise à déterminer les facteurs climatiques influençant l'abondance et l'organisation des visites des insectes pollinisateurs de moringa dans les trois zones climatiques du Burkina Faso.

2. Matériel et Méthode

2.1. Site d'étude

L'étude a été menée dans trois zones climatiques du Burkina Faso à savoir les zones sahéliennes, nord soudanienne et sud soudanienne (Figure 1). Dans chaque zone climatique, deux sites ont été retenus. En zone nord soudanienne, l'étude a été menée dans la station d'expérimentation de l'INERA à Ouagadougou et dans le village de Komsilga une commune rurale de la province du Kadiogo. En zone sud soudanienne, les sites d'étude sont localisés dans les villages riverains de Bobo Dioulasso, Kouakoualé et Toukoro. En zone sahélienne, les sites d'étude sont localisés à Poukma et Goinré tous situés dans la commune de Ouahigouya.

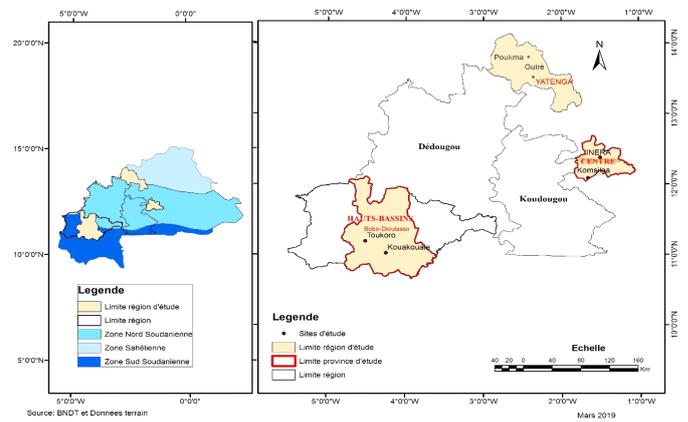


Figure 1 : Localisation des sites d'études dans les trois zones climatiques du Burkina Faso

2.2. Matériel végétal

Les observations ont été réalisées dans des plantations de moringa âgés de 02 à 06 ans selon les sites d'étude. Tous les pieds de moringa sont entrés en floraison dès la deuxième année de production. La culture biologique est celle pratiquée. L'objectif visé à travers la production de moringa dans les différents sites est essentiellement la production de fruits. Les champs de moringa étaient mono-spécifiques dans les plantations de la station expérimentale de l'INERA/DEF par contre à Komsilga, à Bobo Dioulasso et à Ouahigouya le moringa était cultivé en association avec des cultures maraîchères (aubergines, choux, oignon, laitue...).

2.3. Méthodologie

2.3.1. Collecte et détermination des insectes pollinisateurs

L'étude a été réalisée pendant la période de floraison de moringa qui a lieu de juillet à septembre selon Arbonnier, (2002) en zone soudano sahélienne. Au total cinq arbres en floraison ont été échantillonnés au hasard puis étiquetés sur chacun des sites pour un suivi en 2018 et en 2019. Chaque mois de juillet à septembre, nous avons collecté durant 10 jours consécutifs sur tous les arbres échantillonnés tous les insectes visitant les fleurs. La collecte des insectes a lieu à l'aide du filet fauchoir de 06 h à 18 h pendant au moins 05 mn / heure / arbre (Diallo, 2001; Aouar-Sadli, 2008; Kenza et al., 2019). Ce qui nous a permis de collecter durant toute la période de floraison de moringa 150 heures/site en 2018 et en 2019. Les espèces ont été collectées et conservées dans de l'éthanol à 70 %, puis envoyées au laboratoire pour l'identification (Chinery, 1986). En plus des observations sur le terrain, deux approches complémentaires ont été utilisées : l'observation de la morphologie à la loupe binoculaire pour voir la présence ou l'absence de poils sur l'abdomen pouvant transporter le pollen, la présence du panier à pollen sur les pattes postérieures et l'étude bibliographique des régimes alimentaires des insectes. Seules les espèces respectant ces critères sont retenues comme pollinisateurs potentiels. Cette méthode s'inspire de celle menée par Dao, (2002) et Tankoano, (2008).

2.3.2. Corrélations entre les données climatiques et l'abondance relative des pollinisateurs potentiels

L'abondance relative des insectes pollinisateurs au cours de la journée est autant liée à leurs régimes alimentaires qu'aux facteurs environnementaux. Pour établir une corrélation

entre l'abondance relative des pollinisateurs potentiels et les facteurs climatiques, nous nous sommes inspirés de la méthode décrite par Abrol, (2012), Espindola *et al.*, (2011); Kumar, (2012) pour tester les influences des facteurs climatiques sur la composition des pollinisateurs potentiels trouvés dans les zones climatiques.

Les variables climatiques ont été extraites pour chaque zone climatique à partir des données brutes fournies par la Direction Générale de la Météorologie (DGM) couvrant les périodes de collectes de janvier 2018 à décembre 2019. Les données fournies sont la température minimale et maximale, l'humidité minimale et maximale, la vitesse journalière du vent et les précipitations mensuelles.

2.4. Analyse de données

L'abondance des pollinisateurs potentiels

L'abondance désigne le nombre d'individus capturés pour une espèce d'insecte donnée. Son évaluation s'est faite sur la base des effectifs de chaque espèce collectée. Les abondances relatives des insectes visiteurs collectés dans les 03 zones climatiques au cours des saisons de collectes en 2018 puis en 2019 ont été calculées selon la formule suivante :

$$ABr = \frac{NiE}{NiT} * 100$$

ou ABr est l'abondance relative, NiE est le nombre d'individu de l'espèce E et NiT est le nombre total d'individus collectés.

Les nombre moyens des insectes pollinisateurs potentiels selon les zones climatiques et aussi le matin, à midi et le soir ont été comparés à l'aide du test de Kruskal Wallis grâce au logiciel I XLSTAT 2016.02. La signification statistique a été fixée à 0,05.

Corrélations entre l'abondance des insectes pollinisateurs, et les variables climatiques

L'Analyse Canonique des Correspondances (ACC) des abondances des pollinisateurs et les variables climatiques a été réalisée avec le logiciel R 3.2.5 grâce au package " anacor" de R (<http://www.jstatsoft.org/v31/i05/>) puis le package " Vegan" (<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>) du logiciel R. Un modèle linéaire général (GLM) avec une distribution de poisson tenant compte des variables climatiques recueillies et l'abondance des trois pollinisateurs potentiels les plus couramment rencontrés a été effectué. Enfin, la signification des paramètres estimés a été testée par une statistique de Wald-z.

3. Résultats

3.1. Abondance relative des pollinisateurs potentiels

Les insectes pollinisateurs de *M. oleifera*, identifiés au cours de l'étude appartenaient à 3 ordres. Il s'agit de l'ordre des Hymenoptera, Diptera et des Lepidoptera. L'ordre des Hymenoptera était le plus représenté avec 27 espèces, suivi de l'ordre des Diptera avec 14 espèces et celui des Lepidoptera avec 07 espèces. Les collectes nous ont permis de recenser 50 espèces d'insectes pollinisateurs potentiels dans les trois zones climatiques du Burkina Faso entre 2018 et 2019 (Tableau 1). Les principaux insectes pollinisateurs potentiels déterminés sont *Apis mellifera* (18,52%), *Bombus* sp (12,55%), *Xylocopa* sp (5,02%) *Anthophora* sp (4,28 %). Les insectes pollinisateurs

les moins collectés sont *Vespa* sp (0,03%), *Stomoxys calcitrans* (0,07%). Les collectes en zone sud soudanienne ont permis d'enregistrer 19 espèces d'insectes pollinisateurs comprenant 6934 individus, en zone nord soudanienne ce sont au total 30 espèces avec 6814 individus tandis que 28 espèces comprenant 5767 individus en zone sahélienne. Parmi les espèces d'insectes collectées, 5 espèces ont été communes aux zones sahélienne et nord soudanienne. Une espèce a été commune aux zones nord soudanienne et sud soudanienne. Quant aux zones sahélienne et sud soudanienne, elles présentent en commun 07 espèces d'insectes. Les insectes pollinisateurs potentiels communs aux trois zones climatiques ont été *Alophora hemiptera*, *Anthophora* sp, *Apis mellifera*, *Bombus* sp, *Hypolimnas misippus*, *Sphecodes spinolosus* *Xylocopa* sp et *Xylocopa violacea*. Les espèces spécifiques à la zone nord soudanienne étaient *Lucilia caesar*, *Dasypholia cyanella*, et *Arctia caja*. En zone Sahélienne, *Eristalis tenax*, *Chelostoma florissomne*, *Calliopum aeneum*, et *Bombus agrillaceus* ont été des insectes pollinisateurs spécifiquement rencontrés. Quant à la zone sud soudanienne les pollinisateurs potentiels spécifiquement rencontrés ont été *Ammophila sabulasa*, *Pemphredon lugubris* et *Sceliphron destillatorium*. Le test de Kruskal-Wallis au seuil de 5% (p-value = 0,004) montre qu'il existe une distribution différentielle entre l'abondance relatives des insectes pollinisateurs potentiels de *moringa* dans les trois zones climatiques.

Tableau 1: Distribution spécifique des insectes pollinisateurs potentiels de *M. oleifera* dans les trois zones climatiques

Nom Scientifique	Nord	Sahélienne	Sud	Nt	A B r (%)
	soudanienne		soudanienne		
<i>Agriotypus armatus</i>	-	202	126	328	1,68
<i>Alophora hemiptera</i>	178	214	258	650	3,33
<i>Amegilla cingulata</i>	689	-	-	689	3,53
<i>Ammophila sabulasa</i>	-	-	90	90	0,46
<i>Anoplius marginatus</i>	-	154	138	292	1,50
<i>Anthophora hispanica</i>	-	84	-	84	0,43
<i>Anthophora pilipes</i>	259	-	83	342	1,75
<i>Anthophora</i> sp	447	72	316	835	4,28
<i>Apanteles</i> sp	50	-	-	50	0,26
<i>Apis mellifera</i>	181	1424	2010	3615	18,52
<i>Arctia caja</i>	53	-	-	53	0,27
<i>Bombus agrillaceus</i>	-	48	-	48	0,25
<i>Bombus</i> sp	769	610	1071	2450	12,55
<i>Calliopum aeneum</i>	-	96	-	96	0,49
<i>Chelostoma florissomne</i>	-	80	-	80	0,41
<i>Coelopa frigida</i>	107	102	-	209	1,07
<i>Colletes succinta</i>	-	172	81	253	1,30
<i>Danaus chrysippus</i>	-	236	719	955	4,89
<i>Dasyphora cyanella</i>	206	-	-	206	1,06
<i>Eristalis tenax</i>	-	72	-	72	0,37
<i>Eucera longicornis</i>	-	202	90	292	1,50
<i>Gasterophilus intestinalis</i>	-	120	-	120	0,61
<i>Gymnochaeta viridis</i>	142	-	-	142	0,73
<i>Hypolimnas misippus</i>	293	168	184	645	3,31
<i>Leucania impura</i>	-	48	-	48	0,25
<i>Lucilia caesar</i>	381	-	-	381	1,95
<i>Megachile xanthoptera</i>	49	-	-	49	0,25
<i>Musca domestica</i>	34	-	-	34	0,17
<i>Nepheronia argia</i>	336	-	-	336	1,72
<i>Nola confusalis</i>	51	-	-	51	0,26
<i>Pemphredon lugubris</i>	-	-	103	103	0,53
<i>Pieris rapae</i>	339	-	-	339	1,74
<i>Platystoma seminationis</i>	-	128	-	128	0,66
<i>Polistes fuscatus</i>	48	-	-	48	0,25
<i>Polistes grallicus</i>	151	56	-	207	1,06
<i>Pollenia rudis</i>	75	64	-	139	0,71
<i>Polyommatus icarus</i>	118	-	-	118	0,60
<i>Sceliphron destillatorium</i>	-	-	65	65	0,33
<i>Sphecodes spinolosus</i>	346	200	99	645	3,31
<i>Stelis pintulatisima</i>	-	114	-	114	0,58
<i>Stomoxys calcitrans</i>	-	13	-	13	0,07
<i>Syrphus ribesii</i>	53	-	-	53	0,27
<i>Vespa</i> sp	6	-	-	6	0,03

<i>Vespila vulgaris</i>	-	318	437	755	3.87
<i>Volucella zonaria</i>	37	-	-	37	0.19
<i>Xylocopa albifimbria</i>	185	-	-	185	0.95
<i>Xylocopa pubescens</i>	710	-	-	710	3.64
<i>Xylocopa sp</i>	370	260	350	980	5.02
<i>Xylocopa violacea</i>	151	238	327	716	3.67
<i>Yponomeuta padella</i>	-	272	387	659	3.38
Total	6814	5767	6934	19515	100

Nt= nombre total de chaque espèce collecté, ABr= Abondance relative, - = espèces absente

3.2. Organisation journalières des visites des insectes pollinisateurs potentiels dans les zones climatiques

Les insectes pollinisateurs, dans l'ensemble, sont actifs de 06 h à 18 h. Les pollinisateurs potentiels ont été classés en 03 groupes basés sur les périodes de visite dans la journée ; (i) le premier groupe formé d'insectes matinaux (06 - 09 h) (ii) deuxième groupe formé d'insectes des heures chaudes (09 - 14h) (iii) le troisième groupe composé d'insectes du soir (14-18 h).

La figure 2 montre que les périodes d'activité des insectes pollinisateurs varient au cours de la journée et d'une espèce à l'autre. Les résultats obtenus indiquent que certaines espèces sont présentes sur le moringa durant toute la journée, c'est le cas de *Anthophora sp*. Cependant, *Apis mellifera* est présente tôt le matin et *Xylocopa sp* pendant les heures chaudes de la journée. Le pourcentage moyen de présence des principaux pollinisateurs potentiels est relativement élevé le matin et le soir mais faible à midi. Ces espèces visitent essentiellement la fleur le matin ou le soir.

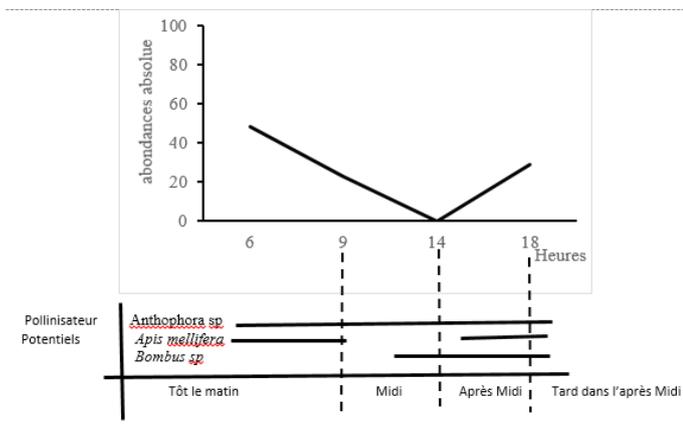


Figure 2: Organisation des principaux pollinisateurs potentiels de moringa au cours de la journée

Le test de Kruskal- Wallis montre qu'il existe une différence significative entre les nombres moyens d'insectes pollinisateurs potentiels collectés le matin, à midi et le soir (p = 0,02) au seuil de 5%. Le test de séparation des moyennes de Dunn au seuil de 5% appliqué à l'organisation journalière des pourcentages moyens de présences des pollinisateurs potentiels de moringa montre que le pourcentage moyen de présence des pollinisateurs est plus important le matin . Ce nombre est relativement moyen le soir. Par contre à midi le pourcentage de présence d'insectes est faible (Tableau 2).

Tableau 2: Pourcentages moyens des insectes pollinisateurs potentiels au cours des moments de la journée dans les trois zones climatiques (test de Kruskal- Wallis au seuil de 5%)

Variables	Moyenne	écartype	P- value
Tôt le Matin	509 ^a	0,843	0,02
Midi	220 ^b	0,432	
Après Midi	123 ^c	0,223	
Tard après Midi	212 ^b	0,356	

3.3. Corrélations entre l'abondance des pollinisateurs et les variables climatiques

Les analyses canoniques des correspondances (ACC) effectuées avec les abondances relatives des pollinisateurs potentiels et les variables climatiques par zone climatique ont permis une répartition des pollinisateurs potentiels en groupes constitués d'individus similaires suivant leur tolérance aux variables climatiques. Les deux premiers axes notés F1 et F2 contribuent à expliquer la corrélation à hauteur 96,4% de l'inertie totale qui existe entre des insectes polinisateurs et les paramètres environnementaux dans les trois zones climatiques (figure 3). L'axe F1 présente une corrélation positive avec la température maximale, l'humidité moyenne et la vitesse moyenne du vent constitué d'individus appartenant à la zone nord et sud soudanienne. L'axe F2 est corrélée avec l'humidité relative de l'air et la vitesse moyenne du vent et est définie par les individus rencontrés dans la zone sahélienne.

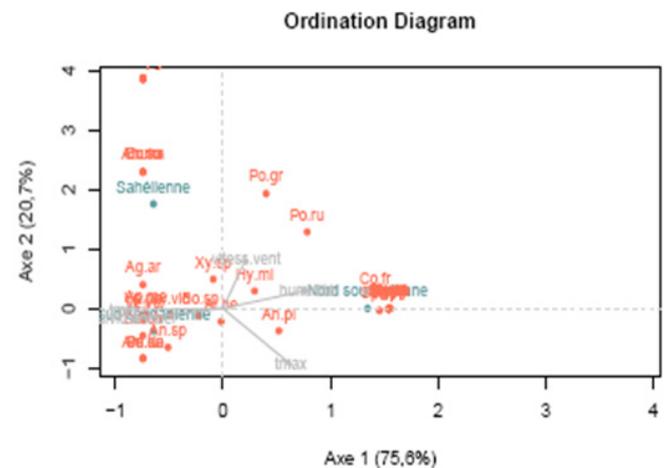


Figure 3: Analyse canonique de la correspondance du nombre et de la composition de pollinisateurs potentiels trouvés dans les zones climatiques et les conditions climatiques qui ont sévi, package "anacor" de R. Les variables sont indiquées sur chaque flèche; la direction des flèches indique le sens des corrélations. Le pourcentage de variance expliqué est indiqué sur les axes.

L'analyse canonique des correspondances avec le package " Vegan" de R montre que les facteurs environnementaux présentant une corrélation significative avec l'abondance des pollinisateurs potentiels dans les zones climatiques sont la température maximale et la pluviométrie annuelle. L'axe 1 est défini par la pluviométrie annuelle tandis que l'axe 2 est défini par la température maximale (Figure 4) dans l'ACC. L'abondance relative des pollinisateurs en zone nord soudanienne sont dans un premier temps corrélés

négativement et dans un second temps positivement avec la pluviométrie annuelle et la température maximale. En zone sahélienne les pollinisateurs potentiels présentent une forte corrélation positive avec la pluviométrie annuelle et sont négativement corrélés avec la température maximale. Cependant les pollinisateurs en zone sud soudanienne semblent avoir une faible corrélation positive avec la température et la pluviométrie.

4. Discussion

Les insectes pollinisateurs potentiels au Burkina Faso de *M. oleifera* appartiennent à 3 ordres que sont les Hymenoptera, les Diptères et les Lepidoptera. Par contre Shiwani et al., (2018) ont indiqué que les pollinisateurs de *M. oleifera* en Inde sont les Lepidoptera et les Hymenoptera. Krieg et al., (2017) avaient identifiés les Diptera et les Hymenoptera comme étant d'excellents transporteurs de pollen. Selon Iserbyt (2009), les Hemiptera et les Coleoptera ont un rôle négligeable dans le transport du pollen tandis que les Diptères et les Hymenoptera sont d'excellents transporteurs de pollen. Au total 50 espèces d'insectes pollinisateurs potentiels ont été recensées sur le moringa entre 2018 et 2019. Les principaux insectes pollinisateurs potentiels déterminés sont *Apis mellifera* (18,52%), *Bombus* sp (12,55%), *Xylocopa* sp (5,02%) *Anthophora* sp (4,28 %). La présence des insectes pollinisateurs sur le moringa est liée à la recherche de la nourriture. Leurs corps et leurs pattes étant recouverts de poils les rendent plus aptes au transport du pollen. Les pollinisateurs comme *Xylocopa* sp, *Bombus* sp, *Apis mellifera* et *Anthophora* sp sont des nectarivores. Les fleurs de moringa sont odorantes et mellifères, cette caractéristique des fleurs de moringa attire sans doute les insectes et surtout les abeilles (Muhl et al., 2013). Ces résultats sont en conformité avec ceux de Krieg et al., (2017) qui ont montrés que *Apis mellifera adansonii* et les fourmis étaient des pollinisateurs courants au cours des deux saisons en zone sud soudanienne du Burkina. Les pollinisateurs les moins collectés sont des guêpes *Vespa* sp (0,03%), et des Muscidae comprenant principalement *Stomoxys calcitrans* (0,07%). Les pollinisateurs tel que *Stomoxys calcitrans* sont des phytophages. Dao et al., (2017) ont montrés que *Stomoxys calcitrans* était la principale espèce infestant les fruits de cultivars de *Ziziphys mauritiana* introduit au Burkina Faso. Tankoano (2008) a rapporté que les auxiliaires de la famille des Vespidae sont des prédateurs associés au jujubier et que des pollinisateurs comme *Vespa* sp sont d'une moindre mesure des prédateurs. Ouédraogo (2007) pense que la faible mobilité des Diptères entre les arbres les transforme en mauvais pollinisateurs pour les plantes allogames fortement auto-incompatibles. Dans beaucoup de cas on pourrait classer ces insectes comme étant des pollinisateurs facultatifs lorsque les pollinisateurs traditionnels à savoir les Lepidoptera et les Hymenoptera sont moins abondants dans le milieu. Les collectes en zone Sud soudanienne ont permis d'enregistrer 19 espèces d'insectes pollinisateurs comprenant 6934 individus, 30 espèces d'insectes pollinisateurs avec 6814 individus en zone nord soudanienne et 28 espèces d'insectes pollinisateurs comprenant 5767 individus en zone sahélienne. Ces résultats montrent que l'altération de l'habitat, affectent les insectes pollinisateurs. La disponibilité de la récompense pour les insectes pollinisateurs potentiels pourrait varier selon la zone climatique. Des études récentes montrent que certains pollinisateurs suivent le changement climatique en se déplaçant latitudinalement et en altitude, alors que d'autres ne le font pas (Rafferty., 2007). La répartition des espèces d'insectes collectés nous a permis de constater que huit espèces d'insectes sont communes aux trois zones

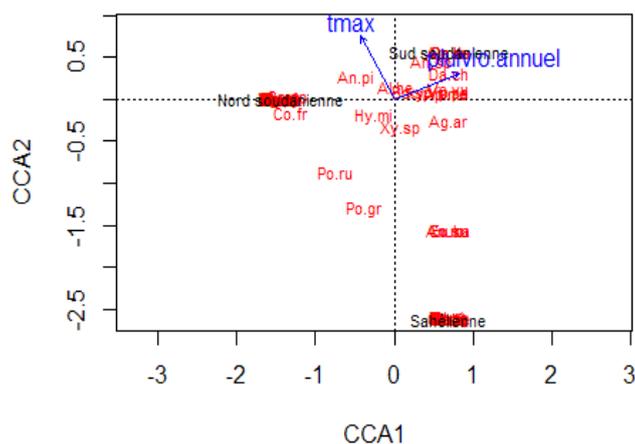


Figure 4: Analyse canonique de la correspondance du nombre et la composition de pollinisateurs potentiels trouvés dans les zones climatiques et les conditions climatiques.

Les variables sont indiquées sur chaque flèche; la direction des flèches indique le sens des corrélations. Le pourcentage de variance expliqué est indiqué sur les axes

L'abondance des pollinisateurs potentiels les plus couramment rencontré est en corrélation avec les variables climatiques (Tableau 3). Les espèces *Apis mellifera* et *Anthophora* sp *Bombus* sp ont été négativement corrélées dans le GLM, avec la température maximale indiquant qu'il existe une forte différence dans les répartitions des principaux pollinisateurs potentiels dans les zones climatiques en réponse aux conditions environnementales (p-value <0,05). Les résultats du GLM, montrent que l'abondance des principaux pollinisateurs potentiels est positivement corrélée avec la pluviométrie dans les trois zones climatiques. Plus la température du milieu augmente plus le nombre d'insectes pollinisateurs diminue.

Tableau 3: Estimations, valeurs z et valeurs p associées du GLM ajusté à la proportion de *Apis mellifera*, *Anthophora* sp, *Bombus* sp. *: p 0,05.

Estimate	Std.	Error	Z	value Pr(> z)
(Intercept)	31.192729	0.770160	40.502	< 2e-16 ***
p l u v i o . a n n u e l	0.032578	0.005095	6.394	1.61e-10 ***
t.max	-0.839838	0.025069	-33.501	< 2e-16 ***
t.min	NA	NA	NA	NA
humidité	NA	NA	NA	NA
vitess.ven	NA	NA	NA	NA
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1				

tmax=température maximale, tmin=température minimale

climatiques du Burkina Faso. Les pollinisateurs potentiels communs aux trois zones climatiques sont : *Alophora hemiptera*, *Anthophora sp*, *Apis mellifera*, *Bombus sp*, *Hypolimnas misippus*, *Sphecodes spinolosus* *Xylocopa sp*, *xylocopa violacea*. Ces insectes pollinisateurs pourraient dans une moindre mesure être considérés étant les pollinisateurs pérennes et de moringa et dont la plus part sont Hymenoptera. L'abondance des abeilles sur le moringa dans les trois zones climatiques est en partie liée au fait que ce groupe d'insectes est le plus important et le plus spécialisé parmi les insectes pollinisateurs. Des travaux menés par Gonzalez et al., (2009) ont montrés que des groupes d'insectes tels que les Diptera sont abondamment observés dans des sites particulièrement plus froides et plus humides au Antilles et ce qui n'est pas nécessairement due à une préférence sélective des mouches mais au fait qu'elles sont moins affectées par rapport aux autres groupes. Par contre nos résultats corroborent ceux de Marniche et al., (2007) qui ont montrés que les abeilles domestiques, en particulier, sont pratiquement omniprésentes, tout en ne représentant qu'un peu plus du tiers des proies dans le parc National de l'Ichkeul en Tunisie.

Les pollinisateurs potentiels du moringa principalement rencontrés le long du gradient climatique sont insectes de la famille des Apidae. *A. mellifera* est fortement présente les matins et/ou les soirs qui sont des périodes de forte production de nectar par les fleurs de *Moringa oleifera*. L'incidence des pollinisateurs semble se situé au moment de la journée où la température de l'air augmente (Mena-Montoya et al., 2020). Des résultats similaires ont été obtenus sur le tamarinier par Diallo et al., (2014) qui ont indiqués que *A. mellifera* est connu comme un pollinisateur à distance et avec forte probabilité d'être attiré par le dépôt de miellat. Les pollinisateurs comme *Bombus sp* sont beaucoup présents aux heures chaudes où la production du nectar est faible ou presque nul. *A. mellifera* est également la seule espèce qui visite les fleurs tout au long de la journée. Le comportement de ces pollinisateurs potentiels de moringa semble comparable aux résultats obtenus par Diallo et al., (2014) sur le *Tamarindus indica*. Des travaux sur d'autres espèces (Dao et al., 2017) sur le *Ziziphus mauritiana*; (Mounioko et al., 2017) le long de la côte atlantique au Cameroun ont montrés que l'activité quotidienne des insectes est un paramètre essentiel pour déterminer les moments de la journée où s'effectue le contact entre l'hôte et l'insecte.

L'activité liée à la recherche de nourriture des insectes pollinisateurs potentiels a montré une corrélation négative avec les facteurs climatiques : la température maximale et la pluviométrie annuelle. Les caractéristiques météorologiques semblent jouées un rôle important dans la fluctuation du taux de présences des insectes pollinisateurs (Kumar et al., 2012). Les pollinisateurs en zone nord soudanienne sont corrélés négativement avec la pluviométrie annuelle et positivement avec la température maximale. En zone sahélienne les pollinisateurs potentiels présentent une forte corrélation positive avec la pluviométrie annuelle et sont négativement corrélés très significativement avec la température maximale. Cependant les pollinisateurs en zone sud soudanienne semblent avoir une faible corrélation positive avec la température et la pluviométrie. Cela montre que les insectes pollinisateurs pourraient être sensibles de la température du milieu. Des résultats comparables obtenus par Abrol, (2012), Kumar et

al., (2012) ont rapporté que l'activité de recherche de nourriture de *Megachile lanata* sur des fleurs de *Crotalaria juncea* L. était positivement corrélée avec la température de l'air, l'intensité lumineuse, le rayonnement solaire et le sucre de nectar mais était négativement corrélée avec l'humidité relative, la température du sol. Les résultats du GLM, montrent que l'abondance de *Apis mellifera* et de *Anthophora sp* a été négativement corrélée, avec la température maximale indiquant qu'il existe une forte différence dans la répartition des principaux pollinisateurs potentiels dans les zones climatiques en réponse aux conditions environnementales (p -value $< 0,05$). Ils montrent que l'abondance de ces deux pollinisateurs potentiels est positivement corrélée à la pluviométrie annuelle dans les trois zones climatiques. Il en résulterait qu'à l'augmentation de la température s'ensuit une diminution du nombre d'insectes pollinisateurs. Les précipitations et la température affectent de manière significative la composition et l'importance des pollinisateurs mais de manière différente selon les habitats considérés (Gonzalez et al., 2009). Cependant la corrélation devient plus significative (p -value $< 0,05$) dans la zone sahélienne avec un nombre beaucoup plus réduit de pollinisateurs potentiels. Cette tendance a été également constatée par Espindola et al., (2011), qui ont montrés que les précipitations annuelles et les températures au cours des saisons les plus chauds étaient fortement corrélées (respectivement, positivement et négativement) avec les proportions relatives de *P. griseus* et *P. phalaenoides*. Il ressort que les facteurs tels que la température et l'humidité relative de l'air modifieraient la composition des groupes de pollinisateurs et auraient donc une influence sur la dynamique de l'interaction entre *M. oleifera* et ses principaux insectes pollinisateurs.

5. Conclusion

Trois ordres d'insectes pollinisateurs potentiels ont été identifiés sur le *M. oleifera* dans les trois zones climatiques au Burkina Faso. Les principaux insectes pollinisateurs potentiels déterminés sont *Apis mellifera* (18,52%), *Bombus sp* (12,55%), *Xylocopa sp* (5,02%) *Anthophora sp* (4,28 %). Les pollinisateurs potentiels communs aux trois zones climatiques sont: *Alophora hemiptera*, *Anthophora sp*, *Apis mellifera*, *Bombus sp*, *Hypolimnas misippus*, *Sphecodes spinolosus* *Xylocopa sp*, *xylocopa violacea*. L'abondance relative de *Apis mellifera* et de *Anthophora sp* a été négativement corrélée, avec la température maximale et positivement avec la pluviométrie annuelle. Les caractéristiques météorologiques semblent jouées un rôle important dans la composition et l'importance des insectes pollinisateurs. A travers l'étude des pollinisateurs du *M. oleifera*, il s'avère nécessaire de prendre en compte le facteur « insectes pollinisateurs » dans les programmes d'amélioration de rendements de la culture, afin d'obtenir des rendements en fruit plus élevés par unité de surface cultivée.

6. Remerciements

Nos remerciements s'adressent aux techniciens qui nous ont aidés dans la collecte des insectes sur le terrain. Nous remercions également les propriétaires des champs de moringa dans les sites d'étude pour leur disponibilité à coopérer dans le cadre de cette étude.

7. Références bibliographiques:

- Abrol D.P. (2012). Pollination biology: biodiversity conservation and agricultural production. New York: Springer, 792 p
- Arbonnier, M. (2002). Arbres, Arbustes et Lianes des

- zones sèches d'Afrique de l'Ouest. CIRAD, Centre de Coopération Internationale en Recherche agronomique pour le Développement. 280 p
- Aouar-Sadli, M. (2008). Systématique, éco-éthologie des abeilles (Hymenoptera: Apoidea) et leurs relations avec la culture de fève (*Vicia fabal.*) sur champ dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat en Entomologie, Univ Mouloud Mammeri de Tizi – Ouzou. 268 p
- Bationo B.A. (2007). La culture de *Moringa oleifera* au Burkina Faso, Améliorer la nutrition des tout-petits et des plus grands. *Sahel Agroforesterie* No 10, 2 p.
- Chagnon, M. (2008). Causes et effets du déclin mondial des pollinisateurs et les moyens d'y remédier. Fédération Canadienne de la Faune. Bureau régional du Québec. 70P
- Chinery, M. (1986). Le multiguide nature des insectes d'Europe en couleurs. Edit. Bordas Paris. 380
- Dao M.C.E., Traore M., et Bazié B.F. (2017). Parasitisme des fruits des variétés introduites de *Ziziphus mauritiana* par les Muscidae en zone nord soudanienne du Burkina Faso. *Agronomie Africaine* 28 (3) : 20 - 29 (2016).
- Dao M.C.E. (2002). Biologie de la reproduction sexuée de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). DEA, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 58p.
- Diallo D., Sall A.A., Diagne C.T., Faye O., BaY., Hanley K.A., Buenemann M., Weaver S. C., and Diallo M. (2014). Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS ONE* 9: e109442
- Diallo B. O. (2001). Biologie de la reproduction et évaluation de la diversité génétique chez une légumineuse: *Tamarindus indica* L. (Caesalpinioideae). Thèse Univ. Montpellier II. Science et Technique du Languedoc. 119p.
- Espindola A., Pellissier L., et Alvarez N. (2011). Variation de la proportion de visiteurs de fleurs d'*Arum maculatum* le long de son aire de répartition en relation avec des analyses de niches climatiques basées sur les communautés. *Oikos* 120: 728–734, 2011. doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.18937.x
- Foidl N., Makkar H. P. S. et Becker K. (2001). Potentiel de *Moringa oleifera* en agriculture et dans l'industrie, un potentiel de développement des produits du moringa, Dar Es Salaam, T Tanzanie, 20 p.
- González A.M.M., Dalsgaard B., Ollerton J., Timmermann A., Olesen J.M., Andersen L. and Tossas A.G. (2009). Effects of climate on pollination networks in the West Indies. *Journal of Tropical Ecology*, 493-506.
- Goulson D., Nicholls E., Botías C., Rotheray L.E. (2015). Les abeilles déclinent en raison du stress combiné des parasites, des pesticides et du manque de fleurs. *American Association for the Advancement of Science*. 2015 May 29;348(6238):981-2. doi: 10.1126/science.348.6238.981-b.
- Iserbyt S. (2009). Ecologie des bourdons montagnards (Hymenoptera, Apidae) : topographie, biotopes, climat. Thèse de Doctorat. Université de Mons. 120p
- Kenza T. et Imen B. (2019). Biodiversité des insectes pollinisateurs de la fève (*Vicia faba* L) (Fabaceae) et le pommier (*Malus communis* L) (Rosaceae) dans la région de Constantine. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantin, Algérie. 59P
- Krieg J., Goetze D., Porembski S., Arnold P., Linsenmair K.E., and Stein K. (2017). Floral and reproductive biology of *Moringa oleifera* (Moringaceae) in Burkina Faso, West Africa. *Acta Hort.* 1158. ISHS 2017. DOI 10.1.
- Kumar P., Baskaran S., Sundaravadivelan C., Anburaj J. and Kuberan T. (2012). Insect visitors of pumpkin, *Cucurbita maxima* Duch., in relation to temperature and relative humidity. *Journal of Agricultural Technology* 2012 Vol. 8(2): 501-513
- Marniche F., Voisin J.F., Doumand S. et Baziz B. (2007). Régime alimentaire du guêpier d'Europe *Merops apiaster* dans le Parc National de l'Ichkeul (Tunisie). *Rev. Écol. (Terre Vie)*, vol. 62,
- Mena-Montoya M., García-Cruzatty L.C., Cuenca-Cuenca E., Vera Pinargote L.D., Villamar-Torres R. and Jazayeri S.M. (2020). Pollen flow of *Theobroma cacao* and its relationship with climatic factors in the central zone of the Ecuadorian littoral. *Bioagro*, 32(1).
- Mounioko F., Mavoungou J.F., Koumba C.R.Z., Engo P.E., Koumba A.A., Maroundou A.P., Nzengue E., Tamesse J.L., Simo G. and M'batchi B. (2017). Etude préliminaire des vecteurs mécaniques des trypanosomes dans la localité de Campo et ses environs (Sud-Ouest du Cameroun). *Entomol. Faun.* 2017 70, 95-105
- Muhl E.Q., Toit S.E., Steyn M.J., Apostolides Z. (2013). Bud development, flowering and fruit set of *Moringa oleifera* Lam. (Horseradish Tree) as affected by various irrigation levels. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics* Vol. 114 No. 2 (2013) 79–87.
- Nigg, W. (1993). *Moringa oleifera* état des connaissances. Programme d'investigations complémentaires. Comité interafricain d'études hydrauliques (CIEH). Série hydraulique urbain et assainissement. 73P
- Nyoka B., Roshetko J., Jamnadass R., Muriuki J., Kalinganire A., Lillesø J.P., Beedy T., Cornelius J. (2015). Tree Seed and Seedling Supply Systems: A Review of the Asia, Africa and Latin America Models. *Small-scale Forest*. 14:171-191
- Ouedraogo S.N. (2007). Étude des attaques des mouches des fruits (Diptera, Tephritidae) sur la mangue dans la province du Kéné Dougou (Ouest du Burkina Faso). DEA .univ-bob. 70p
- PNDES. (2016). Plan national de développement économique et social (PNDES)-Burkina Faso 2016-2020. 97 P
- Rafferty N.E. (2017). Effects of global change on insect pollinators: multiple drivers lead to novel communities. *Current Opinion in Insect Science*, 23, 22-27.
- Shiwani B., Lokendra S.R., Ameen U.K., Geeta V., Neha S., and Bundesh K., (2018). Record of insect pollinators of *Moringa oleifera* lam. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2018; 6(3): 389-391

- Taimanga F. et Tchuenguem F-N. (2018). Diversité des insectes floricoles et son impact sur les rendements fruitiers et grainiers de *Glycine max* (Fabaceae) à Yassa (Douala, Cameroun). Int. J. Biol. Chem. Sci. 12(1): 141-156. ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print).
- Tankoano M.P. (2008). Etude de l'entomofaune et des productions fruitières chez trois variétés indiennes de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) introduites au Burkina Faso. Mémoire Cycle ingénieur –Univ-UPB .90 P No 00-2008/ eau et Forêts
- Tchuenguem F.F-N. (2005). Activité de butinage et de pollinisation d'*Apis mellifera adansonii* Latreille (Hymenoptera: Apidae, Apinae) sur les fleurs de trois plantes à Ngaoundéré (Cameroun): *Callistemon rigidus* (Myrtaceae), *Syzygium guineense* var. *macrocarpum* (Myrtaceae) et *Voacanga africana* (Apocynaceae). Thèse de Doctorat d'Etat :Université de Yaoundé I (Cameroun), 103 p
- Vaughton G., Ramsey M. and Johnson D.S. (2010). Pollination and late-acting self-incompatibility in *Cyrtanthus breviflorus* (Amaryllidaceae): implications for seed production. Annals of Botany 106: 547–555. doi:10.1093/aob/mcq149, available online at www.aob.oxfordjournals.org
- Zhang J., Lin M., Chen H., Zhu Q., Linh V., Chen X. (2018). Floral biology and pistil receptivity of the drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). Arch Boil Sci.; 70 (2):299-305.

Dynamique spatio-temporelle et vulnérabilité des unités d'occupation du sol de la Forêt Classée de Pénésoulou de 1995 à 2015 (Bénin, Afrique de l'Ouest)

Léonce Ogoubé Sourou Nounagnon DOSSA^{1*}, Gbèwonmèdéa Hospice DASSOU¹, Aristide Cossi ADOMOU¹, Fiacre Codjo AHONONGA², Sévérin BIAOU².

Résumé

Les modes d'utilisation des terres sont décisifs pour la conservation de la biodiversité et du développement durable. Au Bénin, les aires protégées sont pour la plupart dotées de plan d'aménagement pour leurs gestions durables et pour satisfaire les besoins de la population locale. Cependant, la plupart de ces aires protégées sont dans un état de dégradation poussée, dû à diverses formes d'occupations non conformes aux objectifs des plans élaborés. Au nombre de ces aires, la Forêt Classée de Pénésoulou qui, de par ses caractéristiques écologiques, mérite d'être étudié. La présente étude vise donc à analyser la dynamique et la vulnérabilité des unités d'occupation des terres de la Forêt Classée de Pénésoulou de 1995 à 2005 et de 2005 à 2015. Elle a été réalisée à travers une interprétation visuelle des images SPOT renforcée par le contrôle terrain permettant ainsi de ressortir les changements intervenus dans la couverture forestière au cours des deux périodes d'étude (1995 à 2005) et (de 2005 à 2015). Pendant la période 1995-2005, les observations réalisées révèlent une régression des champs cultivés, des jachères et des savanes arborées et arbustives au profit des plantations ou des formations forestières plus denses. Dans la même période, le taux annuel d'amélioration (4,67%) est plus élevé alors que les taux de dégradation (0,25%/an) et de reconstitution (0,05%/an) sont faibles. Au cours de la décennie 2005-2015, on note plutôt une tendance alarmante avec l'accroissement des cultures et des jachères. Cette période est marquée par un taux d'amélioration (de 0,39%/an), un taux de dégradation évoluant de 0,25% à 3,79%/an et une déforestation estimée à 0,01%/an. Il ressort de cette étude que la politique forestière doit être repensée, en vue d'une meilleure protection et d'une restauration de la forêt.

Mots clés : Occupation du sol ; dégradation ; déforestation ; vulnérabilité ; restauration.

Abstract

Land use patterns are crucial for biodiversity conservation and sustainable development. In Benin, most protected areas have management plans for their sustainable management and to meet the needs of the local population. However, most of the reserved forests are in a state of deep degradation, due to various forms of occupation not in accordance with the objectives of the plans drawn up. Among these areas, Pénésoulou Forest Reserve because of its ecological characteristics deserves to be studied. The present study therefore aims to analyze the land use units dynamics and vulnerability in Pénésoulou Forest Reserve from 1995 to 2005 and from 2005 to 2015. It was carried out through a visual interpretation of SPOT image reinforced by field monitoring which made it possible to highlight the changes in forest cover for the two periods studied (from 1995 to 2005) and (from 2005 to 2015). The results reveal that field fallow lands and shrub-tree savannas regressed while plantations or denser forest formations took over from 1995 to 2005. In the same period, the annual rate of recovering (4.67%) was high while the rate of degradation (0.25%/year) and replenishment (0.05%/ year) were low. During the decade 2005-2015, there had been an alarming trend with the increase in crop land and fallows. This period showed an improvement in the covering rate (0.39%/year), the degradation rate having been increased from 0.25% to 3.79%/year and the deforestation rate having been estimated to 0.01%/year. This study shows that forest policy must be rethought, in order to improve the protection and the restoration of the forest.

Keywords : Land use; degradation; deforestation; vulnerability; destoration.

¹ Laboratoire de Botanique et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 4521 Cotonou, République du Bénin.

² Laboratoire d'Écologie, de Botanique et de Biologie végétale, Université de Parakou, 03 BP 125 Parakou, République du Bénin.

* Auteur correspondant : Email : dossaleonce@gmail.com, Tél : (+229) 97 77 63 35

Adresse des auteurs :

Léonce Ogoubé Sourou Nounagnon DOSSA : dossaleonce@gmail.com

Gbèwonmèdéa Hospice DASSOU : daspice2@gmail.com

Aristide Cossi ADOMOU : adomou.a@gmail.com

Fiacre Codjo AHONONGA : boladefi@yahoo.fr

Sévérin BIAOU : sbbiaou@gmail.com

INTRODUCTION

Les écosystèmes forestiers tropicaux constituent un immense réservoir de biodiversité (FAO et PNUE, 2020) qui comble de nombreux besoins de base de la population locale (Brondizio *et al.*, 2019; Gouwakinnou *et al.*, 2019; Schipper *et al.*, 2020; Yue *et al.*, 2020). Cette biodiversité est dans un processus d'effondrement via des pressions anthropiques (Correa *et al.*, 2016; Haddad *et al.*, 2015); ce qui déséquilibre la fonction écologique des forêts et qui participe au changement climatique (Schwartz *et al.*, 2017). Cette situation prévaut dans le monde qui connaît une augmentation galopante de la population humaine ainsi que l'expansion des terres pour l'agriculture (Chidumayo et Marunda, 2010). Le changement d'occupation du sol et l'utilisation des terres qui se pratiquent en ignorant les principes d'aménagement forestier durable induisent la fragmentation des forêts (Bogaert *et al.*, 2011; Haddad *et al.*, 2015; Kouagou *et al.*, 2019). Cette fragmentation

des forêts modifie la configuration du paysage et participe à la perte de la diversité des plantes (Kouagou *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2014). En effet, au-delà de ses conséquences sur la structuration du paysage, les perturbations naturelles et anthropiques sont largement connues comme étant le moteur de réduction du couvert forestier et de la diversité des espèces dans une communauté végétale (Shrestha *et al.*, 2013). C'est dans ce sens que plusieurs études ont mis en évidence la réduction du couvert végétal en utilisant les images satellitaires (Ahononga *et al.*, 2020; Biauou *et al.*, 2019; Hassan *et al.*, 2016; Iwuji *et al.*, 2017; Mamane *et al.*, 2018; Sikuzani *et al.*, 2020; Temgoua *et al.*, 2018). Pour ces auteurs, les écosystèmes forestiers naturels ont régressé au profit des œuvres anthropiques, notamment les champs et les habitations. Dans le même courant, la (FAO & PNUE, 2020) dans leur rapport annuel ont montré que pendant la période 2010-2020, le couvert forestier a perdu une superficie de 4,74

millions d'hectares par an dont la part de l'Afrique dans la même période est la plus importante (3,94 millions d'hectares par an, soit 83,12% du taux annuel) (FAO et PNUE, 2020).

A l'instar des pays africains, les écosystèmes forestiers du Bénin sont soumis à des pressions anthropiques et climatiques de plus en plus prononcées (Amagnide *et al.*, 2015; Arouna *et al.*, 2016; Biaou *et al.*, 2019). L'économie du pays étant basée sur le secteur primaire selon l'Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique (RGPH-4, 2016), les forêts subissent par conséquent un changement qui conduit à la perte des formations forestières naturelles. Au-delà des champs et des jachères qui contribuent à la régression de la surface des aires protégées, lesquelles font également l'objet d'exploitation forestière illégale (Adjonou *et al.*, 2010; Sanon *et al.*, 2019) et d'occupation à but pastoral (Amahowe *et al.*, 2018). Aussi, la variabilité climatique en cours n'est-elle pas sans conséquence sur la dynamique de ces écosystèmes forestiers. Selon Biaou *et al.* (2019) et Imorou *et al.* (2019), l'ampleur des pressions anthropiques affecte les aires dédiées à la conservation de la biodiversité.

Parmi les forêts subissant les pressions anthropiques, figure la forêt classée de Pénésoulou (FCP) qui est située en zone guinéo-soudanienne. Pénésoulou est une région nettement plus humide et aux caractéristiques très proches de celles des régions humides du sud-Bénin tant du point de vue du climat que de la végétation.

Malheureusement, entourée par quatre grands villages dont l'activité principale est l'agriculture, la FCP est sujette à une importante pression anthropique. Afin d'inverser la tendance, cette forêt a bénéficié de l'élaboration d'un premier plan d'aménagement participatif en 1998 pour une période de dix ans. Ce plan a été élaboré avec l'appui du Projet de Restauration des Ressources Forestières dans la région de Bassila (PRRF). La mise en œuvre de ce plan d'aménagement a été effective jusqu'en 2004. Des actions d'aménagement limitées se sont poursuivies jusqu'en 2013 où la gestion de la FCP a été ensuite confiée à l'Office National du Bois (ONAB) qui a relancé le processus de gestion durable des ressources de la forêt.

Dans de pareils contextes de difficulté d'ancrage institutionnel, de pression anthropique et de particularité climatique, une analyse historique de la dynamique de l'occupation du sol permettra d'évaluer le niveau de conservation ou la mise en œuvre du plan d'aménagement du patrimoine forestier. Ceci constitue une priorité pour la réussite de la mise en place des stratégies efficaces de conservation de la diversité biologique ainsi que des actions qui maintiendraient ou établiraient un équilibre dans l'écosystème forestier. Assurément, le maintien de la biodiversité nécessite la compréhension de la dynamique de l'utilisation des terres pour mieux instaurer des stratégies de restauration des écosystèmes dégradés. La plupart des travaux effectués sur les changements d'occupation des sols, notamment la classification de la végétation par le traitement d'images satellitaires (Mama *et al.*, 2015; Mamane *et al.*, 2018; Temgoua *et al.*, 2018; Biaou *et al.*, 2019; Mawenda et Watanabe, 2020) ont fait ressortir l'importance de ces mesures et ont dégagé les stratégies convenables pour la reconstitution des formations dégradées. Ces études mettent en évidence une tendance généralisée des changements dans la composition du paysage. Le niveau de vulnérabilité des unités d'occupation du sol doit être élucidé, pour orienter des stratégies ciblées de préservation. Cette étude vise : à analyser la dynamique

de l'occupation des terres et à faire ressortir le niveau de vulnérabilité des différentes unités d'occupation du sol.

MATERIEL ET METHODES

MILIEU D'ÉTUDE

Cette étude s'est focalisée sur la forêt classée de Pénésoulou (5.559 ha) située au centre-Bénin entre 9°14' et 9°19' de latitude Nord et entre 1°30' et 1°38' de longitude Est (Figure 1), dans la commune de Bassila (Département de la Donga). Elle se situe dans la zone de transition guinéo-soudanienne et dans le district phytogéographique de Bassila qui est essentiellement constitué de forêts denses semi-décidues, de savanes boisées et de forêts ripicoles (Adomou, 2005). Ce district, nettement plus humide (1100 à 1300 mm de pluie) que ceux environnants, a des caractéristiques très proches de celles des régions humides du sud-Bénin, tant du point de vue du climat que de la végétation (Adomou, 2005). Le climat est caractérisé par deux saisons qui s'alternent entre une saison de pluie couvrant la période de la mi-avril à la mi-octobre et une saison sèche s'étalant de la mi-octobre à la mi-avril. Les sols sont en majorité de types ferrugineux tropicaux. Mais on y rencontre aussi des sols hydromorphes dans les dépressions et des sols ferralitiques par endroits. Pour la reconstitution du couvert végétal, les projets et les autres structures de gestion ont installé des plantations forestières de *Tectona grandis*, de *Gmelina arborea* et de *Anacardium occidentale*.

La plupart des grands mammifères ont disparu de la région, du fait de la chasse illégale qui est pratiquée en toute période de l'année. La région est occupée par une multitude de groupes ethniques notamment les Anii, les Nagot, les Kotokoli, les Peulh, les Otammari et les Lokpa. Les zones riveraines de la réserve forestière sont caractérisées par la prédominance d'exploitations agricoles. L'agriculture la principale activité des populations est de type extensif avec une dominance des cultures de l'igname et du coton.

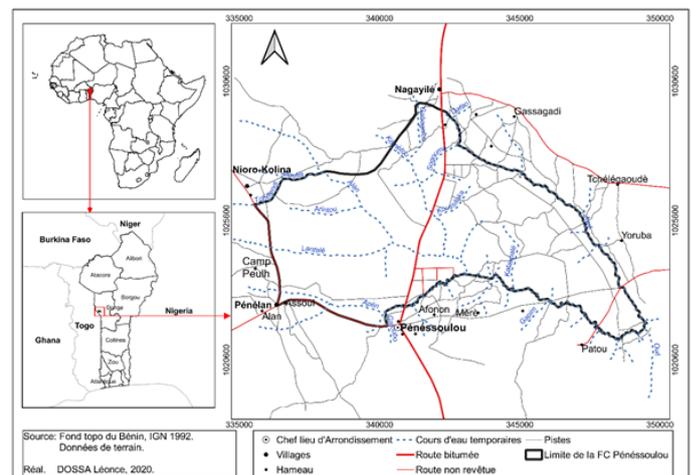


Figure 1 : Situation géographique de la forêt classée de Pénésoulou.

Collecte de données

Les données essentielles utilisées sont constituées d'images et de données auxiliaires. Les images satellitaires SPOT (Pivot 1995, 2005 et 2015), couvrant la forêt classée (Tableau 1), sont celles acquises auprès du Projet d'Observation Spatiale des Forêts d'Afrique Centrale et de l'Ouest (OSFACO) (www.osfaco.org). Les images satellites réalisées en saison sèche ont été retenues afin de favoriser la discrimination des unités d'occupation du sol. Les données auxiliaires sont

constituées des cartes topographique du Bénin (1/50 000^e), du réseau routier, du réseau hydrographique et de délimitation des forêts classées. Une mission de contrôle-terrain a été effectuée de Novembre à Décembre 2019 dans les différentes unités d'occupation du sol aux fins de vérification terrain. Elle a porté sur 150 points qui ont été enregistrés avec le GPS Garmin 78. Le logiciel Google Earth Pro a été utilisé pour faciliter la discrimination et l'interprétation visuelle des unités d'occupation du sol des images.

Tableau 1 : Description des données satellitaires utilisées

Année	Images	Résolution spatiale
1995	SPOT3-HRVIR1-XS_19950203-102931-404_L1C_062-332-0_D_V1-0_PYR_ALL	20 m
	SPOT3-HRVIR1-XS_19951208-102456-076_L1C_061-331-0_D_V1-0_PYR_ALL	20 m
	SPOT4-HRVIR1-XS_20050421-101525-330_L1C_062-331-0_D_V1-0_PYR_ALL	20 m
2005	SPOT4-HRVIR1-XS_20051216-101744-473_L1C_062-332-0_D_V1-0_PYR_ALL	20 m
	IMG_SPOT6_MS_201512090957539_SEN_1948944101_OR_T_20170322	6 m

Traitement des images satellitaires

Pour le pré-traitement, toutes les images avaient déjà fait l'objet de corrections radiométrique et géométrique par le fournisseur, dans le référentiel UTM-31 WGS-84 Nord. Pour homogénéiser la taille de pixels à 6 m de résolution, un ré-échantillonnage a été appliqué avant l'acquisition des images. Ces opérations ont été réalisées afin d'augmenter la lisibilité des images, de faciliter leur interprétation et pour permettre l'assemblage d'images d'une même région (Biaou *et al.*, 2019 ; Ahononga *et al.*, 2020). Les outils d'extraction et de mosaïque (ou d'assemblage) des images ont été appliqués.

L'interprétation visuelle a été effectuée grâce à l'approche de la photo-interprétation des images sous le logiciel QGIS remote sensing. Pour faciliter les extractions et la stratification homogène des unités d'occupation du sol, une composition colorée fausse couleur associant le canal 3 pour l'infrarouge, le 2 pour le rouge et le canal 1 pour le vert, au système d'affichage Rouge, Vert et Bleu, a été appliquée (Figure 2). La composition colorée et les points de contrôle-terrain et le fond d'image Google Earth ont servi de base pour l'interprétation des images de 2015. La limitation des unités d'occupation a été facilitée par la signature spectrale des principaux objets terrestres (couleur, ton, structure, texture, forme et localisation). Les images de 2005 ont été ensuite interprétées en se servant de celle de 2015 et du fond d'image d'archive de Google Earth de l'année 2005. Les images de 1995 ont été interprétées sur la base de celles de 2005 et du fond d'image d'archive de Google Earth de l'année 1995.

La validation des images interprétées a nécessité un contrôle-terrain. Cette opération a consisté à collecter les données sur des unités thématiques à interpréter. Les zones à vérifier ont été identifiées sur les images à l'aide de leurs coordonnées géographiques enregistrées dans le GPS (150 points). Les coordonnées intégrées ont servi après vérification des éléments non précis, à apporter des corrections actualisant la toponymie (Ahononga *et al.*, 2020). Cette opération de

vérification ne concerne que l'interprétation des images de 2015. A cet effet, un échantillon de 150 points collectés dans les différentes unités d'occupation des terres ont permis d'évaluer la précision globale et de calculer le coefficient de Kappa suite à la réalisation de la matrice de confusion. Ce contrôle-terrain a été effectué pendant la période comprise entre novembre et décembre 2019. En ce qui concerne celles de 2005 et de 1995, elles ont été validées grâce sur la base des images archives de Google Earth. Pour affiner l'interprétation des images, les observations et les suggestions des populations et des personnes ressources ont été prises en compte.

Les différentes unités d'occupation du sol ont été définies et cartographiées conformément à la nomenclature du Projet OSFACO, décrite par Ahononga *et al.*, 2021.

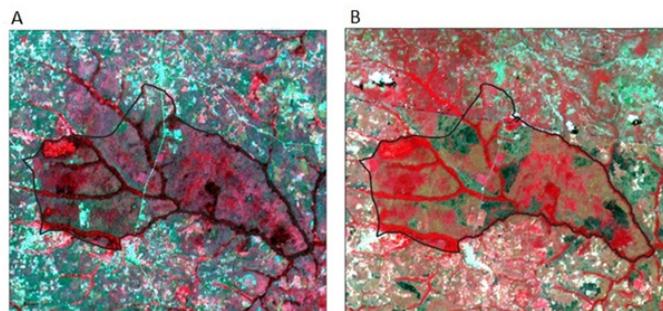


Figure 2: Compositions colorées et le mosaïquage des images SPOT 1995 (A) et de 2005 (B)

Analyse de la dynamique de l'occupation du sol

L'analyse des changements spatiaux a été mise en évidence par croisement deux à deux des cartes d'occupation du sol. Ce croisement a permis d'obtenir la matrice de transition pour les périodes 1995-2005 et 2005-2015, grâce au module Analysis Tools d'ArcGIS. La comparaison des cartes d'occupation du sol pour trois années (1995, 2005 et 2015) a permis de faire ressortir les modifications en termes de gain, de perte ou de stabilité selon le cas de chaque unité d'occupation du sol. L'évaluation de l'évolution des unités d'occupation du sol a été effectuée par le calcul du taux d'évolution (Tv) utilisé par Coulibaly *et al.* (2016) et Ahononga *et al.* (2020).

$$Tv (\%) = \left(\frac{S2}{S1} - 1 \right) \times 100$$

avec S1 la superficie de l'unité d'occupation du sol à l'année 1 et S2 la superficie de l'unité d'occupation du sol à l'année 2

Lorsque Tv (%) est négatif, il s'agit d'une régression de l'unité d'occupation du sol de l'année 1 à 2, dans le cas contraire un taux positif; implique une augmentation de l'unité d'occupation du sol de l'année 1 à 2 et au cas où le taux est nul, on parle de stabilité de l'unité d'occupation du sol de l'année 1 à 2.

Analyse des catégories de changement au sein de la FCP

Pour évaluer la dégradation et la déforestation au sein de la forêt classée, des regroupements basés sur la matrice de transition des unités d'occupation du sol ont été effectués. Ces regroupements inspirés de Wasseige *et al.* (2009), permettent d'interpréter les différents types de changement. Ainsi la dégradation est considérée comme une diminution de la densité des formations forestières naturelles; tandis que la déforestation est associée à une conversion des formations forestières naturelles en plantations et autres formations non forestières ; en revanche l'amélioration c'est l'augmentation de la superficie des formations forestières naturelles; par

contre la reconstitution naturelle correspond à la conversion des plantations et autres formations non forestières en formations forestières naturelles. A partir de ces regroupements, le taux global de déforestation, de dégradation, de reconstitution et d'amélioration est calculé par la formule de Wasseige *et al.* (2009) utilisée par Tchatchou *et al.* (2015) et Ahononga *et al.* (2020). Le taux annuel de déforestation, de dégradation, de reconstitution et d'amélioration a été obtenu respectivement en divisant le taux de déforestation, de dégradation, de reconstitution et d'amélioration par le nombre d'années d'étude.

Le taux global de déforestation $T(Def)$ a été calculé par la formule suivante

$$T(Def) = \frac{Def}{S1} \times 100$$

Def est la déforestation brute et $S1$ représente la superficie des formations forestières naturelles (FFN) de l'année t_1

Le taux global de dégradation $T(Dg)$ est calculé par la formule suivante :

$$T(Dg) = \frac{Dg}{S1} \times 100$$

Dg est la dégradation brute et $S1$ représente la superficie des formations forestières naturelles (FFN) de l'année t_1

Le taux global de reconstitution $T(Rec)$ a été calculé par la formule suivante :

$$T(Rec) = \frac{Rec}{S1} \times 100$$

Rec est la superficie de reconstitution brute et $S1$ représente la superficie des formations forestières non naturelles (FNN) de l'année t_1

Le taux global d'amélioration $T(Am)$ a été calculé par la formule suivante :

$$T(Am) = \frac{Am}{S1} \times 100$$

Am est la superficie d'amélioration brute et $S1$ représente la superficie des formations forestières non naturelles (FNN) de l'année t_1

Analyse de la vulnérabilité des unités d'occupation du sol

La matrice de transition a permis de calculer la superficie perdue ou gagnée par chaque classe d'occupation du sol. La statistique de perte ou de gain a été utilisée pour analyser la vulnérabilité au changement de chaque unité d'occupation du sol. Cette vulnérabilité a été respectivement calculée à l'aide du ratio Gain/Stabilité ($G_s = g/s$), le ratio Perte/Stabilité ($P_s = p/s$) et le ratio Changement Net/Stabilité ($N_s = G_s - P_s$) (Ahononga *et al.*, 2020 ; Biauou *et al.*, 2019). La valeur des différents ratios a permis de réaliser les histogrammes. La valeur négative de N_s suggère que la classe d'occupation du sol présente une forte probabilité de perdre des superficies (Ahononga *et al.*, 2020).

RÉSULTATS

Évaluation de l'exactitude de l'interprétation visuelle

La validation de ces images réalisée à partir du calcul de l'indice de Kappa et de la matrice de confusion montre que le traitement de ces images a une discrimination significative bien qu'il existe une certaine confusion pour les classes définies. La précision globale de l'image de 1995 est de

96% avec un indice de Kappa de 0,93 (Tableau 2). En ce qui concerne les images de 2005 et 2015, les précisions globales sont respectivement de 96% et 97% avec un indice de Kappa respectif de 0,94 et 0,96 (Tableaux 3 et 4). Ces valeurs de l'indice de Kappa traduisent un accord presque parfait de la qualité de l'interprétation des images. Les différentes unités d'occupation du sol ont obtenu de meilleurs taux de précision (Tableaux 2, 3 et 4).

Tableau 2 : Matrice de confusion des images SPOT de 1995.

INTERPRÉTATION VISUELLE 1995											
Référence terrain	FD	FGFR	FCSB	SASa	PTFR	CJ	PTFT	HA	TOTAL	PU (%)	Co (%)
FD	18	1	1	0	0	0	0	0	20	90	10
FGFR	0	16	1	0	0	0	0	0	17	94	6
FCSB	1	0	12	1	0	0	0	0	14	86	14
SASa	0	0	0	91	0	0	0	0	91	100	0
PTFR	0	0	0	0	1	0	0	0	1	100	0
CJ	0	0	0	1	0	3	0	0	4	75	25
PTFT	0	0	0	0	0	0	1	0	1	100	0
HA	0	0	0	0	0	0	0	1	1	100	0
TOTAL	19	17	14	93	1	3	1	1	150	0	0
PP (%)	95	94	86	98	100	100	100	100			
Om (%)	5	6	14	2	0	0	0	0			

PG (%) : 96 ; Indice de Kappa : 0,93

FD: Forêt dense semi-décidue, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PTFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat, PG: Précision Globale, Om: Omission, Co: Contamination, PP: Précision du producteur, PU: Précision de l'utilisateur

Tableau 3: Matrice de confusion des images SPOT de 2005.

INTERPRÉTATION VISUELLE 2005											
Référence terrain	FD	FGFR	FCSB	SASa	PTFR	CJ	PTFT	HA	TOTAL	PU (%)	Co (%)
FD	35	0	1	0	0	0	0	0	36	97	3
FGFR	1	18	0	0	0	0	0	0	19	95	5
FCSB	0	0	35	1	0	0	0	0	36	97	3
SASa	0	0	1	51	0	0	0	0	52	98	2
PTFR	0	0	0	1	2	0	0	0	3	66	33
CJ	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0
PTFT	0	0	0	0	1	0	1	0	2	50	50
HA	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
TOTAL	36	18	37	53	3	1	1	1	150		
PP (%)	97	1	95	96	67	1	1	1			
Om (%)	3	0	5	4	33	0	0	0			

PG (%) : 96 ; Indice de Kappa : 0,94

FD: Forêt dense semi-décidue, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PTFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat, PG: Précision Globale, Om: Omission, Co: Contamination, PP: Précision du producteur, PU: Précision de l'utilisateur

Tableau 4 : Matrice de confusion des images SPOT de 2015.

INTERPRÉTATION VISUELLE 2015											
Référence terrain	FD	FGFR	FCSB	SASa	PTFR	CJ	PTFT	HA	TOTAL	PU (%)	Co (%)
FD	10	1	0	0	0	0	0	0	11	91	9
FGFR	1	17	0	0	0	0	0	0	18	95	5
FCSB	0	0	35	1	0	0	0	0	36	97	3
SASa	0	0	1	69	0	0	0	0	70	98	2
PTFR	0	0	0	0	6	0	0	0	6	1	0
CJ	0	0	0	1	0	4	0	0	5	80	20
PTFT	0	0	0	0	0	0	3	0	3	1	0
HA	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
TOTAL	11	18	36	71	6	4	3	1	150		
PP (%)	91	94	97	97	1	1	1	1			
Om (%)	9	6	3	3	0	0	0	0			

Précision globale : 97 ; Indice de Kappa : 0,96

FD: Forêt dense semi-décidue, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PTFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat, PG: Précision Globale, Om: Omission, Co: Contamination, PP: Précision du producteur, PU: Précision de l'utilisateur

Etat de référence des unités d'occupations du sol

L'interprétation des images a permis d'identifier huit catégories d'occupation de sol à savoir les forêts denses semi-décidues, les forêts galeries, les forêts claires, les savanes boisées, les savanes arborées et arbustives, les plantations fruitières, les plantations forestières, les cultures et les jachères ainsi que les habitations. Les matrices de transitions des occupations du sol de 1995 à 2005 et de 2005 à 2015 sont présentées respectivement à travers les Tableaux 5 et 6. En 1995, les écosystèmes étaient dominés par les savanes arborées et arbustives ainsi que par les forêts denses semi-décidues qui occupaient près de 75% de la superficie de la forêt classée (Tableau 5). En 2005, les forêts denses semi-décidues, les forêts claires et les savanes boisées ainsi que les savanes arborées et arbustives occupent plus de 87%

de la FCP (Tableau 5). Par contre en 2015, on note un retour à la prédominance des savanes arborées et arbustives ainsi que les forêts denses semi-décidues qui occupent ensemble moins de 75% de la superficie de la forêt (Tableau 6).

Tableau 5 : Matrice de transition de l'occupation du sol de 1995 à 2005

OCCUPATION DU SOL 1995	OCCUPATION DU SOL 2005								TOTAL 1995	Perte
	FD	FGFR	FCSB	SASa	PTFR	PIFT	CJ	HA		
FD	727	0	0	0	0	0	0	0	727	0
FGFR	378	0	133	0	21	0	0	0	532	532
FCSB	0	618	5	0	0	0	0	0	623	618
SASa	233	53	1231	1976	0	8	0	0	3501	1525
PTFR	0	0	10	0	45	0	0	0	55	10
PIFT	0	0	0	0	0	7	0	0	7	0
CJ	0	0	16	11	50	0	34	0	111	77
HA	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0
TOTAL 2005	1337	671	1395	1987	117	15	34	3	5559	
Gain	611	671	1390	11	71	8	0	0		

FD: Forêts denses semi-décidues, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PIFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat.

Tableau 6 : Matrice de transition de l'occupation du sol de 2005 à 2015.

OCCUPATION DU SOL 2005	OCCUPATION DU SOL 2015								TOTAL 2005	Perte
	FD	FGFR	FCSB	SASa	PTFR	PIFT	CJ	HA		
FD	419	0	896	22	0	0	0	0	1337	918
FGFR	0	679	0	0	0	1	0	0	680	1
FCSB	1	0	246	1128	6	8	6	0	1395	1149
SASa	0	0	208	1472	109	74	123	0	1987	515
PTFR	0	0	0	0	117	0	0	0	117	0
PIFT	0	0	0	0	0	15	0	0	15	0
CJ	0	0	0	0	0	13	12	0	26	14
HA	0	0	0	0	0	0	0	3	3	0
TOTAL 2015	420	679	1350	2622	233	112	142	3	5559	
Gain	1	0	1104	1151	116	97	130	0		

FD: Forêts denses semi-décidues, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PIFT: Plantation fruitière, CJ: Champs et jachère, HA: Habitat.

Conversion et vulnérabilité des unités d'occupation du sol de 1995 à 2015

Le niveau de vulnérabilité et de conversion des unités d'occupation du sol étaient fonction de la période. L'analyse des statistiques et des cartes montrent qu'entre 1995 et 2005 (Figures 3 et 4), les superficies des champs et des jachères (-68,75%) et celles des savanes arborées et arbustives (-43,24%) ont connu une forte régression au profit des plantations forestières (112,72%), des plantations fruitières (114,28%) et des formations forestières naturelles dont les forêts claires, les savanes boisées, les forêts denses semi-décidues (83,91%), ainsi que les forêts galeries (27,82%) (Figure 6). De façon générale les savanes arborées et arbustives ont été les plus vulnérables (Ns négatif), accompagnées de la disparition d'une grande superficie des champs et des jachères (Figure 7a). Les plantations forestières et fruitières, les forêts claires et les forêts denses semi-décidues ont connu un gain de leur superficie, largement supérieur aux pertes (Figure 7a).

Par contre, la période de 2005 à 2015 (Figure 4 et 5) est marquée par une importante diminution de la superficie des forêts denses semi-décidues (-68,58%). En revanche, on note des progressions au niveau des superficies des champs et des jachères (446,15%), des plantations forestières (646,66%), des plantations fruitières (99,14%) et des savanes arborées et arbustives (31,96%) (Figure 5). Ces formations ont connu un taux de gain supérieur aux pertes (Figure 7b). Par contre, les forêts denses semi-décidues ont été les plus vulnérables à la perte de superficie (Figure 7b).

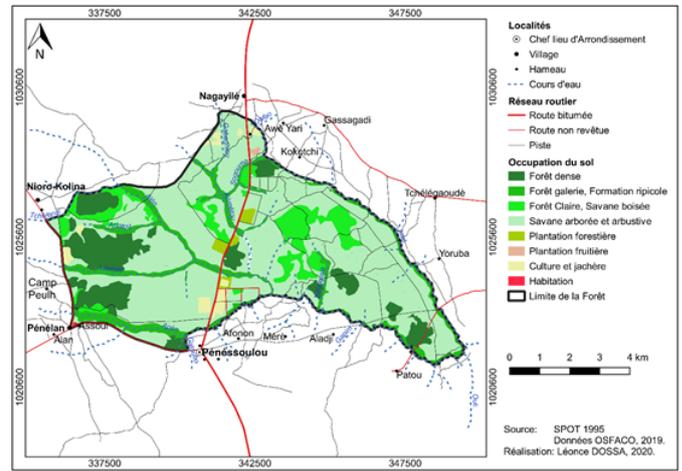


Figure 3 : État d'occupation du sol dans la forêt classée de Pénessoulou en 1995.

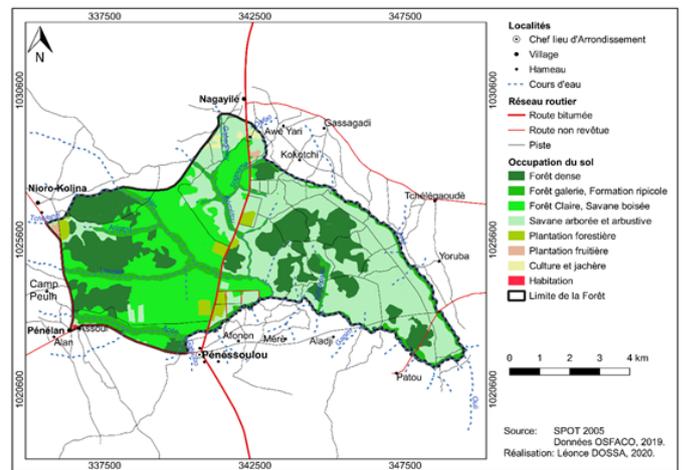


Figure 4 : État d'occupation du sol dans la forêt classée de Pénessoulou en 2005.

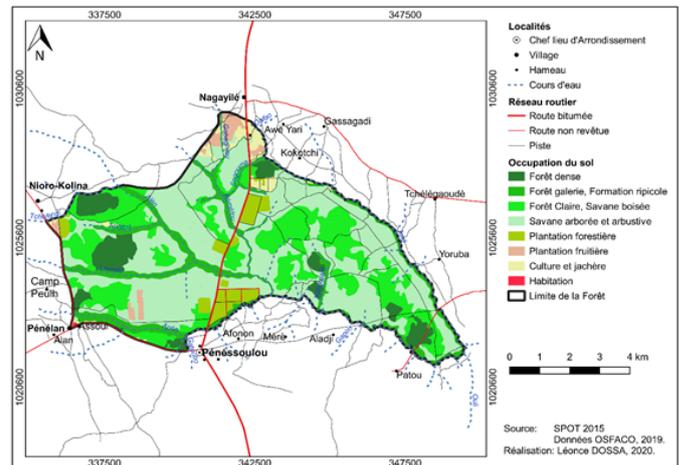
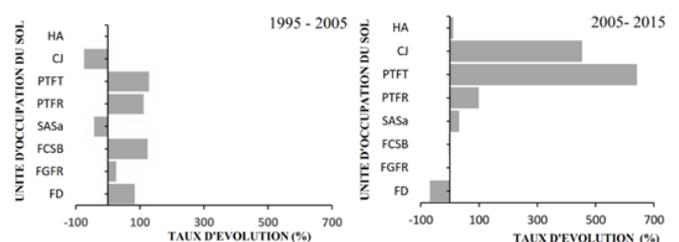
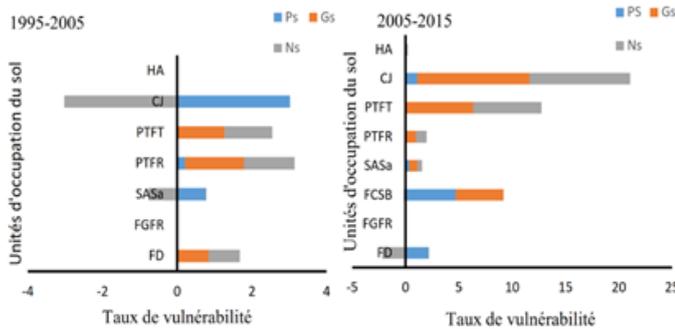


Figure 5 : État d'occupation du sol dans la forêt classée de Pénessoulou en 2015.



FD: Forêts denses semi-décidues, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa: Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PIFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat

Figure 6 : Taux d'évolution des unités d'occupation du sol de 1995 à 2005 et de 2005 à 2015.



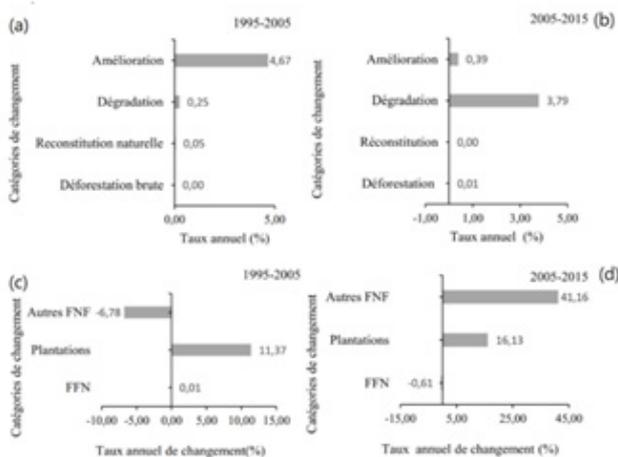
Ps : Perte relative à la stabilité ; Gs : Gain relatif à la stabilité ; Ns : Changement net relatif à la stabilité ou vulnérabilité

FD: Forêts denses semi-décidues, FGFR: Forêt galerie, FCSB: Forêt claire et savane boisée, SASa : Savane arborée et arbustive, PTFR: Plantation forestière, PTFT: Plantation fruitière, CJ: Culture et jachère, HA: Habitat

Figure 7: Vulnérabilité des occupations du sol de 1995 à 2015.

Déforestation et dégradation des formations forestières

Au cours de la période 1995-2005, les formations forestières naturelles et les plantations ont connu un accroissement annuel variable de leur superficie à savoir respectivement +0,01% et +11,37%/an alors que les formations non forestières (-6,78%) ont connu une régression de leur superficie (Figure 8c). Les taux de déforestation (0,00%) et de dégradation (0,25 %) restent très faibles pendant cette période et il y a une amélioration des écosystèmes naturels de la forêt classée (4,67%) (Figure 8a). Par contre, on note une augmentation du taux de déforestation (Figure 9) (0,01%) au cours de la période 2005-2015 (Figure 8b). Les formations forestières naturelles (-0,61%) ont connu un taux annuel régressif de leurs superficies. Par contre, les formations non forestières et les plantations ont connu une augmentation significative de leurs taux annuels soit respectivement +41,16% et +16,13% (Figure 8d). Le taux annuel de dégradation est passé de 0,25 % à 3,79 % entre les périodes 1995-2005 et 2005-2015 (Figure 8a et 8b).



FFN : Formations forestières naturelles ; FNF : Formations non forestières

Figure 8: Taux annuel de changement du couvert végétal de la FCP



Figure 9: Images de déforestation (A et B) et de restauration (C et D) dans la forêt classée de Pénésoulou.

DISCUSSION

Changement d’occupation des terres

Les résultats de cette étude montrent que la Forêt Classée de Pénésoulou (FCP) était dominée de 1995 à 2005 par les formations naturelles telles que les forêts denses semi-décidues, les savanes boisées, les forêts claires et les forêts galeries. Cette période est caractérisée par une régression des champs et des jachères, ainsi que des savanes arborées et arbustives. Mais la régression de ces formations se fait au profit des plantations forestières et fruitières, mais également en infime partie au profit des formations forestières naturelles. L’augmentation des plantations dans cette période est liée aux activités du Projet de Restauration des Ressources Forestières de Bassila (PRRF) de 1996 à 2004. Toutefois, cette reconstitution de la forêt ne favorise pas la sauvegarde de l’intégrité de la biodiversité de cet écosystème. Les plantations forestières monospécifique étant faites d’espèces exotiques telles que *Tectona grandis* et *Gmelina aborea* et d’espèces fruitières *Anacardium occidentale* qui modifient la physionomie et l’écologie des formations végétales. Cette remarque a été faite par Ahononga *et al.* (2020) dans les forêts classées du domaine soudano-guinéen du Bénin. Les statistiques annuelles d’amélioration de cet écosystème étant de 4,68% voient la perte et la modification de la diversité biologique. Au-delà de la modification de l’intégrité de cette forêt, le niveau de sa protection a permis l’expansion de forêts denses semi-décidues et de forêts claires. Il s’agit d’une période où la FCP était sous la gestion du Projet PRRF. En effet pour Gbedahi *et al.* (2019) durant la période d’exécution du PRRF (1986-2003), les superficies forestières ont augmenté de 5,1%. Pour ces mêmes auteurs, les forêts ont doublé de superficie pendant la phase de mise en œuvre dudit projet. L’adoption d’une politique de développement forestier en 1994, prônant le partage des compétences et la participation effective des populations riveraines est également un facteur essentiel qui a milité en faveur de la reconstitution du patrimoine forestier (MEHU, 2012). La prise en compte de toutes les parties prenantes a induit la régression des activités anthropiques, dont l’agriculture et l’émergence des formations forestières naturelles.

Les résultats obtenus corroborent ceux de Ahononga *et al.* (2020) qui ont également montré que l’accroissement des formations forestières naturelles dans les forêts classées dénote d’une certaine efficacité du système de protection de ces écosystèmes dans la période de 1995 à 2005. Les résultats de cette étude ont montré que le taux annuel de la dégradation est de 0,25% et le taux de reconstitution est de

0,05%. La déforestation est quasi-absente entre 1995 et 2005. Par contre les statistiques de la FAO (2020) montrent un taux de déforestation annuel 700 000 ha entre 1990 et 2000. Ces résultats, contrairement aux statistiques de la FAO montre que, les politiques autour des forêts classées peuvent constituer un moyen efficace pour la conservation de la biodiversité. L'accès limité, l'entretien et la surveillance de la forêt classée de Pénésoulou, pendant la période de mise en œuvre du PRRF, constitue des actions ayant favorisé sa conservation. La faible perte des formations forestières naturelles est la preuve de la protection des aires et de l'efficacité de l'intervention dudit projet d'aménagement forestier. L'importance de l'intervention des projets d'aménagement a été d'ailleurs remarquée par plusieurs études (Blomley *et al.*, 2008; Melo *et al.*, 2013).

Contrairement à la période de 1995 à 2005, les formations anthropiques ont accru dans la forêt classée de Pénésoulou au cours de la période de 2005 à 2015. Les cultures et jachères ont augmenté de 446,15%, les plantations fruitières et forestières sont passées respectivement à 99,14% et à 646,66%. Le taux annuel de dégradation a été triplé (3,79%). La déforestation qui était absente est passée à 0,01%/an. Ce taux de dégradation est largement supérieur à celui de Biaou *et al.* (2019) dans la Forêt Classée de Ouénou-Bénou. La période 2005 à 2015 marque le début de la prise d'assaut de cet écosystème par les agriculteurs ainsi que les exploitants à la suite de la fin de mise en œuvre du projet PRRF en 2004. Les activités relatives à la protection ne sont plus pratiquement menées parce qu'elles n'étaient plus rémunérées ; les réunions des comités villageois qui participaient aux activités de protection ne se tiennent plus (Gbedayi *et al.* 2019). Ces résultats traduiraient le relâchement des actions de conservation impliquant les populations locales. Le taux d'évolution des surfaces de culture montre clairement une anthropisation de cette aire protégée. Cet accroissement des formations anthropiques est dû à la demande de bois, mais également le besoin de terres fertiles par les populations riveraines afin de garantir leur subsistance. Les résultats obtenus au cours de cette période corroborent ceux de Biaou *et al.* (2019), de Arouna *et al.* (2016) et de Houessou *et al.* (2013). La poussée démographique est aussi l'une des causes qui occasionnent l'occupation des sols dans les forêts classées. Ainsi pour Ahononga *et al.* (2020), l'augmentation des terres agricoles et l'extension des habitats sont la cause de la diminution observée dans les écosystèmes forestiers.

Les forêts classées étant initialement dédiées à la conservation de la biodiversité, les pratiques qui consistent à transformer les formations naturelles en domaines d'exploitation agricole désorientent les objectifs que vise le classement de ces forêts. De pareils constats sont récurrents, car dans les législations des pays tropicaux, la conservation de la biodiversité est assimilée à la conservation du couvert forestier (Voreux, 2015). Pour (Temgoua *et al.*, 2018), la modification du couvert forestier perturbe les conditions climatiques déterminant des processus écologiques de la succession de la végétation. Par conséquent, l'ampleur de la régression du couvert végétal impacte la régulation du climat et les conditions socio-économiques de la population rurale (Biaou *et al.*, 2019; Gouwakinnou *et al.*, 2019). Dans ces situations, la politique forestière devra mettre l'accent sur la restauration naturelle des écosystèmes dégradés ou à défaut sur une logique d'enrichissement des espaces dégradés par des espèces autochtones lors de l'élaboration et la mise en œuvre des plans d'aménagement. La recherche

devra désormais mettre un accent particulier sur la production des plants à croissance rapide d'essences autochtones diverses pour l'enrichissement de la diversité biologique auparavant dégradée. En revanche, il est important de régler définitivement le problème d'ancrage institutionnel dans le sens de confier la gestion des forêts classées à des structures pérennes et non à des projets dont la durée de vie est éphémère.

Vulnérabilité des unités de l'occupation du sol

De toutes ces unités d'occupation des sols, les forêts denses semi-décidues ont été les plus vulnérables à la perte de superficie et le niveau de vulnérabilité des unités d'occupation du sol est fonction de la période. La vulnérabilité des forêts denses semi-décidues pourrait s'expliquer par des prélèvements fréquents, des essences de valeurs pour le bois d'œuvre par des exploitants illégaux. Cette vulnérabilité s'explique aussi par la déforestation pour accroître la production agricole. L'administration forestière a été démissionnaire de son véritable rôle de protection et de surveillance de ces aires protégées, par manque de ressources convenables. Pour Rifai *et al.* (2018), les défrichements en vue de l'installation de nouveaux champs, mais aussi l'installation de nouvelles plantations sont à la base de la baisse des superficies des formations forestières naturelles. La mise en place des plantations pour combler les vides laissés par la déforestation améliore le couvert végétal, mais contribue à l'érosion de la biodiversité. La vulnérabilité de ces formations naturelles qui regorgent d'une forte diversité d'espèces constitue une menace pour la conservation de la biodiversité et des habitats. Les résultats de Bouko *et al.* (2007) ont montré l'impact négatif de l'expansion agricole sur la conservation de la diversité spécifique: la pression des activités agricoles et de l'installation des plantations mono-spécifiques sur les formations forestières naturelles diminue de manière significative la richesse spécifique de la flore ligneuse et désorganise la structure naturelle des peuplements (Bouko *et al.*, 2007). Cette désorganisation de la structure naturelle conduit à une fragmentation reconnue comme étant une menace majeure pour la biodiversité à l'échelle mondiale (Fahrig, 2002 ; Yeo *et al.*, 2013). Pour pallier à la perte de la biodiversité, il paraît donc nécessaire de mettre en place une bonne politique de gestion efficace de l'existant d'une part, mais également de restauration naturelle des ressources floristiques déjà existantes dans les écosystèmes forestiers.

CONCLUSION

Cette étude a mis en évidence les changements spatiaux et la vulnérabilité des unités d'occupation des terres dans la forêt classée de Pénésoulou de 1995 à 2005 et de 2005 à 2015. Les savanes arborées et arbustives, les champs et les jachères ont régressé au profit des formations forestières naturelles et des plantations de 1995 à 2005 suggérant un renforcement des actions de reforestation, de restauration et de surveillance. La tendance inverse s'observe de 2005 à 2015, les champs et les jachères ainsi que les habitations ont une forte expansion au détriment des forêts denses semi-décidues et des forêts claires. La dégradation et la déforestation se sont accentuées au cours de cette période. Les forêts denses semi-décidues, les forêts galeries et les forêts claires ont été les plus vulnérables. La tendance alarmante pour la sauvegarde de la biodiversité de cette forêt est due au changement ou arrêt des actions de conservation impliquant la population locale. Cette intégration est occasionnée par l'intervention des projets de restauration dans la commune de Bassila. Les enjeux majeurs pour la

conservation de la biodiversité que regorge la forêt classée de Pénésoulou en particulier et les réserves forestières en général nécessitent le renforcement de la surveillance et l'inclusion des actions de restauration participatives via des espèces autochtones dans les plans d'aménagement forestier. Il paraît important de poursuivre l'étude (année 2025) afin de voir la tendance suite à la mise de la forêt sous la gestion de l'Office National du Bois aux fins de projeter des recommandations plus judicieuses, notamment en ce qui concerne l'ancrage institutionnel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adjonou K., Ali N., Kokutse A.D., Segla K.N. and Kokou K. (2010). Étude de la dynamique des peuplements naturels de *Pterocarpus erinaceus* Poir. (Fabaceae) surexploités au Togo Bois et Forêts des Tropiques. 306 (4), 45-56.

Adomou A.C. (2005). Vegetation patterns and environmental gradients in Benin: Implications for biogeography and conservation. PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands, 150p.

Ahononga F.C., Awessou B. K., Kouton M.D., Plagbéto, H.A., Orékan, O.V., Toko Imorou, I., Pinet, C and Mertens, B. (2021). Atlas cartographique de la dynamique de l'occupation du sol au Bénin entre 2005 et 2015. 338 p.

Ahononga F.C., Gouwakinnou G.N., Biaou S.S.H and Biaou S. (2020). Vulnérabilité des terres des écosystèmes du domaine soudanien au Bénin de 1995 à 2015. Bois et Forêts des Tropiques, 346 : 35-50. Doi : <https://doi.org/10.19182/bft2020.346.a36295>

Amagnide A.G., Salako V., Hounsode M.D., Sinsin F., Orékan V., Dan C and Kakaï R.G. (2015). Ecological consequences of anthropogenic pressure in Wari-Marou Forest Reserve (Benin, West Africa). Journal of Agriculture and Environment for International Development (JAEID), 109(2), 271-290. doi:10.12895/jaeid.20152.363.

Amahowe O.I., Azihou A.F., Armand N.K., Biaou S.S.H., Séverin B., Dieu-Donné A and Salomon B. (2018). Constraints of seedling survival and recruitment under adult tree of a multi-use species *Azizelia africana* Sm and Pers in Sudanian region of Benin (West Africa). Agroforestry Systems, 93(3), 1147-1156. doi: 10.1007/s10457-018-0218-6

Arouna O., Etene C.G and Issiako D. (2016). Dynamique de l'occupation des terres et état de la flore et de la végétation dans le bassin supérieur de l'Alibori au Bénin. Journal of Applied Biosciences, 108, 10543-10552. doi: 10.4314/jab.v108i1.7.

Bouko B.S., Sinsin B and Soulé G.B. (2007). Effets de la dynamique d'occupation du sol sur la structure et la diversité floristique des forêts claires et savanes au Bénin. Tropicicultura, 25(4) : 221-227.

Biaou S., Houeto F., Gouwakinnou G., Biaou S.S.H., Awessou B., Tovihessi S and Tete R. (2019). Dynamique spatio-temporelle de l'occupation du sol de la forêt classée de Ouénou-Béno au Nord Bénin. Des images satellites pour la gestion durable des territoires en Afrique, 22. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02189367>.

Blomley T., Pflieger K., Isango J., Zahabu E., Ahrends A and Burgess N. (2008). Seeing the wood for the trees : An assessment of the impact of participatory forest management on forest condition in Tanzania. Oryx, 42(3), 380-391.

Bogaert J., Barima Y.S., Iyongo W.M.L., Bamba I., Mama A., Toyi M and Lafortezza R. (2011). Forest fragmentation : Causes, ecological impacts and implications for landscape management. Landscape Ecology in Forest Management and Conservation, 273-296.

Brondizio E.S., Settele J., Díaz S and Ngo H.T. (2019). Global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES Secretariat: Bonn, Germany.

Chidumayo E and Marunda C. (2010). Dry forests and woodlands in subSaharan Africa : Context and challenges. In The dry forests and woodlands of Africa : Managing for products and services. (p. 1-9).

Correa Ayram C.A., Mendoza M.E., Etter A and Salicrup D.R.P. (2016). Habitat connectivity in biodiversity conservation : A review of recent studies and applications. Progress in Physical Geography, 40(1), 7-37.

FAO. (2020). FAO - Nouvelles : Rapport de l'ONU : La diminution des forêts mondiales souligne l'urgence de sauvegarder leur biodiversité. <http://www.fao.org/news/story/fr/item/1276964/icode/>.

FAO and PNUE. (2020). Forêts, biodiversité et activité humaine. <https://doi.org/10.4060/ca8642fr>

Fahrig L. (2002). Effect of habitat fragmentation on the extinction threshold: a synthesis, Ecological Applications, 12(2), 346-353. doi: 10.1890/1051-0761(2002)012[0346:EO HFOT]2.0.CO;2

Gbedahi O.L.C., Biaou S.S.H., Mama A., Gouwakinnou G.N and Yorou N.S. (2019). Dynamique du couvert végétal à Bassila au nord Bénin pendant et après la mise en œuvre d'un projet d'aménagement forestier. Int. J. Biol. Chem. Sci. 13(1): 311-324. doi: 10.4314/ijbcs.v13i1.25.

Gouwakinnou G.N., Biaou S., Vodouhe F.G., Tovihessi M.S., Awessou B.K and Biaou, H.S.S. (2019). Local perceptions and factors determining ecosystem services identification around two forest reserves in Northern Benin. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 15(1), 61. doi: 10.1186/s13002-019-0343-y

Haddad N., Brudvig L., Clobert J., Davies K., Gonzalez A., Holt R., Lovejoy T., Sexton J., Austin M., Collins C., Cook W., Damschen E., Ewers R., Foster B., Jenkins C., King A., Laurance W., Levey D., Margules C and Townshend J. (2015). Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. Sci Adv, 1:e1500052.

Hassan Z., Shabbir R., Ahmad S.S., Malik A.H., Aziz N., Butt A., and Erum S. (2016). Dynamics of land use and land cover change (LULCC) using geospatial techniques : A case study of Islamabad Pakistan. SpringerPlus, 5(1), 812. doi:10.1186/s40064-016-2414-z

Houessou L.G., Tekla O., Imorou I.T., Lykke A.M and Sinsin B. (2013). Land use and land-cover change at " W" Biosphere Reserve and its surroundings areas in Benin Republic (West Africa). Environment and Natural Resources Research, 3(2), 87.

Imorou I.T., Arouna O., Zakari S., Djaouga M., Thomas O., Kinmadon G., Imorou I.T., Arouna O., Zakari S., Djaouga M and Thomas O. (2019). Évaluation de la déforestation et de la dégradation des forêts dans les aires protégées et terroirs villageois du bassin cotonnier du Bénin To cite this version :

HAL Id : Hal-02189556

Iwuji M.C., Ibe C.P., Njoku J.D., Anyanwu S.O., Amangabara G.T., Ac-Chukwuocha N and Ukaegbu K.O.E. (2017). Analysis of Land Use and Land Cover Dynamics in Orlu , Nigeria Analysis of Land Use and Land Cover Dynamics in Orlu , Nigeria. 4(1), 1-10. doi: 10.9734/AJEE/2017/34144

Kouagou M., Ahouandjinou E.B.O., Biao S.S.H., Keita N.T and Natta K.A. (2019). Impact of fragmentation on tree diversity, density and structure of *Pentadesma butyracea* Sabine Clusiaceae population in Benin (West-Africa). International Journal of Biological and Chemical Sciences, 12(5), 1965. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i5.1>

Mama A, Sinsin B., Cannière C.D and Bogaert J. (2013). Anthropisation et dynamique des paysages en zone soudanienne au nord du Bénin. *Tropicicultura*, 31 (1), 78-88

Mama A., Ismaila T.I., Valentin K and Sinsin B. (2015). Dynamique de l'occupation du sol dans le Parc National du W et sa périphérie au nord-ouest du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(6): 2608-2625 doi: 10.4314/ijbcs.v8i6.22

Mamane B., Amadou G., Barage M., Comby J and Ambouta J.M.K. (2018). Dynamique spatio-temporelle d'occupation du sol dans la Réserve Totale de Faune de Tamou dans un contexte de la variabilité climatique (Ouest du Niger). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1667-1687.

Mawenda J and Watanabe T. (2020). Sustainability An Analysis of Urban Land Use / Land Cover Changes in Blantyre City , Southern Malawi (1994 – 2018). *Sustainability*, 12(6), 2377. doi : 10.3390/su12062377

MEHU (2012). Politique Frestière Nationale (Bénin). 54p. <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ben143679.pdf>

Melo F.P., Pinto S.R., Brancalion P.H., Castro P.S., Rodrigues R.R., Aronson J and Tabarelli M. (2013). Priority setting for scaling-up tropical forest restoration projects : Early lessons from the Atlantic Forest Restoration Pact. *Environmental Science & Policy*, 33, 395-404.

Rifai N., Khattabi A., Moukrim S., Arahou M., Rhazi L. (2018). Évaluation de la dynamique de l'occupation du sol dans la zone humide RAMSAR de Tahaddart (Nord-Ouest du Maroc). *Revue d'Écologie (La Terre et la Vie)*, 73 (2) : 142-152. <http://hdl.handle.net/2042/66101>

RGPH-4, 2013. (2016). Principaux indicateurs socio démographiques et économiques (p. 27).

Sanon Z., Yameogo J.T., Rabiou H and Hien M. (2019). Pression anthropique et dynamique des peuplements de *Isobertia doka* Craib et Stapf et *Isobertia tomentosa* (Harms) Craib et Stapf dans le domaine soudanien du Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical*

Sciences, 13(2), 911. doi: 10.4314/ijbcs.v13i2.27

Schipper A.M., Hilbers J.P., Meijer J.R., Antão L.H., Benítez-López A., Jonge M.M.J. de Leemans L. H., Scheper E., Alkemade R., Doelman J.C., Mylius S., Stehfest E., Vuuren D.P. van Zeist W.J. van and Huijbregts, M. A. J. (2020). Projecting terrestrial biodiversity intactness with GLOBIO 4. *Global Change Biology*, 26(2), 760-771. doi: 10.1111/gcb.14848

Schwartz N.B., Uriarte M., Defries R., Gutierrez-Velez V.H and Pinedo-Vasquez M.A. (2017). Land-use dynamics influence estimates of carbon sequestration potential in tropical second-growth forest. *Environmental Research Letters*, 12(7). doi:10.1088/1748-9326/aa708b

Shrestha K.B., Måren I.E., Arneberg E., Sah J.P and Vetaas O.R. (2013). Effect of anthropogenic disturbance on plant species diversity in oak forests in Nepal, Central Himalaya. *International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services and Management*, 9(1), 21-29. doi:10.1080/21513732.2012.749303.

Sikuzani Y.U., Boisson S., Kaleba S.C., Halleux J and Bogaert J. (2020). Dynamique de l'occupation du sol autour des sites miniers le long du gradient urbain-rural de la ville de Lubumbashi , RD Congo. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 24(1), 14-27.

Temgoua L.F., Allaissem B., Tchamba M., Saradoum G., Osée M. M and Solefack M.C. M. (2018). Spatio-Temporal Dynamic of Land Use and Land Cover in the Classified Forest of Djoli-Kera, South-Eastern, Chad. *Open Journal of Forestry*, 8(3), 283-296.

Voreux C. (2015). La gestion durable des forêts tropicales. De l'analyse critique du concept à l'évaluation environnementale des dispositifs de gestion. *Bois & Forêts des Tropiques*, 325, 85-87.

Wasseige C., de Devers D., de Marcken P., Eba'a Atyi R and Mayaux P. (2009). Les forêts du Bassin du Congo. État des forêts 2008. Luxembourg, Office des publications de l'Union européenne, 426 p. doi:10.2788/32456.

Yeo K., Tiho S., Ouattara K., Konate S., Maurice L. M. (2013). Impact de la fragmentation et de la pression humaine sur la relique forestière de l'Université d'Abobo-Adjamé (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 61 : 4551-4565.

Yue S., Munir I.U., Hyder S., Nassani A.A., Qazi Abro M.M and Zaman, K. (2020). Sustainable food production, forest biodiversity and mineral pricing : Interconnected global issues. *Resources Policy*, 65, 101583. doi: 10.1016/j.resourpol.2020.101583

Zhang J., Niu J., Bao T., Buyantuyev A., Zhang Q., Dong J and Zhang X. (2014). Human induced dryland degradation in Ordos Plateau, China, revealed by multilevel statistical modeling of normalized difference vegetation index and rainfall time-series. *Journal of Arid Land*, 6(2), 219-229.

***Cucumber Mosaic Virus* and their associated satellite RNAs infecting banana (*Musa sp.* Genomic group AAA) in Côte d'Ivoire : A molecular characterization.**

Dominique Koua^{1*}, Anicet Ebou^{1*}, Theodore K. Kouadio², Philippe Lepoivre³, Sébastien Massart³, Thérèse A. Agneroh²

Abstract

In Côte d'Ivoire, banana (*Musa sp.*) ranks third among exportation products and represents 3% of the Gross Domestic Product with a national production of up to 500000 tons in 2019. Banana is subject to numerous disease agents among which viruses cause significant losses. To figure out the impact of viruses in Ivorian industrial banana fields, surveys were conducted in the 7 main banana production departments. A total of 260 leaf fragments presenting viral symptoms were collected and analyzed. From the 65 leaf fragments used for biological indexing, 14 showed symptoms related to *Cucumber mosaic virus* (CMV). CMV presence was confirmed by a double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay using CMV polyclonal antibodies. CMV strains we isolated appeared to be highly infectious and to produce various symptoms like mosaic, chlorosis, and necrotic spots on *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*, and *Nicotiana tabacum*. Satellite RNAs (SatRNAs) associated with CMV isolates were also detected using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with a degenerate primer pair. CMV's coat protein and satRNAs were sequenced. Novel Ivorian coat proteins and satRNAs were compared to publicly available CMV sequences from GenBank. We noticed a single amino acid substitution (Serine to Leucine) at position 73 of the novel coat protein that allowed us to divide Ivorian CMV strains into two groups. Molecular and phylogenetic analysis suggested that Ivorian strains might be classified into CMV Subgroup IA. We also discovered that satellite RNA associated with Ivorian CMVs form a separate clade.

Keywords : *Cucumber mosaic virus*, protein coat, micro-satellite RNA, *Musa sp.*, Côte d'Ivoire.

Résumé

***Cucumber Mosaic Virus* et ces ARN satellites associés infectant la banane (*Musa sp.* groupe génomique AAA) en Côte d'Ivoire : Une caractérisation moléculaire.**

En Côte d'Ivoire, la banane (*Musa sp.*) est le troisième produit d'exportation et représente 3 % du produit intérieur brut avec une production nationale atteignant 500 000 tonnes en 2019. Cependant, la banane est sujette à de nombreuses maladies virales qui provoquent des pertes importantes. A cet effet, une étude a été menée dans les bananeraies industrielles Ivoiriennes des 7 principaux départements de production. Au total, 260 fragments de feuilles présentant des symptômes viraux ont été collectés et analysés. Sur les 65 échantillons utilisés pour l'indexation biologique, 14 présentaient des symptômes liés au virus de la mosaïque du concombre (CMV). La présence du CMV a été confirmée par un test DAS-ELISA utilisant des anticorps polyclonaux du CMV. Les souches de CMV isolées semblaient très infectieuses et produisent divers symptômes tels que la mosaïque, la chlorose et des taches nécrotiques sur *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo* et *Nicotiana tabacum*. Des ARN satellites (satRNA) associés à des isolats de CMV ont également été détectés par RT-PCR. La protéine capsidaire du CMV ainsi que les satRNA ont été séquencés et comparés aux séquences de CMV disponibles publiquement dans GenBank. Une seule substitution d'acide aminé (de la sérine à la leucine) a été identifiée à la position 73 de la nouvelle protéine capsidaire et a permis de diviser les souches de CMV en deux groupes. De plus, l'analyse phylogénétique a suggéré que les souches Ivoiriennes appartiennent au sous-groupe IA des CMV et que les satRNAs qui leur sont associés forment un clade distinct.

Mots-clés : *Cucumber mosaic virus*, protéine capsidaire, ARN microsatellite, *Musa sp.*, Côte d'Ivoire.

¹ Equipe Bioinformatique, Département de Formation et de Recherche Agriculture et Ressources Animales, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

² Laboratoire de Phytopathologie Intégrée et Urbaine, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgium

³ Laboratoire de Phytopathologie et de Biologie Végétale, Département de Formation et de Recherche Agriculture et Ressources Animales, Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.

* Corresponding author: Dominique Koua, dominique.koua@inphb.ci, Anicet Ebou, ediman.ebou@inphb.ci

INTRODUCTION

Bananas (*Musa spp.*) are one of the most important fruit crops in the world both in terms of production volume and trade (FAO, 2014). Nevertheless, only around 13% of bananas produced are globally traded showing their importance in food security and domestic markets (Lescot, 2013). Côte d'Ivoire is the first African exporter of bananas to European countries (FAOSTATS, 2020). Banana represents 3% of the Gross Domestic Product (GDP) of the country. The banana sector represents 9,000 direct jobs and 35,000 indirect jobs in Côte d'Ivoire. With a production of nearly 450,000 tonnes of bananas in 2019, Côte d'Ivoire is at the forefront of African producing countries and records a turnover of 145 billion CFA francs. Banana is therefore of importance for the national economy of Côte d'Ivoire. Nevertheless, several

banana pests and diseases are a global threat to global food security (Blomme et al., 2017).

CMV is one of the top ten plant viruses in plant pathology and is reported to infect more than 1200 plant species in over 100 families, both monocots and eudicots: fruit crops, vegetables, and ornamental, including banana (Scholthof et al., 2011). *CMV* belongs to the genus *Cucumovirus* and the family of *Bromoviridae*. *CMV* is a positive sense RNA plant virus with a tripartite genome (Jacquemond, 2000; Kim et al, 2011; Roossinck et al., 1999). This genome encodes five proteins: the 1a and 2a proteins are encoded by RNA1 and RNA2 respectively and are obligatory for viral replication. The 2b protein is encoded by a subgenomic RNA (RNA4A) from RNA2, and functions as a viral suppressor of RNA silencing (Qiu et al, 2018). RNA3 is bicistronic: the protein

encoded by the 5' open reading frame (ORF) is the designated movement protein, while the coat protein (CP) encoded by the 3' ORF is translated from a subgenomic RNA4 synthesized de novo from RNA3 minus-strand progeny (Owen et al., 1990). CMV strains are broadly divided into two subgroups (I and II) based on nucleotide sequence homology. CMV strains in the same subgroup share a high degree of sequence similarity (Lin et al., 2003). Several CMV strains discovered on bananas from Latin America have already been described by proteomics and phylogenetics (Kim et al., 2011, Owen et al., 1990; Lin et al., 2003; Dubey et al., 2010; Hsu et al., 1995; Hord et al., 2001) but very few analyses have been carried out on strains originating from West Africa. Although CMV has been well studied biologically (Aka et al., 2009) and from a molecular point of view in Asian and American countries, molecular and phylogenetic characterization of African CMV strains targeting banana crops is still missing.

CMV is not known as a major virus infecting bananas but causes notable losses and has been reported as one of the viruses infecting bananas in Cote d'Ivoire (Hord et al., 2001; Aka et al., 2009). The aim of this study was to investigate the incidence of CMV in industrial banana plantations and to characterize CMV isolates at the sequence levels. By the way, we identified satellite RNA associated with CMV and included the characterization of this satRNA in our study.

In this paper, we report one of the first molecular and phylogenetic based characterization of Ivorian CMV strains identified on banana Cavendish, cvs Great Naine, and William, AAA group. These results are based on the analysis of an exhaustive survey that led to the collection of 260 banana leaf fragments from symptomatic banana plants in the 7 main banana production areas of Côte d'Ivoire. After antibody-based virus detection, 14 leaf samples were used for PCR amplification and DNA sequencing, while 65 samples were used for biological indexing. In addition to classical biological comparison (description of induced symptoms on reporting plants) and nucleotide comparison of coat protein, we sequenced partially the detected micro-satellite of 15 CMV isolates.

MATERIALS AND METHODS

1. Sample collection and storage

Banana (variety Cavendish, cvs Great Naine and William, AAA group) leaf samples showing symptoms of possible viral etiology were collected in the seven major production areas from 2010 to 2011. Sampling sites are located in the South and South-East of the country and correspond to the banana production area around the main harbor, Abidjan (Figure 1).

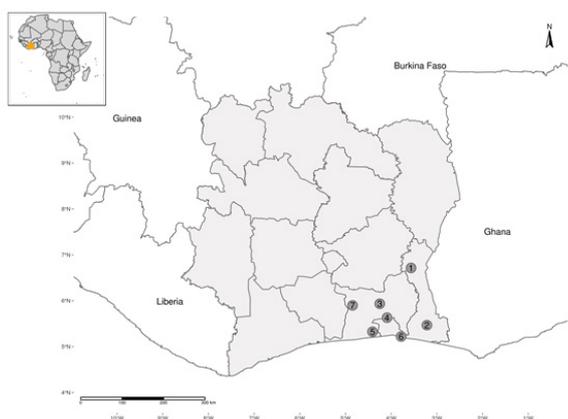


Figure 1. Location of sample collection areas in industrial banana plantations in Côte d'Ivoire. 1.

Abengourou (Lat: 6.7146399, Long: -3.5654096), 2. Aboisso (Lat: 5.4675302, Long: -3.2185867), 3. Agboville (Lat: 5.9342509, Long: -4.2500361), 4. Azagué (Lat: 5.6305067, Long: -4.0907336), 5. Dabou (Lat: 5.3242556, Long: -4.4098582), 6. Grand-Bassam (Lat: 5.2198516, Long: -3.7821731), 7. Tiassalé (Lat: 5.8985662, Long: -4.8458078)

Visited industrial plantations were 80 to 700 ha. Each plantation is divided into blocks and each block into squares. We defined collection spots in the different squares. The number of sampling spots was a function of the initial size of the visited plantation. This number ranged from 3 (for a square of 0,5ha) to 10. For each sampling spot, the number of collected plant fragments was a function of the importance of observed virus-linked symptoms. For each spot, symptomatic and asymptomatic samples were collected and tagged.

A total of 260 bananas leaves were collected in industrial plantations by investigating the symptomatic plants in the previously detected square fields (Table 1). A sample consisted of fragments of a leaf demonstrating one or more symptomatic traits. On the field, samples were placed in a plastic bag, assigned a code, and stored in dried ice. Laboratory storage conditions consisted of a freezer at -20°C. The second part of each sample was kept desiccated on calcium chloride.

Table 1. Summary of sample collections in industrial plantations by location

Sample site	Visited squares	Squares with symptomatic plant	Collected samples
Abengourou	6	3	14
Aboisso	3	3	39
Agboville	7	6	36
Azaguie	8	3	29
Dabou	10	7	55
Grand Bassam	9	5	38
Tiassale	8	6	49
Total	51	33	260

2. Virus detection and sequencing

CMV detection was performed using three complementary approaches: double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (DAS-ELISA), biological indexing, and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

DAS-ELISA was carried out using the Loewe Phytodiagnostica GmbH kit (Sauerlach, Germany). The kit contains two polyclonal antibodies with their related conjugates that are coupled to alkaline phosphatase and also includes positive and negative probes as well as sensitization, extraction, and cleansing buffers. These antibodies (anti-CMV) can detect the two groups of CMV. Leaf samples, stored at -20°C, were defrosted and crushed with a manual ball extractor (AGDIA, France). The grinding was done with a ratio of 0.5 g of sample per 5 ml of the extraction buffer. Settled and clarified juice (kept on ice) was then collected in tubes for antibody detection. Antibody detection was conducted following the manufacturer's recommendation. Optic density was determined using an ELISA plate reader (Titertek Multiskan) after 1 and 2 hours of incubation in darkness. A sample was considered positive when the absorbance (at 405 nm) was greater than 2 times the average absorbance of reference samples (false positive and true negative) (Ayo-John et al., 2008; Sutula et al., 1986).

Molecular detection of CMV using RT-PCR was carried out using specific primers CMV 3': TTTTAGCCGTAAGCTGGATGGACAACCC and CMV 5': TATGATAAGAAGCTTGTTCGCGCA (Sharman et al., 2000; Bariana et al., 1994).

One milliliter of extraction buffer (137 mM NaCl; 8 mM Na₂HPO₄; 1.5 mM KH₂PO₄; 2.7 mM KCl; 80 mM Na₂SO₃; 3 mM Na₃PO₃; 0.05% Tween 20 – pH 7.2) was added in a grinding bag to 50 mg of dried leaves or 2 ml added to 0.5 g of fresh leaves. After 15 minutes of soaking the dried samples or immediately for fresh leaves, samples were crushed with an electric ball mill (Power Plus X022). Settle clarified juice was diluted 100 times with sterile distilled water. For RT-PCR amplification of nucleic acid sequences, reactions were made in volumes of 25 µl (20 µl of the reaction mixture + 5 µl of the sample corresponding to diluted crude extract) using the Titan RT-PCR kit (Roche, Mannheim, Germany). A reaction mixture was composed of 5 µl of Buffer (5x Concentrate) Titan RT-PCR, 0.5 µl of dNTP, 0.5 µl CMV 3' (25 µM), 0.5 µl CMV 5' (25 µM), 1.25 µl of DTT (100 mM), 0.5 µl of Titan mixed enzyme, and 11.75 µl of sterile distilled water, i.e. 20 µl by mix. All amplification reactions included both negative and positive controls from banana plants grown in greenhouses as well as Blanco made up of sterile distilled water. Amplification cycles were performed using a My Cycler™ (Biorad, USA) following this program: 50°C for 30min, 94°C for 5min, 40 cycles of 94°C for 30sec, 54°C for 60sec, 72°C for 2min then 72°C for 10min. The last step consisted of the revelation of amplification products on agarose gel 1% (1 g agarose per 100 ml of buffer Tris, Acetate, EDTA (TAE) 1 x) containing 10 µl of Ethidium bromide (BET), in TAE buffer 1 x. Electrophoresis migration was carried out under a constant current of 120 mA for 45 min. The gel was then visualized by UV lighting allowing the observation of amplified bands that were pictured using a digital camera.

CMV's satellite RNAs (satRNAs) identification was carried out by amplification of nucleotide sequences by RT-PCR following the procedure described above but using primers proposed by Gafny et al. (Gafny et al., 1996) and Nouri et al. (Nouri et al., 2014). These primers include header and tail sequences found in all known CMV satRNA and deposited at the National Center for Biotechnology and Information (NCBI) Genbank. A positive control, CMV strain with satellite RNA (DSMZ collection: PV-0029 and PV-0092, Germany), and negative control (CMV strain without satellite RNA) were used. PCR products were purified with the Qiaquick PCR Purification kit (Qiagen, Benelux) and sent for sequencing using the Sanger dideoxy sequencing technology (MACROGEN Inc., Netherland). In all, 16 CMV isolates from the 7 sampling locations were sequenced from amplicons of genes partially coding for the coat protein and part of an untranslated region (UTR) of the RNA3. For the sequencing of satellite RNA, 15 RNA satellite isolates were selected from amplification and purification results.

3. Indicator plant inoculation

The biological indexing was carried out by mechanic infection of *Cucumis sativus cv Poinsett Pepino*, *Cucurbita pepo Linn. cv Precose Maraichère*, and *Nicotiana tabacum cv. Samsun*. Three test plants were used per virus isolate. Mechanical inoculation took place at the two-leaf cotyledon stage for Cucurbits (cucumber, courgette) and at the 4-6 leaf stage for tobacco plants. Banana leaf samples were ground in a bag containing phosphate buffer at pH 7.2 (KH₂PO₄ 0.05 M; DIECA 0.01 M) in a ratio of 1:5 (g: ml) for samples stored at -20°C and 1:10 (g: ml) for dried samples. The shred was clarified and collected in a Petri dish, then a pinch of carborundum and a pinch of activated carbon was added. After wearing new gloves for each manipulated plant to avoid any contamination, healthy plant leaves previously sprinkled with carborundum were inoculated by rubbing their top face

with a finger moistened in the inoculum. The inoculated leaves were immediately rinsed with distilled water and inoculated plants were shade-stored in a greenhouse for 24 hours: (25°C, 16 hours of auxiliary lighting at the phytopathology laboratory, Gembloux) or in anti-insect cages (ambient temperature average of 30°C at the phytopathology laboratory, INP-HB). Two CMV isolates from the DSMZ collection (DeutscheSammlung Von Mikroorganismen und Zell-kulturen, PV-0029 and PV-0092; Germany) and healthy plants were used as positive and negative controls respectively. All plants (inoculated or not) were regularly watered and monitored during 30-35 days.

4. Sequence analyses

Data issued from sequencing were visualized using multiple sequence alignment obtained from Clustal Omega (Sievers et al., 2014). Similarity searches were realized using the BLASTN program from the BLAST suite (Camacho et al., 2009) and using NCBI GenBank non-redundant nucleotide database as the search database (downloaded and compiled in December 2019). Phylogenetic trees were built using the maximum-likelihood method with 1000 bootstrap replicates under the MEGA 7 software (Kumar et al., 2018). A data set containing 49 sequences from the different CMV subgroups (S1 Table) and 1 sequence used as the outgroup (ER-PSV: U15730) were used to build the CMVs proteins coat tree. A data set of 50 sequences from known CMV's satRNAs (S2 Table) was used for the satRNAs tree. Phylogenetic trees were visualized using iTOL v4 (Letunic and Bork, 2019).

RESULTS

5. Symptoms observation and CMV detection

Virus presence was detected by measuring the absorbance of a solution of clarified leaf juice incubated with antibodies (DAS-ELISA). The serological tests were performed using a negative and positive control for each ELISA plate. The range of optical densities for the negative controls was 0.09 to 0.12 and for the positive controls 2.65 to 3.32. The optical densities of all samples tested ranged from 0.10 to 3.47. The samples reported as positive are those for which the optical density is greater than twice that of the negative controls, i.e. 0.18 to 0.24. DAS-ELISA realized on symptomatic leaves therefore allowed to confirm the presence of CMV: 85.7% of the sample from Abengourou (East) were positive to CMV and 100% for samples from Aboisso (south-East). Table 2 summarizes, for each sample place, percentages of symptomatic banana samples that appeared to be positive to CMV.

Table 2. Percentages of symptomatic banana samples positive to CMV, by sampling sites.

Location	Number of symptomatic samples	Positive to CMV	CMV infected sample percentage
Aboisso	39	39	100
Abengourou	14	12	85.7
Agboville	36	33	91.6
Azaguie	29	28	96.5
Dabou	55	52	94.5
Tiassale	49	48	97.9
Grand-Bassam	38	37	97.3
Total	260	249	95.7

The most common symptoms observed countrywide are chlorosis, mosaics, and leaf necrosis (Figure 2).



Figure 2. Some symptoms observed in industrial banana plantations. A: Cigar rot observed on the plant used for the BT2 sample in Tiassalé; B: Mosaic associated with leaf distortion [sample BT 7 taken in Tiassalé; C: Spindle-shaped chlorosis [sample SL16 collected in Dabou]; D: Leaf sheath or pseudostem rot [sample SP23 collected in Dabou]; E: Dwarfing of banana fingers (fruits) (sample BA6 taken in Abengourou); F: Mosaic accompanied by leaf curl [sample CA 13 taken in Aboisso].

Observations concerning the main symptoms associated with banana leaf samples positive to CMV are provided in Table 3.

Table 3. Symptoms associated with samples positive to CMV for each collection place

Location	Number of samples with the corresponding symptom (related percentage)							
	CL	M	FN	CR	LSR	DW	FD	LW
Tiassalé	45 (93.7)	30 (62.5)	32 (66.6)	6 (12.5)	1 (2)	3 (6.2)	3 (6.2)	2 (4.1)
Agboville	23 (69.6)	24 (72.7)	17 (51.5)	1 (3)	0 (0)	0 (0)	2 (6)	1 (3)
Dabou	46 (88.4)	35 (67.3)	38 (73)	9 (17.3)	4 (7.6)	9 (17.3)	6 (11.5)	0 (0)
Aboisso	37 (94.8)	34 (87.1)	28 (71.7)	7 (17.9)	0 (0)	10 (25.6)	3 (7.6)	16 (41)
Abengourou	8 (66.6)	12 (100)	5 (41.6)	5 (41.6)	0 (0)	1 (8.3)	1 (8.3)	0 (0)
Azaguié	27 (96.4)	23 (82.1)	15 (53.5)	2 (7.1)	0 (0)	1 (3.5)	1 (3.5)	0 (0)
Grand-Bassam	33 (89.1)	33 (89.1)	17 (45.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2.7)	1 (2.7)

Legend for symptoms: CL: chlorosis, M: mosaic, FN: foliar necrosis, CR: Cigar rot, LSR: Leaf sheath rot, DW: Plant dwarfism, FD: Foliar distortion; LW: Leaf winding. Percentage are indicated in brackets.

Along with DAS-ELISA validation, agarose gel electrophoresis allowed the visualization of RT-PCR products. Fragments of the expected size (950 bp) were identified in infected samples along with positive controls. RT-PCR test confirmed the serologic test for all but for the BT16 sample that finally appeared positive even though the ELISA test was negative. These results indicate that CMV was effectively present in 249 samples collected in the 7 areas known to be the major production sites of banana in the country.

6. Symptomatology on indicator plants

The symptom development on indicator plants was evaluated for CMV isolates. The positive controls caused symptoms of local chlorotic lesions 3-4 days after inoculation and yellow mosaics 8 days after inoculation on tobacco plants.

A total of 14 samples out of the 65 tested induced symptoms on the indicator plants. These symptoms included chlorosis and/or mosaic

associated with leaf puffiness (S3 Table). Symptoms appeared 4 to 5 days after inoculation on Cucurbits and 14 days after inoculation for tobacco plants. The following isolates produced symptoms: AZ1, AZ2, AZ3, AZ5, AZ13 from Azaguié; BM32 and BM40 from Grand-Bassam; AG6, AG10, AG20, AG24 from Agboville; BT18 from Tiassalé; SP24 from Dabou and CA26 from Aboisso. Figure 3 illustrates some of the observed symptoms on reporting plants (zucchini, cucumber, and tobacco).

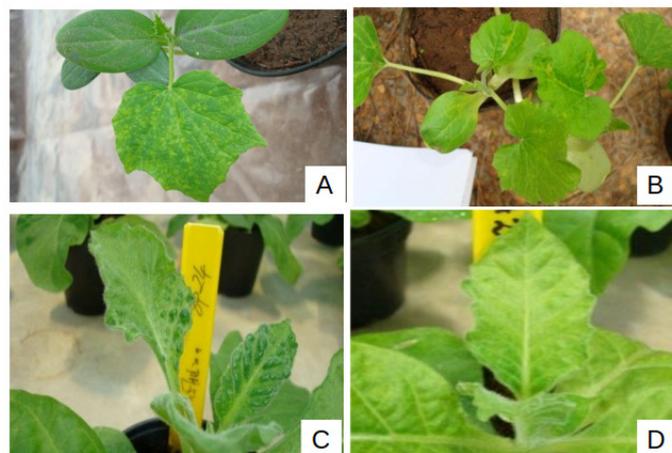


Figure 3. Symptoms observed on reporting plants after CMV's

biological indexing.

Top-right: Mosaic on a cucumber leaf inoculated with AZ1 isolate, 7 days after inoculation; Top-left: Chlorosis on Zucchini leaves inoculated with AZ2 isolate, observed 12 days after inoculation; Bottom-right: Chlorosis including blisters on leaves of *Nicotiana tabacum* inoculated with isolate SP24, observed 20 days after inoculation; Bottom-left: Mosaic on leaves of *Nicotiana tabacum* inoculated by isolate CA26, 20 days after inoculation.

7. Analysis of nucleotide sequence of CMV protein coats

Amplicons including a portion of the coat protein and the RNA3 3'-UTR of 16 samples were sequenced and resulted in 11 unique sequences that were further analyzed. Similarity scores are reported in Table 4.

Table 4: Similarity matrix between sequences of RNA3 3'-UTR of Ivorian CMV strains

	BM26	AZ6	AB15	ST17	AG6	ST18	AB12	BM32	AZ2	AG10	BT18
BM26	100	98.9	97.3	98.1	97.5	98.1	97.3	96.1	97.9	98.1	96.9
AZ6		100	98.3	98.1	98.1	99.1	96.9	96.9	98.3	98.7	97.7
AB15			100	96.9	97.1	97.9	96.7	97.3	97.3	97.7	97.1
ST17				100	97.7	98.3	96.7	96.7	96.7	97.1	96.3
AG6					100	98.1	96.5	96.5	97.5	97.1	98.9
ST18						100	97.1	96.5	97.7	97.7	98.1
AB12							100	97.3	96.1	96.7	96.3
BM32								100	96.1	96.3	95.9
AZ2									100	98.1	97.5
AG10										100	97.1
BT18											100

It appeared that Ivorian strains shares a similarity of at least 94,3%. The Basic Local Alignment (BLAST) analysis indicated that the sequence identified in this study share a similarity of 94% to 98% with CMV belonging to the CMV Subgroup IA. The tree resulting from the multiple sequence alignment is provided in Figure 4.

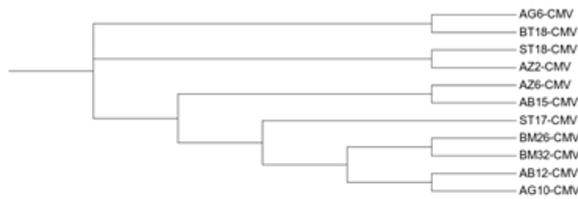


Figure 4. CMV's strains phylogenetic tree using Maximum Likelihood method and JTT matrix-based model.

The tree with the highest log likelihood is shown. A uniform rate is used among sites. The bootstrap consensus tree inferred from 1000 replicates is taken to represent the evolutionary history of the taxa we analyzed. Branches corresponding to partitions reproduced in less than 50% bootstrap replicates are collapsed.

The 11 distinct coat protein sequences were deposited in GenBank with accession numbers ranging from KC189911 to KC189921 (Table 5).

Table 5. List of identifiers of coat protein and satRNA sequence submitted to the NCBI GenBank Database

Strains reference	Collection place	GenBank identifier of Coat Protein	GenBank identifier of Satellite RNA
BM26	Grand-Bassam	KC189911	KC713593
AZ6	Azaguie	KC189912	MT968978
AZ15	Azaguie	KC189912	MT968984
AB15	Abengourou	KC189913	MT968985
ST17	Tiassale	KC189914	MT968977
AG6 / AG16	Agboville	KC189915	MT968975
ST18	Tiassale	KC189916	Not sequenced
AB12	Abengourou	KC189917	Not sequenced
BM13/ BM32	Grand-Bassam	KC189918	MT968976
BM15	Grand-Bassam	KC189918	MT968983
AZ2 / AZ36	Azaguie	KC189919	MT968979
AG10/ AG33	Agboville	KC189920	MT968980
BT18	Tiassale	KC189921	Not sequenced
SP16	Dabou	KC189919	MT968986
SP24	Dabou	KC189919	MT968988
SP30	Dabou	KC189919	MT968982
SP37	Dabou	KC189919	MT968981
SP39	Dabou	KC189919	MT968987

Multiple sequence alignment of Ivorian CMV coat protein sequences revealed a sequence similarity of at least 99%. The only difference between our sequences concerns position 73. We noticed an amino acid substitution: Serine to Leucine at position 73. The alignment of identified coat protein sequences is provided in Figure 5.

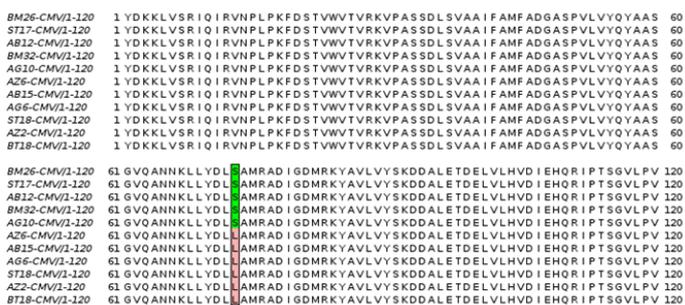


Figure 5. Multiple sequences alignment of Ivorian CMV strains. Amino acids at position 73 are colored following the Zappo color scheme.

Phylogenetic analysis combining Ivorian and worldwide CMV's strains showed KC189912 (AZ6) and KC189911 (BM26) sequences to be closely related to FC-CMV and BAN-CMV respectively. FC-CMV is originated in Israel and BAN-CMV was identified in the United States (Figure 6).

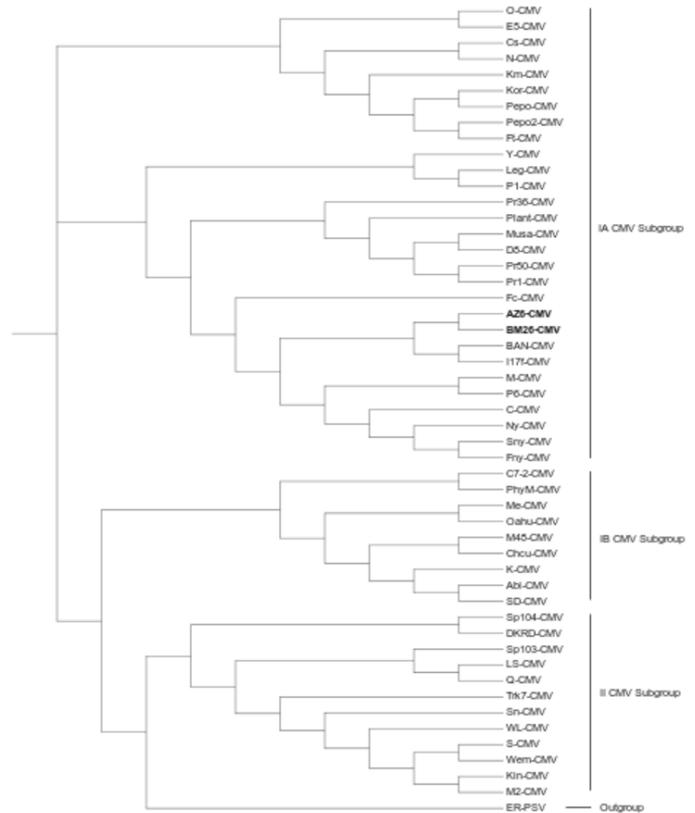


Figure 6. Estimation of Ivorian CMV's phylogenetic relationship with known CMVs using the Maximum Likelihood method and JTT matrix-based model.

Ivorian strains are in bold. The tree with the highest log-likelihood is shown. A uniform rate is used among sites. The bootstrap consensus tree inferred from 1000 replicates is taken to represent the evolutionary history of the taxa analyzed. Branches corresponding to partitions reproduced in less than 50% bootstrap replicates are collapsed.

8. Analysis of satellite RNA associated with Ivorian CMVs

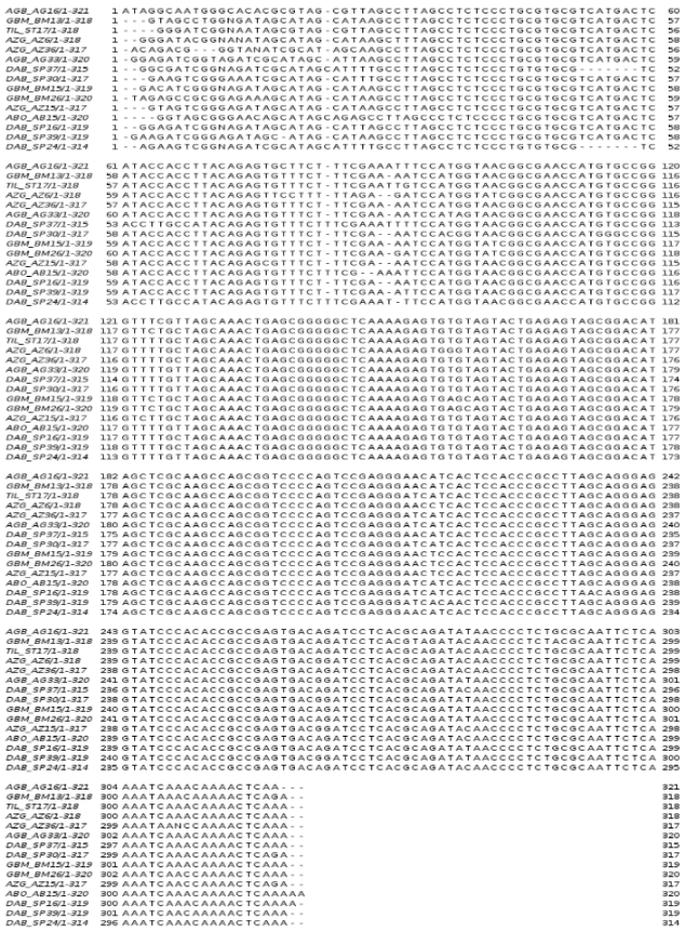
RT-PCR tests revealed the presence of satellite RNA (satRNAs) in 35 strains among the 249 isolates confirmed to present CMV. SatRNA occurrence in this study is about 14%. At least one strain with satRNAs was detected in each sampling place except the locality of Aboisso (Table 5).

Table 6. Proportions of CMV satellite RNAs detected in banana plantations

Location	Number of symptomatic samples	Positive to CMV	Rate of infected	Number of isolates with RNA satellite
Aboisso	39	39	100	0
Abengourou	14	12	85.7	2
Agboville	36	33	91.6	3
Azaguie	29	28	96.5	10
Dabou	55	52	94.5	12
Tiassale	49	48	97.9	6
Grand-Bassam	38	37	97.3	2
Total	260	249	95.7	35

Five samples (AZ1, AZ13, BM40, BT18, SP24) out of the fourteen that induced symptoms on reporting plants appeared to possess a satRNA.

The sequencing of satRNA amplicons resulted in 15 unique sequences of 314 to 321 nucleotides long (Figure 7). Ivorian satRNA sequences were deposited in Genbank and are available under accession numbers ranging from MT968975 to MT968988 and KC713593 (Table 5). Fragment of satRNA identified in this study share 93.04% to 96.52% similarity.



DISCUSSION

Côte d'Ivoire is the first African exporter of desert bananas (FAO, 2020). Our survey aimed to measure the real level of CMV occurrence in industrial banana plantations. A second goal was to achieve a proper molecular characterization of the concerned strains of the virus since symptoms observed on the field are sometimes very confusing. Our study focused on banana varieties including mainly Cavendish, cvs Great Naine, and William, AAA group.

On the basis of the symptoms observed on these banana plants, 260 leaf samples were collected. In the Ivorian industrial plantations visited, no symptomatic banana plants showed marginal chlorosis or tufted tops characteristic of the Banana bunchy top virus (BBTV). BBTV is a banana virus for which symptomatology is a reliable basis for diagnosis (Lokossou et al., 2012; Adegbola et al., 2013). BBTV is expanding rapidly in Africa (Kumar et al., 2011) and most recently it has been reported in Togo, Benin, and Nigeria (Kolombia et al., 2021; Lokossou et al., 2012; Adegbola et al., 2013). Although we have not observed these symptoms, we will have to be alert to the spread of BBTV in Africa.

Aka et al (2009) had already mentioned the occurrence of CMV in industrial banana plantations located in 3 departments (taken into account in our study) of Côte d'Ivoire. The identification of CMV in our collected samples shows that this virus is present in the 7 departments visited. The DAS-ELISA and RT-PCR tests carried out to confirm CMV infection in banana plantations have already been used by other authors (Aglave et al., 2007; Aka et al., 2009; Chou et al., 2009). Except for one sample, the results of the serological tests were confirmed by RT-PCR. RT-PCR is indeed more sensitive than DAS-ELISA (Hu et al., 1995). Symptoms observed such as chlorosis, mosaic, cigar rot, dwarfing and leaf deformations are similar to those caused by CMV on bananas already reported in Côte d'Ivoire (Aka et al., 2009), Nigeria (Ayo-John et al, 2008), India (Aglave et al., 2007) and Costa Rica (Hord et al., 2001). As biological indexing is often used to diagnose CMV, we inoculated 65 isolates showing symptoms of banana CMV on tobacco (*Nicotiana tabacum*) and Cucurbitaceae (*Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo*). While these samples were found to be infected on the basis of serological and molecular tests, our results show that the use of mechanical inoculation requires optimization of the protocol. In fact, only 14% of the samples used caused chlorosis or mosaics on the test plants one month after inoculation. The absence of symptoms following inoculation on these indicator plants could be due to inhibiting substances such as phenolic compounds from banana leaf extracts, the presence of asymptomatic leaves in the samples, or the combination of CMVs with other factors like abiotic stress and/or other viruses. The mechanical transmission of banana CMV isolates on indicator plants has often been difficult (Dheepa and Paranjothi, 2010) although some authors have done so more easily (Aglave et al., 2007; Chou et al., 2009). Compared to studies where only the biological indexing was carried out, our results demonstrate the relative difficulty to directly correlate results from biological indexing, serological data from DAS-ELISA, and genomic information from Sequencing. On the 65 infected samples (confirmed by both DAS-ELISA and amplicon sequencing) used to perform biological indexing, only 14 caused symptoms. This demonstrates, once again, the low reliability of biological

Figure 7. Multiple sequences alignment of satRNAs from Cote d'Ivoire.

We compute a tree with satRNA associated with Ivorian CMV and previously deposited satRNA sequences downloaded from Genbank. It appears that Ivorian satRNAs sequences clearly form a distinct clade (Figure 8).

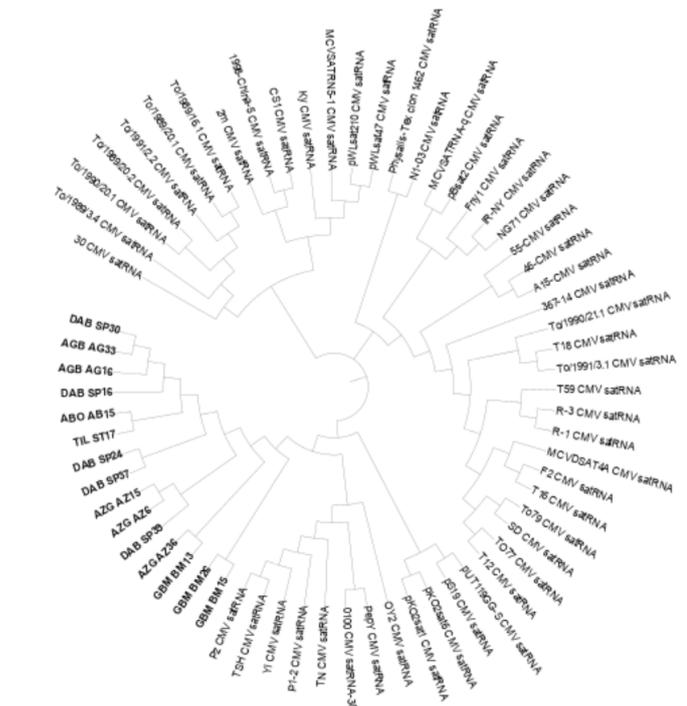


Figure 8. Estimation of Ivorian CMV-related satRNAs phylogenetic relationship with known satRNAs using the Maximum Likelihood method and Jukes-Cantor model.

The bootstrap consensus tree inferred from 1000 replicates is taken to represent the evolutionary history of the taxa analyzed. Branches corresponding to partitions reproduced in less than 50% bootstrap replicates are collapsed. A Gamma distribution was used to model the substitution rate with 5 discrete Gamma categories.

indexing compared to both DAS-ELISA and amplicon sequencing (Dubey et al., 2010; Gafny et al., 1996).

Molecular characterization by partial sequencing of the protein coat gene followed by phylogenetic analysis showed that 16 banana CMV isolates from 7 departments in Côte d'Ivoire belong to subgroup IA. In our work, Ivorian isolates with different biological properties on tobacco and Cucurbits (cucumber, courgette) belong to the same subgroup. The presence of only subgroup IA despite the variability between the Ivorian isolates could help in the long term in varietal resistance programs (Akhtar et al., 2010; Lu et al., 2011). Also included in this subgroup IA are CMV strains isolated from banana in Cameroon and Israel as well as CMV strains isolated from yam in Benin (Gafny et al., 1996; Eni et al., 2008). However, Hord et al. (2001) showed that in Costa Rica, bananas were infected by both CMV I and CMV II isolates. Furthermore, a high similarity score between coat protein sequences of Ivorian CMVs was recorded. In addition to considering this result as good conservation of the concerned strains, we also hypothesize that the observed CMV strains may have the same origin. Indeed, in Côte d'Ivoire, for new banana field installation, farmers actually take clones from their neighborhood, causing the spread of the viral infection from area to area. We, therefore, recommend farmers pay much attention to banana seeds. Systematic virus detection should be carried out prior to the introduction of seeds on farms. In this context, the DAS-ELISA protocol could be proposed since it is economically accessible to fruit companies and will avoid important production losses. Currently, symptomatic plants are detected one month after planting and replaced by healthy ones. However, in some cases, one month is already too late to avoid large contamination. Systematic detection before planting remains, to our opinion, the best-preventing strategy.

Based on a single amino acid difference in the protein coat sequences, we distinguished two groups in Ivorian strains. As previously established, it is worth mentioning that a single amino acid variation can induce different symptoms on plants: shifting from light green/dark mosaic to bright yellow/white chlorosis in tobacco (Shintaku et al., 1992) or causing white mosaic, pale green mosaic, veinal chlorosis, veinal necrosis, systemic necrosis, and necrotic local lesions and affect thylakoid structure (Mochizuki and Ohki, 2011). It is also worth indicating that we only partially sequenced the coat protein. The diversity and somehow inconsistency in symptoms observed during the field survey may reside in additional differences that would appear in the full-length coat protein sequence. This point should be considered for further studies on Ivorian CMV strains infecting *Musa spp.* trees. As indicated, we were not able to attribute particular symptoms to specific amino acid variation in Ivorian CMV based on biological indexing. Phylogenetic analysis showed that AZ6 (KC189912) and BM26 (KC189911) sequences are closed to E5-CMV and D8-CMV respectively, both coming from Japan. This result can be explained by the convergent evolution of CMV strains worldwide.

The search for satellite RNA by RT-PCR in the banana samples collected revealed the presence of these subviral RNAs in some of the CMV strains isolated from the 7 departments, except for one. The present study is, to the best of our knowledge, the first report of micro-satellite RNA sequences associated with CMV naturally occurring on *Musa sp.* in Côte d'Ivoire. In other countries, such as the USA and China, some authors have not found CMV

satRNAs in banana samples (Kearney et al., 1990; Chou et al., 2009) although Gafny et al. (1996) revealed that in banana plantations in Jordan Valley, Israel satRNAs was associated with CMV strains. Our study also showed that the presence of satRNAs had no effect on the nature of CMV symptoms in Ivorian banana plantations. Similarly, we did not find any link between the observation of symptoms and the presence of satRNAs in the CMV strain on the indicator plants used. However, molecular characterization of 15 satRNAs associated with the Ivorian CMV strains showed that the sequences contained oligonucleotides identical to those responsible for necrosis on tomatoes in Serbia, Croatia, Greece, and Italy (Stanković et al., 2021; Sleat et al., 1994; Skoric et al., 1996; Grieco et al., 1997; Valeri and Boutsika, 1999). Other work had revealed that necrogenic satellite RNAs on tomatoes could induce only chlorosis on tobacco or have no effect on melon (Garcia-Arenal and Palukaitis, 1999; Betancourt et al., 2011). However, biological indexing of satellite CMV-RNA strains on tomato plants would be timely to assess this necrogenic ability. Further molecular characterization by constructing and analyzing infectious clones will be required for a complete characterization of the impact of these satellites on pathogenicity. This point needs a deeper analysis along with the presence or absence of micro-satellite. Indeed, the presence of satRNA does not seem to influence pathogenicity: observed symptoms are almost the same in all collecting places including Aboisso where no satRNA was detected.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Prof. Agneroh for guidance, field, and lab work supervision. We thank technicians from the Gembloux Agro-Bio tech lab for guidance and assistance in lab works. We also acknowledge funding received from Gembloux Agro-Bio Tech. Many thanks to the fruit companies of Côte d'Ivoire for giving access to their fields for sample collection.

REFERENCES

- ABIDJAN.NET [Online Press article published on Dec 3rd 2019]. Banane dessert: la Côte d'Ivoire, 1er producteur africain avec près de 450 000 tonnes en 2019. Available at <https://news.abidjan.net/h/666652.html>
- Adegbola R.O., Ayodeji O., Awosusi O.O., Atiri G.I. and Lava P. (2013). First report of banana bunchy top virus in banana and plantain (*Musa spp.*) in Nigeria. *Plant Disease* 97 (2): 290.
- Aglave B. A., Krishnareddy M., Patil F.S. and Andhale M.S. (2007). Molecular Identification of a virus causing banana chlorosis disease from Marathwada region. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 3: 13-23.
- Aka A.R., Kouassi N.K., Agnéroh T.A., Amancho N.A. and Sangare A. (2009). Distribution et incidence de la mosaïque du concombre (cmv) dans des bananeraies industrielles au sud-est de la côte d'ivoire. *Sci Nat.* 6. doi:10.4314/scinat.v6i2.48670
- Ayo-John E.I., d'Arros H.J., Ekpo E.J.A. and Shoyinka S.A. (2008). A survey in Southern Nigeria reveals the presence of *Cucumber mosaic virus* subgroup I in *Musa* crops. *Fruits*. 63: 135–143. doi:10.1051/fruits:2008003
- Bariana H.S., Shannon A.L., Chu W.G. and Waterhouse P.M. (1994). Detection of five seedborne legume viruses in one sensitive multiplex polymerase chain reaction test. *Phytopathology*. 84: 1201–1205.

- Betancourt M., Fraile A. and Garcia-Arenal F. 2011. Cucumber mosaic virus satellite RNAs that induce similar symptoms in melon plants show large differences in fitness. *Journal of General Virology* 92: 1930-1938.
- Blomme G, Dita M, Jacobsen KS, Perez Vicente L, Molina A, Ocimati W, Poussier S, Prior P. Bacterial diseases of bananas and enset: current state of knowledge and integrated approaches toward sustainable management. *Front Plant Sci.* 2017;8:1290.
- Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., and Madden T., (2009). BLAST+: architecture and applications. *BMC Bioinformatics.* 10: 421. doi:10.1186/1471-2105-10-421
- Chou C.-N., Chen C.-E., Wu M.-L., Su H.-J. and Yeh H.-H. (2009). Biological and Molecular characterization of Taiwanese isolates of cucumber mosaic virus associated with banana mosaic disease. *Journal of Phytopathology* 157: 85-93.
- Dheepa R. and Paranjothi S. (2010). Transmission of cucumber mosaic virus infecting banana by aphid and mechanical methods. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 22(2): 117-129.
- Dubey V.K., Aminuddin, and Singh V.P. (2010). Molecular characterization of Cucumber mosaic virus infecting *Gladiolus*, revealing its phylogeny distinct from the Indian isolate and alike the Fny strain of CMV. *Virus Genes.* 41: 126–134. doi:10.1007/s11262-010-0483-6
- FAO. Banana market review and banana statistics 2012–2013. Market and policy analyses of raw materials, horticulture and tropical (RAMHOT) Products Team. Rome; 2014.
- FAOSTAT. [cited Sep 3rd 2020]. Available: http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country
- Garcia-Parental F. and Palukaitis P. (1999). Structure and functional relationships of satellite RNAs of cucumber mosaic virus. In: Vogt PK, Jackson AO, eds. *Satellites and defective Viral RNAs*. Berlin: Springer-Verlag Press, 37-63.
- Gafny R., Wexler A., Mawassi M., Israeli Y. and Bar-Joseph M. (1996). Natural infection of banana by a satellite-containing strain of cucumber mosaic virus: nucleotide sequence of the coat protein gene and the satellite RNA. *Phytoparasitica.* 24: 49–56. doi:10.1007/BF02981453
- Grieco F., Lanave C. and Gallitelli D. (1997). Evolutionary dynamics of cucumber mosaic virus satellite RNA during natural epidemics in Italy. *Virology* 229: 166-174.
- Hord M.J., Garcia A., Villalobos H., Rivera C., Macaya G. and Roossinck M.J. (2001). Field Survey of Cucumber mosaic virus Subgroups I and II in Crop Plants in Costa Rica. *Plant Dis.* 85: 952–954. doi:10.1094/PDIS.2001.85.9.952
- Hsu Y.-H., Wu C.-W., Lin B.-Y., Chen H.-Y., Lee M.-F. and Tsai C.-H. (1995). Complete genomic RNA sequences of cucumber mosaic virus strain NT9 from Taiwan. *Arch Virol.* 140: 1841–1847. doi:10.1007/BF01384346
- Hu J.S., Li H.P., Barry K., Wang M., and Jordan R. (1995). Comparison of dot blot, ELISA and RT-PCR assays for detection of two cucumber mosaic virus isolates infecting banana in Hawai. *Plant Disease* 79: 902-905.
- Jacquemond, M. (2000). Cucumber mosaic virus. *Adv Virus Res.* 84: 439–504. doi:10.1016/B978-0-12-394314-9.00013-0
- Kearney C. M., Zitter T. A. and Gonsalves D. (1990). A field survey for serogroups and the satellite RNA of cucumber mosaic virus. *Phytopathology* 80: 1238-1243
- Kim M.-K., Kwak H.-R., Lee S.-H., Kim J.-S., Kim K.-H., Cha B.-J. and Choi H.-S. (2011). Characteristics of Cucumber mosaic virus isolated from *Zea mays* in Korea. *Plant Pathol J.* 27: 372–377. doi:10.5423/PPJ.2011.27.4.372
- Kolombia, Y., Oviasuyi, T., Ayisah, K.D., Ale Gonh-Goh, A., Atsu, T., Oresanya, A., Ogunsanya, P., Alabi, T., Kumar, P.L., (2021). First report of banana bunchy top virus in banana (*Musa spp.*) and its eradication in Togo. *Plant Disease.* <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-21-0473-PDN>
- Kumar P. L., Hanna R., Alabi O. J., Soko M. M., Oben T. T., Vangu G. H. P. and Naidu R. A. (2011). Banana bunchy top virus in sub-Saharan African: Investigations on virus distribution and diversity. *Virus Research* 159: 171-182.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol.* 35: 1547–1549. doi:10.1093/molbev/msy096
- Lin H.-X., Rubio L., Smythe A., Jimenez M. and Falk B.W. (2003). Genetic diversity and biological variation among California isolates of Cucumber mosaic virus. *J Gen Virol.* 84: 249–258. doi:10.1099/vir.0.18673-0
- Lescot T. World plantain and banana production systems. In: *Proceedings XX international meeting ACORBAT: 9–13 September 2013; Fortaleza*; 2013. p. 26–34.
- Letunic I. and Bork P. (2019). Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Res.* 47: W256–W259. doi:10.1093/nar/gkz239
- Lokossou B., Gnanvossou D., Ayodeji O., Akplogan F., Safioré A., Migan D.Z., Pefoura A.M., Hanna R. and Kumar P.L. (2012). Occurrence of banana bunchy top virus in banana and Plantain (*Musa sp.*) in Benin. *New Disease Reports* 25: 13.
- Mochizuki T. and Ohki S.T. (2011). Single amino acid substitutions at residue 129 in the coat protein of cucumber mosaic virus affect symptom expression and thylakoid structure. *Arch Virol.* 156: 881–886. doi:10.1007/s00705-010-0910-y
- Nouri S., Arevalo R., Falk B.W. and Groves R.L. (2014). Genetic Structure and Molecular Variability of Cucumber mosaic virus Isolates in the United States. *PLOS ONE.* 9: e96582. doi:10.1371/journal.pone.0096582
- Owen J., Shintaku M., Aeschleman P., Tahar S.B. and Palukaitis P. (1990). Nucleotide sequence and evolutionary relationships of cucumber mosaic virus (CMV) strains: CMV RNA 3. *J Gen Virol.* 71: 2243–2249. doi:10.1099/0022-1317-71-10-2243
- Qiu Y., Zhang Y., Wang C., Lei R., Wu Y., Li X., and Zhu S. (2018). Cucumber mosaic virus coat protein induces the development of chlorotic symptoms through interacting with the chloroplast ferredoxin I protein. *Sci Rep.* 8: 1205. doi:10.1038/s41598-018-19525-5
- Sharman M., Thomas J.E. and Dietzgen R.G. (2000). Development of a multiplex immunocapture PCR with colourimetric detection for viruses of banana. *J Virol Methods.* 89: 75–88. doi:10.1016/S0166-0934(00)00204-4
- Shintaku M.H., Zhang L. and Palukaitis P. (1992). A single amino acid substitution in the coat protein of cucumber

mosaic virus induces chlorosis in tobacco. *Plant Cell*. 4: 751–757. doi:10.1105/tpc.4.7.751

Sievers F., Wilm A., Dineen D., Gibson T.J., Karplus K., Li W., Lopez R., McWilliam H., Remmert M., Söding J., Thompson J. and Higgins D. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol*. 7: 539. doi:10.1038/msb.2011.75

Skoric D., Krajacic M., Barbarossa L., Cillo F., Grieco F., Saric A. and Gallitelli D. (1996). Occurrence of cucumber mosaic cucumovirus with satellite RNA in lethal necrosis affected tomatoes in Croatia. *Journal of Phytopathology* 144: 543-549.

Stanković, I., Vučurović, A., Zečević, K., Petrović, B., Nikolić, D., Delibašić, G., (2021). Characterization of cucumber mosaic virus and its satellite RNAs associated with tomato lethal necrosis in Serbia. *Eur J Plant Pathol* 160, 301–313. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02241-8>

Sleat D.E., Zhang L. and Palukaitis P. (1994). Mapping determinants within cucumber mosaic virus and its satellite RNA for the induction of necrosis in tomato plants. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 7: 189-195.

Sutula C., Gillet J., Morrissey S. and Ramsdell D. (1986).

Interpreting ELISA data and establishing the positive-negative threshold. *Plant Dis*. 70: 722–726.

Scholthof K.-B.G., Adkins S., Czosnek H., Palukaitis P., Jacquot E., Hohn T., Hohn B., Saunders K., Candresse T., Ahlquist P., Hemenway C. and Foster G.D. (2011). Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Mol Plant Pathol*. 12: 938–954. doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x

Valeri C. and Boutsika K. (1999). Characterization of cucumber mosaic cucumovirus isolates in Greece. *Plant Pathology* 48: 95-100.

SUPPORTING INFORMATION

S1 Table. Accession number and origin of selected CMV coat protein sequences used for sequence comparison with Ivorian CMVs. *: IA CMV subgroup, **: IB CMV subgroup, ***: II CMV subgroup

S2 Table. List of satRNAs sequences used for sequence comparison with Ivorian satRNAs.

S3 Table. Symptoms observed on reporting plants after CMV's biological indexing. C: Chlorosis, M: Mosaic, FN: Foliar Necrosis, CR: Cigar Rot, LD: Leaf Distortion, LC: Leaf Curling, D: Dwarfing of the banana tree, TS: Thin Sheet

Risques agro-météorologiques et production du riz pluvial (*Oryza* spp.) au Bénin

Moudjahid Akorédé Wabi^{(1,2)*}, Wouter Vanhove⁽¹⁾, Rodrigue Idohou^(2,3), Achille Hounkpèvi⁽²⁾, Romain Lucas Glèlè Kakai⁽²⁾, Patrick Van Damme^(1,4)

Abstract

L'irrégularité des pluies et la baisse pluviométrique constituent des préoccupations majeures pour les producteurs de riz pluvial. Cette étude avait pour objectif de mettre en évidence les variabilités et tendances des débuts et fins des pluies ainsi que de la pluviométrie totale sur une période de 46 ans dans les localités de Glazoué, Malanville et Tanguiéta (Bénin) afin de déterminer les dates favorables aux semences de riz pluvial. Pour ce faire, les données pluviométriques journalières (1970-2016) de trois stations météorologiques situées dans ces localités ont été collectées à l'Agence Météorologique du Bénin. Les statistiques descriptives ont permis de comparer les variabilités pluviométriques. Les tendances ont été évaluées par le test de Mann-Kendall et la pente de Sen. Les probabilités de survenue des séquences sèches ont été calculées en utilisant la chaîne de Markov d'ordre 1. Il ressort de cette étude une variabilité importante des débuts des pluies avec des tendances tardive (4%) et précoce (17%), contrairement à la variabilité faible des fins. Les dates du 9 mai au 3 juillet restent favorables aux semences du riz pluvial à Tanguiéta. Aucune date n'a été favorable aux semences du riz pluvial à Glazoué et Malanville, du fait des probabilités très élevées (0,7 à 1) des séquences sèches (> 5 jours) préjudiciables à la floraison et compromettant sa productivité. Ces résultats confortent les riziculteurs dans la production des variétés à cycle court < 100 jours et permettent de les orienter dans le choix des dates de semis ainsi que celui des variétés adaptées de riz pluvial.

Mots-clés. Riz pluvial ; tendances climatiques ; chaîne de Markov ; séquences sèches ; calendrier cultural.

Résumé

Title: Agro-climatic risks and producing of rainfed rice (*Oryza* spp.) in Benin

Irregular and reduced rainfall are major concerns for rainfed rice producers. The objective of this study was to analyze the yearly variability and trends of the onset and the end of rains as well as of total rainfall over a period of 46 years in Glazoué, Malanville and Tanguiéta (Benin) in order to better determine the appropriate dates for rainfed rice sowing. For this purpose, daily rainfall data (1970-2016) were collected from three weather stations located in these localities from the Benin National Weather Agency. Descriptive statistics were used to compare rainfall variability. Trends were assessed by Mann-Kendall test and Sen's Slope. The probabilities of occurrence of a dry period were calculated using the Markov chain of order 1. Unlike the end of the rains, where little variability was observed, a significant variability in the onset of rains with late (4%) and early (17%) trends was found. Depending on the rice variety, the period from 9 May to 3 July is appropriate for rainfed rice sowing in Tanguiéta. In the case of, Glazoué and Malanville, no appropriate date for rainfed rice sowing was observed, due to the very high probabilities (0.7 to 1) of dry period (> 5 days) at flowering stage, which compromising its productivity. These results should encourage rice producers to grow varieties with short < 100 days maturing dates and can guide them in the choice of suitable planting dates and suitable varieties of rainfed rice.

Keywords: Rainfed rice; climatic trends; Markov chain; dry period; cultural calendar.

¹Laboratory of Tropical and Subtropical Agriculture, and Ethnobotany (LTSAE), Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, 9000 Ghent, Belgium

²Laboratoire de Biomathématiques et d'Estimations Forestières, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 04 BP 1525 Cotonou, Bénin

³Ecole de Gestion et de Production Végétale et Semencière, Université Nationale d'Agriculture, BP 43 Kétou, Bénin

⁴Faculty of Tropical AgriSciences, Czech University of Life Sciences, Prague, Kamycka 129, 165 21 Prague 6-Suchdol, Czech Republic

*Auteur correspondant: wmouako@yahoo.fr

INTRODUCTION

L'irrégularité des pluies et la baisse pluviométrique constituent des préoccupations majeures pour les producteurs du riz pluvial (*Oryza* spp.) en Afrique Sub-saharienne (Nyadzi et al., 2019 ; Arouna et al., 2021). Cette situation est très préoccupante dans la mesure où les faibles précipitations annuelles, l'occurrence des épisodes secs et le raccourcissement de la saison des pluies perturbent le cycle végétatif des cultures et affectent considérablement leurs rendements. Les études sur la variabilité des pluies en général et celle des débuts et fins des pluies ainsi que leurs tendances revêtent une importance capitale pour mieux situer les bonnes dates de semis du riz pluvial (Niang et al., 2018 ; Serpantié et al., 2019).

Les études sur les débuts et fins des pluies, largement reconnues et utilisées aux fins agro-météorologiques en Afrique (Ouest, Est et Nord) ont été documentées par Stern et al. (1982) et Kniveton et al. (2008). Dans certaines régions d'Afrique de

l'Ouest à climats sahélien ou soudanien, Sivakumar (1988) a défini la date du début des pluies comme étant une hauteur de pluie d'au moins 20 mm enregistrée sur trois jours consécutifs non suivis de poche de sécheresse de plus de sept jours sur un intervalle de temps de 30 jours. De même, Kniveton et al. (2008) ont étudié la dynamique de variation des dates de début des pluies à travers le continent Africain en utilisant trois différents seuils pluviométriques (10, 20 et 30 mm) enregistrés sur deux jours consécutifs non suivis d'épisode de sécheresse d'au plus dix jours.

Après le semis, les séquences sèches (deux semaines ou plus) sont très désastreuses pour la germination et le bon développement d'une plantule (Laux et al., 2008 ; Sarr et al., 2011). Les séquences sèches entre le début et la fin des pluies constituent des risques majeurs en agriculture et en l'occurrence en riziculture pluviale (Sarr et al., 2011; Akinseye et al., 2016). Un jour avec un cumul pluviométrique

≤ 0,1 mm est considéré comme un jour sans pluie (Lawin et al., 2011). En culture de riz pluvial, le déficit hydrique, du fait des séquences sèches, déclenche la fermeture des stomates, le mauvais tallage, le raccourcissement de la période de floraison, le remplissage faible des grains et la baisse du rendement (Korres et al., 2017). A la station de recherche de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles de Sinthiou Malème, les séquences sèches ont engendré une diminution significative du nombre d'épillets produits par panicule de 108 à 76, soit une baisse de 30% et un fort taux de stérilité (86%) au niveau des variétés de NERICA 1 et NERICA 4 (Kouakou et al., 2016).

A l'instar des pays Africains, les débuts et fins des pluies sont actuellement peu prévisibles pour les producteurs de riz pluvial au Bénin (Atidegla et al., 2017); ce qui perturbera certainement le calendrier culturel du riz. Au Bénin, la riziculture pluviale représente 91% des systèmes de production du riz (Dossouhoui, 2019). Le riz est l'aliment de base de la population et sa consommation annuelle est de 45,7 kilogrammes par habitant (MAEP, 2017).

Atidegla et al. (2017) ont indiqué que 96% des riziculteurs dans les bas-fonds rizicoles de Dokomey (Sud du Bénin) identifient le démarrage de la saison des pluies, la baisse du total pluviométrique en eau et le raccourcissement de la saison pluvieuse comme des paramètres agro-météorologiques impactant la productivité du riz pluvial. Des essais conduits dans la commune de Glazoué (Centre Bénin), par Niang et al. (2018), ont démontré que les rendements de riz ont baissé de 2,9 t.ha⁻¹ en 2010 à 1,1 t.ha⁻¹ en 2013 (soit une baisse de 164%) du fait du retard du début des pluies et de la baisse du total pluviométrique en eau.

De nombreuses études ont abordé l'impact de la variabilité climatique sur les productions des cultures vivrières (maïs et sorgho) au Bénin (Kayode, 2018; MCVDD, 2019). Cependant, à ce jour, très peu de recherches ont investigué les paramètres agro-météorologiques malgré leur importance pour l'amélioration de la productivité du riz pluvial (Van Diepen & Azontonde 1979; Niang et al., 2018). Plusieurs questions de recherche restent sans réponses évidentes et méritent d'être investiguées : (i) Comment les dates du début et de la fin des pluies et la pluviométrie totale ont-elles varié au cours des années passées ? (ii) Quelles sont les dates favorables aux semences du riz pluvial dans le contexte du changement climatique ?

La présente étude se propose d'évaluer les caractéristiques de la saison pluvieuse et des risques agro-météorologiques liés à la culture du riz pluvial au Bénin. De façon spécifique, il s'agit de : (i) mettre en évidence les variabilités et tendances des dates du début et de la fin des pluies et du total pluviométrique ; et (ii) déterminer les dates favorables aux semences du riz pluvial en se basant sur des probabilités de survenue des séquences sèches. Les résultats de l'étude permettront de renforcer la résilience des producteurs de riz pluvial aux variations climatiques en faisant le bon choix du calendrier culturel ainsi que celui des variétés du riz pluvial.

MATERIEL ET METHODES

Milieu d'étude

L'étude a été conduite dans les communes de Malanville, Tanguiéta et Glazoué appartenant respectivement aux zones agro-écologiques (ZAE) soudano-sahélienne à l'extrême

Nord, soudanienne au Nord-Ouest et soudano-guinéenne de transition (Figure 1). De 2010 à 2014, ces localités avaient enregistré les taux de productions les plus élevées de riz au Bénin et représentaient 75% de la production nationale (MAEP, 2015). Pendant la même période, les productions de riz à Malanville, Glazoué et Tanguiéta occupaient respectivement 71, 44 et 19% des productions rizicoles totales de leurs ZAEs respectives. Les données pluviométriques utilisées ont été celles des stations pluviométriques de Malanville, de Savè et de Tanguiéta respectivement pour les communes de Malanville, de Glazoué et de Tanguiéta. En effet, l'Agence Météorologique du Bénin ne dispose pas de station pluviométrique à Glazoué. Les données de la station de Savè plus proche de Glazoué ont été donc considérées. Le régime de précipitation était de type bimodal à Glazoué et unimodal à Malanville et à Tanguiéta (Figure 2).

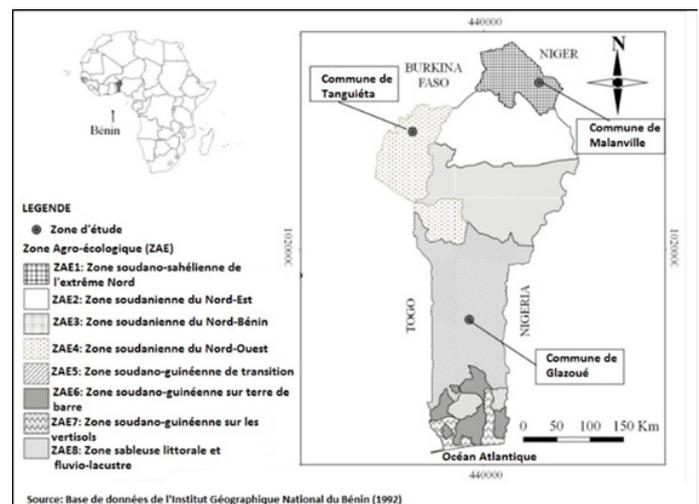


Figure 1 : Localisation des communes sélectionnées pour l'étude

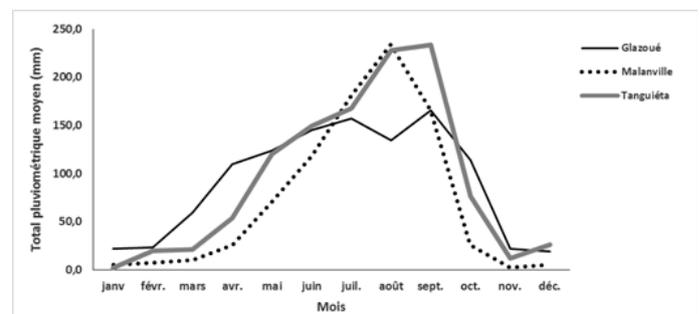


Figure 2 : Evolution des totaux pluviométriques moyens mensuels sur la période 1970-2016

Matériel végétal

Au Bénin, plusieurs variétés sont utilisées par les producteurs de riz pluvial (ADRAO, 2008 ; CCR-B, 2012). Pour une variété de riz pluvial donnée (Tableau I), le cycle de développement peut varier entre 100 et 130 jours (FAO, 1997).

Tableau I : Différentes phases de développement des variétés de riz pluvial

	Cycle 100	Cycle 120	Cycle 130
Phase végétative (jours)	40	55	65
Phase de reproduction (jours)	35	35	35
Phase de maturation (jours)	25	30	30
Durée totale de la croissance (jours)	100	120	130

Source. FAO (1997)

Collecte des données pluviométriques

La collecte des données pluviométriques a pris en compte deux critères fondamentaux à savoir la longueur des chroniques (au moins 30 ans) et la qualité des données. La variabilité climatique s'apprécie sur une période de 30 ans au moins (Bambara et al., 2016). Ainsi, les données pluviométriques journalières de Malanville, de Savè et de Tanguiéta sur une période de 46 ans (1970-2016) ont été obtenues auprès de l'Agence Météorologique du Bénin.

Traitement et analyse des données

Détermination de la date du début, de la fin des pluies et du total pluviométrique

Début et fin des pluies

Sur la base des travaux de Kumi & Abiodun (2018), des considérations suivantes ont été faites pour définir le début des pluies :

-La pluie devrait démarrer à partir des 1^{er} mai (Malanville et Tanguiéta) et 1^{er} avril à Glazoué (Boko, 1992) ;

-Une hauteur de pluie d'au moins 25 mm enregistrée sur cinq jours avec au moins deux jours pluvieux non suivis de poche de sécheresse de plus de sept jours sur un intervalle de temps de 30 jours après les 1^{er} mai (Malanville et Tanguiéta) et 1^{er} avril à Glazoué.

La fin des pluies a été considérée à partir du 1^{er} septembre à Malanville et à Tanguiéta et du 1^{er} octobre à Glazoué (Boko, 1992). Les paramètres de statistiques descriptives (moyenne, minimum, maximum et coefficient de variation) ont été déterminées au début et à la fin, pour la longueur et le total pluviométrique saisonniers au moyen du logiciel de statistique INSAT, version 3.36 (Stern et al., 2006) en fixant la réserve hydrique du sol à 100 mm (Akinseye et al., 2016). Des analyses fréquentielles utilisant les quintiles 20, 50 et 80% ont été utilisées sur les valeurs des débuts et fins des pluies, de la longueur et du total pluviométrique (Sarr et al., 2011).

Durée de la saison des pluies et total pluviométrique

La durée de la saison des pluies représente la différence entre les dates du début et de la fin des pluies (Stern et al., 1982 ; Sivakumar, 1988 ; Kniveton et al., 2008 ; Sarr et al., 2011). Le total pluviométrique est la quantité totale de pluies entre les dates du début et de fin des pluies (Sarr et al., 2011). Le logiciel R version 3.6.1. (R Core Team, 2019) a permis d'analyser les données des tendances des débuts et fins des pluies, de la longueur et du total pluviométrique. Le seuil de signification $\alpha = 0,05$ a été considéré.

Probabilités d'apparition des séquences sèches

Selon la chaîne de Markov d'ordre 1, l'état Y_t de la journée t ($t > 0$) dépend de l'état Y_s ($s < t$) de la journée précédente (Fischer et al., 2013 ; Ojara et al., 2019). Dans l'analyse des séquences sèches, un jour est considéré soit pluvieux (P) ou sec (S). La chaîne de Markov d'ordre 1 est décrite par la matrice suivante (Equation 1) :

$$\begin{bmatrix} & S & P \\ S & P_{00} & P_{01} \\ P & P_{10} & P_{11} \end{bmatrix}$$

où P_{00} , P_{01} , P_{10} et P_{11} sont les probabilités respectives d'un jour sec précédé par un jour sec ; d'un jour pluvieux précédé par un jour sec ; d'un jour sec précédé par un jour pluvieux ; et d'un jour pluvieux précédé par un jour pluvieux.

En utilisant, le modèle d'une distribution géométrique (Mathugama & Peiris, 2011 ; Fischer et al., 2013) et en considérant l'Equation 1, la probabilité de survenue de séquence sèche de n jours peut être déduite à travers la formule (Equation 2) ci-dessous :

$$P_n(SS > n) = P_{00}^{n-1}P_{01} = P_{00}^{n-1}(1 - P_{00})$$

Le nombre (n) de jours de séquence sèche est choisi en fonction des besoins et objectifs de l'étude (Stern et al., 2006).

Les séquences sèches $> 5, 7$ et 10 jours ont été considérées en phases végétative et reproductive en simulant des semis de riz pluvial réalisés tous les sept (7) jours. Le semis est réalisé lorsque la probabilité de survenue des séquences sèches > 10 jours est $\leq 0,2$ (Stern et al., 2006). Les dates de semis coïncidant avec les probabilités $\leq 0,1$ de survenue des séquences sèches > 7 jours en floraison du riz permettent de définir les dates favorables aux semis du riz pluvial (Stern et al., 2006 ; Sarr et al., 2011).

Evaluation des tendances

De nombreuses études ont recommandé la vérification de l'autocorrélation au sein des séries historiques climatologiques (Hamed & Rao, 1998 ; Akinsanola & Ogunjobi, 2015). Pour évaluer les tendances, en absence d'autocorrélation, le test non-paramétrique de Mann-Kendall est utilisé (Akinsanola & Ogunjobi, 2015) et celui de Mann-Kendall modifié est employé en présence d'autocorrélation (Akinsanola & Ogunjobi, 2015).

Vérification de l'autocorrélation (test d'indépendance)

La formule d'estimation de l'autocorrélation d'une série chronologique comportant n observations ($n > 30$) (Dodge, 2003) est la suivante (Equation 3):

$$\hat{A}_k = \frac{(\sum_{t=k+1}^n (y_t - \bar{Y})(y_{t-k} - \bar{Y}))}{(\sum_{t=1}^n (y_t - \bar{Y})^2)}$$

où \bar{Y} = moyenne de la série ; k = décalage et n = nombre d'observations.

Pour $n > 30$, \hat{A}_k tend de manière asymptotique vers une loi normale de moyenne 0 et d'écart type : $\frac{1}{\sqrt{n}}$.

\hat{A}_k est donc assimilée au test t de Student.

Pour un décalage $k = 1$, le test t d'autocorrélation se présente comme suit (Akinsanola & Ogunjobi, 2015) (Equation 4):

$$t = \frac{\hat{A}_1}{\sqrt{(n-2)/(1-\hat{A}_1^2)}}$$

où t suit une distribution de Student avec $(n-2)$ degrés de liberté. Si $|t| \geq t_{\alpha/2}$, alors l'hypothèse nulle énonçant l'indépendance entre les valeurs de la variable est donc rejetée au seuil α .

Test de Mann-Kendall

La statistique S du test (Mann, 1945 ; Kendall, 1975) est la suivante (Equation 5) :

$$s = \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \text{sgn}(X_j - X_i)$$

où n = nombre d'observations ; X_i et X_j ($j > i$) = valeurs génériques de données séquentielles ; et $\text{Sgn}(X_j - X_i)$ = signe de la fonction, définie comme suit (Equation 6):

$$\text{Sgn}(X_j - X_i) = \begin{cases} +1 & \text{si } (X_j - X_i) > 0 \\ 0 & \text{si } (X_j - X_i) = 0 \\ -1 & \text{si } (X_j - X_i) < 0 \end{cases}$$

Lorsque $n \geq 40$, S suit approximativement une distribution normale avec une moyenne $E(S)$ et une variance $\text{Var}(S)$ (Akinsanola & Ogunjobi, 2015). L'espérance mathématique $E(S)$ (Equation 7) et

la variance $\overline{\text{Var}}(S)$ (Equation 8) sont définies comme suit :

$$E(S) = 0$$

$$\overline{\text{Var}}(S) = \frac{n(n-1)(2n+5) - \sum_{p=1}^q tp(tp-1)(2tp+5)}{18}$$

où n = nombre d'observations; q = nombre de groupes ayant des valeurs égales et tp = nombre de valeurs dans le p^{ième} groupe.

La $\overline{\text{Var}}(S)$ (Equation 8) et la statistique S (Equation 5) permettent de calculer la variable Z définie comme suit

$$Z = \begin{cases} \frac{S-1}{\sqrt{\overline{\text{Var}}(S)}} & \text{si } S > 0 \\ 0 & \text{si } S = 0 \\ \frac{S+1}{\sqrt{\overline{\text{Var}}(S)}} & \text{si } S < 0 \end{cases}$$

Z suit une distribution normale. $Z > 0$ et $Z < 0$ indiquent respectivement des tendances croissante et décroissante.

Test de Mann-Kendall modifié

La valeur $\hat{A}k$ (Equation 3) est utilisée pour déterminer le facteur de correction (n/n_s^*) de la variance, puisque la $\overline{\text{Var}}(S)$ (Equation 8) a été sous-estimée en présence d'autocorrélation. La formule du facteur d'autocorrélation est (Equation 10):

$$\frac{n}{n_s^*} = 1 + \frac{2}{n(n-1)(n-2)} \times \sum_{k=1}^{n-1} (n-k)(n-k-1)(n-k-2) \hat{A}k$$

où n = nombre d'observations; n_s^* = nombre d'observations comptant pour l'autocorrélation et $\hat{A}k$ = fonction d'autocorrélation des rangs d'observation. La formule de la variance corrigée est (Equation 11) :

$$\overline{\text{Var}}^*(S) = \overline{\text{Var}}(S) \times \frac{n}{n_s^*}$$

En considérant la $\overline{\text{Var}}^*(S)$, le test statistique de Z est déterminé suivant la formule de l'Equation 9.

Estimation de la pente de la tendance

La méthode de la pente de Sen (Sen, 1968) est une robuste estimation de l'ampleur de la pente de la tendance. Elle est déterminée en supposant que la tendance est linéaire suivant l'équation (Equation 12) :

$$f(t) = Qt + B$$

où f(t) = fonction croissante ou décroissante dans le temps; Q = pente et B = ordonnée à l'origine (constant).

L'estimateur de la pente de Sen pour chaque donnée est (Equation 13):

$$Q_i = \left[\frac{(X_i - X_j)}{(j - i)} \right]$$

où X_i et X_j ($j > i$) = valeurs de données séquentielles respectivement aux temps i et j.

La présence de n valeurs X_i dans la série chronologique indique qu'il existe autant de $N = \frac{n(n-1)}{2}$ estimateurs de la pente de Sen.

Ainsi, la valeur de Q_i est rangée du plus petit au plus grand et la médiane Q_{med} représente la pente de Sen (Equation 14):

$$Q_{med} = \begin{cases} Q_{\left[\frac{(N+1)}{2}\right]} & \text{si } N \text{ est impairs} \\ \frac{1}{2} \left(Q_{\left[\frac{N}{2}\right]} + Q_{\left[\frac{(N+2)}{2}\right]} \right) & \text{si } N \text{ est pairs} \end{cases}$$

Les médianes $Q_{med} > 0$ et $Q_{med} < 0$ indiquent des tendances croissante et décroissante.

Taux de variation de la pente de Sen

Le taux de variation de la pente de Sen permet de comparer les tendances entre différentes conditions météorologiques

(Akinsanola & Ogunjobi, 2015). Il est égal à la médiane Q_{med} multipliée par le nombre (n) d'observations, le tout divisé par la moyenne des valeurs de la série. Le taux de variation de la pente de Sen (Akinsanola & Ogunjobi, 2015) est (Equation 15) :

$$\text{Taux de variation (\%)} = \frac{Q_{med} \cdot n}{\mu} * 100$$

où Q_{med} = pente de Sen ; n = nombre d'observations et μ = moyenne des valeurs de la série.

RESULTATS

Variabilités et tendances des débuts et fins des pluies et du total pluviométrique

Les débuts des pluies ont présenté des coefficients de variation de 15% à Malanville, 16% à Tanguiéta et 29% à Glazoué (Tableau II). En moyenne, les débuts des pluies sont situés à partir des 20 mai à Tanguiéta, 12 juin à Malanville et 29 mai à Glazoué. Les fins des pluies ont présenté des coefficients de variation de 2% à Glazoué, 4% à Malanville et 5% à Tanguiéta. Les coefficients de variation des totaux pluviométriques saisonniers sont de 18% à Tanguiéta, 30% à Glazoué et 31% à Malanville (Tableau II). Les longueurs de la saison des pluies ont présenté des coefficients de variation de 16% à Tanguiéta, 22% à Glazoué et 26% à Malanville (Tableau II). Il a été observé les longueurs minimales de 32, 49 et 80 jours et les totaux pluviométriques de 143 mm, 203 mm et 532 mm respectivement, dans les communes de Malanville, Glazoué et Tanguiéta (Tableau II).

CV : coefficient de variation

Tableau II : Statistiques descriptives des paramètres agro-météorologiques

Paramètres agro-météorologiques	agro-Communes	Minimum	Maximum	Moyenne	CV (%)	Percentile			Skewness	Kurtosis
						20%	50%	80%		
Dates du début des pluies (jours)	Tanguiéta	01-mai	30-juin	20-mai	16,3	05-mai	17-mai	03-juin	1,9	4,9
	Malanville	07-mai	15-juillet	12-juin	15,0	27-mai	16-juin	11-juil	0,6	-0,3
	Glazoué	01-avr	16-juin	29-mai	29,0	10-avr	26-avr	04-juin	1,6	2,4
Dates de la fin des pluies (jours)	Tanguiéta	01-sept	20-nov	25-oct	4,9	20-oct	27-oct	04-nov	-2,1	6,6
	Malanville	01-sept	26-oct	10-oct	4,1	06-oct	12-oct	17-oct	-1,9	3,8
	Glazoué	01-nov	23-nov	05-nov	2,1	01-nov	02-nov	11-nov	1,5	0,9
Totaux pluviométriques (mm)	Tanguiéta	531,8	1279,1	907,3	17,7	780,7	916,9	1042,6	-0,1	0,11
	Malanville	143,3	1335,3	662,4	31,0	521	680,4	785,6	-0,1	2,4
	Glazoué	203,6	1308,3	843,5	29,5	690,4	887,9	1044,6	-0,6	0,3
Longueurs de la saison des pluies (jours)	Tanguiéta	80,0	197,0	154,7	15,5	133,4	159,5	174,6	-1,1	1,2
	Malanville	32,0	162,0	114,0	25,9	77,6	92,6	138,0	-0,8	1,0
	Glazoué	49,0	234,0	180,1	22,2	156,0	192,0	211,4	-1,5	2,4

Les tendances des débuts des pluies ont indiqué une croissance non significative de 17% à Glazoué et une décroissance non significative de 4% à Malanville et Tanguiéta (Tableau III et Figure 3). Les tendances des fins des pluies ont été croissantes

pour les trois communes (Tableau III et Figure 3).

Tableau III : Résultats des tests de tendance de Mann-Kendall et de Mann-Kendall modifié sur les paramètres agro-météorologiques

	Tanguéta		Malanville		Glazoué	
	Taux de variation de la pente (%)	de Valeur de Z	Taux de variation de la pente (%)	de Valeur de Z	Taux de variation de la pente (%)	de Valeur de Z
Dates du début des pluies (jours)	-4,41	-7,22 ns	-3,88	-0,33 ns	17,10	1,51 ns
Dates de la fin des pluies (jours)	1,18	0,92 ns	1,62	1,17 ns	0,00	1,70 ns
Totaux pluviométriques (mm)	18,64	0,14 ns	12,24	1,19 ns	-7,86	-1,65 ns
Longueurs de la saison des pluies (jours)	1,98	0,30 ns	6,01	0,45 ns	-8,51	-0,91 ns

Valeurs de Z en gras indiquent la présence d'auto-corrélation au sein de la série chronologique ; valeurs positives/négatives de Z indiquent une tendance en hausse/baisse ; ns indique la non-significativité au seuil α de 5%

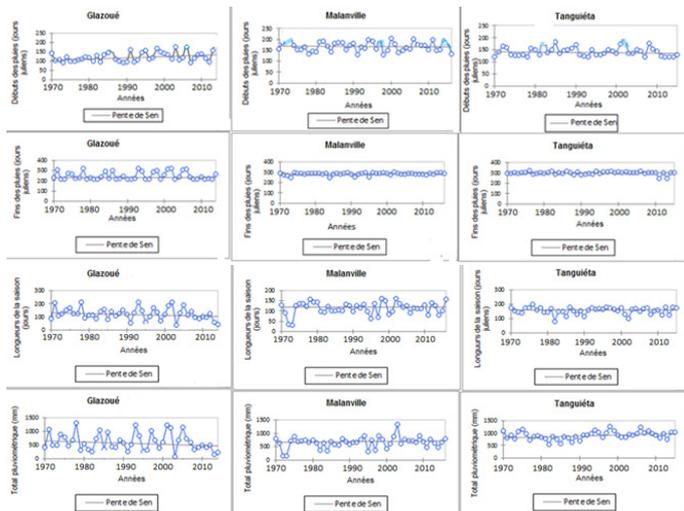


Figure 3 : Tendances des débuts, fins, longueurs et totaux pluviométriques de la saison des pluies au cours de la période 1970-2016

Séquences sèches et dates favorables aux semis des variétés du riz pluvial

A Tanguéta, les dates de semis du riz pluvial sont situées entre : 3 juin au 3 juillet pour les variétés de 100 jours ; 19 mai au 18 juin pour les variétés de 120 jours et 9 mai au 8 juin pour les variétés de 130 jours (Figure 4). Ces dates de semis identifiées coïncident toutes avec des probabilités $\leq 0,1$ des séquences sèches > 7 jours au cours de la floraison du riz pluvial (Figure

4). A Glazoué, le riz peut être semé entre : 10 avril et 25 mai ou du 14 au 29 juillet pour les variétés de 100 jours ; 10 avril et 5 mai pour les variétés de 120 jours et seulement le 10 avril pour les variétés de 130 jours (Figure 4). A Malanville, le riz pluvial peut être semé du 16 mai au 15 juin pour les variétés de 100 jours, du 11 au 31 mai pour les variétés de 120 jours et du 16 au 21 mai pour les variétés de 130 jours (Figure 4). Au niveau des communes de Malanville et de Glazoué, les dates de semis obtenues coïncident toutes avec des valeurs de probabilité oscillant entre 0,2 et 0,6 des séquences sèches > 7 jours au cours de la floraison du riz pluvial. Pour ces dates de semis, les probabilités des séquences sèches > 5 jours ont varié entre 0,7 et 1 au cours de la floraison des variétés de riz pluvial.

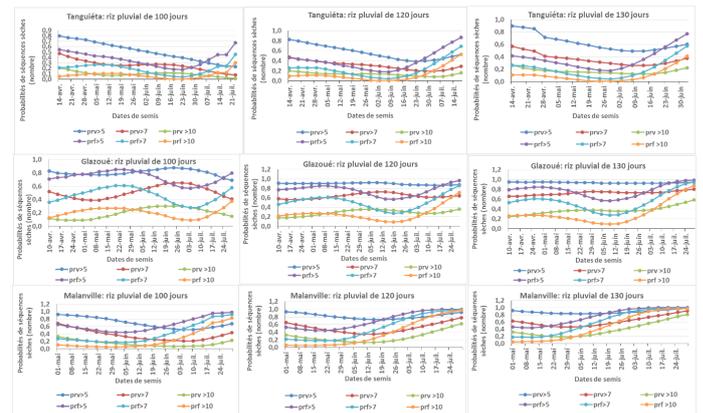


Figure 4 : Evolution des séquences sèches au cours des phases végétative et de floraison du riz pluvial suivant différentes dates de semis

Légende

- prv > 5 : probabilités de survenue des séquences sèches > 5 jours à la phase végétative ;
- prf > 5 : probabilités de survenue des séquences sèches > 5 jours à la phase de floraison ;
- prv > 7 : probabilités de survenue des séquences sèches > 7 jours à la phase végétative ;
- prf > 7 : probabilités de survenue des séquences sèches > 7 jours à la phase de floraison ;
- prv > 10 : probabilités de survenue des séquences sèches > 10 jours à la phase végétative ;
- prf > 10 : probabilités de survenue des séquences sèches > 10 jours à la phase de floraison.

DISCUSSION

Les résultats de l'étude montrent que les débuts des pluies, les longueurs et les totaux pluviométriques connaissent une grande variabilité. De 1970 à 2016, les tendances des débuts de pluies, ont indiqué que les pluies sont de plus en plus tardives à Glazoué et de plus en plus précoces à Malanville et Tanguéta. Les débuts des pluies ont été plus tardifs dans les régions du centre (Glazoué) que dans les régions septentrionales (Malanville Tanguéta) au cours des dernières décennies au Bénin (MCVDD, 2019). Lawin et al. (2011) ont détecté au Bénin un décalage de plus de 18 jours des pics de précipitations après le début de l'année 1970. Ezin et al. (2018) ont identifié un retard dans l'installation des pluies dans les régions du centre Bénin (Glazoué) au cours de la période 1970-2010. Kniveton et al. (2008) ont révélé une précocité et un retard des débuts de pluies dans certaines régions d'Afrique de l'Ouest, du Nord et de l'Est au cours de la période 1978-2002. Ces résultats confirment les études antérieures qui indiquent qu'au cours des dernières années (1970-2015), les débuts des pluies sont devenus encore plus imprévisibles pour les producteurs de riz pluvial en Afrique qu'autrefois (1921-1970) (Van Diepen & Azontonde 1979 ; Atidegla et al., 2017 ; Nyadzi et al., 2019). La variabilité des débuts des pluies cause d'énormes préjudices à la productivité du riz pluvial en Afrique (Kouakou et al., 2013 ; Niang et al., 2018 ; Arouna et al., 2021). Le retard des débuts des

pluies a entraîné la baisse de moitié des rendements grains de NERICA 1 et NERICA 4, passant de 1065-1466 kg.ha⁻¹ en 2013 à 544-665 kg.ha⁻¹ en 2014 à la station de recherche de l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles de Sinthiou Malème (Kouakou et al., 2016). De 1970 à 2016, les tendances des fins des pluies sont de plus en plus tardives pour les trois communes. Les longueurs et les totaux pluviométriques minimaux saisonniers obtenus indiquent que ces derniers ne sont pas toujours favorables à la production du riz pluvial. En effet, Ingram (1993) a montré qu'en fonction du climat, les besoins totaux en eau du riz pluvial varient entre 700 à 800 mm pour une durée du cycle de 130 jours.

Par rapport aux séquences sèches et dates favorables aux semences du riz pluvial, à Tanguiéta, les résultats indiquent que les dates : 3 juin au 3 juillet ; 19 mai au 18 juin et 9 mai au 8 juin sont favorables aux semences respectivement des variétés de riz pluvial de 100, 120 et 130 jours. Il ressort également que les dates 3 au 8 juin restent très favorables aux semences du riz pluvial, car les trois groupes de variétés peuvent être semés au même moment dans cet intervalle de temps. Ces dates coïncident toutes avec des probabilités $\leq 0,1$ de survenue des séquences sèches > 7 jours au cours de la floraison du riz pluvial. Ces résultats d'une part, confirment les tendances croissantes obtenues sur les longueurs et totaux pluviométriques saisonniers et d'autre part, indiquent une bonne répartition temporelle des pluies au cours des phases de développement du riz pluvial. En semant à ces dates, les probabilités de survenue des séquences sèches > 5 jours sont également faibles et oscillent entre 0,2 et 0,3 et celles des séquences sèches > 10 jours sont nulles au cours de la floraison des trois groupes de variétés.

Ces résultats ont montré aucune date favorable pour les semis du riz pluvial à Malanville et Glazoué car les dates de semis bien que favorables à la phase végétative ne garantissent pas un bon développement du riz pluvial à la phase de floraison. En effet, les dates favorables aux semis doivent coïncider avec des probabilités $\leq 0,1$ des séquences sèches > 7 jours au cours de la floraison (Sarr et al., 2011). La sécheresse finale au cours de cette phase critique du riz pluvial inhibe la floraison et impacte directement le développement des panicules et le remplissage des grains (FAO, 1997 ; Niang et al., 2018). Dans la commune de Glazoué, ces résultats confirment entre autres les tendances décroissantes non significatives de 8 et 9% observées respectivement au niveau des totaux pluviométriques et des longueurs de la saison pluvieuse. En effet, les probabilités de survenue des séquences sèches > 5 , 7 et 10 jours vont s'amplifier davantage lorsque les tendances décroissantes observées au niveau des totaux pluviométriques et des longueurs des saisons pluvieuses se maintiennent et se poursuivent dans le temps, ce qui risque de compromettre la productivité du riz pluvial dans cette localité du Bénin. Ces résultats confirment les travaux de Niang et al. (2018) qui ont démontré que le rendement en grain de riz pluvial est affecté par la variabilité des totaux pluviométriques annuels dans la commune de Glazoué. En revanche, à Malanville, les résultats relatifs à l'occurrence des séquences sèches semblent être contraires aux tendances croissantes observées à la fois sur les longueurs et totaux pluviométriques saisonniers. Cette situation pourrait expliquer par une mauvaise répartition temporelle de la pluie au cours de la phase de floraison du riz pluvial. La répartition des pluies impacte plus la productivité du riz pluvial que les totaux pluviométriques

annuels (Kouakou et al., 2013 ; Niang et al., 2018 ; Arouna et al., 2021), corrobore les travaux de Bouraima et al. (2015) qui ont signalé le besoin d'un complément de 383 mm d'eau sous forme d'irrigation en saison pluvieuse pour combler les déficits hydriques au cours du développement du riz pluvial dans la commune de Malanville. Par ailleurs, de nombreuses études ont déjà révélé la perturbation des calendriers agricoles au Bénin, du fait de la variabilité et du changement climatiques (Tidjani & Akponikpe, 2012 ; Atidegla et al., 2017 ; MCVDD, 2019).

Une bonne connaissance, à la fois des débuts et fins des pluies et des risques éventuels de séquences sèches, permet de mieux situer les dates favorables au semis du riz pluvial. La culture du riz pluvial étant fortement tributaire du climat, ces informations sont capitales et nécessaires pour guider les producteurs dans le choix de la date de semis et la décision de semer telles ou telles variétés de riz pluvial. En effet, dans les communes de Malanville et de Glazoué, le fait de ne pas pouvoir trouver une date favorable aux semences du riz pluvial, n'implique pas forcément une disparition de cette culture dans ces deux localités qui demeurent de fortes zones de production du riz au Bénin. Cette étude ayant pris en compte seulement l'interaction de la variabilité pluviométrique et la production du riz pluvial, il se peut qu'en condition d'apport d'eau par irrigation, d'autres facteurs climatiques notamment la température, l'insolation et l'humidité relative de l'air devraient favoriser le développement de cette culture dans ces localités. En revanche, ces résultats révèlent plutôt que le choix variétal, surtout pour la notion de précocité, devra jouer un rôle très important en riziculture pluviale dans le contexte actuel des changements climatiques. Il convient de noter que les riziculteurs du Bénin courront moins de risques en optant pour la production des variétés à cycle court < 100 jours. En zone soudano-sahélienne au Sénégal, Kouakou et al. (2016) ont fortement recommandé l'utilisation des variétés précoces de 75-85 jours afin de garantir les rendements de la culture du riz pluvial dans le contexte des changements climatiques.

CONCLUSIONS

Cette étude a montré que les débuts des pluies, les longueurs et les totaux pluviométriques saisonniers ont connu une variabilité spatio-temporelle qui n'est pas toujours favorable à la production du riz pluvial au Bénin. A Tanguiéta, les dates favorables aux semences du riz pluvial vont du 3 juin au 3 juillet ; du 19 mai au 18 juin et du 9 mai au 8 juin, respectivement pour les variétés de 100, 120 et 130 jours. En revanche, l'étude n'a révélé aucune date favorable pour les semences de riz pluvial à Malanville et Glazoué, car les dates de semis bien que favorables à la phase végétative ne garantissent pas un bon développement du riz pluvial à la phase de floraison. En effet, les séquences sèches (> 5 et 7 jours) très présentes surtout à la phase de floraison, sont très préjudiciables au développement du riz pluvial dans ces deux localités. Appliquée à un échantillon représentatif ($n \geq 40$) de pluviométries journalières utilisant différentes séquences sèches (> 5 , 7 et 10 jours), la chaîne de Markov d'ordre 1 s'avère être un bon outil théorique d'identification des dates de semis et d'évaluation du rythme pluviométrique au cours des différentes phases de développement d'une culture donnée. Les résultats suggèrent que les riziculteurs courront moins de risques en optant pour la production des variétés à cycle court < 100 jours. Ces résultats peuvent également guider les décideurs notamment les autorités locales, nationales et les

partenaires au développement dans le choix ainsi que dans l'élaboration des politiques d'aide aux petits riziculteurs. De nos investigations, il ressort de nouvelles pistes de recherche sur les perceptions et stratégies d'adaptation des riziculteurs face à la variabilité et au changement du climat.

Remerciements

Nous remercions le Directeur Général de l'Agence Météorologique du Bénin et le Directeur Général de l'Environnement et du Climat pour avoir facilité la mise à disposition des données pluviométriques dans le cadre de cette étude. De même, nous adressons nos sincères remerciements à l'Université de Gand (UGENT) qui a financièrement soutenu l'étude sous le code de la bourse : 01W00414 ainsi qu'à la Fondation Internationale pour la Science pour leur contribution financière sous l'accord de subvention N° C/5762-1 au premier auteur. Enfin, un remerciement particulier aux deux relecteurs anonymes de la Revue Africaine et Malgache de Recherches Scientifiques (RAMRes)/Sciences de la Vie, de la Terre et Agronomie.

Références

- ADRAO (2008). Guide pratique de la culture des NERICA de plateau. Cotonou, Bénin : Centre du riz pour l'Afrique (ADRAO). 36 pp.
- Akinsanola A.A., and Ogunjobi K.O. (2015). Recent homogeneity analysis and long-term spatio-temporal rainfall trends in Nigeria. *Theoretical and Applied Climatology*, 1-15. DOI: 10.1007/s00704-015-1701-x.
- Akinseye F.M., Agele S.O., Traore P.C.S., Adam M., and Whitbread A.M. (2016). Evaluation of the onset and length of growing season to define planting date—« a case study for Mali (West Africa) ». *Theoretical and Applied Climatology*, 124, 973-983.
- Arouna A., Fatognon I.A., Saito K., and Futakuchi K. (2021). Moving toward rice self-sufficiency in sub-Saharan Africa by 2030: lessons learned from 10 years of the Coalition for African Rice Development. *World Development Perspectives*, 21. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.
- Atidegla C.S., Koumassi H.D., Mouzoue E.T., and Houssou E. (2017). Variabilité climatique et production du riz dans le bas-fond de Dokomey au Bénin. *Journal de la Recherche Scientifique de l'Université de Lomé*, 19(2 - Spécial), 259-276.
- Bambara D., Thiombiano A., and Hien V. (2016). Changements climatiques en zones nord-soudanienne et sub-sahélienne du Burkina-Faso : comparaison entre savoirs paysans et connaissances scientifiques. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)*, 7(1), 35-58.
- Boko M. (1992). Saisons et types de temps au Bénin: analyse objective et perceptions populaires. *L'Espace géographique*, 21(4), 321-332.
- Bouraima A-K., Weihua Z., and Chaofu W. (2015). Irrigation water requirements of rice using Cropwat model in Northern Benin. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 8 (2), 56-64.
- CCR-B (2012). Rapport technique d'activités, Mai 2009-Avril 2012. Secrétariat Permanent, 43p.
- Dodge Y. (2003). Statistique dictionnaire encyclopédique. Groupe statistique, Université de Neuchâtel, Espace de l'Europe 4, Case postale 805, 2002 Neuchâtel, Suisse.
- Dossouhoui V.F. (2019). Développement d'un secteur semencier intégré aux chaînes de valeur du riz local au Bénin, thèse de doctorat (PhD), Université de Liège -Gembloux Agro-Bio Tech, Gembloux, 230p.
- Ezin V., Yabi I., Kochoni E.G.M., and Ahanchédé A. (2018). Agriculture and food security under climate change threat in Benin. *African Journal of Agricultural Research*, 13(27), 1389-1399.
- FAO (1997). Systèmes améliorés de riziculture pluviale. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Fischer B.M.C., Mul M.L., and Savenije H.H.G. (2013). Determining spatial variability of dry spells : a Markov-based method, applied to the Makanya catchment, Tanzania. *Hydrology and Earth System Sciences*, 17, 2161-2170.
- Hamed K.H., and Rao R. (1998). A modified Mann-Kendall trend test for autocorrelated data. *Journal of Hydrology*, 204(1-4), 182-196.
- Ingram K.T. (1993). Water relations in the soil-plant-atmosphere continuum. Background paper for irrigation water management training course. IRRI. Philippines.
- Kendall M.G. (1975). Rank Correlation Methods. Charles Griffin, London.
- Kayodé A.P.P. (2018). Adoption de variétés de sorgho résilientes aux changements climatiques au Bénin, CTA, Wageningen, les Pays-Bas.
- Korres N.E., Norsworthy J.K., Burgos N.R. & Oosterhuis D.M., 2017. Temperature and drought impacts on rice production: an agronomic perspective regarding short-and long-term adaptation measures. *Water Resources and Rural Development*, 9, 12-27.
- Kouakou K.E., Kouassi A., Kouassi F.W., Goula B.T.A., and Savane I. (2013). Détermination des périodes optimales de semis du riz pluvial au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 3 (3), 719-726.
- Kouakou K.P-M., Muller B., Fofana A., and Guisse A. (2016). Performances agronomiques de quatre variétés de riz pluvial NERICA de plateau semées à différentes dates en zone soudano-sahélienne au Sénégal. *Journal of Applied Biosciences*, 99, 9382-9394.
- Kniveton D.R., Layberry R., Williams C.J.R., and Peck M. (2008). Trends in the start of the wet season over Africa. *International Journal of Climatology*, DOI: 10.1002/joc.1792.
- Kumi N., and Abiodun B.J. (2018). Potential impacts of 1.5 °C and 2 °C global warming on rainfall onset, cessation and length of rainy season in West Africa. *Environmental Research Letters*, 13, 055009.
- Laux P., Kunstmann H., and Bardossy A. (2008). Predicting the regional onset of the rainy season in West Africa. *International Journal of Climatology*, 28, 329-342.
- Lawin A.E., Afouda A., and Lebel T. (2011). Analyse de la variabilité du régime pluviométrique dans la région agricole d'Ina au Bénin. *European Journal of Operational Research*, 50 (3), 445-439.
- MAEP (2015). Production, superficie et rendements de riz du Bénin au cours de la période 2010 à 2014. Ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche, Direction des Statistiques Agricoles du Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche, Cotonou, Bénin.
- MAEP (2017). Plan Stratégique de Développement du Secteur Agricole (PSDSA) 2025 et Plan National d'Investissements

- Agricoles et de Sécurité Alimentaire et Nutritionnelle PNIASAN 2017-2021, version finale mai 2017. Ministère de l'Agriculture de l'Élevage et de la Pêche 139p.
- Mann H.B. (1945). Nonparametric tests against trend. *Econometrica*, 13, 245-259.
- Mathugama S.C., and Peiris T.S.G. (2011). Critical evaluation of dry spell research. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 11 (06), 153-160.
- MCVDD (2019). Troisième Communication Nationale (TCN) sur les changements climatiques. Ministère du Cadre de Vie et du Développement Durable, Cotonou, Bénin, 354p.
- Niang A., Becker M., Ewert F., Tanaka A., Dieng I., and Saito K. (2018). Yield variation of rainfed rice as affected by field water availability and N fertilizer use in central Benin. *Nutr Cycl Agroecosyst*, 110, 293-305.
- Nyadzi E., Werners E.S., Biesbroek R., Long P.H., Franssen W., and Ludwig F. (2019). Climate forecast toward hydroclimatic information Needs of rice farmers in Northern Ghana. *Weather, Climate, and Society*, 11 (1), 127-142.
- Ojara M.A., Lou Y., Aribo L., Namumbya S., and Uddin M.D.J. (2019). Dry spells and probability of rainfall occurrence for Lake Kyoga Basin in Uganda, East Africa. *Nat Hazards* <https://doi.org/10.1007/s11069-019-03822-x>.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Sarr B., Kafando L., and Atta S. (2011). Identification des risques climatiques de la culture du maïs au Burkina Faso. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5 (4), 1659-1675.
- Sen P.K. (1968). Estimates of the regression coefficient based on Kendall's tau. *Journal of the American Statistical Association*, 63, 1379-1389.
- Serpantié G., Doré A., Fusillier J-L., Moity-Maizi P., Lidon B., Douanio M., Sawadogo A., Bossa A.Y., and Hounkpè J. (2019). Nouveaux risques dans les bas-fonds des terroirs soudaniens. Une étude de cas au Burkina Faso. *Cahiers Agricultures*, 28 (19), 2-10.
- Sivakumar M.V.K. (1988). Predicting rainy season potential from the onset of rains in southern sahelian and sudanian climatic zones of west Africa. *Agricultural and Forest Meteorology*, 42, 295-305.
- Stern R.D., Dennett M.D., and Dale I.C. (1982). Analysing daily rainfall measurements to give agronomically useful results. I. Direct methods. *Experimental Agriculture*, 18, 223-236.
- Stern R., Rijks D., Dale I., and Knock J. (2006). INSTAT+ for Windows V 3.036. Statistical Services Center, University of Reading.
- Tidjani M.A., and Akponikpe P. (2012). Evaluation des stratégies paysannes d'adaptation aux changements climatiques : cas de la production du maïs au nord-Bénin. *African Crop Science Journal*, 20, (Issue Supplement s2), 425-441.
- Van Diepen C.A., and Azontonde A.H. (1979). Détermination des dates de semis basée sur l'analyse fréquentielle de la pluviométrie décadaire au Bénin, Projet d'Agro-Pédologie, Etude N°208, 100p.

Dynamic of the vegetation and climatic variables in Dimbokro Department, Central Côte d'Ivoire

Rita Massa Biagne^{1*}, Anhelme Gnagbo² and François N'Guessan Kouame³

Abstract

The combined effects of both temperature increasing and human activities intensification in the tropics have a direct consequence as the perturbation on the natural vegetation cover. In order to better understand this process, the present study was undertaken in Dimbokro Department through a mapping and analysis of the spatial and temporal evolution of land cover types based on 29 years period (1988-2017) satellite images (Landsat 4 TM and Landsat 8 OLI/TIRS). A diachronic analysis of satellite data and a supervised classification using OLI 5/6/4 colorful compositions allowed a better discrimination of the land use types. The forests of plateaus, the riparian forests and the nude soils or localities decreased in area, while the shrubby savannas, the forests plantations and the fallows or crops lands increased in area. The overall accuracies for the classified images were 96.76% (1988) and 97.70% (2017), while the Kappa coefficients were estimated at 0.96 (1988) and 0.97 (2017). The riparian forests and the nude soils or localities were the land use types that have lost the most area with respective rates of change of -30.36% and -47.45%.

Key words: West Africa, satellite images, temperature, spatio-temporal evolution, land uses.

Résumé

The combined effects of both temperature increasing and human activities intensification in the tropics have a direct consequence as the perturbation on the natural vegetation cover. In order to better understand this process, the present study was undertaken in Dimbokro Department through a mapping and analysis of the spatial and temporal evolution of land cover types based on 29 years period (1988-2017) satellite images (Landsat 4 TM and Landsat 8 OLI/TIRS). A diachronic analysis of satellite data and a supervised classification using OLI 5/6/4 colorful compositions allowed a better discrimination of the land use types. The forests of plateaus, the riparian forests and the nude soils or localities decreased in area, while the shrubby savannas, the forests plantations and the fallows or crops lands increased in area. The overall accuracies for the classified images were 96.76% (1988) and 97.70% (2017), while the Kappa coefficients were estimated at 0.96 (1988) and 0.97 (2017). The riparian forests and the nude soils or localities were the land use types that have lost the most area with respective rates of change of -30.36% and -47.45%.

Key words: West Africa, satellite images, temperature, spatio-temporal evolution, land uses.

1. Centre d'Excellence Africain sur le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture Durable, Université Félix Houphouët-Boigny, 01 BP V34 Abidjan 01, Côte d'Ivoire. Email: biagnemassarita@gmail.com

2. UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon-Guedé, BP 150 Daloa and Centre Suisse de Recherches Scientifiques, Direction de la Recherche et du Développement, 01 BP 1303 Abidjan 01, Côte d'Ivoire. Email: agnagbo@gmail.com

3. UFR des Sciences de la Nature, Pôle de Recherche Environnement et Développement Durable, Biodiversité et Ecologie végétale, Université Nangui Abrogoua, 31 BP 165 Abidjan 31, Côte d'Ivoire. Email: finkouame3@gmail.com

*Author for correspondence: Rita Massa BIAGNE. Phone (+225) 48332641. Email: biagnemassarita@gmail.com

1. INTRODUCTION

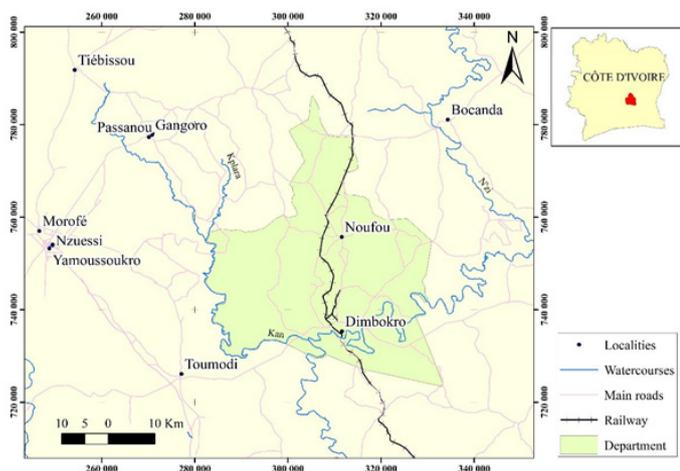
Archaeological researches showed that prehistoric man already exploited his environment (Eggert 1993). But during the recent decades, the natural vegetation is disappearing very quickly (Spichiger et al. 2000) under a high human pressure in the Tropics (Bamba et al. 2008; Ouédraogo et al. 2009). Various human activities including agriculture and forest logging that involve heavy machineries and chemical products, hunting, water flows, bush fire, vegetation clearance for cities and non-timber forest products (Kouamé 2016) led to a deep modification of the natural environment. Consecutively there is the current decreasing of natural vegetation area (Kouamé and Zoro Bi 2010) and impoverishment of the original flora and the soil fertility (Guillaumet et al. 1971). Unfortunately, in most tropical countries, and especially in Africa, the derived savannas occupy very large areas nowadays. Some authors including Spichiger et al. (2000) attribute the replacement of tropical rainforest by the derived savannas to climate change. These two phenomena seem to be interconnected since massive deforestation in the Tropics also affects the regional climate (Parmentier et al. 2007). The natural distribution of vegetation main types in the Tropical Africa follows both

geographical coordinates and climatic factors (Parmentier et al. 2007, 2011). This study aims to assess the remaining forest cover in the Department of Dimbokro in order to ensure better protection. However, the different types of biotopes found in the Department of Dimbokro are undergoing a modification of the vegetation cover in time and space as a result of anthropic pressures. This manuscript describes the evolution of the land use types between 1988 and 2017 as a response to the local temperature increasing and the human pressure in Dimbokro which is one of the hottest areas of Côte d'Ivoire (Brou et al. 2005). The objective of this study is to characterize the spatio-temporal dynamics of land use types in Dimbokro from 1988 to 2017, given that temperature increasing in this forest-savanna contact zone can strongly alter the dynamics of forests and other ecosystems in many ways (Mortsch 2006). We therefore hypothesised that land use types would show different responses to human activities and temperature variation in Dimbokro Department.

2. Materials and methods

2.1. Study zone

The Department of Dimbokro is located in the centre-eastern part of Côte d'Ivoire (Figure 1). Dimbokro town is the main city of the N'Zi Administrative Region which is bordered in the North by Bocanda area, in the South by Tiémélékro area, in the East by Bongouanou area and in the West by Toumodi and Yamoussoukro areas (Figure 1). Its geographical area extends between 6°37' and 6°47' North latitude and between 4°38' and 4°45' West longitude and covers an area of 161.9 km² (Figure 1).



Weiss M., Jacob F. and Duveiller G., (2020). Remote sensing for agricultural applications: A meta-review. *Remote Sensing of Environment*, 236, 111-122. Zhu X.X., Tuia D., Mou L., Xia G.-S., Zhang L., Xu F. and Fraundorfer F., (2017). Deep learning in remote sensing: A comprehensive review and list of resources. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Magazine*, 5(4), 8-36.

Figure 1. Location and presentation of the Dimbokro Department.

The relief is not very rugged and shows an overall monotony with low hills (Avenard 1971). The soils are mostly ferralitic (Perraud 1971). The hydrographic network is composed of the N'Zi, Agnéby, Comoé rivers and their tributaries (Guillaumet et al. 1971). Annual minimum and maximum temperatures changed respectively from 23 and 32.5 in 1979 to 23.2 and 34.8 in 2019. The monthly temperatures over these 40 last years showed 20.4-23.3 °C minimal temperature, 29.9-35.4 °C maximum temperature and 25.9-29 °C mean temperature (Table I). The monthly rainfall for the same period varied from 11 to 200 mm (Table I), while the sunshine mean duration was set between 3 and 7 hours per day.

2.2. Methods for mapping the current land cover

The mapping process included three main successive phases which consisted of the classification of satellite images, the validation of this classification and the characterization of land cover dynamics.

Two Landsat satellite images (TM of 24 December 1988 and OLI/TIR of 14 January 2017) covering scene 196/055 were downloaded from the <http://earthexplorer.usgs.gov> website. All the images were taken during the dry season to avoid the clouds and a comparison of images from different seasons which could lead to non-comparable results (Noyola-Medrano et al. 2008; Kpedenou et al. 2016). The WGS 84 system with the UTM 30 North projection for georeferencing the images were used. The mapping methodology was based

Table I. Monthly temperatures and rainfall in Dimbokro Department from 1982 to 2012. Source : fr.climate-data.org/afrrique/cote-d-ivoire/lacs/dimbokro-586625

Climatic factors/Months	January	February	March	April	May	June	July	August	September	October	November	December
Mean temperature (°C)	27	29	29	28.8	28.3	27	26.1	25.9	26.5	27	27.5	26.5
Minimal temperature (°C)	20.4	22.7	23.2	23.3	23.1	22.5	22	21.9	22.1	22.3	22.3	21
Maximal temperature (°C)	33.7	35.4	34.9	34.4	33.5	31.6	30.2	29.9	30.9	31.8	32.7	32.1
Precipitations (mm)	11	50	111	130	150	188	104	71	132	116	52	20

on the processing of Landsat data (2017 and eventually 1988) and was supplemented by the ad hoc acquisition of data from other satellites (SPOT, IKONOS, Quickbird, etc.) from recent archives when Landsat data were unavailable or of poor quality. The shape files of the administrative boundaries, hydrographic network as well as communication roads were downloaded online from <https://www.openstreetmap.org> website.

Four field trips using a GPS were necessary to validate the classification. The vegetation cover changes during these 29 years were raised up following the requirement of 10 years minimum to better perceive changes in the vegetation (Lambert 2012).

2.3. Digital image processing by calculating spectral indices

The process of images digital classification involved the choice of the colorful compositions and of the classification algorithm. The unsupervised classification was maintained when it corresponded to the field observations. After the classification validation, a 3x3 median filter reduced the intra-class heterogeneity by deleting isolated pixels. The variations of land cover types along time were analysed using ArcGIS 9.2 and Envi 5 software following Schlaepfer (2002). The Kappa coefficient which establishes a relationship between a map and the ground reality was calculated and a confusion matrix showing the error levels in the allocation of pixels between the different classes (Godard 2005) was analysed.

2.3.1. Detection of change by the Ground Surface Temperature

The Ground Surface Temperature (GST) was calculated to detect the rates of change at the ground surface between 1988 and 2017. This temperature was obtained by Planck's law conversion of luminance in the thermal infrared, which was then corrected for emissivity effects using the Temperature Independent Spectral Indices of Emissivity (TISIE) model (Li and Becker 1993; Wan and Li 1997). GTS is regulated by vegetation and is determined from the relationship between the gloss temperature and the surface emissivity (Williams and Smith 1990; Prata et al. 1995).

$$GTS = TB / (1 + (\lambda TB / \rho) \ln \epsilon) \quad \text{Equation (1)}$$

$$TB = K_2 / (\ln(K_1 / L\lambda + 1)) \quad \text{Equation (2)}$$

with :

$$\rho = h \times c / \sigma (1.438 \times 10^{-2} \text{ m K}) \quad \text{Equation (3)}$$

Where GTS: ground surface temperature (in Kelvin converted into degree Celsius), TB: gloss temperature (in Kelvin); K1 and K2: constants applied for Landsat OLI/TIRS, L λ : spectral radiance at sensor aperture, λ : wavelength of emitted radiation (11.5 μm), σ : Stefan Boltzmann constant ($1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), h: Planck constant ($6.26 \times 10^{-34} \text{ J s}$), c: speed of light ($2.998 \times 10^8 \text{ m / s}$), and ϵ : emissivity.

GTS is the using the fraction of Plant Cover (CV) described by Valor and Caselles (1996) and calculated as follows:

$$CV = (NDVI - NDVI_{\min})^2 / (NDVI_{\max} - NDVI_{\min})^2 \quad \text{Equation (4)}$$

where NDVI was Normalized Difference Vegetation Index

2.3.2. Detection of change by the NDVI

The rate of change in vegetation cover was calculated using the NDVI, which characterizes the leaf biomass of the vegetation cover over time (Vancutsem et al. 2006) between the Near Infrared and the Red canals. Denis (2013) set the NDVI values for satellite images at close to 0 for open water surface, at 0.1-0.2 for nude soil and at 0.5-0.8 for dense vegetation. The NDVI is directly related to the photosynthetic activity of plants and therefore to the energy absorption capacity of the canopy; it becomes an indicator of plants chlorophyll biomass

(Denis 2013) calculated through the following formula:

$$NDVI = (PIR - Red) / (PIR + Red) \quad \text{Equation (5)}$$

where PIR: near-infrared canal et R: red canal.

2.3.3. Detecting change by Normalized Difference floor gloss Index

As the previous indices, the Normalized Difference floor gloss Index (NDBI) of Crist and Cicone (1984) was calculated to detect changes in the area covered by the floor between 1988 and 2017. This index uses the infrared (PIR) and mid-infrared (MIR) canals to highlight the settlements.

$$NDBI = (MIR - PIR) / (MIR + PIR) \quad \text{Equation (6)}$$

The positive values (light colors) of this index correspond to the presence of nude soils, and the negative values (dark colors) indicate a vegetation.

2.3.4. Colorful compositions

The colorful compositions was achieved by combining information from three spectral bands of a satellite sensor and displaying it simultaneously in the three primary colors (red, green and blue). These colorful compositions was created in order to obtain a good visualization of the different types of plant formations. Thus, the creation of colorful compositions was exported into a Geographic Information System database type for the preparation of field sites to be visited and for the characterization of land use types.

2.3.5. Validation of the classification

The validation of the satellite images consisted into the comparison of the image classes resulting from the different spectral signatures of the satellite images to the field data. The different land use types in the study area were georeferenced during a week field trip through 43 local points. These georeferenced local points were digitized with ArcGIS 9.2 software to be compared to the classes from the Landsat images preprocessing as well like in numerous remote sensing studies (Zhu et al. 2017, Ma et al. 2019, Wang and Gamon 2019, Cheng et al. 2020, Weiss et al. 2020). A supervised classification was carried out by comparing the training points from the image to the control points from the field. The produced map is accompanied by a Kappa coefficient and a confusion matrix. The Kappa coefficient establishes a relationship between the produced map and the field reality. The higher coefficient means the map is much closed to the truth on the field (De Raadt et al. 2019, Foody 2020). The confusion matrix shows the levels of error in the allocation of pixels between the different classes (Godard 2005, Ruuska et al. 2018).

2.3.6. Spatial and temporal analysis of the land use types

The combination of spatial and temporal components in remote sensing consisted in determining the rate of land cover change calculated between 1988 and 2017, and generating the change map for the evolution of land cover types. In order to facilitate and synthesize the analysis of the global evolution of land use, seven land use units as riparian forests, forests of plateau, plantations forest, woody savannas, shrubby savannas, fallow or crops lands and nude soils or localities were monitored from 1988 and 2017 photos. A transition matrix between 1988 and 2017 let to detect the slightest changes as an increase, a decrease or a stability in the land use types. A positive change in land cover corresponds to a gain

in land cover, while the negative change corresponds to a loss of coverage. Thus, to find the rate of change in temperature, chlorophyll activity, water surfaces and vegetation cover, a subtraction was made between progression and regression for each index. Finally, the rate of change (Tc) in land cover was calculated between 1988 and 2017 as described by Toyi et al. (2013) using the following formula:

$$Tc = (A2 - A1/A1) \times 100 \quad \text{Equation (7)}$$

where A1 and A2 were the initial and final area of the land use type, respectively.

3. RESULTS

3.1. types of land use in dimbokro county

3.1.1. ground surface temperature

the dark red coloration on the gst image corresponding to the higher temperature surface moved from the south-western part of the study area (figure 2 zone a) in 1988 to the north-western (figure 2 zone c) in 2017. the orange-yellowish coloration expressing lower temperature moved from the south-eastern of the dimbokro department (figure 2 zone d) in 1988 to the northern (figure 2 zone c) in 2017.

the evolution of the temperature in dimbokro department between 1988 and 2017 (figures 3 & 4) showed a rise in temperature in both the south-western and northern zones. the eastern-north and western zones showed a drop in temperature, while the centre of dimbokro department expressed mainly a stable temperature between 1988 and 2017 (figures 3 & 4).

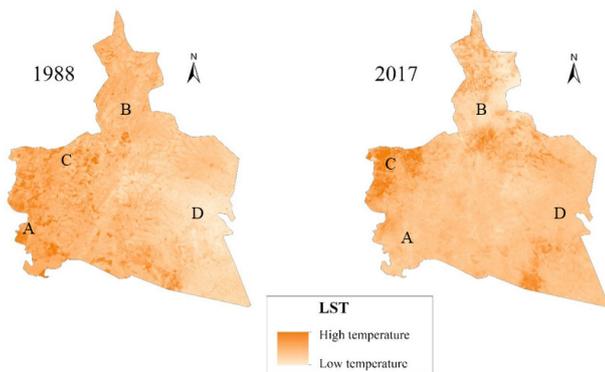


Figure 2. Evolution of the ground surface temperature between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

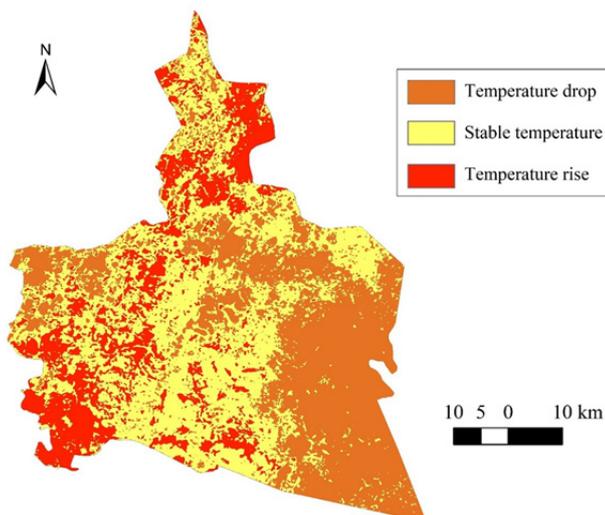


Figure 3. Evolution of the ground surface temperature between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

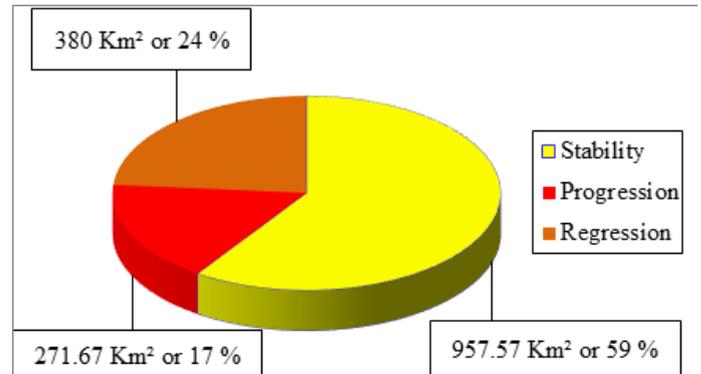


Figure 4. Temperature evolution between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

3.1.2. Vegetation index by normalized difference or Tucker index

The highest chlorophyll activity in 1988 was recorded in the Eastern zone (Figure 5 zone D), while the lowest chlorophyll activity was reported in Western zone (Figure 5 zone A). In 2017, the Eastern zone showed the highest chlorophyll activity (Figure 5 zone D), while the lowest chlorophyll activity was extended from the Western to the Central and Northern zones (Figure 5 zones A, B, C). In terms of the chlorophyll level evolution from 1988 to 2017 in Dimbokro Department, the overall tendency was a stability on 82 % of the Department (Figures 6 & 7). The 8% change was a decrease of the chlorophyll level on 85.11 km² mainly in the Western zone and an increase on 214.41 km² mainly in both Eastern-north and Eastern-south zones (Figures 6 & 7).

3.1.3. Normalized Difference Soil Brilliance Index

The evolution of the NDBI from 1988 to 2017 showed the highest values in the Eastern zone, while the lowest values were found in the Western zone (Figures 8 & 9). But there was a slight decrease of the NDBI in the Northern, Central and Eastern zones during that period. In terms of the NDBI change spectrum between 1988 and 2017, the Department experienced 37.73% of change, which was a loss of 613.92 km² and an extension of 6.38 km² (Figures 8 & 9).

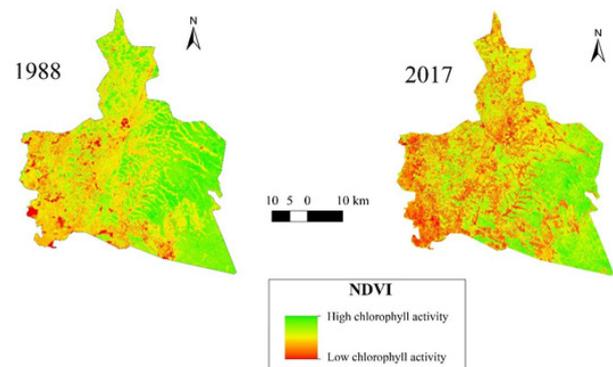


Figure 5. Evolution of the chlorophyll activity between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

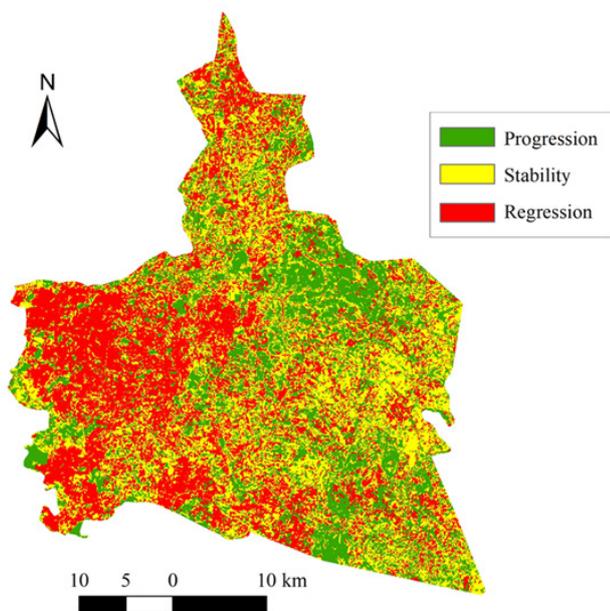


Figure 6. Evolution of the chlorophyll levels between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

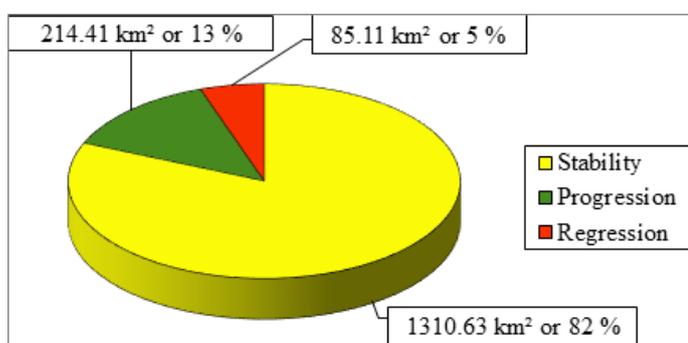


Figure 7. Evolution of chlorophyll activity between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

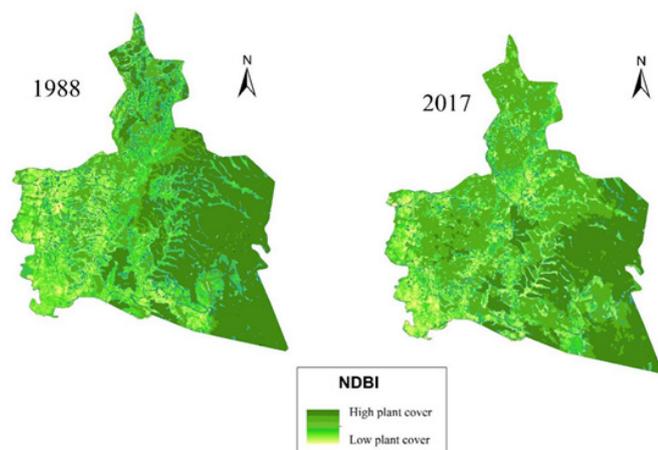


Figure 8. Evolution of the plant cover levels in 1988 and 2017 in Dimbokro Department

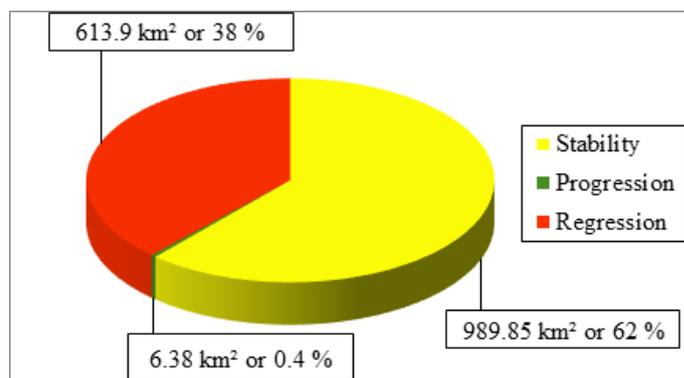


Figure 9. Evolution of vegetation cover between 1988 and 2017 in Dimbokro Department.

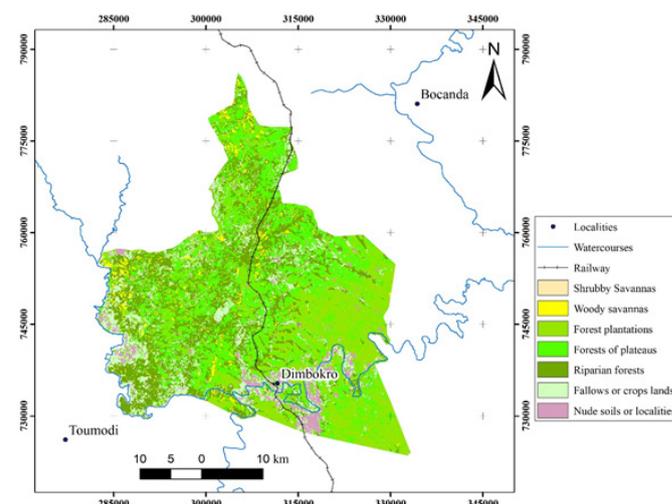


Figure 10. Compositions of the 2017 landsat image showing the oli 5/6/4

3.2. Validation of classification results

The different colorful compositions OLI5, OLI6 and OLI4 of 2017 Landsat images discriminated as well the land use types (Figure 10) the major colorations which were the clear green and dark green. The different classifications were evaluated by the confusion matrices and the Kappa coefficient (Tables II & III). These matrices showed overall map accuracies of 96.76% for 1988 Landsat TM image and 97.70% for 2017 Landsat OLI-TIRS image. The Kappa coefficients were set at 0.96 for 1988 image and at 0.97 for 2017 image (Tables II & III). A closer analysis showed that a minor confusion was observed between some land use types. In 1988, the highest confusion is found between the woody savannas and the shrubby savannas, and between the nude soils or localities and the woody savannas (Table II). These confusions were 3.73% and 3.66% respectively. In 2017, the highest confusion was between the fallows or crops land and the nude soils or localities, with a value of 5.42% (Table III).

3.3. Evolution of the land use types

The land use map of the different vegetation formations in Dimbokro County between 1988 and 2017 (Figure 11) showed a total of seven land use classes. These are fallows or crops lands, riparian forests, forests of plateaus, forest plantations, savannas (shrubby and woody) and nude soils or localities. The latter (nude soils) reached the Southern zone of Dimbokro Department (Figure 11).

Table II. Confusion matrix for the classification of the 1988 image. Total accuracy = (18501/19121) 96.76%, Kappa coefficient = 0.96. The values in bold diagonal correspond for each class to the well-ranked pixel rates. The various off-diagonal rates reflect the rates of poorly ranked pixels that have been assigned to a class to which they do not belong.

Classes	Woody savannas	Fallows or crops lands	Forest plantations	Forests of plateaus	Riparian forests	Shrubby Savannas	Nude soils or localities
Woody savannas	95.87	0	0	0	0	0	0
Fallows or crops lands	3.73	93.81	0	0	0	0	0
Forest plantations	0.03	0.67	96.37	0.53	0	0	0
Forests of plateaus	0.09	0	1.16	98.18	1.46	0.09	0.93
Riparian forests	0.28	1.87	2.22	0.4	98.1	1.15	0.28
Shrubby Savannas	0	3.66	0.25	0.73	0.44	98.38	1.87
Nude soils or localities	0	0	0	0.17	0	0.38	96.92
Total	100	100	100	100	100	100	100

Table III. Confusion matrix for the classification of the 2017 image. Total accuracy = (11842/12121) 97.70 %. Kappa coefficient = 0.97. The values in bold diagonal correspond for each class to the well-ranked pixel rates. The various off-diagonal rates reflect the rates of poorly ranked pixels that have been assigned to a class to which they do not belong.

Classes	Woody savannas	Fallows or crops lands	Forest plantations	Forest of Plateaus	Riparian forests	Shrubby Savannas	Nude soils or localities
Woody savannas	99.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Fallows or crops lands	0.04	94.30	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00
Forest plantations	0.61	0.00	98.58	1.99	0.00	0.00	0.00
Forests of Plateaus	0.00	1.38	0.41	95.35	0.00	0.00	1.10
Riparian forests	0.00	4.32	0.28	0.00	97.25	0.87	0.15
Shrubby Savannas	0.23	0.00	0.73	2.33	2.75	93.71	1.32
Nude soils or localities	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	5.42	97.44
Total	100	100	100	100	100	100	100

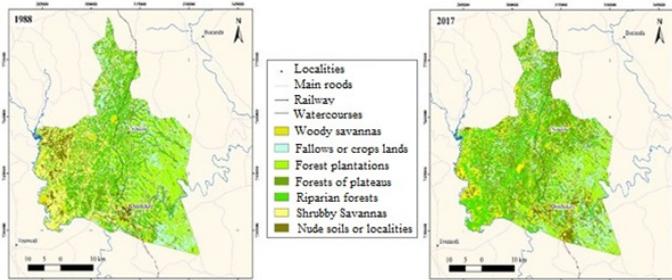


Figure 11. Evolution of land use types in Dimbokro Department in 1988 and 2017

In terms of change rate of land use types, the overall Dimbokro Department experienced a rate of 6.79% corresponding to an increasing area of 17% (271.67 Km²) of the savannas (shrubby and woody), the fallows or crops lands, the forests of plateaus and forest plantations, and a decreasing area of 23.66% (380.90 Km²) of the nude soils or localities and the riparian forests (Figures 12 & 13, Table IV). The riparian forests lost 30.36% of its area, while the nude soils or localities experienced a regression about 47.45% of its (Figures 11 & 12, Table IV) from 1988 to 2017. The shrubby savannas, the forest of plateaus and the fallows or crops lands showed a slight increase in area, while the woody savannas and the forest plantations got the higher positive rates of change with 93.40% and 205.05% of their respective areas (Figures 11 & 12, Table IV).

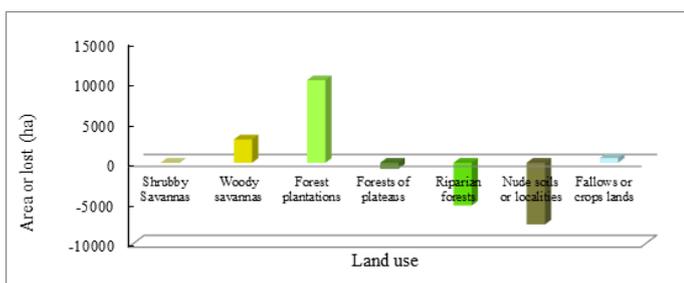


Figure 12. Changes in Dimbokro Department land use types between 1988 and 2017.

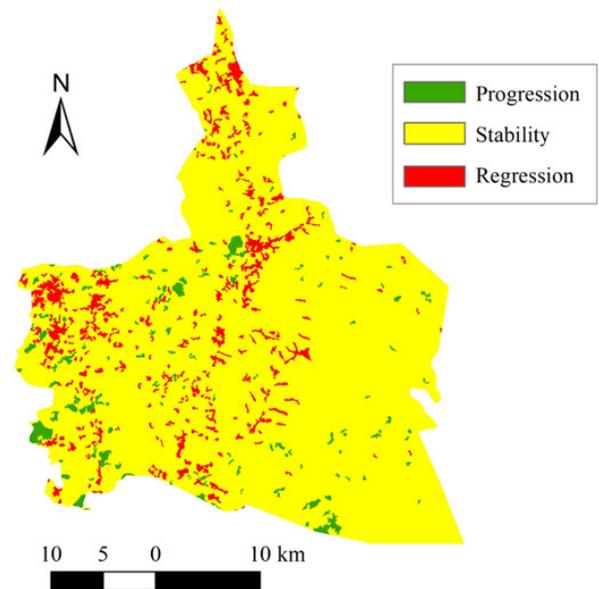


Figure 13. Changes in land use types between 1988 and 2017 in Dimbokro Department

Table IV. Matrix of the land use types change in Dimbokro Department from 1988 to 2017.

	Year 1988							Total
	Woody savannas	Fallows or crop lands	Forest plantation	Forest of plateaus	Riparian forests	Shrubby Savannas	Nude soils or localities	
Surface (ha)								
Woody savannas	94.31	1.1	0.14	0.03	0.05	0.01	0.01	100
Fallows or crop lands	0.87	15.57	5.11	2.51	12.56	14.76	8.42	100
Forest plantation	0.71	4.65	52.33	48.7	15.91	3.23	2.81	100
Forest of plateaus	0.97	13.09	29.77	37.2	38.2	14.01	7.82	100
Riparian forests	1.16	35.1	4.12	2.71	21.77	36.84	24.4	100
Shrubby Savannas	1.34	20.34	6.17	7.43	9.88	22.51	32.1	100
Nude soils or localities	0.65	10.15	2.38	1.45	1.64	8.65	24.4	100
Total Land uses	100	100	100	100	100	100	100	-

The change matrix of the cross-referencing of 1988 and 2017 land use maps of Dimbokro Department showed a change in the different land use types areas which was a decrease of 5.69% (367 325 ha) vegetation and an increase of 5.52% (355 984 ha) vegetation (Table V).

Table V. Overall land use types change in Dimbokro Department from 1988 to 2017.

Nature of change	Area (ha)	Importance (%)
Stability	5 729 291	88.79
Progression	355 984	5.52
Regression	367 325	5.69
Total	6 452 600	100

3.6. Relation between climatic variables and the land use types

In 1988, the Eastern zone of Dimbokro Department occupied mainly by the forest plantations, the fallows or crops lands and the riparian forests (Figure 7) showed the highest chlorophyll activity level (Figure 4), the lowest ground surface temperature (Figure 2) and the highest value of NDBI (Figures 8 & 9). The Western zone of Department was covered mainly by the savannas (shrubby and woody), the nude soils or localities and the forests of plateaus (Figure 7) and experienced the lowest chlorophyll activity level (Figure 4), the lowest land surface temperature (Figure 2) and the lowest value of NDBI (Figures 8 & 9).

4. DISCUSSION

The overall high map accuracies about 96.76% for 1988 Landsat TM image and 97.70% for 2017 Landsat OLI-TIRS image, and the Kappa coefficients of 0.96 for 1988 image and at 0.97 for 2017 image showed that the classification of the land use dynamics in Dimbokro Department (Figure 10) was very correct as well as recommended Pontius (2000), De Raadt et al. (2019) and Foody (2020). Thus, these maps (Figures 10, 11 & 13) experienced the field truth and the slight confusions found between the riparian forests and woody savannas, on the one hand, and between the fallows or crops lands and the nude soils or localities, on the other hand (Tables II & III), could be due to the physiognomy of these vegetation, which should be favourable to very close spectral responses. Therefore, the classification of the land uses into seven types (Figures 10-12, Tables II-IV) was very good and allowed to evaluate the land use change over the 29 years dynamics (Figures 11-13, Table IV). Many authors in Côte d'Ivoire, specially N'Guessan et al. (2003), Goetze et al. (2006), Barima (2009), Barima et al. (2009, 2010) and Sangne et al. (2015) stressed that the use of remote sensing indices provide useful and potential information for the knowledge of the state of the vegetation cover of an area. Elsewhere, others authors like Wang and Gamon (2019) and Weiss et al. (2020) gave the same conclusion.

The relationship of the GST (Figures 2 & 3) with the chlorophyll activity and level (Figures 5 & 6), and with the plant cover level (Figure 8) was conform to Benkahla (2011) who found the lower surface temperature in the higher vegetation density area and certified that the vegetation regulates the surface temperature by absorbing the radiant energy and re-emitting it as latent heat through the process of evapotranspiration. The areas of Dimbokro Department with the highest land use change from 1988 to 2017 was the forest plantations (Figures 8, 11 & 12) that increased and corresponded to the area of the highest chlorophyll level (Figure 5). These forests plantations belonging to the Société de Développement des Forêts domain were largely monospecific plantations made up of species such as *Gmelina arborea* Roxb., *Senna siamea* (Lam.) Irw. & Barn. and *Tectona grandis* L.f. and where the canopy was very closed by large trees (Kouamé 2017).

Meneses-Tovar (2011) stated that NDVI was an indicator of forest health, while Tra Bi (2013) underlined the correlation between the chlorophyll activities and the anthropogenic activities. In Dimbokro Department, the establishment of the crops like yam, cassava, palm oil, rice, cashew and banana was the main cause of the regression of both the riparian forests and the nude soils or localities (Figure 12) as have shown Kissinger et al. (2012) and Tchatchou et al. (2015). Ningal et al. (2008) showed that the evolution of agricultural areas to the detriment of vegetation cover was a threat of the forest areas. Mama and Oloukoi (2003), Kissinger et al. (2012) and Tchatchou et al. (2015) distinguished the direct and indirect causes of the vegetation cover degradation. The direct causes were related to human activities including charcoal production, the medicinal plants extraction, logging, bush fires, forest clearance etc. by the rural populations. The Indirect causes were related to the poverty of the local populations, which harvest the vegetation for the financial means or to their primary needs such as the health, the meat, the food etc.

5. CONCLUSION

The analyses of Landsat TM satellite images from 1988 and OLI/TIRS satellite images from 2017 showed the spatial and temporal dynamics of the landscape and land use types in Dimbokro Department. The unsupervised classification method discriminated land use types on the basis of remote sensing indices including GST, NDVI, NDBI and NDWI. These indices provided information on the heat exchange, the chlorophyll level and activity, the vegetation cover and dynamic. From 1988 to 2017, all the land use types increased in area more or less significantly except the riparian forests and the nude soils or localities, which decreased in area significantly in Dimbokro Department. A relationship was found between the land use types and the chlorophyll activity level and activity, and the GST, and the NDBI. Our hypothesis to find different responses of the land use types to human activities and temperature variation in Dimbokro Department was confirmed.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank the African Centre of Excellence on Climate Change, Biodiversity and Sustainable Agriculture of the University Félix Houphouët-Boigny which funded this work. We're grateful to local technician and people who helped us to collect data in the field. Also, many thanks for the reviewers who helped us to improve this paper.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors of this manuscript declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

- Avenard J.M., (1971). Aspects de la Géomorphologie. In : Avenard J.M., Eldin E., Girard G., Sircoulon J., Touchebeuf P., Guillaumet J.-L., Adjanohoun E. and Perraud A. (eds). *Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire*. ORSTOM, Paris, pp. 7-72.
- Bamba I., Mama A., Neuba D.F.R., Koffi K.J., Traoré D., Visser M., Sissin B., Lejoly J. and Bogaert J., (2008). Influence des actions anthropiques sur la dynamique spatiotemporelle de l'occupation du sol dans la province du Bas-Congo (R. D. Congo). *Sciences et Nature*, 5(1), 49-60.
- Barima Y.S.S., (2009). Dynamique, fragmentation et diversité végétale des paysages forestiers en milieux de transition forêt-savane dans le Département de Tanda (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat, Université Libre de Bruxelles, Belgique, 178 p.
- Barima Y.S.S., Barbier N., Bamba I., Traoré D., Lejoly J. and Bogaert J., (2009). Dynamique paysagère en milieu de transition forêt-savane ivoirienne. *Bois et Forêts des Tropiques*, 299 (1), 15-25.
- Barima Y.S.S., Egnankou W.M., N'Doumé A.C.T., Kouamé F.N. and Bogaert J., (2010). Modélisation de la dynamique du paysage forestier dans la région de transition forêt-savane à l'Est de la Côte d'Ivoire. *Revue Télédétection*, 9 (2), 129-138.
- Benkahla N., (2011). Identification de la végétation terrestre par radiomètre MSG-SEVIRI et suivi de son évolution temporelle. Diplôme Magister, Faculté des Sciences, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, Algérie 86 p.
- Brou Y.T., Akindès F. and Bigot S., (2005). La variabilité

- climatique en Côte d'Ivoire : entre perceptions sociales et réponses agricoles. *Cahiers Agricultures*, 14 (6), 533-540.
- Cheng G., Xie X., Han J., Guo L. and Xia G.-S., (2020). Remote sensing image scene classification meets deep learning: Challenges, methods, benchmarks, and opportunities. *Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing*, 13, 3735-3756.
- Crist E.P. and Cicone R.C., (1984). Application of the Tasseled Cap concept to simulated thematic mapper data. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, 50, 343-352.
- De Raadt A., Warrens M.J., Bosker R.J. and Kiers H.A., (2019). Kappa coefficients for missing data. *Educational and psychological measurement*, 79(3), 558-576.
- Eggert M.K.H., (1993). Central Africa and the archeology of the equatorial forest: reflections on some major topics. In: Shaw T., Sinclair P., Andah B. and Okpoko A. (eds). *The archaeology of Africa: food, metals, and towns*. New York, Routledge, 289-329.
- Denis A., (2013). Travaux Pratiques de télédétection spatiale. Arlon Campus Environnement, Université de Liège, Belgique, 84 p.
- Foody G.M., (2020). Explaining the unsuitability of the kappa coefficient in the assessment and comparison of the accuracy of thematic maps obtained by image classification. *Remote Sensing of Environment*, 239, 111630.
- Godard V., (2005). Typologie des paysages forestiers du Sud du massif de Fontainebleau après la tempête de décembre 1999. Évaluation des dégâts forestiers à l'aide d'un semis de points et d'imagerie satellitale optique. *Revue Internationale de Géomatique*, 15 (3), 281-302.
- Goetze D., Horsch B. and Porembski S., (2006). Dynamics of forest-savanna mosaics in north-eastern Ivory Coast from 1954 to 2002. *Journal of Biogeography*, 33, 653-664.
- Guillaumet J.-L. and Adjanohoun É., (1971). La végétation de la Côte d'Ivoire. In : Avenard J. M., Éldin E., Girard G., Sircoulon J., Touchebeuf P., Guillaumet J.-L., Adjanohoun É. and Perraud A. (eds). *Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Mémoires de l'ORSTOM* 50, 157-263.
- Kissinger G., Herold M. and De S.V., (2012). Drivers of deforestation and forest degradation. A synthesis report for REDD+ policymakers. Vancouver, Canada, 48 p.
- Kouamé F.N., (2016). Structure de la végétation, flore et régénération des forêts classées de Duekoué et de Scio dans la zone de forêt dense humide de l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Thèse Doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny, 282 p.
- Kouamé F.N., (2017). Végétation, flore et régénération en forêts classées de Côte d'Ivoire. Editions universitaires européennes, Saarbrücken, 285 p.
- Kouamé F.N. and Zoro Bi I.A., (2010). Nouveau découpage de la zone de forêt dense humide de la Côte d'Ivoire. *Sciences et Nature*, 7 (2), 177-194.
- Kouassi A.M., Kouamé K.F., Ahoussi K.E., Oularé S. and Biémi J., (2012). Impacts conjugués des changements climatiques et des pressions anthropiques sur les modifications de la couverture végétale dans le bassin versant du N'Zi-Bandama (Côte d'Ivoire). *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologies*, 20, 124 - 146.
- Kpedenou K.D., Boukpepsi T. and Tchamie T.T.K., (2016). Quantification des changements de l'occupation du sol dans la préfecture de Yoto (Sud-est Togo) à l'aide de l'imagerie satellitaire Landsat. *Revue des Sciences de l'Environnement*, 13, 137-156.
- Lambert N., (2012). Cartographie de l'occupation du sol: Spécifications techniques. Observatoire du Sahara et du Sahel, 36 p.
- Li Z.-L. and Becker F., (1993). Feasibility of land surface temperature and emissivity determination from AVHRR Data. *Remote Sensing of Environment*, 43, 67-85.
- Ma L., Liu Y., Zhang X., Ye Y., Yin G. and Johnson B.A., (2019). Deep learning in remote sensing applications: A meta-analysis and review. *ISPRS journal of photogrammetry and remote sensing*, 152, 166-177.
- Mama V.J. and Oloukoi J., (2003). Evaluation de la précision des traitements analogiques des images satellitaires dans l'étude de la dynamique de l'occupation du sol. *Télédétection*, 3 (5), 429-441.
- Meneses-Tovar C.L., (2011). L'indice différentiel normalisé de végétation comme indicateur de la dégradation. *Unasylva*, 238 (62), 46 p.
- Mortsch L.D., (2006). Impact of climate change on agriculture, forestry and wetlands. In : Bhatti J., Lal R., Apps M.J. and Price M.A. (eds). *Climate change and managed ecosystems*, pp.45-67.
- N'guessan K.E., Bellan M.-F. and Blasco F., (2003). Suivi par télédétection spatiale d'une forêt tropicale humide protégée soumise à des pressions anthropiques. *Télédétection*, 3 (5), 443-456.
- Ningal T., Hartemink A.E. and Bregt A.K., (2008). Land use change and population growth in the Morobe Province of Papua New Guinea between 1975 and 2000. *Journal of Environment Management*, 87, 117-124.
- Noyola-Medrano C., Mering C. and Rojas Beltrán M.A., (2008). Evaluation du changement de l'occupation du sol à l'aide des images Landsat et Spot: champ volcanique de la Sierra Chichinautzin, Mexique, 12 p.
- Ouédraogo O., Thiombiano A., Hahn-Hadjali K. and Guinko S., (2009). Diversity and dynamics of the juvenile woody vegetation of the Arly National Park, Burkina Faso, *Candollea*, 64, 257-278.
- Parmentier I., Harrigan R.J., Buermann W., Mitchard E.T.A., Saatchi S., Malhi Y., Bongers F., Hawthorne W.D., Leal M.E., Lewis S.L., Nusbaumer L., Sheil D., Sosef M.S.M., Affum-Baffoue K., Bakayoko A., Chuyong G.B., Chatelain C.V., Comiskey J.A., Dauby G., Doucet J.-L., Fauset S., Gautier L., Gillet J.-F., Kenfack D., Kouamé F.N., Kouassi E.K., Kouka L.A., Parren M.P.E., Peh K. S.-H., Reitsma J.M., Senterre B., Sonké B., Sunderland T.C.H., Swaine M.D., Tchouto M.G.P., Thomas D., van Valkenburg J.L.C.H. and Hardy O.J., (2011). Predicting alpha diversity of African rain forests: models based on climate and satellite-derived data do not perform better than a purely spatial model." *Journal of Biogeography*, 38(6), 1164-1176.
- Parmentier I., Malhi A., Senterre B., Whittaker R.J., A.T.D.N., Alonso A., Balinga M.P.B., Bakayoko A., Bongers F., Chatelain C.V., Comiskey J.A., Corthay R., Djuikouo-Kamdem M.-N., Doucet J.-L., Gautier L., Hawthorne W.D., Issembe Y.A., Kouamé F.N., Kouka L.A., Leal M.E., Lejoly J., Lewis S.L., Nusbaumer L., Parren M.P.E., Peh K.S.-H., Phillips O.L., Poorter L., Sheil D., Sonké B., Sosef M.S.M., Sunderland T.C.H., Stropp J., ter Steege H., Swaine M.D., Tchouto M.G.P., van Gernerden B.S., van

- Valkenburg J.L.C.H. and Wöll H., (2007). The odd man out? Might climate explain the lower tree α -diversity of African rain forests relative to Amazonian rain forests? *Journal of Ecology*, 95, 1058-1071.
- Perraud A., (1971). Les sols. In : Avenard J.M., Eldin E., Girard G., Sircoulon J., Touchebeuf P., Guillaumet J.-L., Adjanohoun E. and Perraud A. (eds). Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. ORSTOM, Paris, pp. 265-391.
- Pontius Jr R.G., (2000). Quantification error versus location error in comparison of categorical maps. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 66, 1011-1016.
- Robin M., (2002). Télédétection, des Satellites au SIG. Une analyse complète du processus de création d'un type essentiel d'information géographique. Nathan, 2ème édition, 318 p.
- Ruuska S., Hämäläinen W., Kajava S., Mughal M., Matilainen P. and Mononen J., (2018). Evaluation of the confusion matrix method in the validation of an automated system for measuring feeding behaviour of cattle. *Behavioural processes*, 148, 56-62.
- Sangne Y.C., (2009). Dynamique du couvert forestier d'une aire protégée soumise aux pressions anthropiques : cas de la forêt classée de Téné dans le Département d'Oumé (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat, Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire), 220 p.
- Sangne C.Y., Barima Y.S.S., Bamba I. and N'Doumé C.T.A., (2015). Dynamique forestière post-conflits armés de la forêt classée du Haut-Sassandra (Côte d'Ivoire). *VertigO*, 15 (3), 1-18.
- Schlaepfer R., (2002). Analyse de la dynamique du paysage. Fiche d'enseignement 4.2, Laboratoire de Gestion des Ecosystèmes, Ecole Polytechnique de Lausanne, Suisse 10 p.
- Spichiger R.E., Savolainen V.V. and Figeat M., (2000). Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne 372 p.
- Tchatchou B., Sonwa D.J., Ifo S. and Tiani A.M., (2015). Déforestation et dégradation des forêts dans le bassin du Congo : Etat des lieux, causes actuelles et perspectives. Papier occasionnel 120. Bogor, Indonésie, CIFOR, 47 p.
- Toyi M.S., Barima Y.S.S., Mama A., André M., Bastin J.-F., De Cannière C., Sinsin B. and Bogaert J., (2013). Tree plantation will not compensate natural woody vegetation cover loss in the Atlantic Department of Southern Benin. *Tropicultura*, 31, 62-70.
- Tra Bi Z.A., (2013). Etude de l'impact des activités anthropiques et de la variabilité climatique sur la végétation et les usages des sols, par utilisation de la télédétection et des statistiques agricoles, sur le bassin versant du Bouregreg (Maroc). Thèse de Doctorat, Géographie, Université Félix Houphouët Boigny et Université d'Artois 191 p.
- Valor E. and Caselles V., (1996). Mapping Land Surface Emissivity from NDVI: Application to European, African, and South American Areas. *Remote sensing of Environment*, 57, 167-184.
- Vancutsem C., Pekel J.-F., Evrard C., Malaisse F. and Defourmy P., (2006). Carte de l'occupation du sol de la République Démocratique du Congo au 1/3 000 000°. Faculté d'Ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain 29 p.
- Wan Z. and Li Z.-L., (1997). A physics-based algorithm for retrieving land-surface emissivity and temperature from EOS/MODIS data, IEEE. *Transactions on Geoscience and Remote Sensing*, 3(5), 980-996.
- Wang R. and Gamon J.A., (2019). Remote sensing of terrestrial plant biodiversity. *Remote Sensing of Environment*, 231, 111218.

