



Revue CAMES ISSN 2424-7235

Semestriel du Conseil Africain et Malgache
pour l'Enseignement Supérieur

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

Année 2015, Volume 03, Numéro 2



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.

SOMMAIRE

1	PREVALENCE DES FACTEURS DE RISQUE CARDIO-VASCULAIRE CHEZ LES OGO DU TOGO <i>Amivi TETE-BENISSAN*¹, Mlatovi DEGBE¹, Edefia AKPALO², Kodjo. AKLIKOKOKOU¹, Messanvi GBEASSOR¹</i>	06
2	CARACTÉRISTIQUES FLORISTIQUES, PHYTOSOCIOLOGIQUES ET COLOGIQUES DE LA VÉGÉTATION DES CARRIÈRES EN RÉPUBLIQUE DU BÉNIN. <i>Akouavi Léa AÏTONDJI¹, Mireille Sêwanoudé Scholastique TOYI, Barthélémy KASSA, Brice SINSIN</i>	13
3	LE RÉSEAU D'AIRES PROTÉGÉES BÉNIN-TOGO ASSURE-T-IL LA CONSERVATION DE <i>THUNBERGIA ATACORENSIS</i> (ACANTHACEAE)? Titre court : Conserver <i>Thunbergia atacorensis</i> <i>Adandé Belarmain Fandohan^{1,2,3}, Jacob Koundouonon Moutouama⁴, Samadori S. Honoré Biaou⁴, Gérard Nounagnon Gouwakinnou^{2,5}, Cossi Aristide Adomou^{2,6}</i>	25
4	EFFECT OF INCORPORATION OF COWPEA AND SOYBEAN PODS IN DIETS ON FEED INTAKE, DIGESTIBILITY AND WEIGHT GAIN PERFORMANCES OF RABBIT Running title: Performances of rabbits fed with diets containing legumes pods <i>*Koura B.¹, Houndonougbo F. and Houinato M</i>	32
5	EXPLOITATION FORESTIERE A FAIBLE IMPACT DANS LES TECKERAIES DE LA LAMA (BENIN, AFRIQUE DE L'OUEST) <i>Denis GNANGUENON-GUESSE* ; Sunday Berlioz KAKPO; Augustin Kossi N. AOUDJI; Kourouma KOURA; Jean Cossi GANGLO</i>	37
6	IDENTIFICATION ET HIÉRARCHISATION D'ÉLÉMENTS NUTRITIFS DÉTERMINANTS POUR LA PRODUCTION DU MAÏS (<i>ZEA MAYS</i> L.) SUR SOLS FERRUGINEUX TROPICAUX AU SUD DU TOGO <i>Gbénonchi MAWUSSI¹, *, Ayi Koffi ADDEN², Jean Mianikpo SOGBEDJI¹, Kwasi Dzola AYISAH¹, Komla SANDA¹</i>	45
7	EFFETS DE LA DIGESTION DANS LE RUMEN SUR LES PROPRIÉTÉS ANTHELMINTHIQUES DE <i>BRIDELIA FERRUGINEA</i> (BENTH.), <i>MITRAGYNA INERMIS</i> (WILLD.) KUNTZE ET <i>COMBRETUM GLUTINOSUM</i> (PERR. EX DC.) <i>Alowanou G. Géorcelin¹, Olouladé A. Pascal^{1,2}, Koudandé O. Delphir³, Babatoundé Séverin⁴, Hounzangbé-Adoté M. Sylvie¹.</i>	50
8	ANTIBODIES USED FOR AN IMMUNOLOGICAL CROSS-REACTIVITY BETWEEN POLAR TUBE PROTEINS OF <i>ENCEPHALITOZOOM CUNICULI</i> (MICROSPORIDIA) AND PROTEINS POLAR FILAMENT OF <i>MYXOBOLUS EPISQUAMALIS</i> (MYXOZOA) PARASITE OF FLATHEAD MULLET <i>MUGIL CEPHALUS</i> (MUGILIDAE). <i>Malick Fall¹, Arfang Diamanka¹ and Bhen S. Toguebaye¹</i>	57
9	PROPRIÉTÉS INSECTICIDES ET RÉPULSIVES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'<i>OCIMUM SANCTUM</i> L. ENVERS <i>DYSDERCUS VOELKERI</i> SCHMIDT (HETEROPTERA; PYRRHOCORIDAE) <i>N. A. Nadio^{1*}, W. P. Poutouli², K. Koba¹, B. Laba¹, P. Tozouou², M. E. Bokobana¹, P. Akantetou³, C. Raynaud⁴, K. Sanda¹</i>	65

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)

Les auteurs dont les articles ont été acceptés doivent procéder au règlement des **frais d'insertion** s'élèvent à **50 000 FCFA** auprès de l'agence comptable du CAMES, par transfert rapide.

PREVALENCE DES FACTEURS DE RISQUE CARDIO-VASCULAIRE CHEZ LES OGO DU TOGO

Amivi TETE-BENISSAN^{*1}, Mlatovi DEGBE¹, Edefia AKPALO², Kodjo. AKLIKOKOKOU¹, Messanvi GBEASSOR¹.

RESUME

But de l'étude : – L'épidémiologie des maladies cardio-vasculaires est inconnue dans les ethnies isolats du Togo. Cette étude a pour but d'évaluer l'influence de l'environnement, des habitudes diététiques et de l'endogamie sur la prévalence des facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires chez les Ogo (relatif isolat).

Patients et méthodes. – Une étude transversale effectuée de novembre 2011 à septembre 2012 a concerné 360 Ogo apparemment sains. 210 sujets vivant à Bogu en région montagneuse et enclavée et 150 sujets résidant depuis plus de cinq ans en ville sur la côte atlantique. Le régime alimentaire a été déterminé, l'Indice de masse corporelle et la pression artérielle mesurés, la glycémie et les lipides dosés par méthode enzymatique.

Résultats. – L'alimentation des sujets en ville est plus riche en protéines animales, graisses saturées et insaturées *trans*, NaCl, monosodium de glutamate et sucre raffiné. Ils sont plus sédentaires et ont des valeurs plus élevées pour l'IMC ($p < 0,0001$) ; la PAD ($p < 0,001$) ; la PAS ($p < 0,05$). En ville la prévalence de préHTA et HTA de stade I et II est respectivement de 1,5 et 1,56 fois celle des sujets du village dont l'indice d'athérogénicité (CDL-C/HDL-C) est plus faible (2,77 vs 3,84).

Conclusion. – Les sujets étudiés ne souffrent pas de malnutrition et ne présentent pas de surcharge pondérale. Cependant les valeurs du CT, TG, CDL-C/HDL-C, glycémie et pression artérielle montrent que les facteurs de risque cardio-vasculaire augmentent avec les modifications du mode de vie liées à l'urbanisation chez les sujets de la ville. Le caractère isolat des Ogo ne les protégeraient pas plus que les autres ethnies togolaises contre ces affections.

Mots clés : Ogo, ethnie isolat, risque athérogène, HTA, maladies cardiovasculaires

ABSTRACT

Objectives - Epidemiology of cardiovascular diseases (CVD) is still unknown in Togolese isolate ethnic groups. The aim of this study is to evaluate influence of environment, dietetic practices and endogamy on the prevalence of CVD risk factors in Ogo (isolate ethnic group).

Patients and methods - A cross-sectional study carried out of November 2011 to September 2012 related to 360 Ogo apparently healthy subjects. They were 210 subjects alive in mountain and forest region and 150 subjects living since more than five years on Atlantic coastal region in city. A nutritional investigation was carried out, Body Mass Index and Blood Pressure were measured; glycaemia and lipids were performed by enzymatic methods.

Results - Subjects of the city food are richer in animal proteins, saturated and unsaturated *trans* fats, NaCl, monosodium of glutamate and refined sugar. They are more sedentary and have more increase values for BMI ($p < 0.0001$); DBP ($p < 0.001$); SBP ($p < 0.05$). For subject of city, the prevalence of preHT and stage I and II HT is respectively 1.5 and 1,56 times that of the village subjects whose atherogenicity index (CDL-C/HDL-C) is lower (2,77 vs 3,84).

Conclusion - Our findings suggest that the Ogo studied are not malnourished and have not overload weight. However the values of CT, TG, CDL-C/HDL-C, glycaemia and blood pressure show that cardiovascular risk factors increase with lifestyle modifications related to the urbanization in the subjects of the city.

The biological characteristics of Ogo would not protect them more than the other Togolese ethnics groups against these affections.

Key words: Ogo, ethnic isolate group, atherogenic risk, HT, cardiovascular diseases

¹Laboratoire de Physiologie et de Pharmacologie des Substances Naturelles, Faculté des Sciences, Université de Lomé B.P. 1515 Lomé, (Togo).

²Département de Biochimie, Faculté des Sciences, Université de Lomé B.P. 1515 Lomé, (Togo).

*Auteur correspondant : E mail: colette.gassou@gmail.com /

ateteben@tg.refer.org

Tél (228) 90 03 84 02 / (228) 22 36 46 38.- Fax: (228) 22 25 87 84 / (228) 22 21 85 95.

1. INTRODUCTION

Les maladies cardio-vasculaires (MCV) constituent actuellement la première cause majeure d'incapacité et de mortalité prématurée dans le monde (Lozano *et al.*, 2012 ; OMS, 2013) On estime que plus de 30% de la mortalité mondiale sont imputables aux MCV et plus de 80% de ces décès surviennent dans les pays en développement (OMS, 2013). En Afrique subsaharienne la transition épidémiologique est parallèlement associée à l'augmentation

rapide des MCV et de leurs facteurs de risque surtout dans les populations urbaines (Touze, 2007 ; Dalal *et al.*, 2011). Ces affections qui étaient peu visibles, n'apparaissent pas nécessairement comme des priorités, mais sont devenues un problème majeur de santé publique et l'Afrique subsaharienne est aujourd'hui confrontée à un double fardeau des maladies contagieuses et non-transmissibles (Frohlich et Potvin, 2008 ; Mensah, 2008a; Lang, 2012; Lim *et al.*, 2012 ; OMS, 2013; Houehanou *et al.*, 2015). Le taux de prévalence de la maladie coronaire et des accidents vasculaires cérébraux (AVC)

rejoint celui des maladies infectieuses et nutritionnelles en raison des revenus faibles, des difficultés d'accès aux soins et de l'insuffisance de la prévention (Mensah, 2008b ; Barton et al., 2011; Lang, 2012; Houehanou et al., 2015). Sur le plan socio-économique, les MCV entraînent des coûts très élevés en traitement, prise en charge des maladies, baisse de productivité des sujets atteints (Gaziano et al., 2008; Barton et al., 2011; Dalal et al., 2011; Lang, 2012; FID, 2013; OMS, 2013). Sur le plan métabolique, les MCV résultent souvent du développement de l'athérosclérose sous l'influence des facteurs dont les plus importants sont l'hypertension artérielle (HTA), les dyslipidémies, le diabète, l'obésité, l'hérédité (Ergul, 2000; Frohlich et Potvin 2008; OMS, 2013).

Au Togo, il existe encore des ethnies (Adélé, Ntribou, Ogo..) considérées comme des relatifs isolats (Tété-Bénissan et Gbéassor 2011). Ainsi, les Ogo (figure 1) qui représentent environ 0,1% de la population togolaise vivent dans une zone enclavée et montagneuse du massif de l'Atakora à 450 m d'altitude. La cohésion du groupe est fondée sur un système matrimonial endogamique et la langue Igo déclarée en voie de disparition par l'UNESCO (Poidi-Glem 2007). Ainsi, actuellement plus de 95% des Ogo sont encore des autochtones. La présente étude a pour but d'évaluer la prévalence des facteurs de risque des MCV chez les Ogo qui commencent à s'installer en ville et ceux restés au village.



Figure:1 Principaux groupes ethniques du Togo

2. PATEINTS ET METHODES

2.1. Population étudiée : Il s'agit d'une étude transversale réalisée de novembre 2011 à septembre 2012 sur des sujets qui effectuaient un contrôle de santé soit au dispensaire du village, soit au CHU campus de Lomé. Ils faisaient partie d'un programme de dépistage des hémoglobinopathies

institué par les autorités villageoises en raison de l'endogamie préférentiel qui prévaut dans cette ethnie. Notre étude est un complément d'informations pour le programme initial avec le consentement du Chef de Canton d'Ahlon et des notables du village de Bogo. La population d'étude (5,2% des Ogo) est constituée de 360 sujets adultes des deux sexes âgés de 18 à 65 ans dont les deux parents géniteurs sont Ogo. Les sujets apparemment sains, avertis, renseignés sur l'étude et ayant tous donné leur consentement sont repartis en deux groupes : groupe I, 210 sujets (agriculteurs et élèves) du village de Bogo situé à 200 km de la capitale et groupe II, 150 sujets Ogo (commerçants et employés de bureau) vivant à Lomé depuis plus cinq ans.

Echantillons sanguins: chez chaque sujet à jeun, 5 ml de sang veineux sont recueillis dans un tube sec, conservé à 4°C jusqu'au laboratoire dans le cas des sujets de Bogo. Le sérum séparé après centrifugation, est aliquoté et conservé à 4°C pour les dosages immédiats et à -20°C pour les dosages ultérieurs.

2.2. Méthodes d'étude

Enquête nutritionnelle et socioculturelle : il s'est agi d'une enquête semi-structurée sur les habitudes diététiques effectuée au cours des séances de sensibilisation sur l'importance du programme de dépistage des hémoglobinopathies. Le jour du prélèvement pour chaque sujet, l'appartenance ethnique, l'état civil, le niveau d'étude, les activités professionnelles et tous les repas pris au cours des 48 heures ont été précisés.

Mesure des paramètres anthropométriques : le poids a été déterminé à l'aide d'une pèse personne SECA 786 (SECA, France). La taille est mesurée à l'aide d'une toise Holtex 14287 (Holtex, France).

Mesure de la Pression artérielle (PA): elle a été effectuée à l'aide d'un tensiomètre automatique au bras (TB-102 Spengler SAS, Issoudun, France) à deux reprises sur des sujets assis et au repos depuis au moins 20 minutes. Les pressions artérielles diastolique (PAD) et systolique (PAS) ont été mesurées. Les classes de l'HTA sont définies selon les valeurs de référence de JNC VIII (James et al., 2014)

Dosages biochimiques : ils ont été effectués sur l'automate Selectra ProM (ELITech France), analyseur multiparamétrique de diagnostic in vitro. Le cholestérol total (CT), les triglycérides (TG) et le HDL-cholestérol (HDL-C) sériques ont été dosés en utilisant les coffrets de réactifs ELITECH (France) respectivement PAP CHSL-0455, PAP TGML-0455, PAP HDLC-0230. Le LDL-cholestérol (LDL-C) a été déterminé par la formule de Friedwald (LDL-cholestérol (g/L) = CT - (TG/5 + HDL-cholestérol) et les indices d'athérogénicité (LDL-C/HDL-C) obtenus par calcul. La glycémie capillaire est déterminée à l'aide d'un glucomètre électronique GlucoDr Super Sensor (Allmedicus, Gyeonggi, Korea) et confirmée par la méthode enzymatique au laboratoire avec le coffret PAP GPSL-0455 (ELITECH, France).

2.3. Méthodes statistiques

L'analyse statistique des données est effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5.0. Les résultats quantitatifs sont exprimés par la Moyenne±Ecart-type. Les différents groupes ont été comparés à l'aide du test d'ANOVA suivi du post-test Tukey's Multiple Comparison. Le seuil de signification retenu est de 5% (p<0,05).

3. RESULTATS

3.1. Enquête nutritionnelle et socio professionnelle

Les informations recueillies sur les habitudes nutritionnelles des sujets Ogo révèlent qu'en ville et au village, les apports glucidiques proviennent essentiellement des tubercules, céréales, légumes et fruits. L'apport en protéines végétales (niébé, soja) est assez important. Cependant à Lomé, viande, œufs, poissons et crustacés sont plus consommés qu'à Bogo. Les besoins en lipides sont couverts par les huiles végétales (palme, soja, colza, arachide..). Les vitamines liposolubles et hydrosolubles sont apportées par les huiles, les fruits et les légumes. A Bogo, les sujets prennent deux repas journaliers avec en moyenne 85% de glucides, 10% de protéines et 3% à 5% de lipides. A Lomé, les trois repas quotidiens sont constitués en moyenne de 75% de glucides, 15% de protéines, 10% de lipides et contiennent plus de produits d'importation riches en graisses saturées et insaturées *trans*, en sel (NaCl et monosodium de glutamate) et en sucre raffiné.

3.2. Données anthropométriques

Les caractéristiques démographiques de la population d'étude sont indiquées dans le tableau I. 360 sujets dont 177 hommes et 183 femmes (sex-ratio de 0,97). Le groupe I comprend 210 Ogo du village dont 102 hommes et 108 femmes (sex-ratio 0,95). Le groupe II est constitué de 150 sujets de Lomé dont 75 hommes et 75 femmes (sex-ratio 1). L'âge moyen des sujets du village est 36,61±20,70 ans et celui des sujets de Lomé est de 35,52±13,41 ans.

Les résultats des mesures de la taille et de la masse corporelle des deux groupes indiqués dans le tableau I et figure 2 montrent que les valeurs moyennes de la masse corporelle et de l'IMC des sujets de Lomé sont significativement (p<0,001, p<0,0001) plus élevées que celles des sujets de Bogo. Pour l'IMC, les femmes ont des valeurs plus élevées que les hommes à Lomé (p<0,0001) et à Bogo (p<0,001).

Tableau I : Paramètres anthropométriques des Ogo étudiés (Moyenne ± Ecart-type)

		Age (ans)	Masse (kg)	Taille (m)	IMC (kg/m ²)
Ogo de Lomé (n=150)	Hommes (n = 75)	36,16±13,86	64,24±10,55	1,72±0,07	21,17±3,04
	Femmes (n= 75)	34,66±11,17	65,47±15,3	1,58±0,04	25,82±5,27***
	Tous (n=150)	35,52±13,41	64,76±21,07**	1,66±0,10	23,15±4,75***
Ogo de Bogo (n=210)	Hommes (n= 102)	31,81±19,50	50,10±13,32	1,62±0,12	18,47±2,87
	Femmes (n= 108)	40,56±22,59	51,54±10,97	1,55±0,1	20,94±3,87**
	Tous (n=210)	36,61±20,70	50,89±12,08	1,58±0,10	19,90±3,66C

Comparaison : Masse Ogo Lomé vs Ogo Bogo : (***) p < 0,001 ;
 IMC : Lomé : Femmes vs Hommes (***) p<0,0001 ; Bogo femmes vs Hommes (***) p<0,001
 Ogo de Lomé Vs Ogo de Bogo : (***) p < 0,0001.

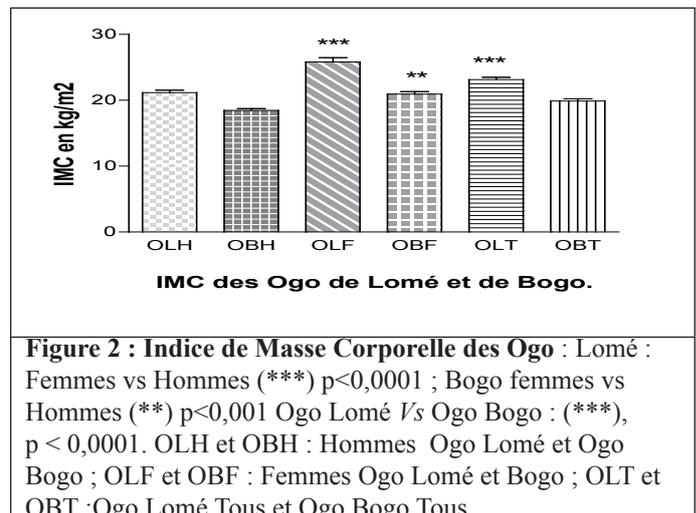


Figure 2 : Indice de Masse Corporelle des Ogo : Lomé : Femmes vs Hommes (***) p<0,0001 ; Bogo femmes vs Hommes (***) p<0,001 Ogo Lomé Vs Ogo Bogo : (***) p < 0,0001. OLH et OBH : Hommes Ogo Lomé et Ogo Bogo ; OLF et OBF : Femmes Ogo Lomé et Bogo ; OLT et OBT :Ogo Lomé Tous et Ogo Bogo Tous

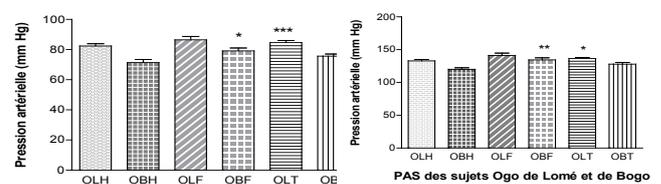


Figure 3 : Pressions artérielles diastolique (PAD) et systolique (PAS) des Ogo de Lomé et de Bogo.

OLH et OBH : Hommes Ogo Lomé et Ogo Bogo ; OLF et OBF : Femmes Ogo Lomé et Bogo ; OLT et OBT :Ogo Lomé Tous et Ogo Bogo Tous. Comparaison : OLT vs OBT, PAD (***) P < 0,001 ; PAS (*) P < 0,05 ; OBF vs OBH PAD (*) P < 0,05 ; PAS (p<0, 01)

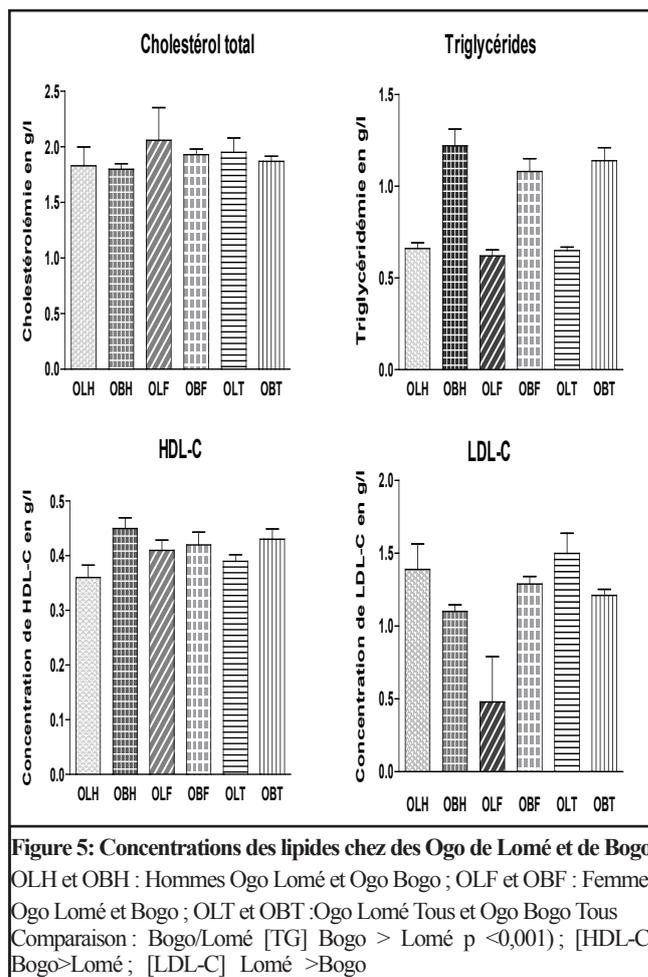
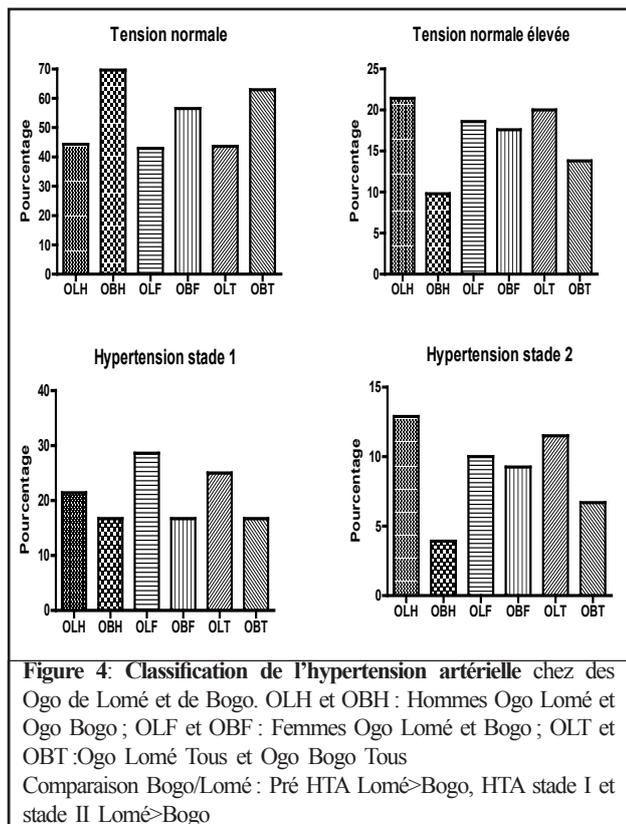
3.3. Pression artérielle

Les figures 3 et 4 montrent les résultats des pressions artérielles PAD, PAS et la prévalence de HTA chez les sujets Ogo étudiés. Des valeurs significativement plus élevées sont observées chez les Ogo de Lomé PAD (p<0,001) et PAS (p<0,05).

A Bogo, les valeurs des femmes sont significativement plus élevées, PAD (p<0,05) et PAS (p<0,01). Dans les 2 groupes, les sujets présentant une pression artérielle normale (PAS <120 mm Hg, PAD <80 mm Hg) sont respectivement de 62,9% à Bogo et 43,6% à Lomé. Le taux de sujets préhypertendus (pression normale haute) avec PAS :120-139 mm Hg et PAD : 80-89 mm Hg est 1,5 fois plus élevé à Lomé (20% vs 13,8%) qu'à Bogo. Les résultats révèlent plus de femmes hypertendues que d'hommes : 1,26 fois plus à Bogo (25,9% vs 20,6%) et 1,12 fois plus à Lomé (38,3% vs 34,3%). A Lomé, on observe 1,5 fois (25% vs 16,7%)

plus de sujets présentant une HTA de stade I (PAS :140-159 mm Hg, PAD :90-99 mm Hg) et 1,71 fois (11,43% vs 6,7%) plus de sujets ayant une HTA de stade II (PAS : 160-179 mm Hg, PAD: 100-109 mm Hg). Les valeurs observées montrent que la prévalence de l'HTA (stade I et stade II) est 1,56 fois supérieure à Lomé qu'à Bogo (36,43% vs 23,34%).

normales pour CT, TG, HDL-C sauf pour LDL-C à Lomé. Pour les indices d'athérogénicité on observe : à Lomé (H = 3,79; F = 3,95; Tous = 3,84) et à Bogo (H = 2,45 ; F = 3,06 ; Tous = 2,77).



3.4. Dosage du glucose sanguin

Les résultats indiqués dans le tableau II montrent que les sujets Ogo présentent des valeurs normales à Bogo et à Lomé et aucune différence significative n'est observée entre les sujets restés au village et ceux résidant en ville.

Tableau II: Valeurs de la glycémie (mg/dl) chez les Ogo étudiés (moyenne ± écart type)

	Ogo de Lomé			Ogo de Bogo			Normes
	H (n=75)	F (n=75)	Tous (n=150)	H (n=102)	F (n=108)	Tous (n=210)	
GLYCEMIE	99,71±25	112,32±35	105,82±27 ^a	102,4±23	109,35±40	105,97±36	80- 110 mg/dl

Comparaison : Glycémie Ogo Lomé vs Ogo Bogo NS (non significatif)

3.4. Bilan lipidique

La figure 5 indique que les valeurs moyennes du CT sont plus élevées à Lomé (1,95± 1,89 mg/l vs 1,87±0,52 mg/l) alors que les TG des sujets de Bogo sont significativement plus élevés (1,14±0,82 mg/l vs 0,65±0,27 mg/l; p < 0,001). Les sujets de Lomé présentent des valeurs plus faibles (0,39±0,17 mg/l vs 0,43±0,22 mg/l) pour le HDL-C et plus élevées (1,50±2,00 mg/l vs 1,21±0,5 mg/l) pour le LDL-C. Chez les sujets de Lomé, le LDL-C des hommes est significativement plus élevé (1,39±1,46 mg/l vs 0,48±2,52 mg/l; p < 0,01) tandis que le HDL-C est plus élevé (0,41±0,15 mg/l vs. 0,36±0,19 mg/l) chez les femmes. Chez les sujets de l'étude, les valeurs du bilan lipidique sont

4. DISCUSSION

Cette première étude sur la prévalence des facteurs de risque des MCV chez les Ogo montre que les données anthropométriques

confirment les enquêtes et les interrogatoires nutritionnels à Lomé et à Bogo. Ceci suggère que les sujets ne souffrent pas de malnutrition et ne présentent pas de surcharge pondérale (IMC < 25) (He et al., 2008; OMS 2010). Les différences significatives observées sur la masse corporelle et l'IMC, sont en corrélation avec les habitudes alimentaires, le mode de vie et les activités physiques des sujets (agriculteurs et élèves à Bogo, commerçants et employés de bureau à Lomé). L'IMC des sujets de Bogo (19,90±3,66) se rapproche de celle (21,30 ± 3,13) de l'ethnie Adélé (isolat relatif) (Tété-Bénissan et Gbéassor 2011). Chez les sujets de Lomé, les repas plus nombreux et plus riches en protéines animales, graisses, sel, associés à la sédentarité sont attestés par les valeurs significativement élevées de la masse

corporelle ($p < 0,001$) et de l'IMC ($p < 0,0001$). Les résultats des Ogo de Lomé se rapprochent de ceux retrouvés dans la population pluriethnique de Lomé ($25,08 \pm 4,62$) (Tété-Bénissan et Gbéassor 2011). Ils confirment ceux d'autres études qui ont aussi montré une augmentation de la fréquence de l'obésité (6,2%) au Togo (Agoudavi et al., 2012) et dans les pays d'Afrique subsaharienne où les populations sont confrontées à une urbanisation rapide avec d'importantes modifications environnementales, comportementales, alimentaires, la sédentarité, le tabagisme... (Jee et al., 2006; Touze, 2007; He et al., 2008 ; OMS, 2010; Agoudavi et al., 2012 ; Pessinaba et al., 2012 OMS, 2013).

La relative bonne santé des sujets étudiés attestée par l'IMC est en corrélation avec les valeurs moyennes normales de la pression artérielle à Bogoto et à Lomé. Cependant, l'alimentation, la sédentarité et le stress expliqueraient les valeurs significativement plus élevées de la pression artérielle chez les sujets de Lomé dont les taux de préHTA, de HTA (stades I et II) sont respectivement 1,5 et 1,56 fois plus importants qu'à Bogoto. Ces résultats sont en accord avec ceux des études antérieures qui ont montré que l'excès de graisses, de sel, le manque d'activité physique, le stress etc sont des facteurs favorisant l'HTA dont la prévalence augmente rapidement dans les régions urbanisées du Togo (Agoudavi et al., 2012; Pessinaba et al., 2012; Baragou et al., 2014;) comme dans d'autres villes noires africaines (Ergul, 2000; Bosu, 2010; Fezeu et al., 2010; OMS, 2010; Houehanou et al., 2015). En effet, l'HTA est la principale MCV en Afrique où sa prévalence est estimée en moyenne à 25 % dans la population adulte. Elle est le plus souvent compliquée avec 20 à 69 % d'atteinte rénale, 24 à 50 % d'AVC et 16 à 34 % d'insuffisance cardiaque. L'HTA est responsable chaque année de 16,5% de l'ensemble des décès dans le monde de 51% des décès dus aux AVC et de 45% des décès dus aux cardiopathies coronariennes (Lozano et al., 2010; Lang, 2012; Lim et al., 2012; OMS, 2013). Par conséquent les sujets de Lomé seraient plus prédisposés à développer une MCV que les sujets de Bogoto.

Le diabète, majeure fortement le risque de la maladie coronarienne (Nwaneli, 2010) et 8,3% des personnes adultes sont atteintes de diabète dans le monde dont 80% vivent dans les pays à faible et moyen revenu (OMS, 2013). Ainsi, au cours des 20 prochaines années, la prévalence du diabète atteindra 6% en Afrique ; ce qui représente une augmentation de 109% (FID, 2013). Cependant, dans cette étude, les résultats de la glycémie révèlent que les Ogo à Bogoto et à Lomé ne souffrent pas d'hyperglycémie pouvant entraîner le développement du diabète 2 dont la prévalence est estimée à 4,02% au Togo (FID, 2013).

Les dyslipidémies causées par l'élévation CT, surtout du LDL-C et de l'abaissement du HDL-C sont corrélées à la pathogenèse de l'athérosclérose, processus responsable de la plupart des MCV (Anastos et al., 2010; Tété-Bénissan et al., 2013). En effet, le CT et les TG sont transportés sous forme de lipoprotéines. Les TG se trouvent sous forme de chylomicrons, de VLDL synthétisés sous forme de HDL

et LDL. Le cholestérol libre non fixé aux LDL est purifié des tissus périphériques par les HDL vers le foie où il sera métabolisé. C'est la voie biologique du transport reverse du cholestérol. Les HDL avec l'Apo A-I sont impliqués dans l'activation de la lécithine cholestéryl acyltransférase (LCAT) et la lipoprotéine lipase (LPL) qui facilitent le transfert du cholestérol et la lipolyse des particules riches en TG. Plus les TG diminuent, plus les HDL augmentent. Il existe ainsi une relation inverse entre les concentrations plasmatiques des TG et celles de HDL-C (Thompson et al., 2008; Tété-Bénissan et al., 2013). Les résultats du bilan lipidique des Ogo étudiés, suggèrent qu'ils ne présentent pas de dyslipidémies majeures. Cependant, la triglycéridémie significativement élevée chez les sujets restés au village, rejoint ce qui est décrit chez les Adélé et d'autres sujets de race noire, Africains et Américains (Tété-Bénissan et Gbéassor 2011). Ceci s'expliquerait par le fait que l'épuration des TG est ralentie chez certains sujets Noirs présentant des formes moins actives ou des concentrations plus faibles de l'apo C-II par rapport aux Occidentaux. L'apo C-II étant un puissant activateur de la LPL responsable de l'épuration des TG plasmatiques (Thompson et al., 2008; Tété-Bénissan et al., 2013). L'élévation de LDL-C corrélée à la diminution de HDL-C chez les Ogo de Lomé suggère que les sujets résidant en ville sont moins protégés contre l'athérosclérose. Ceci est confirmé par leur indice athérogénicité plus élevé (3,84 vs 2,77) que celui des sujets du village dont la valeur est proche (2,25) de celle de l'ethnie Adélé. En effet, une diminution significative de l'indice d'athérogénicité est un facteur de protection contre l'athérosclérose (Greene et al., 2005; Thompson et al., 2008). Ces résultats suggèrent que la prévalence des facteurs de risque des MCV chez les Ogo serait plus influencée par la nutrition, l'environnement, l'activité professionnelle et le stress. Des études complémentaires permettront de mieux évaluer l'influence des facteurs génétiques dans la survenue des MCV chez les Ogo.

5. CONCLUSION

Les résultats de cette étude confirment l'état de santé relativement satisfaisant des sujets Ogo qui ne souffrent pas de malnutrition et ne présentent pas de surcharge pondérale. Ce qui indique qu'il existe encore un certain équilibre nutritionnel chez ceux qui sont restés au village. Cependant, les valeurs moyennes des paramètres anthropométriques, biochimiques et de la pression artérielle révèlent que les Ogo citadins semblent présenter plus de facteurs favorisant l'HTA, le développement de l'athérosclérose à l'origine de la survenue des MCV. Les sujets restés au village seraient plus protégés. Malgré leurs particularités biologiques en corrélation avec l'endogamie préférentielle, les Ogo de Lomé n'échappent pas à la transition épidémiologique rapide que subissent les populations citadines d'Afrique subsaharienne confrontées aux modifications du mode de vie liées à l'urbanisation. Ce qui augmente les facteurs de risque des MCV. Les données de cette investigation qui est une contribution à la caractérisation ethno-biologique des Ogo constituent pour l'épidémiologiste de précieuses informations sur leur état biologique et permettront leur prise en charge sanitaire plus efficace./.

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail a été possible grâce à l'appui financier de la Direction de la Recherche de l'Université de Lomé au Togo. Les auteurs remercient le Chef de Canton d'Ahlon † (In memoriam), les notables, le personnel du dispensaire et la population du village de Bogo pour leur participation volontaire à ce programme de recherche.

REFERENCES

- Agoudavi K, Adjoh KS, Afanvi K, Agbétisiafa K, Tamekloe T, Sadzo-Hetsu KD, Kinde R et al. 2012. Ministère de la Santé, Service des Maladies Non Transmissibles. *Rapport final de l'enquête STEPS 2010*. Togo. [consulté le 10 septembre 2015] http://www.who.int/chp/steps/2010STEPS_Report_Togo_FR.pdf
- Anastos K, Ndamage F, Lu D, Cohen MH, Shi Q, Lazar J, Bigirimana V, Mutimura E. 2010. Lipoprotein levels and cardiovascular risk in HIV-infected and uninfected Rwandan women. *AIDS Research and Therapy*, 7:3
- Atlas du Diabète de la Fédération Internationale du Diabète. Sixième édition, 2013: www.idf.org/diabetesatlas. [consulté le 20 septembre 2015]
- Baragou S, Goeh-Akue E, Pio M, Afassinou YM, Atta B. 2014. Hypertension and pregnancy in Lome (sub-Saharan Africa): epidemiology, diagnosis and risk factors. *Annals of Cardiology and Angiology*, 63(3):145-50. doi: 10.1016/j.ancard.2014.05.006.Epub 2014 Jun 2.
- Barton P, Andronis L, Briggs A, McPherson K, Capewell S. 2011. Effectiveness and cost-effectiveness of cardiovascular disease prevention in whole populations: modelling study. *British Medical Journal*, 343:357.
- Bosu WK. 2010. Epidemic of hypertension in Ghana: a systematic review. *BioMed Central Public Health*, 10: 418 doi: 10.1186/1471-2458-10-418.
- Dalal S, Beunza JJ, Volmink J, Adebamowo C, Bajunirwe F, Njelekela M, et al. 2011. Non-communicable diseases in sub-Saharan Africa: what we know now. *International Journal of Epidemiology*, 40(4): 885–901. doi:10.1093/ije/dyr050.
- Ergul A. 2000. Hypertension in Black Patients An Emerging Role of the Endothelin System in Salt-Sensitive Hypertension. *Hypertension*, 36: 62-67 doi: 10.1161/01.HYP.36.1.62
- Fezeu L, Kengne AP, Balkau B, Awah PK, Mbanya JC. 2010. Ten-year change in blood pressure levels and prevalence of hypertension in urban and rural Cameroon. *Journal of Epidemiologic Community Health*, 64(4): 360–365. doi: 10.1136/jech.2008.086355
- Frohlich KL, Potvin L. 2008. Transcending the known in public health practice: the inequality paradox: the population approach and vulnerable populations. *American Journal of Public Health*, 98(2):216–21.
- Gaziano TA. 2008. Economic burden and the cost-effectiveness of treatment of cardiovascular diseases in Africa. *Heart*, 94(2):140–4.
- Greene C M, Zern TL, Wood R J, Shrestha S, Fernandez M L. 2005. Maintenance of the LDL cholesterol/HDL cholesterol ratio in an elderly population given a dietary cholesterol challenge. *Journal of Nutrition*, 135 : 2793-2798.
- He K, Zhao L, Daviglius ML, Dyer AR, Van Horn L, Garside D, et al. Association of Monosodium Glutamate Intake With Overweight in Chinese Adults: The INTERMAP Study. *Obesity* 2008; 16 (8): 1875–1880. doi:10.1038/oby.2008.274
- Houehanou YCN, Lacroix P, Gbedecon CM, Preux PM, Benoit M, Houinato DS. 2015. Magnitude of Cardiovascular Risk Factors in Rural and Urban Areas in Benin: Findings from a Nationwide Steps Survey *PLoS One*, 10(5): e0126441. Published online 2015 May 6. doi: 10.1371/journal.pone.0126441
- Jee SH, Sull WJ, Park J. 2006. Body-mass index and mortality in Korean men and Women. *New England Journal of Medicine* 355: 779-787
- James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, et al. 2014 Evidence-Based Guideline for the Management of High Blood Pressure in Adults. Report From the Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC8). *JAMA*, 311(5):507-520. Doi:10.1001/jama.2013;284427
- Lang T.2012. Hypertension in Africa: A challenge? *Revue Epidémiologique de Santé Publique*, 60 (2) 81–83
- Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H et al. 2010. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2012; 380(9859):2224-2260.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. 2012. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, 380(9859): 2095–2128. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
- Mensah GA. 2008a Epidemiology of stroke and high blood pressure in Africa. *Heart*, 94(6): 697–705. doi:10.1136/hrt.2007.127753.
- Mensah G A. 2008b. Ischaemic heart disease in Africa. *Heart*, 94:836-843
- Nwaneli CU. 2010. Changing Trend in Coronary Heart Disease in Nigeria. *Afrimedical Journal*, 1(1): 1-4
- OMS 2010. Obésité et surpoids. Aide-mémoire N°311 Janvier 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/fr/> [consulté le 10 septembre 2015]

OMS 2013, Rapport sur la situation mondiale des maladies non transmissibles 2010. WHO/NMH/CHP/11.1 Genève, OMS. [consulté le 10 septembre 2015]

http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report-summary_fr.pdf

Pessinaba S, Yayehd K, Pio M, Baragou R, Afassinou Y, Tchérou T, et al. 2012. L'obésité en consultation cardiologique à Lomé : prévalence et facteurs de risque cardio-vasculaire associés - étude chez 1200 patients. Pan African Medicinal Journal, 12: 99.

Poidi-Gblem H. 2007. The development of the Igo language. UNESCO meeting "Identifying good practices for safeguarding African languages" Addis Ababa, 9-10 February

Tété-Bénissan A, Gbéassor M. 2011. Phénotypes de l'alpha-1-antitrypsine dans la population togolaise : Mise en évidence d'une fréquence élevée de l'allèle rare P^{if} dans une ethn

isolat. Pathologie Biologie, 59(5):269-274. Doi :10.1016/j.patbio.2009.10.003

Tété-Bénissan A, Quashie ML A, Lawson-Evi K, Gnandi K, Kokou K, Gbéassor M. 2013. Influence of *Moringa oleifera* leaves on atherogenic lipids and glycaemia evolution in HIV-infected and uninfected malnourished patients. Journal of Applied BioSciences, 62: 4610-4619.

Thompson A, DiAngelantonio E, Sarwar N, Erqou S, Saleheen D. et al., 2008.- Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels and coronary risk. Journal of American Medical Association, 299 (23) :2777-2788. doi:10.1001/jama.299.23.277729

Touze JE. 2007. Les maladies cardiovasculaires et la transition épidémiologique du monde tropical. Médecine Tropicale, 67 :541-542.

CARACTÉRISTIQUES FLORISTIQUES, PHYTOSOCIOLOGIQUES ET ÉCOLOGIQUES DE LA VÉGÉTATION DES CARRIÈRES EN RÉPUBLIQUE DU BÉNIN.

Akouavi Léa AÏTONDJÏ¹, Mireille Sêwanoudé Scholastique TOYI, Barthélémy KASSA, Brice SINSIN

RESUME

L'extraction des matériaux de construction est à l'origine de la destruction des habitats et contribue à la perte de la biodiversité. Toutefois, les sites abandonnés peuvent être colonisés par une flore diversifiée. Cette étude a pour objectif de déterminer la diversité et les caractéristiques phytosociologiques des carrières non sableuses (calcaire, granite, gravier et quartzite) dans sept (7) départements du Bénin. Suivant la méthode sigmatiste de Braun-Blanquet (1932), 125 relevés phytosociologiques ont été effectués dans les formations après carrière et celles adjacentes (savanes et jachères) sur les mêmes matériaux. Au total, une flore riche de 457 espèces a été recensée. Elle est assez diversifiée (H' de 4,54 à 6,56 et J' de 0,73 à 0,82) et abrite 12,26% des espèces végétales menacées de la Liste Rouge du Bénin et est dominée d'espèces rares (54,7%). Une classification hiérarchique ascendante des relevés dans PC-Ord 5 a permis d'obtenir six groupements végétaux suivant les zones bioclimatiques et la nature de la roche mère. Ces groupements végétaux sont marqués par une prédominance de Phanérophytes et de Thérophytes ; d'espèces rudérales, de savanes et de jachères, puis dans une moindre mesure des espèces forestières, introduites, aquatiques, cultivées et de milieux inondés.

Les zones de carrières sont donc diversifiées en espèces végétales et pourraient servir de refuges pour la sauvegarde de la phytodiversité locale notamment dans les régions à démographie galopante comme le Sud du Bénin. Il est donc nécessaire que les autorités locales développent une bonne politique d'aménagement après carrière prenant en compte des espaces témoins pour la conservation de la phytodiversité et pour servir de vestiges pour les générations futures.

Mots clés : carrières, phytodiversité, phytosociologie, espèces menacées.

ABSTRACT

Floristic, phytosociological and ecological characteristics of quarries flora in Benin

Quarrying results in habitat destruction and contributes to the biodiversity loss. However, abandoned sites are able to receive an important floristic diversity. This study aims to determine the spatial distribution and phytosociological characteristics of non-sandy quarries (Limestone, granite, gravel and quartzite) located in seven (7) departments of Benin. For this purpose, geographical coordinates of quarries obtained using a GPS (Global Positioning System). Floristic relevés carried out using Braun-Blanquet (1932) method in the quarries and adjacent savannas and fallows on the same materials. The floristic inventories resulted in a matrix of cover values of 457 species x 125 plots. Total flora is diversified (H' from 4.54 to 6.56 and J' from 0.73 to 0.82) and contains 12.26 % of threatened plant species of Benin Red List. Rare species were the most numerous (54.7 %). A hierarchical cluster in PC-ORD version 5 resulted in six plant communities following the climate zone and the nature of the parent material. These plant communities characterized by the abundance and the dominance of Phanerophytes and Therophytes. Savannah, fallow and ruderal species were the most numerous in the different plant communities. The less numerous were the forest, exotic, aquatic and cultivated species and the species of flooded habitats.

Quarries areas are rich in plant species and could be shelters for local plant diversity, particularly in South Benin areas with expanding demography. It is therefore necessary that local authorities develop a good land use policy after mining including protected areas as shelters for maintaining plant diversity and relics for future generations.

Keywords: Quarries, plant diversity, phytosociology, threatened plant species.

1 Laboratoire d'Ecologie Appliquée (LEA) de la Faculté des Sciences Agronomiques (FSA) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) - BENIN

* Auteur correspondant : elyaciafr@yahoo.fr

1. Introduction

L'un des principaux défis du monde moderne est la conciliation de l'activité économique avec la protection et la conservation de l'environnement, les préoccupations sociales et la bonne gouvernance (MMSD, 2002). Le Conseil International des Mines et des Métaux (ICMM) en 2012, abondait dans le même sens en affirmant que toute activité humaine, y compris l'extraction minière devrait être menée de manière à offrir une nette contribution à long terme au bien-être des humains et des écosystèmes.

Mais force est de constater que l'extraction des ressources naturelles, notamment dans les pays sous-développés contribuent très rarement à une amélioration des conditions de vie des communautés locales (Terminski, 2012). Plus précisément l'extraction minière entraîne le décapage de la partie superficielle du sol, la destruction de la faune et de la flore, la pollution de l'eau et du sol et favorise l'érosion du sol (Milgrom, 2008). L'exploitation des carrières entraîne une forte dégradation de la biodiversité et de profondes modifications de formes de relief (Khater et Arnaud, 2007). Cette forte dégradation s'explique notamment par

la suppression du couvert végétal au début des opérations d'excavation dans ces carrières (Khater, 2004), entraînant parfois la disparition de certaines espèces endémiques (Clements *et al.*, 2006). Cette dégradation s'observe également au niveau du paysage avec une modification de sa structure et une restauration difficile de la végétation (Zhang et Xia, 2003 ; Calugaru, 2006).

Cependant, bien que l'extraction des matériaux de construction soient à l'origine de la destruction des habitats et des espèces (Melki, 2002), les sites abandonnés sont généralement constitués d'une variété d'habitats qui favorisent le développement d'une biodiversité renouvelée (Deconchat et Balent, 2001 ; Bétard, 2011). Le développement de cette biodiversité est d'autant plus remarquable lorsque les groupements végétaux sont présents dans les environs (Borgegard, 1990 ; Rehounkova et Prach, 2008). La succession végétale spontanée sur les sites après carrière dépend en effet du type de formation végétale environnant (Novák et Prach, 2003). Ces sites à végétation spontanée sont riches en espèces rares (Tropek *et al.*, 2010 ; Lenda *et al.*, 2012), ce qui fait d'eux, des habitats précieux pour la flore (Rademacher et Tränkle, 2006) et pour de nombreux organismes dans les régions fortement dégradées (Lundholm et Richardson, 2010 ; Tropek et Konvicka, 2011). Les sites abandonnés sont par conséquent des milieux de substitution qui jouent un rôle significatif et parfois décisif pour certaines espèces dans le maintien de la biodiversité (Remacle, 2005).

Au Bénin, des travaux de mémoires de maîtrise basés sur des enquêtes ont relevé que les activités de carrières ont des impacts négatifs sur l'environnement, la biodiversité et la santé des populations. Par exemple, l'exploitation du calcaire accentue la dégradation des écosystèmes tant au niveau du sol qu'au niveau de la flore et de la faune (Noukpo, 2009) tandis que celle des pierres ornementales entraîne la destruction du paysage rocheux, l'érosion des pentes, la raréfaction voire la disparition d'espèces animales et végétales et la pollution atmosphérique et sonore (Santa, 2007). En outre il faut noter qu'il y a eu très peu de recherches sur les carrières béninoises, notamment sur leurs potentialités floristiques. Le présent travail vient ainsi combler ce vide à travers la détermination des caractéristiques floristiques, phytosociologiques et écologiques des carrières non sableuses du Bénin.

2. Approche méthodologique

2.1. Milieu d'étude

L'étude a été effectuée dans sept départements (Atacora, Borgou, Collines, Couffo, Mono, Plateau et Zou) de la République du Bénin. Elle est située dans la zone intertropicale en Afrique de l'Ouest, entre les parallèles 6°10' et 12°25' Nord et les méridiens 0°45' et 3°55' Est (figure 1). Elle couvre une superficie de 114763 km² avec une population 10008749 habitants pour une densité moyenne de 87,2 habitants au km² (INSAE, 2015). Les sept départements investigués couvrent 63,44% du territoire national avec 5 420 511 habitants, soit 54,16% de la population béninoise.

Sur le plan climatique, le milieu d'étude couvre les trois zones climatiques du pays (Adjanooun *et al.*, 1989). Il s'agit de la zone guinéo-congolaise dans le Sud (6°25 à

7°30' N), de la zone de transition guinéo-soudanienne au centre (7°30' à 9°30' N) et de la zone soudanienne semi-aride au Nord (9°30' à 12° N). Le régime pluviométrique est bimodal dans la zone guinéo-congolaise (avril-juin et septembre-novembre) avec une moyenne annuelle de 1200 mm (Sinsin *et al.*, 2004). A partir de 8° N, cette distribution devient unimodale (mai-octobre) avec en moyenne plus de 900 mm de hauteur de pluie.

Sur les plans pédologique et floristique, le Bénin est caractérisé par dix phytodistricts (Adomou, 2006). Les phytodistricts de la Zone Guinéo-Congolaise sont notamment caractérisés par des fourrés et des mangroves sur des sols sableux, hydromorphes et halomorphes, de forêts semi-décidues sur des sols ferrallitiques et hydromorphes. Ces derniers sont également couverts de forêts marécageuses. Les trois phytodistricts de la zone de transition Soudano-Guinéenne sont constitués de forêts semi-décidues, de forêts claires et de forêts galeries sur des sols ferrallitiques. Dans cette zone, les sols ferrugineux installés sur des roches cristallines accueillent des forêts sèches, des forêts claires et des forêts galeries. Ces formations sont également présentes dans la zone Soudanienne sur les mêmes types de sols (sols ferrugineux sur roches cristallines). La zone Soudanienne présente également des sols ferrugineux sur roches sédimentaires, couverts de savanes, de forêts sèches et de forêts galeries. La chaîne de l'Atacora dans cette zone présente des forêts galeries, des forêts sèches et claires.

Sur le plan géologique, le milieu d'étude est essentiellement constitué de formations précambriennes et des formations sédimentaires (OBRGM, 2008). Le socle cristallin est composé de migmatites, granulites, gneiss, quartzites, schistes, brèches, grès, siltstones, argilites, granites, gabbros et des monzosyérites et microconglomérats. Les formations sédimentaires sont formées de sables quartzeux, de sables argileux entrecoupés de lignite, marne, calcaire, grès, etc. Ces différentes formations géologiques constituent par endroit des gisements qui font l'objet d'exploitation des matériaux par des individus, des associations villageoises ou des sociétés à des fins commerciales. Les principaux matériaux extraits des carrières sont le gravier, le calcaire, le quartzite et le granite (OBRGM, 2008). Le granite est une roche magmatique qui résulte du refroidissement et de la cristallisation de magmas qui sont des mélanges visqueux de roches en fusion à l'intérieur de la terre. Le quartzite quant à lui, est une roche métamorphique qui provient de la transformation par la température et la pression de roches sédimentaires ou magmatiques, voire métamorphiques. Le gravier et le calcaire appartiennent à la famille des roches sédimentaires issues de l'altération de roches ou de sédiments préexistants.

Ces différentes roches sont extraites dans les carrières. Une carrière peut présenter un ou plusieurs sites d'extraction qui sont les parties extraites. Les gisements de roche sont généralement couverts de sol et de végétation. Leur extraction passe par la mise à nu ou découverte qui nécessite alors la suppression de la végétation et des sols sus-jacentes. La roche mise à nu est alors extraite suivant un mode artisanal ou industriel, laissant place à un site dénudé caractérisé par des fronts de taille ou faces verticales et qui peut accueillir plus tard une nouvelle formation végétale.

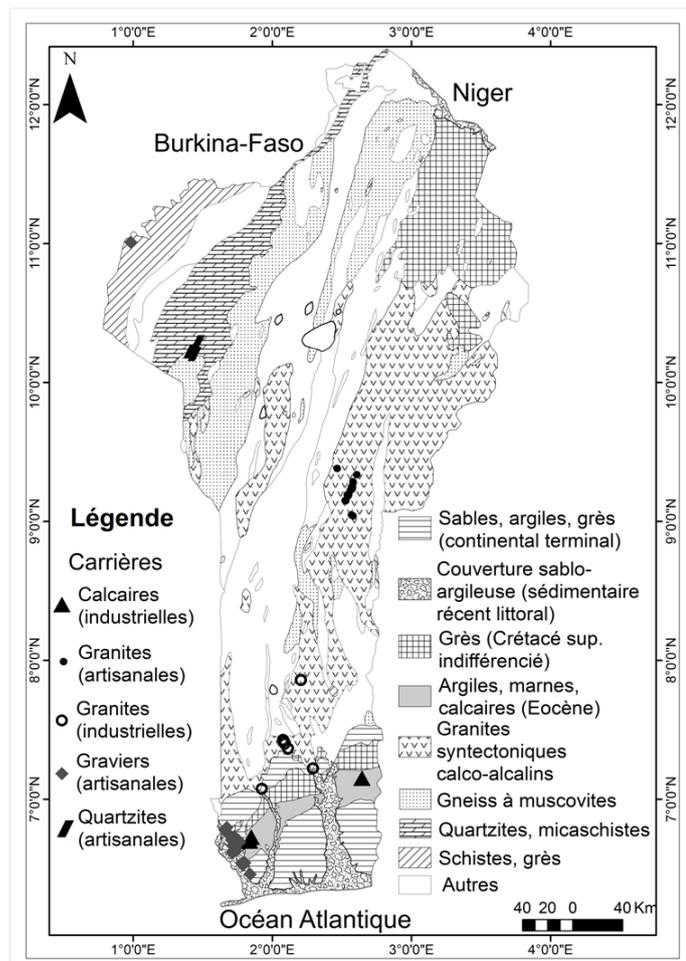


Figure 1 : Carte du milieu d'étude montrant de répartition des carrières non sableuses du Bénin et les couches géologiques (données OBEMINES, 1989 ; travaux de terrain, 2014)

2.2. Méthodes de collecte des données

2.2.1. Données cartographiques

Une liste initiale des carrières d'extraction des quatre matériaux de construction retenus (calcaire, granite, gravier et quartzite) a été établie sur la base des informations recueillies à la Direction Générale des Mines et dans les mairies. Cette liste a été complétée par échantillonnage selon les répondants (respondent-driven sampling) au niveau des carrières de gravier du Sud-ouest du Bénin. En effet, la liste initiale a été complétée à travers les informations recueillies auprès des exploitants. Des coordonnées géographiques ont été prises au sein de chaque carrière à l'aide d'un GPS (Global Positioning System) Garmin 76 et projetées sur un fond de carte géologique dans le logiciel ArcGIS 10 en vue de mettre en évidence la répartition spatiale des carrières.

2.2.2. Données floristiques

L'étude de la végétation a été réalisée sur les quatre types de carrières (calcaire, granite, gravier et quartzites) au sein des trois zones climatiques du Bénin. Des relevés floristiques ont été effectués dans les formations végétales après carrière et dans des formations végétales adjacentes (savanes et jachères) sur les mêmes matériaux suivant l'approche sigmatiste de Braun-Blanquet (1932). Cette approche consiste à installer des placeaux dans des

formations végétales suffisamment homogènes dans une aire minimale bien déterminée. A l'intérieur de ces placeaux, toutes les espèces sont relevées et affectées d'un coefficient d'abondance-dominance variant de + (-1% de recouvrement au sol) à 5 (100% de recouvrement au sol). Dans cette étude, ce sont les plantes supérieures (phanérogames) qui ont été considérées. Les relevés ont été ainsi effectués dans des carrés de 400 m² exceptés dans les formations après carrière sur granite et quartzite où toute la superficie exploitée a été considérée. En effet, dans ces derniers cas, les superficies exploitées n'atteignent pas 400 m². Les autres formations après carrière sont plus vastes. Le nombre de relevés varie en fonction du nombre de carrières accessibles (tableau I) et du nombre de sites exploités, le site s'identifiant ici à une aire exploitée par un exploitant et la carrière à un domaine pouvant regrouper plusieurs sites. Le nombre de sites varie beaucoup en fonction du type de carrière. En effet, les carrières de granite de par leur isolement présentent un seul site par carrière tandis que les carrières de gravier, de calcaire et de quartzite présentent plusieurs sites par carrière. Par ailleurs, les carrières de calcaire dans le Mono sont récentes et n'ont présenté que trois sites après carrière.

Un total de 125 relevés a été effectué.

Tableau I : Répartition des relevés par carrière

	Mono (calcaire)	Plateau (calcaire)	Zou-Collines (granite)	Borgou (granite)	Mono-Couffo (gravier)	Atacora (gravier)	Atacora (quartzite)
Accessibles	2	1	8	9	23	1	3
Inaccessibles	0	0	0	10	0	0	0
Nombre de relevés	6	7	15	18	55	7	17

2.3. Analyses

2.3.1. Répartition des carrières

Les coordonnées géographiques de toutes les carrières ont été projetées sur un fond de carte dans le logiciel ArcGIS 10.0 pour l'obtention de la carte de répartition des carrières.

2.3.2. Caractéristiques floristiques et phytosociologiques des carrières

L'identification des espèces a été faite à l'aide de différentes flores de la sous-région (Berhaut, 1971, 1974, 1975, 1976 ; Akobundu & Agyakwa, 1989; Arbonnier, 2002 ; Akoègninou *et al.*, 2006; de Souza, 2008) et confirmée à l'herbier national. L'identification des types biologiques a été réalisée sur la base des travaux de Raunkiaer (1934) et les types phytogéographiques à partir des subdivisions chorologiques généralement admises en Afrique (White, 1986). Les types écosociologiques ont été déterminés sur la base des résultats de nombreux auteurs ayant travaillé sur les groupes écosociologiques en Afrique tropicale (Sinsin, 1993 ; Oumorou, 2003 ; Djego, 2006 ; Mahamane *et al.*, 2008 ; Aboh, 2008 ; Boupoya-Mapikou, 2011). Les types écosociologiques suivants ont été retenus :

- Les espèces des savanes steppiques zambéziennes où prédominent des Hémicryptophytes, classe des *Ctenio-Loudetieta simplicis* (CLs) Duvingneaud 1949 ;
- les espèces des savanes soudaniennes caractérisées par l'abondance des Thérophytes, classe des *Ctenio-Loudetieta togoensis* (CLt) Sinsin 1993 ;
- les espèces des forêts claires tropophiles, classe des *Erythrophleetea africana* (Ea) Schmitz 1963 nom.emend ;
- les espèces des savanes non steppiques, classe des *Hyparrhenieta* (H) Schmitz 1963 ;
- les espèces de la végétation psammophile pionnière littorale, classe des *Ipomoeetea Pedis-caprae* (IPc) Schmitz 1988 ;
- les espèces de la végétation pionnière des éboulis, classe des *Lycopodieta cernui* (Lc) Schmitz 1971 ;
- les espèces des forêts édaphiques hygrophiles, classe des *Mitragynetea* (M) Schmitz 1963 ;
- les espèces de la végétation pionnière des sols temporairement mouilleux, classe des *Microchloetea indicae* (Mi) Schmitz 1971 nom.emend ;
- les espèces de la végétation des jachères et forêts secondaires, classe des *Musango-Terminalieta* (MT) Lebrun et Gilbert 1954 ;
- les espèces aquatiques, classe des *Nymphaetea loti* (N) Lebrun 1947 ;
- les espèces de la végétation herbacée semi-aquatique des eaux douces des régions chaudes et froides, classe des *Phragmitetea* (Phr) Tüxen et Preising 1942 ;
- les espèces des groupements végétaux anthropiques, nitrophiles, piétinés, des décombres et des bords de chemins, classe des *Ruderali-Manihotetea* (RM) emend. Hoff et Brisse 1983 ;
- les espèces des végétations culturales et post culturales intertropicales, classe des *Soncho-Bidentetea pilosi* (SB) Hoff 1991 ;
- les espèces des forêts denses climaciques, classe des *Strombosio-Parinarietea* (SP) Lebrun et Gilbert 1954 ;

Les espèces ont été ensuite classées dans les grandes unités systématiques. Les espèces menacées de disparition ont été identifiées sur la base de la liste rouge du Bénin (Neuenschwander et al. 2011) et les spectres bruts et pondérés de leurs familles tracés. La détermination des groupements végétaux a été réalisée dans le logiciel PC-ORD 5 sur la base de la matrice des espèces avec leur présence/absence. L'indice de similarité (K) de Sørensen (1948) a été calculé dans le logiciel CAP pour analyser les degrés de communautés entre les différents groupements deux à deux suivant la formule ci-après :

$$K = \frac{2c}{a+b} \times 100$$

avec :

c = nombre d'espèces communes aux deux groupements végétaux comparés ; **a** = nombre d'espèces du groupement 1 et **b** = nombre d'espèces du groupement 2.

Le seuil de similarité retenu est 50%, généralement admis (Gounot, 1969 ; Sokpon, 1995 ; Ganglo, 2000 ; Djego, 2006).

Les indices de diversité de Shannon (H') et d'équitabilité de Pielou (J') ont été également calculé pour l'analyse de la diversité des groupements végétaux suivant les formules ci-après :

$$H' = - \sum_{i=1}^S \frac{r_i}{R} \times \log_2 \frac{r_i}{R}$$

où **S** = nombre total d'espèces ; **ri** = recouvrement moyen ; **R** = somme des recouvrements moyens ;

$$J' = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Les spectres bruts et pondérés des types biologiques, phytogéographiques et écosociologiques ont été tracés dans le tableur Excel.

3. Résultats

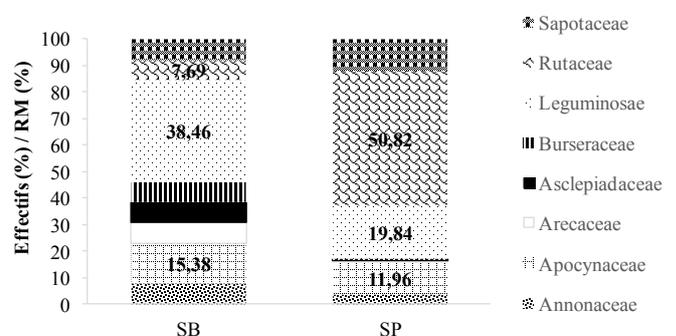
3.1. Caractéristiques floristiques des carrières

Un total de 457 espèces réparties en 82 familles et 125 relevés a été recensé. 54,7% des espèces sont rares dans les carrières car présentes dans moins de cinq (5) relevés et faiblement recouvrantes (moins 1%). La richesse spécifique des phanérogames considérées est en moyenne $30,58 \pm 11,17$ par relevé. Les 82 familles appartiennent tous à la grande unité systématique des Angiospermes. Cette flore est répartie en 87 espèces (19%) monocotylédones et 370 espèces dicotylédones (81%).

La flore totale des carrières étudiées regroupe 12,26% des espèces végétales menacées de disparition au Bénin (tableau II). Il s'agit des espèces vulnérables (8), des espèces en danger (2), des espèces en danger critique d'extinction (2) et des espèces quasi menacées (1) (tableau II).

Ces espèces menacées sont réparties en 13 genres et 10 familles dont notamment les Leguminosae (38,46%) et les Apocynaceae (15,38%) (figure 2).

La famille des Leguminosae est la plus touchée par



RM = Recouvrement moyen ; SB = Spectre brut ; SP = Spectre pondéré

Figure 2 : Spectres bruts et pondérés des familles des espèces menacées

les menaces (38,46% du spectre brut total des familles menacées) mais les espèces menacées de disparition dans cette famille sont moins recouvrantes. Il s'agit des espèces *Azelia africana* Smith ex Pers. (en danger au Bénin), *Albizia*

Tableau II : Espèces menacées recensées dans les carrières

Espèces	Famille	Catégorie de vulnérabilité de l'IUCN définie au Bénin
1. <i>Azalia africana</i> Smith ex Pers.	Leguminosae-Caesalpinioideae	En danger
2. <i>Albizia ferruginea</i> (Guill. et Perr.) Benth	Leguminosae-Mimosoideae	Vulnérable
3. <i>Borassus aethiopicum</i> Mart.	Arecaceae	Vulnérable
4. <i>Carissa spinarum</i> L.	Apocynaceae	Vulnérable
5. <i>Commiphora pedunculata</i> (Kotschy & Peyr.) Engl.	Burseraceae	En danger critique d'extinction
6. <i>Dalbergia ecastaphyllum</i> (L.) Taub.	Leguminosae-Papilionoideae	Vulnérable
7. <i>Dennettia tripetala</i> Baker F.	Annonaceae	En danger critique d'extinction
8. <i>Detarium senegalense</i> J.F. Gmel	Leguminosae-Caesalpinioideae	Vulnérable
9. <i>Mondia whitei</i> (Hook F.) Skeels	Asclepiadaceae	Vulnérable
10. <i>Pterocarpus erinaceus</i> Poir	Leguminosae-Papilionoideae	En danger
11. <i>Rauvolfia vomitoria</i> Afzel	Apocynaceae	Quasi menacée
12. <i>Vitellaria paradoxa</i> C.F. Gaertn	Sapotaceae	Vulnérable
13. <i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i> (Lam.) Zepern. & Timber	Rutaceae	Vulnérable

ferruginea (Guill. & Perr.) Benth (vulnérable au Bénin), *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub. (vulnérable au Bénin), *Detarium senegalense* J. F. Gmel. (vulnérable au Bénin) et *Pterocarpus erinaceus* Poir. (en danger au Bénin). La famille des Rutaceae représentée par l'espèce *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timber (vulnérable au Bénin) est la plus dominante des espèces menacées (50,82% du spectre pondéré des familles menacées).

La figure 3 montre le spectre brut des familles des espèces constituant la flore des carrières. L'analyse de cette figure montre que les Leguminosae, les Poaceae, les Asteraceae, les Rubiaceae, les Euphorbiaceae, les Convolvulaceae, les Combretaceae, les Malvaceae, les Cyperaceae et les Amaranthaceae représentent les dix familles les plus représentées (57,33% des espèces).

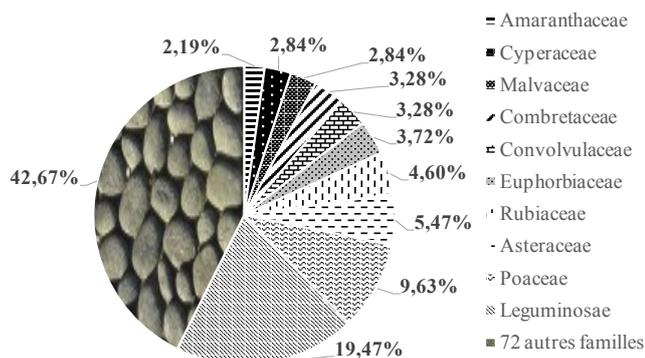


Figure 3 : Spectre brut des familles des carrières

3.2. Caractéristiques écologiques et phytosociologiques des carrières

3.2.1. Partition des relevés en groupements végétaux

La classification hiérarchique ascendante obtenue avec une matrice de 125 relevés et 457 espèces dans PC-Ord 5 a permis une discrimination de six groupements (figure 4) à un taux de discrimination de 18%. Il s'agit de :

G1 : Groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum* des carrières de calcaire de la zone Guinéo-Congolaise.

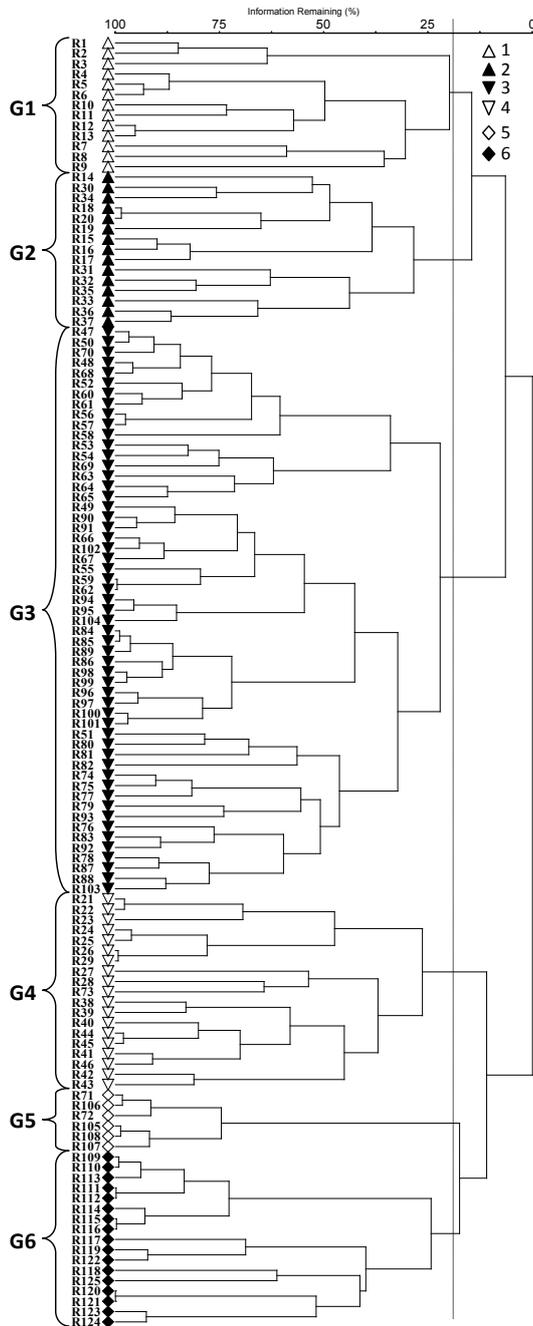
G2 : Groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans* des carrières de granite de la zone Guinéo-Congolaise.

G3 : Groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense* des carrières de granite de la zone Soudano-Guinéenne.

G4 : Groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* qui regroupe les relevés des carrières de gravier de la zone Guinéo-Congolaise.

G5 : Groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum* des carrières de gravier de la zone Soudanienne.

G6 : Groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius* des carrières de quartzite de la zone Soudanienne.



G1 : groupement à *Lepistemon owariense* et *Adropogon tectorum* sur calcaire (zone GC) ; G2 : groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans* sur granite (zone GC) ; G3 : groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense* sur granite (zone SG) ; G4 : groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* sur gravier (zone GC) ; G5 : groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum* sur gravier (zone S) et G6 : groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius* sur quartzite (zone S).

Figure 4 : Dendrogramme des groupements végétaux

La discrimination des groupements s’est réalisée suivant la zone bioclimatique et la nature de la roche mère. En effet, les formations végétales installées sur du granite dans les zones bioclimatiques Guinéo-Congolaise et Soudano-Guinéenne se sont discriminées en deux communautés végétales appartenant chacune à une zone bioclimatique. Il s’agit du groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans* des carrières de granite de la zone Guinéo-Congolaise et du groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense* des carrières de granite de la zone Soudano-Guinéenne. Il en est de même pour le gravier avec le groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* qui regroupe les relevés des carrières de gravier de la zone guinéo-congolaise et le groupement à *Acacia gourmaensis*

et *Combretum glutinosum* des carrières de gravier de la zone Soudanienne. Quant aux deux autres types de matériaux à savoir le calcaire et le quartzite, extraits respectivement dans les zones bioclimatiques Guinéo-Congolaise et Soudanienne, ils abritent en effet chacun une seule communauté végétale. Il s’agit respectivement du groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum* et du groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius*.

3.2.2. Similarité entre les groupements

Les coefficients de similarité de Sorensen entre les groupements pris deux à deux sont dans l’ensemble inférieurs à 50%, indiquant l’indépendance des six groupements obtenus par la classification hiérarchique ascendante (tableau III). Cependant, le taux de similarité de 47% (< 50%) entre le groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* sur gravier et le groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum* sur calcaire (tableau III) indique une certaine affinité entre ces deux groupements. Cette affinité pourrait être liée à l’appartenance des groupements au même centre d’endémisme (la zone Guinéo-Congolaise) d’une part et au type de substratum, le gravier et le calcaire faisant tous partie des roches sédimentaires contrairement au granite et quartzite. Mais ce taux n’est pas suffisant pour considérer les deux groupements comme étant une communauté.

Tableau III : Indice de similarité de Sorensen entre les groupements végétaux

	G1	G2	G3	G4	G5	G6
G1 : groupement à <i>Lepistemon owariense</i> et <i>Andropogon tectorum</i>						
G2 : groupement à <i>Cola millenii</i> et <i>Tephrosia elegans</i>	0,39					
G3 : groupement à <i>Tephrosia pedicellata</i> et <i>Chlorophytum senegalense</i>	0,30	0,40				
G4 : groupement à <i>Uvaria chamae</i> et <i>Dichapetalum oblongum</i>	0,47	0,41	0,36			
G5 : groupement à <i>Acacia gourmaensis</i> et <i>Combretum glutinosum</i>	0,18	0,26	0,37	0,21		
G6 : groupement à <i>Terminalia laxiflora</i> et <i>Elionurus hirtifolius</i>	0,21	0,27	0,40	0,22	0,37	

3.2.3. Diversité et formes de vie des groupements

Les groupements identifiés sont constitués de formations végétales mixtes associant les végétations pré (témoins) et post carrières. Cette non démarcation des végétations pré et

post carrière se justifie par le faible taux de discrimination (moins de 25% de dissemblance) des groupements végétaux. Aussi, la proximité des formations pré carrières facilite la recolonisation des sites après l'extraction des matériaux. Les deux formations pré et post carrières sont donc liées par un certain nombre d'espèces. Remarquons aussi que les formations pré carrières sont constituées de jachères et de savanes arbustives qui sont des végétations secondaires résultant d'actions anthropiques.

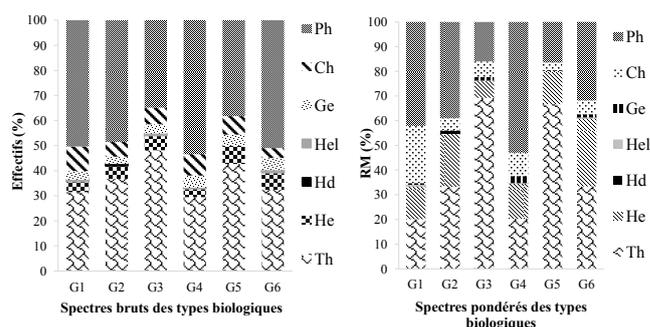
Les six groupements ainsi identifiés sur les quatre types de carrières présentent un indice de diversité de Shannon élevé qui varie entre 4,54 et 6,56 et un indice d'équitabilité de Piélou entre 0,73 et 0,82 (tableau IV). Le groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* présente la richesse spécifique la plus élevée (268 espèces) suivie du groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum* (143 espèces). La plus faible richesse spécifique s'observe au niveau du groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum*.

Tableau IV : Diversité des groupements

Groupement	Richesse spécifique	Indice de Shannon	Equitabilité de Pielou
G1 : groupement à <i>Lepistemon owariense</i> et <i>Andropogon tectorum</i>	143	5,25	0,73
G2 : groupement à <i>Cola millenii</i> et <i>Tephrosia elegans</i>	136	5,54	0,78
G3 : groupement à <i>Tephrosia pedicellata</i> et <i>Chlorophytum senegalense</i>	135	5,81	0,82
G4: groupement à <i>Uvaria chamae</i> et <i>Dichapetalum oblongum</i>	268	6,56	0,81
G5: groupement à <i>Acacia gourmaensis</i> et <i>Combretum glutinosum</i>	68	4,54	0,75
G6: groupement à <i>Terminalia laxiflora</i> et <i>Elionurus hirtifolius</i>	102	4,94	0,74

Dans ces groupements, ce sont les Phanérophytes et les Thérophytes qui ont été plus abondants et plus dominants (figure 5). En effet, les Phanérophytes et les Thérophytes représentent respectivement 53,81% et 29,48% des spectres bruts totaux du groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* (G4), 50,35% et 31,47% des spectres bruts totaux du groupement G1 (groupement à

Lepistemon owariense et *Andropogon tectorum*), 50,98% et 32,35% des spectres bruts totaux du groupement G6 (groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius*), 48,53% et 36,76% des spectres bruts totaux du groupement G2 (groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans*), 38,24% et 42,65% des spectres bruts totaux du groupement G5 (groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum*) et 34,81% et 48,15% des spectres bruts totaux du groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense* (G3). Les spectres pondérés montrent une nette dominance des Thérophytes dans le groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense* (69,26% du spectre pondéré total) et le groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum* (66,69% du spectre pondéré total). Dans ces groupements, les Phanérophytes présentent de faibles recouvrements, respectivement 15,98% et 16,34% des spectres pondérés totaux. Les Thérophytes présentent également de faibles recouvrements dans le groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* (20,26% du spectre pondéré total) et dans le groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum* (20,11% du spectre pondéré total). Les Chaméphytes, les Hémicryptophytes et Les Géophytes sont moins abondants et moins recouvrants par rapport aux Phanérophytes et Thérophytes. Les formes de vie les moins représentées sont les Hydrophytes et les Hélophytes.



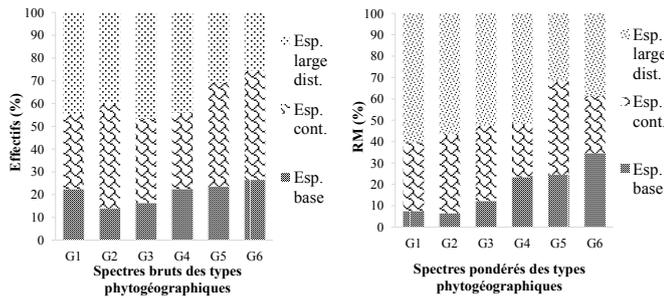
Ph = Phanérophytes ; Ch = Chaméphytes ; Ge = Géophytes ; Hel = Hélophytes ; Hd = Hydrophytes ; He = Hémicryptophytes ; Th = Thérophytes ; G1, ..., G6 = Groupements ; RM = Recouvrement moyen

Figure 5 : Spectres biologiques des groupements

3.2.4. Subdivisions chorologiques des groupements

Les espèces à large distribution géographique et les espèces continentales sont les plus représentées dans les groupements excepté le groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius* (G6). En effet, dans ce dernier groupement, les espèces continentales dominent (48,04% du spectre brut total) largement les espèces de l'élément base soudanien et les espèces à large distribution géographique qui représentent respectivement 26,47% et 25,49% des spectres bruts totaux (figure 6). Dans le groupement G5 (groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum*), les espèces de l'élément base soudanien présentent un spectre brut de 23,53%. Dans le groupement G3 (groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense*), les espèces de l'élément base soudano-guinéen présentent un spectre brut total de 16,30%. Dans les groupements G4 (groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum*), G2 (groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans*) et G1 (groupement

à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum*), les espèces de l'élément base guinéo-congolais représentent respectivement 22,39%, 13,97% et 22,38% des spectres bruts totaux.



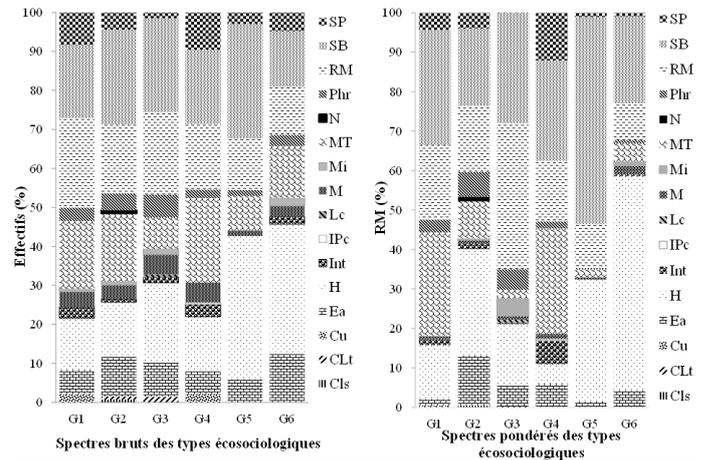
Esp. large dist. = Espèces à large distribution géographique ; Esp. cont. = Espèces continentales ; Esp. base = Espèces de l'élément base ; RM = Recouvrement moyen ; G1, ..., G6 = Groupements

Figure 6 : Spectres phytogéographiques des groupements

L'analyse des spectres pondérés montre que ce sont les espèces de l'élément base qui recouvrent le moins, excepté dans le groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius* (G6) où ces espèces représentent 34,56% du spectre brut total contre 26,93% pour les espèces continentales.

3.2.5. Affinités écosociologiques des groupements

L'appartenance écosociologique des espèces a permis de les répartir en seize classes dont les plus remarquables sont les espèces de savanes non steppiques (*Hyparrhietea*), les formations culturelles et post culturelles (*Soncho-Bidentetea pilosi*), les espèces rudérales (*Ruderali-Manihotetea*) et les espèces de jachères et forêts secondaires (*Musango-Terminalietea*). Les *Hyparrhietea* représentent en effet 13,70%, 26,88%, 15,57%, 30,88% et 54,25% des spectres bruts totaux respectifs des groupements G1 (groupement à *Lepistemon owariense* et *Andropogon tectorum*), G2 (groupement à *Cola millenii* et *Tephrosia elegans*), G3 (groupement à *Tephrosia pedicellata* et *Chlorophytum senegalense*), G5 (groupement à *Acacia gourmaensis* et *Combretum glutinosum*) et G6 (groupement à *Terminalia laxiflora* et *Elionurus hirtifolius*) (figure 7). Ces espèces sont toutefois faiblement représentées dans le groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* (G4). Les *Soncho-Bidentetea pilosi* représentent respectivement 29,09%, 19,69%, 27,93%, 25,43%, 52,46 et 22,02% des spectres bruts totaux des six groupements G1 à G6. Les espèces rudérales (*Ruderali-Manihotetea*) représentent respectivement 19%, 16,71%, 36,91%, 15,31%, 11,18% et 9,30% des spectres bruts totaux des groupements G1 à G6. Les *Musango-Terminalietea* représentent respectivement 26,15%, 9,39%, 26,66% des groupements G1, G2 et G4. Ces espèces sont plus faiblement représentées dans les autres groupements.



ClS = *Ctenio-Loudetietea simplicis* ; CLt = *Ctenio-Loudetietea togoensis* (CLt) ; Ea = *Erythrophleetea africana* ; H = *Hyparrhietea* ; IPc = *Ipomoetea Pedis-caprae* ; Lc = *Lycopodietea cernui* ; M = *Mitragynetea* ; Mi = *Microchloetea indicae* ; MT = *Musango-Terminalietea* ; N = *Nymphaetea loti* ; Phr = *Phragmitetea* ; RM = *Ruderali-Manihotetea* ; SB = *Soncho-Bidentetea pilosi* ; Cu = Espèces cultivées ; Int = Espèces introduites ; RM = Recouvrement moyen ; G1, ..., G6 = Groupements

Figure 7 : Spectres bruts et pondérés des types écosociologiques des groupements

Les espèces forestières (*Erythrophleetea africana*, *Strombosio-Parinarietea* et *Mitragynetea*), les espèces de la végétation semi-aquatique des eaux douces (*Phragmitetea*) et les espèces introduites sont moins abondantes. Quant aux espèces de la végétation pionnière des sols temporairement mouilleux (*Microchloetea indicae*), des éboulis (*Lycopodietea cernui*) et du littoral (*Ipomoetea Pedis-caprae*), les espèces des savanes soudaniennes (*Ctenio-Loudetietea togoensis*) et steppiques zambéziennes (*Ctenio-Loudetietea simplicis*), les espèces aquatiques (*Nymphaetea*) et les espèces cultivées, elles sont faiblement représentées.

4. Discussion

Des relevés systématiques des espèces de carrières étudiées avant et après leur exploitation a permis de recenser 457 espèces regroupées en 82 familles appartenant toutes aux Angiospermes. Les espèces dicotylédones dominent largement la flore des carrières (81% des espèces). Ces espèces sont également les plus représentées (70%) dans la flore du Bénin (Neuenschwander *et al.*, 2011). Le même constat a été fait par Wala (2004) sur la flore de la chaîne de l'Atacora constituée essentiellement de quartzites et de schistes (Affaton, 1975). En effet, ses résultats ont révélé que la flore de la chaîne de l'Atacora renferme 75,7% de Dicotylédones. De même, Oumorou (2003) a trouvé 69,6% de Dicotylédones dans la flore des inselbergs du Bénin. Par ailleurs, la famille des Leguminosae qui est la plus diversifiée en espèces dans cette étude a été signalée comme la famille la plus riche en espèces dans la flore du Bénin (14,8%) (Neuenschwander *et al.*, 2011) et la plus importante de la végétation des inselbergs et de la chaîne de l'Atacora au Bénin (Oumorou, 2003 ; Wala, 2004). Ces auteurs ont également trouvé comme dans cette étude que les Poaceae, les Rubiaceae, les Asteraceae et les Euphorbiceae font partie des familles les plus diversifiées. Mais contrairement aux résultats de cette étude, les familles des Scrophulariaceae et des Vitaceae font partie des familles les plus diversifiées recensées par Oumorou (2003) sur les inselbergs avec respectivement 10 et 11 espèces. Ces deux familles sont faiblement représentées dans la flore des carrières avec 4 espèces pour les Vitaceae

et 1 seule espèce pour la famille des Scrophulariaceae.

Les carrières abritent également 12,26% des espèces végétales menacées de disparition au Bénin. Elles sont au nombre de 13 et représentent 2,84% des espèces recensées. Ce nombre dépasse celui trouvé par Trnková *et al.* (2010) qui ont trouvé 10 espèces menacées de disparition sur des substrats rocheux de carrières en République tchèque. La famille des Leguminosae représentée par les espèces *Azelia africana* Smith ex Pers., *Albizia ferruginea* (Guill. & Perr.) Benth, *Dalbergia ecastaphyllum* (L.) Taub., *Detarium senegalense* J. F. Gmel. et *Pterocarpus erinaceus* Poir est plus abondante mais présente un faible recouvrement contrairement à la famille des Rutaceae représentée par l'espèce *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepern. & Timber qui présente le plus grand recouvrement (50,82% du spectre pondéré des familles menacées) malgré son faible effectif dans le spectre brut des familles menacées (7,69% de l'effectif total des familles menacées). Ce résultat traduit l'adaptation de l'espèce *Zanthoxylum zanthoxyloides* aux conditions pédologiques des carrières, notamment celles de gravier. En effet, cette espèce guinéo-congolaise a tendance à être localement grégaire (Leujoly & Richel, 1997 ; Arbonnier, 2002) dans des conditions situationnelles données. Ceci justifie le recouvrement important de l'espèce dans les carrières de gravier du Sud de la République du Bénin.

La classification hiérarchique ascendante des 125 relevés a permis une discrimination de six groupements avec un taux de discrimination de 18%. Ce taux a été suffisant pour obtenir des groupements distincts. L'indépendance des six groupements obtenus a d'ailleurs été soutenue par l'absence de similarité entre ces groupements pris deux à deux. La discrimination s'est réalisée suivant la zone bioclimatique et la nature de la roche mère. Les caractéristiques lithologiques et climatiques du milieu influenceraient donc l'installation des communautés végétales à travers la variation des formations pédologiques. La formation des types de sols est en effet sous les influences du climat et de l'altérabilité des roches mères déterminée par leur composition chimique et minéralogique (Aran *et al.*, 1998). Les caractéristiques chimiques et texturales des sols dépendent donc de la roche mère d'origine (Timoney *et al.*, 1993) dont les caractéristiques physiques influencent fortement l'installation de la végétation naturelle (Kosmas *et al.*, 2000).

Les six groupements sont caractérisés par une diversité élevée, une bonne distribution des individus entre taxons et par une prédominance des Phanérophytes et des Thérophytes. Cette grande diversité associée à une distribution quasi équitable des individus indique une grande richesse taxonomique et une meilleure distribution des individus entre taxons. Les conditions stationnelles sont donc favorables à l'installation de plusieurs espèces. La prédominance des Phanérophytes dans les différents groupements est conforme au climat tropical (Vidal, 1966). Quant aux Thérophytes, ce sont des formes de vie particulièrement adaptées aux forts régimes de perturbation (Grime, 1977, 1985 ; Shackleton, 2000 ; Bzdon, 2009). Dans cette étude, ces perturbations seraient liées aux conditions pédologiques sévères des substratums et aux activités d'extraction qui consistent en une excavation des

premiers horizons du sol. Ces perturbations ont d'ailleurs favorisé l'abondance des espèces à large distribution géographique et des espèces continentales et une faible colonisation des espèces endogènes. L'abondance des espèces à large distribution géographique dans une phytocénose traduit en effet une dégradation et une perte de fertilité des sols (Djego et Sinsin, 2006 ; Toko et Sinsin, 2008). Les Hélophytes et les Hydrophytes sont les formes de vie les moins abondantes. Elles sont représentées par les espèces *Sphenoclea zeylanica* Gaertn, *Vossia cuspidata* (Roxb.) Griff et *Nymphaea lotus* L. qui se retrouvent dans les groupements en raison de la présence d'eau dans les cuvettes abandonnées après l'extraction des matériaux.

L'affinité écosociologique des espèces a révélé l'abondance des espèces de savanes et de jachères ou formations post culturelles et des espèces rudérales. Ce résultat reflète bien la physionomie des formations parcourues car comme signalé dans la méthodologie, les données ont été collectées dans des formations post culturelles, des savanes et des formations après carrière. Par ailleurs, l'abondance des espèces rudérales serait liée aux perturbations dans les différentes formations car ce sont des espèces qui se développent au sein d'habitats soumis à de fréquentes et intenses perturbations et qui présentent un taux de croissance et un cycle de vie rapides (Vidal, 1998).

L'occurrence des *Mitragynetea*, des *Phragmitetea*, des *Nymphaeetea* et des *Microchloetea indicae* s'explique par la présence de mares d'eau (temporaires et pérennes) dans les cuvettes abandonnées après extraction des gisements. La proximité du groupement à *Uvaria chamae* et *Dichapetalum oblongum* par rapport au littoral explique l'occurrence des espèces de la classe des *Ipomoetea Pedis-caprae*.

5. Conclusion

L'étude floristique des carrières a révélé qu'elles abritent 12,26% des espèces végétales menacées de disparition au Bénin et est dominée par des espèces rares (54,7%). Cette flore constituée de 457 espèces est dominée par les Leguminosae. Six groupements végétaux ont été discriminés suivant la zone bioclimatique et la nature de la roche mère. Caractérisés par une prédominance des Phanérophytes et des Thérophytes, les groupements sont constitués notamment des espèces de savanes et de jachères ou formations post culturelles et des espèces rudérales. Dans une moindre mesure, s'y trouvent des espèces de la classe des *Mitragynetea*, des *Phragmitetea*, des *Nymphaeetea* et des *Microchloetea indicae* caractéristiques des milieux inondés.

Les résultats de cette étude montrent que les zones de carrières sont des milieux capables d'abriter une diversité floristique importante. Elles pourraient donc contribuer à la sauvegarde de nombreuses espèces végétales et animales en leur servant de refuges notamment dans les régions à démographie galopante comme le Sud du Bénin. Pour ce faire, il faut que les autorités locales développent une politique d'aménagement après carrière avec une diversité d'utilisation des terres qui prend en compte des espaces témoins qui serviront à la fois de refuges pour la biodiversité locale et d'espaces reliques, témoins de l'histoire des carrières pour les générations futures.

6. Références bibliographiques

- Aboh A.B., 2008. Phytosociologie, écologie, potentialités et aménagement des pâturages naturels envahis par *Chromolaena odorata* et *Hyptis suaveolens* en Zone Soudano-guinéenne (Bénin). Thèse de doctorat, FLASH/FAST/UAC, 227 p.
- Adjanohoun E.J., Adjakidje V., Ahyi M.R.A., Ake Assi L., Akoegninou A., D'almeda J., Apovo F., Boukef K., Chadare M., Cusset G., Dramane K., Eyme J., Gassita J.-N., Gbaguidi N., Goudote E., Guinko S., Houngnon P., Issa Lo., Keita A., Kiniffo H.V., Kone-Bamba D.,
- Musampa Nseyya A., Saadou M., Sdogandji Th., De Souza S., Tchabi A., Zinsou Dossa C. & Zohoun Th., 1989. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République populaire du Bénin. ACCT, Paris, France, 895 p.
- Adomou C., Sinsin B., Van der Maesen L.J.G., 2006. Phytosociological and chorological approaches to phytogeography: a meso-scale study in Benin. *Systematics and Geography of Plants* 76, 155-178.
- Affaton P., 1975. Etude géologique et structurale du Nord-Ouest Dahomey, du Nord-Togo et du Sud-Est de la Haute-Volta. Trav. Lab. Sci. Terre, St-Jérôme, Marseille, France, 201 p.
- Akobundu I.O. & Agyakwa C.W., 1989. Guide des adventices d'Afrique de l'Ouest. IITA, Ibadan, Nigéria, 522 p.
- Akoègninou A., van der Burg W.J., van der Maesen L.J.G., Adjakidjè V., Esseou J.P., Sinsin B. & Yédomonhan H., 2006. Flore Analytique du Bénin. Backhuys Publishers, Cotonou et Wageningen, 1034 p.
- Aran D., Gury M., Zida M., Jeanroy E. & Herbillon A.J., 1998. Influence de la roche-mère et du climat sur les propriétés andiques des sols en région montagnarde tempérée (Vosges, France). *European Journal of Soil Science* 49 (2): 269-281.
- Arbonnier M., 2002. Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Editions Quae, ISBN : 2856535461, 9782856535462. 573 p.
- Braun-Blanquet J., 1932. Plant sociology: The study of plant communities. Hafner Publishing Company, New York, 439 p.
- Berhaut J., 1971-1979. Flore illustrée du Sénégal. Dakar, Sénégal, Ministère du développement rural et de l'hydraulique, direction des eaux et forêts. Vol. 1, Acanthacées à Avicenniacees, 628 p. ; vol. 2, Balanophoracées à Composées, 696 p. ; vol. 3, Connaracées à Euphorbiacées, 634 p. ; vol. 4, Ficoïdées à Légumineuses, 626 p. ; vol. 5, Légumineuses papilionacées, 658 p.; vol. 6, Lynacées à Nymphéacées, 636 p. Eds. Clairafrique, Dakar, Sénégal.
- Bétard F., 2011. Potentialités écologiques des carrières de quartzite après exploitation : l'exemple de la carrière de Cheffois (Vendée, France). *Physio-Géo* 5. <http://physio-geo.revues.org/1667>, Consulté le 22 mai 2013.
- Borgegård S.O., 1990. Vegetation development in abandoned gravel pits: effects of surrounding vegetation, substrate and regionality. *Journal of Vegetation Science* 1: 675-682.
- Boupoya-Mapikou C-A., 2011. Flore et végétation des clairières intraforestières sur sol hydromorphe dans le Parc National de l'Ivindo (Nord-Est Gabon). Thèse de doctorat, FS/DBO/ULB, 283 p.
- Bzdon G., 2009. Floristic diversity of gravel-pits of the Siedlce Plateau: an analysis of the flora. *Annales Universitatis Mariae Curie Sklodowska Lublin-Polonia* LXIV (1) : 35-66.
- Calugaru C., 2006. L'exploitation du lignite et la réhabilitation des paysages dans la région minière d'Olténie en Roumanie. *Revue Géographique de l'Est* 46 : 3-4.
- Clements R., Sodhi N.S., Schilthuizen M. & Peter K.L. NG., 2006. Limestone karsts of Southeast Asia: Imperiled arks of biodiversity. *Bioscience* 56 (9): 733-742.
- Deconchat M. et Balent G., 2001. Effets des perturbations du sol et de la mise en lumière occasionnées par l'exploitation forestière sur la flore à une échelle fine. *Annals of Forest Science* 58 : 315-328.
- Djègo J. & Sinsin B., 2006. Impact des espèces exotiques plantées sur la diversité des phytocénoses de leur sous-bois. *Système Géographique* 76 : 191-209.
- Djègo J.G.M., 2006. Phytosociologie de la végétation de sous-bois et impact écologique des plantations forestières sur la diversité floristique au sud et au centre du Bénin. Thèse de doctorat, FLASH/FAST/UAC, 369 p.
- Duvigneaud P., 1949. Les savanes du Bas-Congo. Essai de phytosociologie topographique. Lejeunia, 230 p.
- Ganglo J.C., Lejoly J. & Pipar T., 1999. Le teck (*Tectona grandis* L. f.) au Bénin, gestion et perspectives. Bois et forêts des tropiques 261 (3) : 17-27.
- Gounot M., 1969. Méthodes d'étude quantitative de la végétation. Masson et Cie 120, 314 p.
- Grime J.P., 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *American Naturalist* 111: 1169-1194.
- Grime J.P., 1985. The C-S-R model of primary plant strategies - origins, implications and tests. pp 371-393 *In: Plant Evolutionary Biology*, Gottlieb, L.D. & Jain, S.K. eds. Chapman and Hall, London & New-York.
- Hoff M., 1991. Végétation synantropique tropicale. ORSTOM, Cayenne, France, 55 p.
- Hoff M. & Brisse H., 1983. Proposition d'un schéma synthétique des végétations secondaires internationales. Colloques phytosociologiques XII: 249-267.
- ICMM (International Council on Mining and Metals), 2012. In Brief: Mining's Contribution to Sustainable Development-An Overview. London. International Council on Mining and Metals, London, United Kingdom, 8 p.
- INSAE (Institut National de Statistique Appliquée et

- d'Economie), 2015. RGPH4 : que retenir des effectifs de population en 2013 ? Direction des Etudes Démographiques, INSAE, Cotonou, 35 p. www.insae-bj.org/?file=files/publications/RGPH4/Plaqueette_RGPH4
- Khater C., 2004. Dynamiques végétales post-perturbations sur les carrières calcaires au Liban. Stratégies pour l'écologie de la restauration en régions Méditerranéennes. Thèse de doctorat, Université Montpellier II, Sciences et Techniques du Lanquedoc, 183 p.
- Khater C. & Arnaud M., 2007. Application of restoration ecology. Principles to the practice of limestone quarry rehabilitation in Lebanon. *Lebanese Science Journal*, 8 (1): 19-28.
- Kosmas C., Gerontidis St., Marathianou M., 2000. The effect of land use change on soils and vegetation over various lithological formations on Lesvos (Greece). *Catena* 40: 51-68.
- Lebrun J., 1947. - La végétation de la plaine alluviale au sud du lac Edouard. Inst. Parcs Nat. Congo belge, Exp. Parcs Nat. Albert. Mission Lebrun (1937-1938) 1 : 800 p.
- Lebrun J. & Gilbert G., 1954. Une classification écologique des forêts du Congo. *Publ. INEAC, Série Scientifique 63*, Bruxelles.
- Lejoly J. & Tichel T., 1997. Codification de la flore d'Afrique Occidentale. Laboratoire de Botanique, Systématiques et de Phytosociologie. Université Libre de Bruxelles (ULB), 94 p.
- Lenda M., Skorka P., Moron D., Rosin Z.M. & Tryjanowski P., 2012. The importance of the gravel excavation industry for the conservation of grassland butterflies. *Biological Conservation* 148: 180-190.
- Lundholm J.T. & Richardson P.J., 2010. Habitats analogues for reconciliation ecology in urban and industrial environments. *Journal of Applied Ecology* 47: 966-975.
- Mahamane A., Mahamane S. & Lejoly J., 2008. *Diospyro-Khayetalia senegalensis* ord. nov. dans le Parc Régional du W du fleuve Niger. *Flora et Vegetatio Sudano-Sambesica* 11 : 49-60.
- Melki F., 2002. Guide sur les prises en compte des milieux naturels dans les études d'impact. Document piloté par la DIREN Midi-Pyrénées et réalisé par Biotope. DIREN Midi-Pyrénées, 76 p.
- Milgrom T., 2008. Environmental aspects of rehabilitating abandoned quarries: Israel as a case study. *Landscape and urban planning* 87 (3): 172-179.
- MMSD (Mining, Minerals and Sustainable Development), 2002. *Breaking New Ground*. IIED, WBCSD, 32 p.
- Neuenschwander P., Sinsin B. & Goergen G., 2011. Protection de la nature en Afrique de l'Ouest : Une Liste Rouge pour le Bénin. *Nature Conservation in West Africa: Red List for Benin*. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria, 365 p.
- Noukpo C., 2009. *Complexe cimentier d'Onigbolo : pollution de l'air et santé des employés et populations riveraines*. Mémoire de maîtrise, Géographie, DGAT, FLASH, UAC, 98p.
- Novák J. & Prach K., 2003. Vegetation succession in basalt quarries: Pattern on a landscape scale. *Applied Vegetation Science* 6: 111-116.
- OBRGM (Office Béninois de Recherches Géologiques et Minières), 2008. Carte géologique du Bénin à 1:200000. Une compilation des : Feuille Nord du 11^e parallèle (Istituto Recerche Breda, 1982), feuilles Djougou-Parakou-Nikki (Bureau de Recherches Géologiques et minières de France, 1984), feuille Sud du 9^e parallèle (Istituto Recerche Breda, 1987) et feuilles Bembèrèkè-Dunkassa-Natitingou-Sansanné-Mango (Ministère de l'Industrie et de l'Energie du Bénin, 1996). OBRGM, Cotonou, Bénin.
- OBRGM (Office Béninois de Recherches Géologiques et Minières), 2008. Notice explicative de la carte de localisation des ressources minières du Bénin. Ministères des Recherches pétrolières et minières, 32 p.
- OBRGM (Office Béninois de Recherches Géologiques et Minières), 2008. Potentialités minières du Bénin. Ministères des Recherches pétrolières et minières, rapport, 51 p.
- Oumorou M., 2003. Etudes écologique, floristique, phytogéographique et phytosociologique des inselbergs du Benin. Thèse de doctorat, Fac. Sc., Lab. Bot. Syst. & Phyt., Uni. Lib. Bruxelles, 210 p.
- Rademacher M. & Tränkle U., 2006. Bavarian quarries and pits and their importance for the protection of species and nature conservation. In: Novak A. & Hebda G. (eds.). *Biodiversity of quarries and pits*: 59-64. Opole Scientific Society-3rd Department of Natural Sciences, Opole-Górażdże.
- Raunkiaer C., 1934. *The life forms of plants and statistical plant geography*. Clarendon Press, Oxford: 632 p.
- Řehouňková K. & Prach K., 2008. Spontaneous Vegetation Succession in Gravel-Sand Pits: A Potential for Restoration. *Restoration Ecology* 16 (2): 305-312.
- Remacle A., 2005. L'inventaire des carrières de Wallonie (Belgique): présentation générale et aspects entomologiques. *Notes fauniques de Gembloux* 57 : 73-79.
- Schmitz A., 1963. Aperçu sur les groupements végétaux du Katanga. *Bull. Soc. Roy. Bot. Bel.* 96 : 233-447.
- Schmitz A., 1971. La végétation de la plaine de Lubumbashi (Haut-Katanga). *Publ. INEAC, ser. Scient.* : 113-388.
- Schmitz A., 1988. Révision des groupements végétaux décrits du Zaïre, du Rwanda et du Burundi. *Mus. Royal Afr. Centr., Tervuren, Belgique*. Vol. 17, 315 p.
- Shackleton C., 2000. Comparison of plant diversity in protected and communal lands in the Bushbuckridge lowveld savana, South Africa. *Biological Conservation* 94: 273-85.

- Sinsin B., 1993. Phytosociologie, écologie, valeur pastorale, production et capacité de charge des pâturages naturels du périmètre Nikki-Kalale au Nord du Bénin. Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles, 390 p.
- Sinsin B., Eyog O., Matig O.E., Assogbadjo A.E., Gaoue O.G. & Sinadouwirou T., 2004. Dendrometric characteristics as indicators of pressure of *Azelia africana* Sm. Dynamic changes in trees found in different climatic zones of Benin. *Biodiversity and Conservation* 13 (8): 1555-1570.
- Santa G. D. K., 2007. Les pierres ornementales dans la commune de Natitingou : exploitation et impacts. Mémoire de maîtrise, Géographie, DGAT, FLASH, UAC, 82 p.
- Sokpon N., 1995. Recherches écologiques sur la forêt dense semi-décidue de Pobè au sud-est du Bénin. Groupements végétaux, structure, régénération naturelle et chute de litière. Thèse de Doctorat. Université Libre de Bruxelles, 350 p.
- Sorensen T., 1948. A method of establishing groups of aequal amplitude in plant sociology based on similarity of species content and its application to analyses of the vegetation on danish common Kong. *Danske videns. Selskob biol. Skr., Kjobenhavn* 4 : 1-34.
- Souza (de) S., 2008. Flore du Bénin. Noms des plantes dans les langues nationales béninoises. 2^{ème} Ed., tome 3, Imprimerie Tundé, Bénin, 679 p.
- Terminski B., 2012, Mining-induced displacement and resettlement: social problem and human rights issue (a global perspective), 45 p.
- Thompson R.L. & Green S.R., 2010. Vascular Plants of an Abandoned Limestone Quarry in Garrard County, Kentucky. *Castanea* 75(2): 245-258.
- Timoney K.P., La Roi G.H., Zoltai S.C. & Robinson A.L., 1993. Vegetation communities and plant distributions and their relationships with parent materials in the forest-tundra of northwestern Canada. *Ecography* 16: 174-188.
- Toko I. & Sinsin B., 2008. Les phénomènes d'érosion et d'effondrement naturels des sols (dongas) du Parc national du W et leur impact sur la productivité des pâturages. *Sécheresse* 19 (3): 193-200.
- Trnková R., Řehouňková K. & Prach K., 2010. Spontaneous succession of vegetation on acidic bedrock in quarries in the Czech Republic. *Preslia* 82: 333-343.
- Tropek R., Kadlec T., Karesova P., Spitzer L., Kocarek P., Malenovsky I., Banar P., Tuf I.H., Hejda M. & Konvicka M., 2010. Spontaneous succession in limestone quarries as an effective restoration tool for endangered arthropods and plants. *Journal of Applied Ecology* 47: 139-148.
- Tropek R. & Konvicka M., 2011. Should restoration damage rare biotopes? *Biological Conservation* 144, p. 1299.
- Tüxen R. & Preising E., 1942. Grunbegriffe und Methoden zum studium der Wasser und Sumflanzen-gesellschaften. *Deutsche Wasserwirtschaft* 37: 10-17, 57-69.
- Vidal E., 1998. Organisation des phytocénoses en milieu insulaire méditerranéen perturbé : Analyse des interrelations entre les colonies de Goélands leucophées et la végétation des îles de Marseille. Thèse de doc Université de droit, d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille III (Aix-Marseille III), 156 p.
- Vidal J.E., 1966. Types biologiques dans la végétation forestière du Laos. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 113: sup2, 197-203, DOI: 10.1080/00378941.1966.10838487
- Wala K., 2004. La végétation de la chaîne de l'Atakora au Bénin: Diversité biologique, phytosociologie et impact humain, Thèse de doctorat, Université de Lomé, 138 p.
- White F., 1986. La végétation de l'Afrique. Mémoire accompagnant la carte de la végétation de l'Afrique. UNESCO/AETFAT/UNSO, ORSTOM-UNESCO, 384 p.
- Zhang P. & Xia H., 2003. Revegetation of Quarry Using a Complex Vetiver Eco-engineering Technique. Proceedings of the Third International Conference on Vetiver and Exhibition, Guangzhou, China, 9 p.

LE RÉSEAU D'AIRES PROTÉGÉES BÉNIN-TOGO ASSURE-T-IL LA CONSERVATION DE *THUNBERGIA ATACORENSIS* (ACANTHACEAE)?

Titre court : Conserver *Thunbergia atacorensis*

Adané Belarmain Fandohan^{1,2,3}, Jacob Koundounon Moutouama⁴, Samadori S. Honoré Biaou⁴, Gérard Nounagnon Gouwakinnou^{2,5}, Cossi Aristide Adomou^{2,6}

RESUME

La conservation des espèces menacées et/ou rares est primordiale car en théorie elles courent un plus grand risque d'extinction. Cependant, la capacité des aires protégées à conserver ces espèces est souvent peu documentée. Par ailleurs la connaissance des dynamiques spatio-temporelles que les changements climatiques pourraient induire sur leurs niches écologiques est assez limitée. Le principe de « maximum entropie » combiné au SIG a été utilisé pour modéliser la niche écologique de *Thunbergia atacorensis*, et l'impact potentiel des changements climatiques sur la répartition géographique future (horizon 2055) de ses habitats favorables. Les modèles ont été utilisés pour évaluer la capacité du réseau d'aires protégées locales à conserver l'espèce. Pour ce faire 365 coordonnées de présence ont été collectées et combinées aux données bioclimatiques et géomorphologiques actuelles et futures. La majeure partie de la niche écologique modélisée de *T. atacorensis* se trouve hors du réseau d'aires protégées et couvre moins de 1% de la superficie du milieu d'étude. Cela suggère l'inefficacité du réseau d'aires protégées de la zone à conserver l'espèce. Sous les projections climatiques futures pour les forçages radiatifs RCP 4.5 et RCP 8.5, les modèles indiquent une importante dynamique spatiale des habitats favorables à l'espèce, du Bénin vers le Togo. Une élévation modérée des températures (RCP4.5) aurait un effet positif sur la probabilité d'occurrence de l'espèce contrairement à une augmentation plus élevée (RCP 8.5). Cette étude confirme la nécessité de prioriser la zone de la chaîne de montagne de l'Atacora (qui apparaît comme le principal habitat de l'espèce) dans le cadre d'une éventuelle extension du réseau d'aires protégées de la zone d'étude.

Mots clés : *Thunbergia atacorensis*, MaxEnt, modélisation, niche écologique, changements climatiques, Chaîne de l'Atacora.

ABSTRACT

Does the Benin-Togo protected areas network ensure conservation of *Thunbergia atacorensis* (Acanthaceae)?

Conservation of endangered or rare species is important because in theory they are the most threatened by extinction risks. However, the effectiveness of protected areas to preserve them is often poorly documented. In addition, knowledge on the spatio-temporal effects of climate change on the breadth of their niches is limited. The Maximum entropy principle combined with GIS was used to model the ecological niche of *Thunbergia atacorensis* and how climate change could affect the future geographical range (2055) of its suitable habitats. Models were used to assess the effectiveness of the local protected areas network to conserve the species. To this end, 365 presence records were collected and combined with current and future bioclimatic and geomorphological data of the study area. Under radiative forcing RCP 4.5 and RCP 8.5, the models suggested important spatial dynamics of suitable habitats for this species from Benin towards Togo. A moderate temperature rise (RCP4.5) would favor relative occurrence rate of the species in contrast to greater increases (RCP8.5). There was nearly no overlap between the protected areas network and the modeled ecological niche of the species, which covered less than 1% of the study area. This would suggest the local protected areas network to be ineffective in conserving this species. This study evidenced the need for prioritizing the Atacora Mountain Chain (which appeared to be the target species' main habitat) if an extension of the local bio-reserve system is to be considered.

Key words: *Thunbergia atacorensis*, MaxEnt, ecological niche modeling, climate change, Atacora Mountain Chain

¹Unité de Foresterie Agroforesterie et Biogéographie, Ecole de Foresterie et Ingénierie du Bois, Université d'Agriculture de Kétou, BP 43, Kétou, Bénin ;

²Laboratoire d'Ecologie Appliquée, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, 01 BP 526, Cotonou, Bénin ;

³Laboratoire de Biomathématiques et d'Estimations Forestières, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, 01 BP 526, Cotonou, Bénin ;

⁴Laboratoire d'Ecologie, de Botanique et de Biologie Végétale, Faculté

d'Agronomie, Université de Parakou, 03 BP 125, Parakou, Bénin ;

⁵Ecole Nationale Supérieure d'Aménagement et de Gestion des Aires Protégées, Université de Parakou, BP 287, Kandi, Bénin.

⁶Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 4521 Cotonou, Bénin.

Auteur correspondant : bfandohan@gmail.com, belarmain_fandohan@uakbenin.org

Introduction

Une grande partie de l'impressionnante biodiversité de l'Afrique est à ce jour conservée dans les aires protégées au moyen d'un très vaste système de différents types de bio-réserves. Dans la plupart des cas, les espèces animales à forte valeur écotouristique étaient les principales cibles de la conservation (Fandohan *et al.*, 2011). Peu d'intérêt

avait donc été accordé aux espèces végétales, fussent-elles rares ou endémiques. Il urge alors d'évaluer l'efficacité des réseaux d'aires protégées à conserver les espèces végétales, notamment celles rares, endémiques ou dont l'aire de distribution est assez réduite (Kumar *et al.*, 2009) (exemple, *Thunbergia atacorensis*, *Bittneria dahomensis*). Par ailleurs, les changements climatiques sont aujourd'hui

reconnus comme l'une des principales menaces à la survie des espèces et à l'intégrité des écosystèmes partout dans le monde. Il est probable que les fluctuations des variables climatiques telles que les précipitations et la température aient une incidence sur la diversité biologique et sur la répartition géographique des habitats favorables aux espèces (IPCC, 2007). En Afrique, 25 à 42% des espèces végétales pourraient être menacées d'extinction du fait d'une perte de 81 à 97% des habitats favorables d'ici 2085 (IPCC, 2007). D'après les projections, 20 à 30% des espèces végétales et animales feront face à un plus grand risque d'extinction si le réchauffement global excède 1,5° à 2,5°C dans cette région (Busby *et al.*, 2010). Ces changements pourraient réduire la capacité des aires protégées à conserver les espèces.

En Afrique sub-saharienne, les investigations sur l'impact potentiel des changements climatiques sur l'efficacité des aires protégées à conserver les espèces rares, endémiques ou sur la liste rouge de l'union internationale pour la conservation de la nature (IUCN) demeurent assez rares. Or, ces changements représentent un stress fondamentalement différent des autres stress car jamais par le passé les perturbations d'ordre écologique n'ont remis en cause l'efficacité des réseaux d'aires protégées à conserver des populations représentatives des espèces (Fandohan *et al.*, 2013), ou à couvrir les habitats qui leurs sont favorables. La question fondamentale est : comment ces aires statiques continueront à conserver les espèces concernées ou à leur offrir des habitats favorables, avec la dynamique spatio-temporelle des conditions environnementales (Fandohan *et al.*, 2013) ? Les informations relatives à l'impact potentiel des changements climatiques sur la répartition géographique des habitats favorables à ces espèces s'avèrent donc importantes pour mieux raisonner les choix des zones où elles seront conservées aujourd'hui et dans le futur (Gouwakinnou, 2013).

Diverses méthodes statistiques sont utilisées pour modéliser la distribution des espèces, la distribution des habitats qui leur sont favorables ou encore pour estimer la probabilité de présence/absence d'une espèce donnée à une position géographique donnée (Guisan *et al.*, 2000). MaxEnt (*maximum entropy modeling*) constitue l'un des algorithmes de modélisation susceptibles de générer des informations biogéographiques utiles sur les habitats favorables et ceux non favorables à une espèce d'un point de vue bioclimatique (Phillips *et al.*, 2006). Cependant, cet algorithme a aussi été très critiqué compte tenu de certaines faiblesses quant à prédire l'impact des changements climatiques sur la dynamique spatio-temporelle des habitats favorables aux espèces (Fandohan *et al.*, 2013). Au nombre de ces faiblesses, on peut citer les incertitudes liées aux modèles utilisés, les difficultés à paramétrer les interactions écologiques, les réponses idiosyncratiques individuelles des espèces aux changements climatiques, les limitations de disséminations spécifiques à chaque espèce, la plasticité des limites physiologiques et les réponses adaptatives des agents disséminateurs (Elith *et al.*, 2006 ; Schwartz, 2012). Malgré ces faiblesses, MaxEnt procurent des informations bioclimatiques très importantes en matière de prise de décisions. Notamment, il peut permettre l'identification de zones potentiellement favorables à la conservation d'une espèce donnée (Schwartz, 2012) ou aider à évaluer l'efficacité d'un système de réseaux d'aires

protégées à conserver une espèce. Des travaux de recherches ont récemment évalué l'efficacité des aires protégées à conserver certains taxa, ex. *Tamarindus indica* (Fandohan *et al.*, 2011), *Sclerocarya birrea* (Gouwakinnou, 2013), le genre *Acacia* (Marshall *et al.*, 2012), ou l'impact des changements climatiques sur la distribution des habitats des espèces (*Adansonia digitata*; Cuni-Sanchez *et al.*, 2011). Cependant, les études ayant combiné les deux approches pour mieux orienter les prises de décision en matière de conservation sont rares sur le continent Africain (Fandohan *et al.*, 2013 ; Padonou *et al.*, 2015). La présente étude se propose alors d'évaluer la capacité du réseau d'aires protégées au Bénin et au Togo à conserver *Thunbergia atacorensis* (Acanthaceae) dans les conditions bioclimatiques actuelle et sous celles projetées à l'horizon 2055, avec les changements climatiques. Spécifiquement, cette étude a pour objectif de : Modéliser la niche écologique actuelle de *T. atacorensis*; Projeter la dynamique spatio-temporelle potentielle des habitats de l'espèce (à l'horizon 2055), imputable aux changements climatiques; Et enfin, faire une analyse de lacune actuelle et future de représentation (*gap analysis*) des habitats favorables à l'espèce dans le réseau Bénin-Togo d'aires protégées. Les questions de recherches suivantes ont été abordées. Quelle est l'étendue des habitats favorables à la conservation de *T. atacorensis* ? Au regard des projections climatiques, quel est l'effet potentiel des changements climatiques sur l'étendue de ces habitats et leur distribution géographique à l'horizon 2055 ? Quelle proportion des habitats favorables à l'espèce est présentement couverte par les réseaux nationaux d'aires protégées et qu'elle pourrait être la situation en 2055 ? Quelles sont les implications des résultats pour l'élaboration de politiques futures de conservation de l'espèce ?

2. Méthodologies

2.1. *Thunbergia atacorensis*

Le genre *Thunbergia* Retz., regroupe des plantes à fleurs de la famille des Acanthaceae, natives de l'Afrique Tropicale, de Madagascar et du Sud de l'Asie. *Thunbergia atacorensis* Akoègninou Lisowski & Sinsin (Photo 1) est une herbe vivace suffrutescente, dressée, de 40-80 cm de hauteur, à petite souche ligneuse souterraine et à tige et feuilles hispides. Elle est typique des galeries forestières. Précédemment dite endémique à la chaîne de l'Atacora au Bénin, elle fut également observée dans l'extension de la chaîne au Togo (Dourma *et al.*, 2012). Aussi fut-elle observée hors de cette chaîne de montagne, par exemple sur le mont Soubakpèrou au centre Bénin (Akoègninou *et al.*, 2006). Il serait alors plus commode de la présenter comme endémique aux inselbergs du Bénin et du Togo en attendant des fouilles plus détaillées. Elle est officiellement classée en danger d'extinction sur la liste rouge du Bénin (Neuenschwander *et al.*, 2011). Depuis sa découverte, et bien qu'une étude sommaire ait récemment soupçonné sa présence dans une des aires protégées au Bénin (Assédé *et al.*, 2012), aucune étude n'a évalué l'étendue de sa niche écologique.

2.2. Milieu d'étude

La présente étude a été conduite au Bénin et au Togo. Les deux pays sont situés dans le Dahomey Gap, un corridor d'écosystèmes savaniques interrompant le bloc Ouest Africain de forêts denses sempervirentes (0°-3°E), créé



Photo 1. Pied fleuri de *Thunbergia atacorensis* dans une galerie forestière de la rivière Yarpao (Chaîne de l'Atacora, Nord-Ouest Bénin).

suite aux changements climatiques intervenus au cours de l'Holocène (Salzmann *et al.*, 2005). La collecte de données de terrain a été essentiellement faite au Bénin dans la zone climatique soudanienne (entre les latitudes 11°5' N et 12° 25' N) notamment la chaîne de montagnes de l'Atacora et la zone Soudano-Guinéenne caractérisée par plusieurs inselbergs (entre les latitudes 7°N et 9°N) (Figure 1).

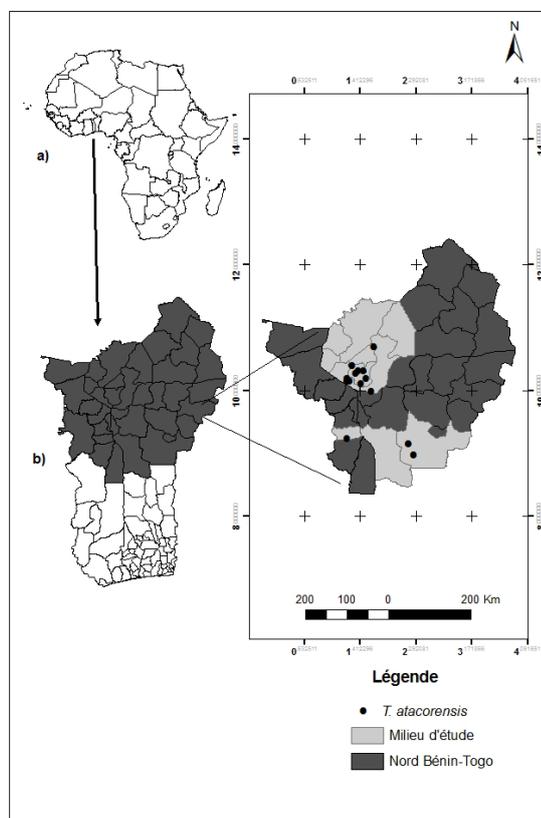


Figure 1. Localisation de la zone d'étude (a) Afrique ; (b) Bénin-Togo.

2.3. Données

Coordonnées de présence de l'espèce

Les coordonnées géographiques (longitude et latitude) de présence de *T. atacorensis* ont été enregistrées à partir d'une expédition à l'intérieur des aires protégées et dans les systèmes agroforestiers à travers la chaîne de montagnes de l'Atacora et autres inselbergs de la zone soudanienne. A ces données ont été ajoutée les coordonnées de points de contacts de l'espèce, antérieurement collectés et disponibles à l'Herbier Nationale de Bénin. L'expédition a été faite avec des membres des confréries de chasseurs des principaux villages et /ou sites à l'intérieur de la chaîne de montagnes (notamment, Bondjagou, Kobli, Konkombri, Kouandé, Koussoukouangou, Perma, Tanguieta, Tanougou, Tora et Yarpao). Ces confréries ont une grande réputation en matière de connaissance de la distribution des plantes rares et une longue tradition de collaboration avec nos unités de recherche. Aux données du Bénin, il a été ajouté des informations récentes sur la présence de l'espèce au Togo sur la base des travaux de Dourma *et al.* (2012). Au total, 365 coordonnées de présences de l'espèce ont été utilisées pour la modélisation.

Choix des variables environnementales et des scénarii climatiques

Un grand nombre de variables bioclimatiques sont disponibles sur plusieurs sites web (exemple : <http://www.york.ac.uk/environment/research/kite/resources/>) pour la modélisation de la distribution des espèces ou de leur habitat. Cependant, il est conseillé de réduire la liste à un minimum de variables relativement peu corrélées (ex. $r < 0,70$; Elith *et al.*, 2010) et importante pour l'espèce étudiée. Dans le milieu d'étude, il a été démontré que la distribution des plantes est essentiellement fonction de la disponibilité en eau et du gradient d'aridité (Adomou *et al.*, 2006). Sur cette base, les quatre variables les moins corrélées (test de corrélation de Pearson) et rendant mieux compte du gradient d'aridité ont été sélectionnées : L'évapotranspiration potentielle (pet), la saisonnalité de la température (bio4), l'indice d'aridité du trimestre le plus humide (mimq) et la durée de la plus longue saison sèche (llds) (Platt *et al.*, 2015).

Les données sur les conditions climatiques actuelles ont été dérivées des données climatiques de 1950- 2000, téléchargées de la base de données Worldclim version 1.4. Pour les projections climatiques futures, le modèle ensemble de circulation régionale « *AFRICLIM 3.0: high-resolution ensemble climate projections for Africa* » a été utilisée. Ce modèle est plus raffiné comparativement aux modèles de circulation globale et se prête mieux notamment aux analyses pour les régions montagneuses et les inselbergs (Platt *et al.*, 2015). Pour ce modèle, il a été utilisé les projections faites pour 2055 sous les scénarii de forçage radiatif RCP 4.5 et RCP 8.5. Le premier scénario stipule une augmentation modérée des émissions de gaz à effet de serre alors que le second

présente une augmentation plus dramatique des émissions (IPCC, 2014). Les autres scénarii (RCP 2.6 et RCP 6.2) n'ont pas été utilisés compte tenu de la faible variation entre les scénarii à l'horizon 2055 pour la zone d'étude (IPCC, 2013). Les couches climatiques utilisées sont celle de résolution 30 seconde (soit une grille de résolution d'approximativement 1 km x 1 km). Aux données bioclimatiques, il a été ajouté les données sur la radiation solaire dans le milieu, compte tenu de l'importance des galeries forestière au creux des inselbergs pour l'espèce (Adomou *et al.*, 2010). La variabilité de la pente (SV) a été utilisée comme indicateur de la radiation solaire. Elle a été calculée à partir des données sur le Modèle Numérique de Terrain (disponible sur le site <http://srtm.csi.cgiar.org/>). L'intégration de cette variable au modèle a permis d'affiner les résultats et de limiter les extrapolations biologiquement irréalistes éventuelles (Fandohan *et al.*, 2013).

2.4. Techniques de modélisation et validation

Les données préparées et mis sous format raster ont été traitées au moyen du logiciel R (<http://cran.r-project.org/>; version 3.2.2.; notamment les packages Dismo et Raster). MaxEnt modélise la niche d'une espèce à partir du principe suivant. Supposons un ensemble de coordonnées d'occurrence d'une espèce dans un milieu Ω , où l'espèce a été observée. Admettons que "y = 1" désigne la présence de l'espèce et que "v" est un vecteur contenant les variables environnementales caractérisant le milieu. Donnons comme base au modèle (*background*) toutes les conditions environnementales possibles dans le milieu Ω . Définissons $f(v)$ comme la densité de probabilité des variables environnementales explicatives (de prédiction) à travers Ω , et $f_1(v)$ la densité de probabilité des variables explicatives aux points où l'espèce a été observée. En combinant les données de présences et le « *background* », MaxEnt estime la probabilité de présence de l'espèce en fonction des conditions environnementales :

$$\Pr(y=1|v) = \Pr(y=1) \times \frac{f_1(v)}{f(v)}$$

$\Pr(y=1|v)$ est la probabilité de présence de l'espèce en fonction des conditions environnementales, et $\Pr(y=1)$, la proportion de site occupée.

Plusieurs méthodes de validation de modèles existent. Cependant, la plupart sont fondamentalement peu ou pas appropriées (voir Merow *et al.*, 2013 pour plus de détails). Pour la modélisation, le paramétrage de base de MaxEnt (*Default setting*) considère 10000 points du milieu Ω considéré. Cependant, il a été montré que la prise en compte d'un très grand nombre de points de base (> 100.000) est nécessaire pour atteindre une bonne convergence du modèle, un calibrage stable et un bon pouvoir discriminant (Renner *et al.*, 2014). Nous avons alors utilisé 204.887 points de calibrage au lieu des 10.000 conventionnels. Aussi, afin de pouvoir interpréter les résultats comme probabilités d'occurrence de l'espèce, les sorties brutes du modèle ont été utilisées en lieu et place de la transformation logistique conventionnelle (Renner *et al.*, 2014).

2.5. Cartographie et analyse des données

Les résultats de la modélisation ont été importés dans le logiciel ArcGIS 10.2 pour cartographier l'étendue des habitats favorables à l'espèce et leur dynamique spatio-temporelle potentielle sous l'effet des changements climatiques.

Pour évaluer la capacité présente et future du réseau d'aires protégées à conserver l'espèce, une analyse des lacunes de représentation (*gap analysis*) des habitats favorables à l'espèce dans les aires protégées a été effectuée en superposant chaque résultat issu de la modélisation à la carte du réseau d'aires protégées. Pour ce faire, les cartes du réseau d'aires protégées du Bénin et du Togo ont été extraites de la carte globale du réseau mondial des aires protégées (IUCN et UNEP, 2009). La distribution de probabilité brute générée par le modèle a été considérée comme mesure de la probabilité d'occurrence de l'espèce. L'étendue des habitats favorables et leurs dynamiques spatio-temporelles ont été estimées en utilisant l'outil "spatial analyst" du logiciel ArcGIS 10.2.

Résultats

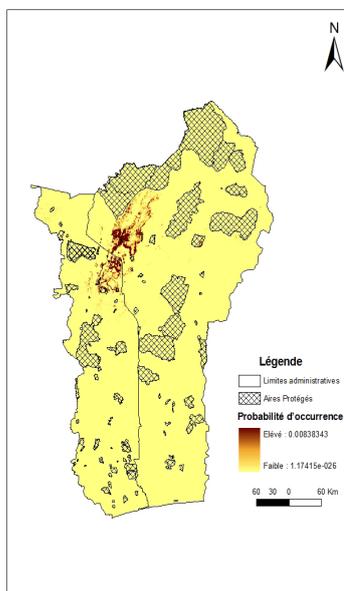
L'analyse de la contribution des variables au modèle suggère que la variabilité de la pente (SV), l'indice d'aridité du trimestre le plus humide (mimq) et l'évapotranspiration potentielle (pet) sont dans cet ordre les variables les plus importantes avec une contribution supérieure à 10% (Tableau 1, deuxième colonne). Ces valeurs de contribution étant influencées par l'ordre d'intégration des variables dans le modèle, une autre statistique évaluant leur contribution a été également calculée : L'importance de permutation (Tableau 1). Les valeurs de cette statistique indiquent la réduction du pouvoir prédictif du modèle lorsque les valeurs d'une variable donnée sont aléatoirement permutées entre les points du *background* et ceux de présence. Une valeur élevée indique une grande importance de la variable concernée. Les valeurs obtenues confirment la hiérarchie d'importance des variables suggérées par leur contribution en pourcentage. La permutation des valeurs de la variabilité de la pente entraîne une réduction de près de 80% du pouvoir prédictif du modèle (Tableau 1). SV, mimq et pet sont donc les variables plus prédictives de l'occurrence de l'espèce. De

Tableau 1 : Variables environnementales et contribution à la distribution de *T. atacorensis*

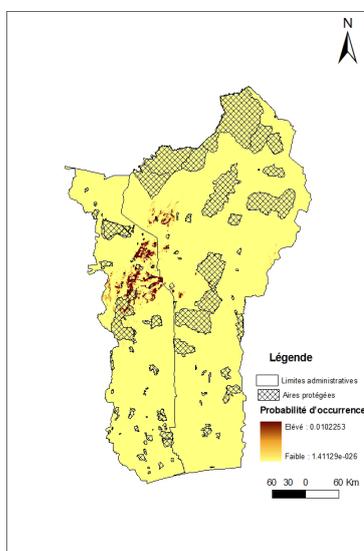
Variables	Définition	Contribution (%)	Importance de permutation (%)
SV	Variabilité de la pente	50,9	79
mimq	Indice d'aridité du trimestre le plus humide	18,5	8,7
pet	Evapotranspiration potentielle	13,6	6,3
bio4	Saisonnalité de la température (Coefficient de variation)	9,5	4,9
llds	Durée de la plus longue saison sèche	7,5	1,1

même, la permutation des valeurs de la durée de la plus longue saison sèche (lls) entraîne une très faible réduction du pouvoir prédictif du modèle (à peine 1%). Cette variable a donc une assez faible incidence sur le modèle de niche écologique *sensu* habitats favorables à l'espèce.

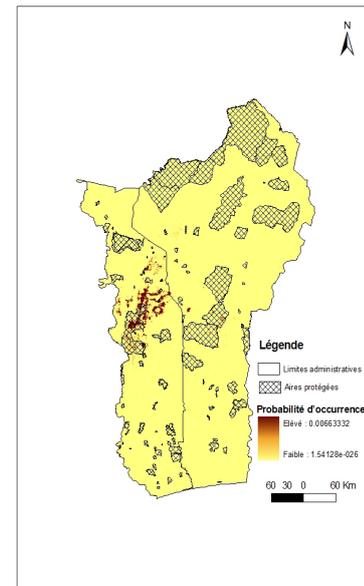
Dans les conditions environnementales actuelles, le modèle de niche écologique de l'espèce met en évidence un quasi confinement des habitats qui lui sont très favorables aux massifs de la chaîne de l'Atacora (Figure 2a). Cette aire couvre une superficie totale d'environ 748 km², soit à peine de 0,44% du milieu d'étude (Bénin, Togo). Déjà très rare dans ses habitats naturels avec une probabilité relative d'occurrence de 0,008 (conditionnelle à l'échelle de l'étude 1km x 1km) dans les meilleurs des cas, *T. atacorensis* présente une très faible probabilité d'observation dans le réseau d'aires protégées (1,41.10⁻²⁶) à l'exception de la réserve de faune de Djamdé et de la forêt Classée de Sirka au Togo. Avec un



(a)



(b)



(c)

Figure 2. Carte montrant la distribution actuelle (a) et future (b=RCP 4.5 et c = RCP 8.5 ; horizon 2055) des habitats de *Thunbergia atacorensis* à l'horizon 2055.

forçage radiatif entraînant une élévation de la température de 1,4°C et un niveau de CO₂ atmosphérique atteignant 500ppm (scénario climatique RCP 4.5), le modèle prédit une remarquable dynamique spatiale des habitats favorables à l'espèce du Bénin vers le Togo (Figure 2b). Le modèle suggère également une augmentation de la probabilité relative d'occurrence de l'espèce comparée à celle actuelle (0,01 vs. 0,008). On note également l'apparition d'habitats favorables à l'espèce dans le Parc National de Fazao Malfakassa (Togo) et une petite, extension de l'aire globale favorable à l'espèce (+0,16%). Avec un forçage radiatif plus sévère (+2°C et un niveau de CO₂ atmosphérique = 550ppm, RCP8.5), l'espèce perdrait quasiment tous ces habitats au Bénin (Figure 2c). Dans les aires protégées du Bénin, seule la forêt classée de Wari Maro présenterait encore des habitats favorables. Elle trouverait néanmoins des habitats favorables au Togo et en particulier dans le Parc National de Fazao Malfakassa. Le RCP 8.5 prédit également une légère extension de l'aire globale favorable à l'espèce (+0,04%) mais une diminution de sa probabilité relative d'occurrence par rapport au niveau actuel (0,006 vs. 0,008).

Discussion

La modélisation de la niche écologique est l'un des moyens efficaces pour évaluer la distribution des habitats favorables et projeter l'impact des changements climatiques sur une espèce. Elle permet de conduire des analyses complexes combinant différentes sources de données spatiales et de générer des cartes lisibles, facilitant l'assimilation des résultats par les conservateurs et les décideurs, encourageant ainsi le développement et la mise en œuvre des politiques de conservation.

De nombreuses méthodes utilisant seulement des données de présence, comme l'algorithme MaxEnt ont été développées et peuvent rendre possible la modélisation de la niche écologique quel que soit l'échelle (Elith *et*

al., 2006). Des études récentes sur le modèle MaxEnt ont montré qu'il avait de moins bonnes performances face au modèle CLIMEX pour les projections de distribution sur un nouveau continent ou sous les scénarii climatiques futures (Webber *et al.*, 2011). Ces études ont révélé qu'à l'échelle globale, MaxEnt fait des projections biologiquement irréalistes, alors que CLIMEX est plus conservateur des limites de tolérances des espèces. Cependant, ces problèmes notés pour le modèle MaxEnt n'en constituent pas un dans la présente étude car elle couvre une échelle réduite et l'aire de référence pour tester et calibrer le modèle a été limitée aux conditions climatiques où l'espèce est sous l'influence de mêmes facteurs climatiques. Aussi, l'utilisation du modèle CLIMEX aurait nécessité la disponibilité de données de bonne qualité sur les tolérances éco-physiologiques de l'espèce étudiée. De telles données ne sont pas encore disponibles pour *T. atacorensis*.

L'interprétation des modèles de distribution des espèces le long des gradients environnementaux est délicate. Ceci est en partie dû aux variables environnementales qui ont tendance à co-varier (Poorter *et al.*, 2004) ou à la non prise en compte d'une variable importante. Cependant, lorsque l'objectif est la prédiction de la niche et non l'explication de la niche, ces problèmes sont d'ordre mineur (Shmueli, 2010), tant que les variables utilisées présentent un bon pouvoir pour faire une classification des habitats en favorables vs. non favorables. L'importance de la variabilité de la pente (SV) et de l'indice d'aridité (mimq) est cohérente avec la préférence de l'espèce pour les galeries forestières aux creux des collines (Natta, 2003 ; Akoègninou *et al.*, 2006 ; Dourma *et al.*, 2012). La préférence de l'espèce pour ce type d'habitat pourrait également expliquer, la faible contribution de la durée de la plus longue saison sèche (llds) et de la saisonnalité de la température (bio4) au modèle.

La présente étude a révélé que la majeure partie de la niche écologique de l'espèce est hors du réseau d'aires protégées et suggère donc l'inefficacité du réseau d'aires protégées à la conserver. Ces observations confirment la nécessité de prioriser la zone de la chaîne de montagne de l'Atacora pour l'extension du réseau d'aires protégées (Adomou *et al.*, 2010). Hormis *T. atacorensis* d'autres espèces internationalement rares et ou localement en danger critique comme *Chrysobalanus icaco* subsp. *atacorensis*, et *Synsepalum passargei* pourraient également être de *facto* mieux conservées. Du point de vue des changements climatiques, l'espèce pourrait faire face à une perte importante de ses habitats au Bénin par réduction de leurs qualités, sous un forçage radiatif modéré. Toutefois, d'après les résultats, un forçage radiatif modéré aurait également un effet positif sur la probabilité relative d'occurrence de l'espèce. La réduction des habitats favorables à l'espèce serait très prononcée au Bénin pour un niveau de forçage radiatif élevé. Par contre, les résultats suggèrent, que ces changements pourraient conduire à la création de nouveaux habitats favorables à l'espèce au Togo. Bien que les modèles de niche écologique des espèces permettent de projeter la dynamique spatio-temporelle des habitats qui leurs sont favorables, ils ne peuvent prédire les réponses des espèces à ces changements en terme d'adaptation, dispersion, migration, ou extinction. Ainsi, la projection d'habitats favorables à l'espèce à l'intérieur d'une des aires protégées

du milieu d'étude (ex., Park National de Fazao Malfakassa, Togo) n'implique pas que l'espèce y migrera naturellement. Ceci est dû à la non prise en compte dans le paramétrage du modèle, de la réaction des espèces face aux variations environnementales. Par exemple, pour deux espèces co-occurentes ayant différentes stratégies d'adaptation (ex., *Adansonia digitata* et *Tamarindus indica*; Van den Bilcke *et al.*, 2013a,b), les modèles environnementaux de niche écologique prédiront le même impact des changements climatiques. Ce qui est peu vraisemblable au regard du caractère idiosyncratique de la réponse des espèces aux changements de leurs milieux. Une telle investigation nécessite une analyse approfondit de l'écophysiologie et des stratégies spécifiques des espèces au moyen : soit d'une étude de la dynamique des populations de l'espèce sous différentes conditions environnementales ; soit d'un test expérimental de la réponse de différents écotypes de l'espèce à différentes conditions environnementales.

Conclusion

La présente étude a permis la réalisation de la première carte de distribution des habitats potentiels et de probabilité d'occurrence de *T. atacorensis*, une espèce rare et endémique aux inselbergs du Bénin et du Togo. Cette carte pourrait être utilisée pour intensifier les recherches visant à mieux caractériser les habitats de cette espèce. Nos résultats mettent en évidence l'incapacité du réseau d'aires protégées de la zone à conserver l'espèce. Cette carte pourrait alors aussi être utilisée dans le cadre de l'extension du réseau d'aires protégées de la région. Nous suggérons des investigations approfondies sur l'écophysiologie et la démographie de cette espèce en fonction des conditions environnementales afin d'affiner l'étude relative à l'impact que pourrait avoir les changements climatiques sur sa distribution et sa survie dans ses écosystèmes.

Remerciements

Cette étude a été financée grâce à une bourse de la Fondation Internationale pour la Science (FIS), Suède (Grant D/5464-1) et une bourse de la fondation Alexander von Humboldt (Fellowship no 3.4-BEN/1155509 STP) accordées à Adandé Belarmain Fandohan. Nous remercions Armand K. Natta et Akoègnignan Idelphonse Sodé pour leur assistance technique.

Références Bibliographiques

- Akoègninou, A., W. J. van der Burg, and L. J. G. van der Maesen., 2006. Flore analytique du Bénin. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- Assédé E.P.S., Adomou A.C., Sinsin B., 2012. Magnoliophyta, Biosphere Reserve of Pendjari, Atacora Province, Benin. *Check List* 8(4): 642–661.
- Adomou A.C., Sinsin B., Akoègninou A.A., van der Maesen J., 2010. Plant species and ecosystems with high conservation priority in Benin. *In: Systematics and Conservation of African Plants.* van der Burgt X., van der Maesen J., Onana J.-M., ed. 429–44. Kew: Royal Botanic Gardens.
- Adomou A.C., Sinsin B., van der Maesen L.J.G., 2006. Phytosociological and chorological approaches to

phytogeography: a meso-scale study in Benin. *Syst. Geogr. Plants* 76: 155-178.

Busby J.W., Smith T.G., White K.L., Strange S.M., 2010. Locating climate insecurity: Where are the most vulnerable places in Africa? University of Texas, Austin, USA: The Robert Strauss Center for International Security and Law, Climate Change and African Political Stability (CCAPS) Programme.

Cuni Sanchez A., Osborne P.E., Haq N. 2011. Climate change and the African baobab (*Adansonia digitata* L.): the need for better conservation strategies. *Afr. J. Ecol.* 49 : 234-245.

Dourma M., Batawila K., Guelly K.A., Bellefontaine R., de Foucault B., Akpagana K., 2012. La flore des forêts claires à *Isobertia* spp. en zone soudanienne au Togo Titre courant: Flore des forêts claires à *Isobertia*. *Acta Bot. Gall.: Botany Letters* 159(4): 395-409.

Elith J., Graham C.H., Anderson R.P., Dudík M., Ferrier S., Guisan A., Hijmans R.J., Huettmann F., Leathwick J.R., Lehmann A., Li J., Lohmann L.G., Loiselle B.A., Manion G., Moritz C., Nakamura M., Nakazawa Y., Overton J.M.M., Peterson A.T., Phillips S.J., Richardson K., Scachetti-Pereira R., Schapire R.E., Soberón J., Williams S., Wisz M.S., Zimmermann N.E., 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography* 29: 129-151.

Elith J., Kearney M., Phillips S., 2010. The art of modeling range-shifting species. *Methods Ecol. Evol.* 1: 330-342.

Fandohan B., Gouwakinnou G.N., Fonton N.H., Sinsin B., Liu J., 2013. Impact des changements climatiques sur la répartition géographique des aires favorables à la culture et à la conservation des fruitiers sous-utilisés: cas du Tamarinier au Bénin. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 17(3): 450-462.

Fandohan B., Assogbadjo A.E., Glèlè Kakaï R.L., Sinsin B., 2011. Effectiveness of a protected areas network in the conservation of *Tamarindus indica* L. (Leguminosae-Caesalpinioideae) in Benin. *Afr. J. Ecol.* 49 : 40-50.

Gouwakinnou G.N., 2013. Using niche modeling to plan conservation of an indigenous tree species under changing climate: example of *Sclerocarya birrea* in Benin, West Africa. *Research and Development in sub-Saharan Africa* 5: 1-8.

Guisan A., Zimmermann N.E., 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecol. Model.* 135: 147-186.

IPCC., 2014. Summary for Policymakers, In: Climate Change 2014, Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

IPCC., 2013. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. IPCC Working Group I Contribution to AR5. New York, USA: Cambridge University press.

IPCC., 2007. Climate change: synthesis report. Cambridge University Press, New York, USA.

IUCN, UNEP., 2009. The world database on protected

areas (WDPA). Cambridge, UK: UNEP-WCMC. <http://protectedplanet.net>

Kumar S., Stohlgren T.J., 2009. Maxent modeling for predicting suitable habitat for threatened and endangered tree *Canacomyrica monticola* in New Caledonia. *J. Ecol. Nat. Environ.* 1(4): 094-098.

Marshall A.R., Platts P.J., Gereau R.E., Kindeketa W., Kang'ethe S., Marchant R., 2012. The genus *Acacia* (Fabaceae) in East Africa: distribution, diversity and the protected area network. *Plant Ecol. Evol.* 145(3): 289-301.

Merow, C, M. J. Smith, and J. A. Jr. Silander. 2013. A practical guide to MaxEnt for modeling species' distributions: What it does, and why inputs and settings matter. *Ecography* 36: 1058-1069.

Natta A.K., 2003. Ecological assessment of riparian forests in Benin: Phytodiversity, phytosociology and spatial distribution of tree species. PhD. Thesis Wageningen University.

Neuenschwander P., Sinsin B., Georgen G. (Eds), 2011. Protection de la nature en Afrique de l'Ouest: Une Liste Rouge pour le Bénin. IITA Ibadan, Nigeria.

Padonou E.A., Teka O., Bachmann Y., Schmidt M., Mette Lykke A., Sinsin B. 2015. Using species distribution models to select species resistant to climate change for ecological restoration of bowé in West Africa. *Afr. J. Ecol.* 53(1): 83-92.

Phillips S.J., Anderson R.P., Schapire R.E., 2006. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecol. Model.* 190: 231-259.

Platts P.J., Omeny P.A., Marchant R., 2015. AFRICLIM: high-resolution climate projections for ecological applications in Africa. *Afr. J. Ecol.* 53: 103-108.

Poorter L., Bongers F., Kouamé FN., Hawthorne W.D., 2004. Biodiversity of West African forests An Ecological atlas of woody Plants Species. CABI Publishing.

Renner I.W., Baddeley A., Elith J., Fithian W., Hastie T., Phillips S., Popovic G., Warton D.I., 2014. Point process models for presence-only analysis – a review. *Methods in Ecology and Evolution*, [Epub ahead of print].

Schwartz M.W., 2012. Using niche models with climate projections to inform conservation management decisions. *Biol. Conserv.* 155: 149-156.

Shmueli G., 2010. To explain or to predict? *Stat. Sci.* 25(3): 289-310.

Van den Bilcke N., De Smedt S., Simbo D.J., Samson R., 2013a. Sap flow and water use in African baobab (*Adansonia digitata* L.) seedlings in response to drought stress. *South Afr. J. Bot.* 88: 438-446.

Van den Bilcke N., Simbo D.J., Samson R., 2013b. Water relations and drought tolerance of young African tamarind (*Tamarindus indica* L.) trees. *South Afr. J. Bot.* 88: 352-360.

Webber B.L., Yates C.J., Le Maitre D.C., Scott J.K., Kriticos D.J., Ota N., McNeill A., Le Roux J.J., Midgley G.F., 2011. Modelling horses for novel climate courses: insights from projecting potential distributions of native and alien Australian acacias with correlative and mechanistic models. *Diversity Distrib.* 17: 978-1000.

EFFECT OF INCORPORATION OF COWPEA AND SOYBEAN PODS IN DIETS ON FEED INTAKE, DIGESTIBILITY AND WEIGHT GAIN PERFORMANCES OF RABBIT**Running title: Performances of rabbits fed with diets containing legumes pods****Koura B.I., Houndonougbo F. and Houinato M***ABSTRACT**

We carried out an experiment to compare performances (feed intake, feed digestibility and weight gain) of rabbit fed ration containing cowpea and soybean pod shells. Sixty rabbits of 06 weeks old were used for the trial in a completely randomized block with 3 treatments and 5 replications, with 4 rabbits per replication. The treatments consisted of a rabbit feed ordinary used in farms (as control) and two other feeds, CP₁₀ and SB₁₀, where cowpea and soybean pods has been incorporated at 10%, respectively. Feed intake was significantly higher ($p < 0.001$) in CP₁₀ (70g/d) and lower in SB₁₀ (59g/d). The intakes of DM and N was higher in CP₁₀ (respectively 62g/d and 12g/d) than that in SB₁₀. Also, cellulose intake in CP₁₀ (8.6g/d) was higher than in the two others diets. Dry matter, Nitrogen and cellulose digestibility was higher in the diet with 10% of cowpea pods and low in that with 10% of soybean pods. The higher live weight gain were found in CP₁₀ (22.10g/d) and the lowest in SB₁₀ (12.13g/d). However, performance in the control diet was not significantly different from the two treatments CP₁₀ and SB₁₀. The feed conversion ratio, the feed cost as well as economic feed efficiency were not different ($p > 0.05$) between the treatments. However, profit can be increased through reduction of production cost by using crop residues in rabbit feed. This is a good issue for smallholders in urban and peri-urban areas in Africa.

Keywords: Animal nutrition, Cellulose, Crop residues, Non-conventional resources, Benin

RESUME**Effet de l'incorporation des enveloppes de gousses de niébé et de soja dans l'aliment sur l'ingestion alimentaire, la digestibilité et les performances de croissance des lapins**

Une expérimentation a été conduite pour comparer les performances (ingestion alimentaire, digestibilité et croissance) des lapins nourris avec des rations contenant des enveloppes de gousses de niébé et de soja. Soixante lapins de 06 semaines d'âge ont été utilisés pour l'essai dans un block complètement aléatoire de 03 traitements et 5 répétitions, avec 04 lapins par répétition. Les traitements sont : une ration ordinaire de lapin (témoin) et deux autres rations, CP₁₀ et SB₁₀ où les enveloppes de gousses de niébé et de soja ont été incorporées à 10%, respectivement. L'ingestion alimentaire était significativement plus grande dans CP₁₀ (70g/jr) et faible dans le traitement SB₁₀. L'ingestion de la matière sèche et de l'azote étaient plus grande ($p < 0.001$) dans CP₁₀ (respectivement 62g/jr et 12g/jr) que dans SB₁₀. Aussi, l'ingestion de la cellulose était significativement plus grande (8.6g/jr) dans le traitement CP₁₀. De même l'aliment contenant les enveloppes de gousses de niébé était plus digeste et permettait de meilleurs gains de poids, 22.10g/jr contre 12.13g/jr avec le traitement SB₁₀. Les performances avec la ration ordinaire n'étaient pas significativement différentes des deux autres traitements. Le taux de conversion alimentaire, le coût alimentaire et l'indice d'efficacité alimentaire n'étaient pas statistiquement différent entre les traitements. Toutefois, les profits peuvent être augmentés à travers la réduction des coûts de production en utilisant les résidus agricoles dans l'aliment des lapins. Cela constitue une bonne alternative pour les petits éleveurs dans les zones urbaines et périurbaines en Afrique.

Mots-clés: Nutrition animal, Cellulose, Ressources non conventionnelles, Résidus de récolte, Benin.

Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

**Corresponding author: Tel: (+229) 97019780/64321378;
Email: kourainan@gmail.com (Koura BI.)*

Introduction

World food productions are consistently lower than needs for ensuring food security to the growing population. To address the problem of shortage of animal protein in the developing countries, strategies that have been suggested include the production of short generation time animals such as rabbit, poultry and pigs. The rabbit *Oryctolagus cunicularis* a pseudo-ruminant with high reproduction rate (age at maturity 4-12 months, gestation period 31-32 days, litter-size ranges from 3-12 young) which is potentially more reflective than other livestock at converting forage into meat, with high protein, low fat energy and cholesterol content (Kpodekon *et al.*, 2009; Etchu *et al.*, 2013). Thus, rabbit production is a good issue for empowerment of small farmers in the peri-urban and urban since it provide high quality protein to a

growing urban consumers (Houndonougbo *et al.*, 2012). Raw materials particularly agricultural by-products like brans and meals, used in rabbits' diets are less availability and expensive (Aboh *et al.*, 2002; Aboh *et al.*, 2013; Mohammed and Jamala, 2013) in some period. Feeding cost are therefore heavy in farms while the price of the meat don't change as well. Thus, the use of new feedstuffs locally available need to be explored for their incorporation in rabbit diets (Dahouda *et al.*, 2013; Mohammed and Jamala, 2013).

Fibers are one of the main components of rabbits' diets (García *et al.*, 1999); because they play a key role in rabbit feeding by contributing to caecum activity for efficient digestion (Gidenne, 1992). Fibrous crop by-products or farm wastes are characterized by extensive lignification of the cellulose and the hemicellulose, and by low levels of protein, soluble carbohydrates and minerals (van Hao and Ledin,

2001). Crop residues, particularly legumes pod shells, are available and the great part is burn after harvest. However, legume pod shells can constitute a good and cheaper source of fiber in rabbit diets (Mohammed and Jamala, 2013). Cowpea is one of the major legumes in West Africa and their residues constitute a major source of livestock feed (Singh *et al.*, 2003). Soybean production is increasing in Benin and constitute a potential rent crop. The use of residues from these crops could therefore allow to suggest cheaper rabbits' rations for smallholders in the peri-urban areas. This work aimed to compare the effect on feed intake, feed digestibility and weight gain performances of growing rabbits' in diets including 10% of cowpea and soybean pods.

Materials and methods

Study area

A fattening experiment has been carried in a farm at Sékou and the digestibility experiment at the faculty of agricultural sciences of the University of Abomey-Calavi. The two sites are localized in the same district of Atlantic in republic of Benin. The experimental farm is located at Sékou in the commune of Allada at 6°37'0" North and 2°13'0" East. The University is located in Abomey-Calavi commune between 6°21'-6°42' North latitude and 2°13'-2°25' East longitude. The area has a sub-equatorial climate with two rain seasons alternated with two dry seasons of unequal duration. The rainfall amounts recorded by the Agency for Aerial Navigation Safety in Africa and Madagascar (ASECNA) from 1981 to 2012 are between 739.6 mm and 2203.3 mm with an average of 1305.95 mm. The soil is sandy and ferrallitic types (Volkoff, 1976). The vegetation consists of shrubs, grassland swamps, swamp forest and mangrove on the coastal belt and of semi-deciduous dense forests on bar land area (Akoègninou *et al.*, 2006).

Residues collection

Pod shells from soybean (*Glycine max*) and cowpea (*Vigna inguiculata*) were collected during the dry season in a farm randomly chosen in the study area. Samples of each residues were collected for chemical composition analysis (Table I).

Table I. Chemical composition of cowpea and soybean pod shells

Chemical composition	Pod shells from	
	Cowpea	Soybean
DM (%)	92.12	91.11
Ash (% DM)	6.505	7.09
CP (% DM)	9.02	7.36
EE (% DM)	0.695	4.35
NDF (% DM)	67.095	64.47
Cellulose (% DM)	35.08	39.31

Animals

Sixty rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of 06 weeks age, and average weight of 616.25g were used for the experiment. During the trial, they were treated against internal and external parasites and against coccidiosis. In addition, they were offered vitamins.

Fattening experimental design

The experimental design is a completely randomized block with 3 treatments and 5 replications, with 4 rabbits per replication. The treatments consisted of a rabbit diet ordinary used in farms (as control) and two other rations CP₁₀ and SB₁₀ where cowpea and soybean pod shells has

been incorporated at 10% respectively (Table II).

Table II. Ingredients included in the three feeds tested

Ingredients (g/kg)	Feeds		
	Control	CP ₁₀	SB ₁₀
Cowpea pod shell	0	100	0
Soybean pod shell	0	0	100
Maize	220	310	310
Wheat bran	280	100	100
Soybean meal	90	140	140
Cotton meal	70	70	70
Palm meal	300	250	250
Oyster shell	30	17	17
Lysine	1	1	1
Methionine	1	1	1
Phosphate bicalcium	10	10	10
Salt	3	3	3
Concentrate flesh	2	0	0
Iron sulfate	1	0.2	0.2

Measurements

The voluntary feed intake study lasted on 60 d of which 04 d of transition to the new diet and 56 d for data collection, while the digestibility study lasted on 8 d with 3 d for adaptation to rations and 5 d for data collection. Each replication cage was provided with a feeding pen and all animals had free access to water.

In the weight gain performance study, feed was weighed and offered each morning at 07.00 AM. Refusals were collected and weighed each morning before fresh feed were offered. Samples of the feed refusals was collected each day and stored in plastic bags. At the end of the study, composite samples were thoroughly mixed and a representative sample for each treatment was collected for laboratory analyses.

During digestibility study, faeces were in addition collected daily and weighed before the animals were fed. For each rabbit, subsamples of faeces were collected and stored at 25–30 °C. Composite faecal samples were collected at the end of the digestibility study from each rabbit for laboratory analysis.

Representative samples of feed offered, 100 g were collected at the beginning, middle and the end of the study. At the end of the study, these samples were thoroughly mixed and one composite sample (100g) was preserved for laboratory analyses.

Each rabbit was weighed once a week at 07:00AM.

Chemical composition

All samples were oven-dried for 48–72 h at 60°C for dry matter (DM), ground to pass a 1 mm screen and analyzed for residual dry matter, crude protein (CP), ether extract (EE) and ash as suggested by AOAC (2000) procedures (ID number: 2001.12, 978.04, 920.39 and 930.05 for DM, CP, EE and ash, respectively). The method of Weende was used for cellulose determination. For mineral analyses, samples was burned at 450°C and the ash was dissolved in 1 M HCl. The mineral contents were determined using a Varian 720 Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES, Frankfurt, Germany).

Data processing

The live weight (LW) gain was calculated as the change in LW between two successive measurements divided by the number of days between measurements. The feed conversion ratio (FCR) was estimated as gain (or loss) in weight (in g) divided by the amount of feed consumed (in g). The economic feed efficiency (EFE) was estimate as the income generate by LWG divided by the cost of the feed consumed (Houndonougbo *et al.*, 2012). The apparent digestibility were calculated as the difference between the amount of feed ingested and faeces as a proportion of the ingested feed, and expressed as a proportion.

Data analysis

Data was analyzed using the GLM option of the SPSS Inc. (2010) to determine least square means and the significance of differences among treatments. The model was: $y_{ij} = \mu + R_i + \epsilon_{ij}$; where, y is the single data, μ is the mean, R is the ration effect ($i = 03$ rations) and ϵ the error term.

Results*Chemical composition of feeds and refusals*

Table III shows the chemical composition of experimental feeds. CP₁₀ and SB₁₀ feeds showed higher cellulose content than the Control. However the crude protein content and digestive energy were as well as the same. The control were richer in lipid, Ca and P while SB₁₀ was rich in lysine and low in P.

Table III. Chemical composition of feed as formulated

Chemical composition	Feeds		
	Control	CP ₁₀	SB ₁₀
DM	89.1	88.7	88.8
Cellulose	9.25	12.3	11.27
CP	17.57	17.57	17.08
EE	7.46	6.55	6.80
DE	2.64	2.57	2.57
Lysine	0.82	0.85	1.59
Methionine	0.38	0.38	0.38
Sulfur amino acid	0.71	0.69	0.69
Ca	1.51	0.98	0.72
P	0.93	0.72	0.14
Na	0.16	0.14	1.36

DM = dry matter (%), CP = crude protein (% DM), EE = ether extract (% DM), DE = Digestive energy (MJ/g DM), Ca = Calcium (%), P = Phosphore (%), Na = Sodium (%).

Intake and weight gain performance of rabbits

In table IV intake, weight gain and economic performance of rabbit in the different treatments are showed. Feed intake was higher ($p < 0.001$) in CP₁₀ (70g/d) and lower in SB₁₀ (59g/d). The intakes of DM and N was significantly higher in CP₁₀ (respectively 62g/d and 12g/d) and low in SB₁₀ while cellulose intake in CP₁₀ (8.6g/d) was significantly higher than in the two others diets. Regarding LWG, higher values were fund in CP₁₀ (22.10g/d) and the lowest in SB₁₀ (12.13g/d). However, the FCR value was similar among the treatments. Also, analysis of economic performances showed that feed cost as well as economic efficiency of the feed were similar.

Although the feed cost was better in SB₁₀ (570 vs. 1001 F FCA/kg LWG in the Control) and the EFE was higher in CP₁₀ (2.6) than in the other treatments. Low mortality rate (5%) was recorded in Control and CP₁₀ during the experiment while in SB₁₀ it was about 25%.

Table IV. Effect of cowpea (CP10) and soybean (SB10) pod shells on feed intake, nutrient intake, 166 rabbit weight gain performances and economic efficiency of diets

Parameters	Treatments			SEM
	Control	CP ₁₀	SB ₁₀	
<i>Feed Intake (g/d)</i>				
Feed intake	59.15 ^B	69.99 ^A	43.95 ^C	2.814
<i>Nutrient intake (g/d)</i>				
DM intake	52.70 ^B	62.08 ^A	39.02 ^C	2.500
N intake	10.39 ^B	12.30 ^A	7.51 ^C	0.487
Cellulose intake	5.471 ^B	8.609 ^A	4.953 ^B	0.309
<i>Weight gain performances</i>				
ILW (g)	640.0	627.4	611.0	31.68
FLW (g)	1596 ^{AB}	1865 ^A	1290 ^B	130.1
LWG (g/d)	17.09 ^{AB}	22.10 ^A	12.13 ^B	2.650
FCR (g/g)	3.05	3.23	3.05	0.059
<i>Economic performances</i>				
Feed Cost (fCFA feed/kg LWG)	1001	840.0	570.0	327.1
Economic Feed Efficiency	2.422	2.607	2.462	0.475

DM = dry matter, N = Nitrogen, NDF = neutral detergent fiber, ILW = Initial Live Weight (g), FLW = Final live Weight (g), LWG = live weight gain (g), FCR = feed conversion ratio.

CP₁₀: 10g of cowpea pod shells; SB₁₀: 10g of soybean pod shells. SEM: Significant differences between means on the same line (A,B,C: $P < 0.01$).

Digestibility of the feeds

Table V presents digestibility of the experimental diets. Dry matter digestibility was significantly higher ($P < 0.001$) in the Control (49%) and the diet with 10% cowpea pod shells (56%) than in the diet with 10% soybean pod shells (35%). The digestibility of the crude protein was higher in the CP₁₀ (39%) than in the SB10 (32%) while the control showed moderate value (36%). Regarding digestibility of cellulose, higher value ($P < 0.05$) was found in CP₁₀ (67%) whereas the conventional rabbit diet (59.5%) and the ration with soybean pod shells (60%) showed the lowest values.

Table V. Effect of cowpea and soybean pod shells on intake (g/d) and digestibility (%) of dry 179 matter (DM), N, neutral detergent fiber (NDF) and cellulose.

	Rations ^A			SEM
	Control	CP ₁₀	SB ₁₀	
DM intake (g/d)	70.40 ^{ab}	73.81 ^a	51.88 ^b	9.239
DMD (%)	49.4 ^B	56.4 ^A	35.4 ^C	2.289
N intake (g/d)	13.88 ^{ab}	14.62 ^a	9.979 ^b	1.579
ND (%)	35.8 ^{AB}	38.8 ^A	31.7 ^B	1.869
Cellulose intake (g/d)	7.309 ^B	10.24 ^A	6.584 ^C	1.043
Cellulose D (%)	59.5 ^a	67.0 ^b	60.4 ^{ab}	2.972

DM = dry matter, N = Nitrogen, NDF = neutral detergent fiber. ^A CP₁₀: 10g of cowpea pod shells; SB₁₀: 10g of soybean pod shells. SEM: Significant differences between means on the same line (A,B,C: $P < 0.01$; a,b: $P < 0.05$).

Discussion

Rabbit weight gain performances

Intakes of dry matter and nutrients were significantly higher in CP₁₀. Although, rabbit fed to the Control diet showed better intakes than in SB₁₀ treatment. The less intake in SB₁₀ treatment is quiet strange while this ration has good nutrient content, it may be due to presence of some anti-nutritional factors like tannins and phenols in this residue. However, the experimental diets had cellulose content of about 9-12%, which fit the range level of dietary fiber for growth and maintenance of rabbits (Mohammed and Jamala, 2013).

In general, weight gain performances of the animal were in accordance to chemical composition, intakes and digestibility values of the diets. LWG was better on CP₁₀ than in SB₁₀. LWG in CP₁₀ was close to data reported in literature (19.7 to 23.1 g/d) by Houndonougbo *et al.* (2012) using palm-press fibers in ration and Kpodekon *et al.* (2009) using a conventional rabbit diet, but was higher than results of Dahouda *et al.* (2013) using *Moringa oleifera* leaves in the rabbit diet. Results in CP₁₀ was also better than data reported by Oluonku (2005) and Mohammed and Jamala (2013) stating LWG of 10.38g/d and 16.61g/d respectively with 25% and 40% of cowpea pods shells in the diet of rabbit.

Regarding the ration with soybean pod shells, less information existed on this residue and this diet allowed quiet low performances compared to results reported in literature for rabbit diet in general. The low quality of the diet SB₁₀ was reflected in the high mortality found in this group (about 25%). Low mortality was obtained in the other diets experimented, however some authors (Houndonougbo *et al.*, 2012; Aboh *et al.*, 2013; Mohammed and Jamala, 2013) reported no mortality in their study on rabbits. The use of quiet new feedstuff that are crop residues may have influence on the rabbit health status. Particularly soybean pods may have some anti-nutritional factors, as reported by Vasconcelos *et al.* (1997) in soybean grain. In addition, this might be due to environment condition of the trial house. Indeed, this trial had been undertook in a farm while the latest authors implemented their study in experimental house where the environment conditions are controlled.

The feed conversion ratio of diet with legumes pods (3 to 3.23 g feed/g LWG) is low compared to data reported by Houndonougbo *et al.* (2012) with ration containing fed palm-press fiber, Kpodekon *et al.* (2009) with a conventional diet, Adeyemi *et al.* (2010) using diet with pineapple peel, Oluokun (2005) and Mohammed and Jamala (2013) with diet including cowpea pod shells at 25% and 40%, respectively. Thus, higher proportion of pod shells in the diet decrease the valuation of the diet by the animal. Although the treatment of legumes pods with urea can increase its nutritional value (Oluokun, 2001), indeed urea is efficiently use by rabbits (Raharjo *et al.*, 1986; Singh *et al.*, 1988).

The high feeding cost was the main factor that limited profitability of rabbit farms and most of those farms died after few (2-3) years of existence (Dahouda *et al.*, 2013). The cost of feed with legumes pod shells experimented was lower than that of the conventional diet. Diets with palm-press fibers (Houndonougbo *et al.*, 2012) and that with *Moringa oleifera* leaves experimented by Dahouda *et al.* (2013) had lower feed cost, however the economic feed efficiency was greater in this study with cowpea and soybean pods.

Thus, including legumes pods in rabbit diet is a good issue for empowerment of rabbit farms.

Feed digestibility

The digestibility of the different diets followed the trend of the intakes. CP₁₀ showed high digestibility of the dry matter, N and Cellulose. As reported by Gidenne and Bellier (2000) the digestibility of diets fed to rabbit increase with the fiber content. In particular, results with legumes pods showed higher DM degradability than data reported by Aboh *et al.* (2013) and Etchu *et al.* (2013) on rabbits fed rations with respectively pineapple peel and groundnut haulms. However, higher digestibility value had been found using diet with *Leucaena leucocephala* (Adedeji *et al.*, 2013), due to the high palatability and high protein content of this forage. While with higher proportion of cowpea pods (40%) in the diet, dry matter digestibility obtained by Oluokun (2005) was about the same as in this study, results of this author revealed higher value of Nitrogen digestibility (52%). Ration with soybean pod shells was less digested, confirming the thesis of presence of some anti-nutritional factors or phenol components in this residues like found in grain by Vasconcelos *et al.* (1997). Regarding digestibility of cellulose, the same trend was observed as for digestibility of DM and N. However, cellulose digestibility was higher in ration with cowpea pod shells compared to the soybean one. In particular, the digestibility in CP₁₀ was higher than that reported for NDF and ADF by Oluokun (2005).

Conclusion

Our investigation in fattening of growing rabbit revealed that good performances can be obtained with rations containing 10% of legumes pod shells. Ration with cowpea pod shells showed good performances of rabbits regarding intakes (DM and nutrients), digestibility (DM and nutrients), weight gain and economic characteristics. Thus, smallholders can supply for the fibers needs of their animal by using cowpea pod shells. Cowpea pod shell can be stored for using in period when conventional raw material are less available or expensive. This is a good issue for empowerment of smallholders in the peri-urban areas. Further studies can invested the effect of incorporation of legumes pods in reproduction performances of the rabbits.

Acknowledgement

The authors are grateful to the University of Abomey-Calavi (Benin) for funding the trial on animals through the project entitled Productivity of integrated crop-livestock systems in Benin (PROSAIE/PFCR₂/UAC), and to the NGO Bourge for housing the experimentation.

References

- Aboh A.B., Olaafa M., Dossou-Gbété G.S.O., Dossa A.D., Djagoun N., 2002. Ingestion volontaire et digestibilité apparente d'une ration à base de la farine de graines de *Mucuna pruriens* var. utilis complétée de fourrages chez les lapins. *Tropicultura*, 20: 165-169.
- Aboh A.B., Zoffoun G.A., Djenontin A.J.P., Babatoundé S. and Mensah G.A., 2013. Effect of graded levels of dry pineapple peel on digestibility and growth performance of rabbit. *Journal of Applied Biosciences*, 67: 5271-5276.
- Adedeji O.S., Amao S.R., Ameen S.A., Adedeji T.A. and

- Ayandiran T.A., 2013. Effects of Varying Levels of *Leucaena leucocephala* Leaf Meal Diet on the Growth Performance of Weaner Rabbit. *Journal of Environmental Issues and Agriculture in Developing Countries*, 5: 5-9.
- Adeyemi O.A., Ajado A.O., Okubanjo A.O. and Eniolorunda O.O., 2010. Response of growing rabbits to graded levels of fermented and unfermented pineapple peel. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 20: 898-909.
- Akoegninou A., van der Burg W.J., van der Maesen L.J.G., Adjakidje V., Essou J.P., Sinsin B. and Yedomonhan H., 2006. Analytical Flora of Benin (1st edn). Backhuys Publishers: Cotonou (Benin) & Wageningen.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. 18th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Dahouda M., Adjolohoun S., Senou M., Toleba S.S., Abou M., Vidjannagni D.S., Kpodekon M. and Youssao A.K.I., 2013. Effets des aliments contenant les folioles de *Moringa oleifera* Lam. et des aliments commerciaux sur les performances de croissance des lapins (*Oryctolagus cuniculus*) et la qualité de la viande. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(5): 1838-1852.
- Etchu K. A., Ngu G.T., Yongabi K.A. and Woogeng I.N., 2013. Effect of varying level of groundnut (*Arachis Hypogea*) haulms on the growth Performance of weaners rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *International journal of livestock production*, (5):81-87.
- Garcia J., Carabano R. and De Blas J.C., 1999. Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits. *Journal of Animal Science*, 77 (4): 898-905.
- Gidenne T., 1992. Effect of fibre level, particle size and adaptation period on digestibility and rate of passage as measured at the ileum and in the faeces in the adult rabbit. *British Journal of Nutrition*, 67: 133-146.
- Gidenne T. and Bellier R., 2000. Use of digestible fibre in replacement to available carbohydrates - Effect on digestion, rate of passage and caecal fermentation pattern during the growth of the rabbit. *Livestock Production Science*, 63: 141-152.
- Houndonougbo M.F., Chrysostome C.A.A.M., Attakpa S.E., Sezan A. and Dehou H.B., 2012. Growth Performance of Rabbits Fed Palm-Press Fibres-Based Diets. *International Scholarly Research Network (ISRN), Veterinary Science*, DOI:10.5402/2012/915729.
- Kpodekon M., Youssao A.K.I., Koutinhoun G.K., Baba L., Dessou J.M. and Djago Y., 2009. Effet de la granulation sur les performances de croissance, l'efficacité alimentaire et la viabilité des lapereaux en condition d'élevage tropical. *Revue d'Élevage et Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*, 62 (1): 75-80.
- Mohammed M. and Jamala G.Y., 2013. Performance and Nutrient Digestibility of Rabbit Fed Urea Treated Cowpea Husk. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 5 (2): 34-37.
- Oluokun J.A., 2001. Performance of growing rabbits fed a low protein diet supplemented with urea or roasted soybean meal. *Journal of Animal Production and Research*, 17 (1&2): 89-99.
- Oluokun J.A., 2005. Intake, digestion and nitrogen balance of diets blended with urea treated and untreated cowpea husk by growing rabbit. *African Journal of Biotechnology*, 4 (10): 1203-1208.
- Raharjo V.C., Cheeke P.R., Patton N.M., 1986. Growth and reproductive performance of rabbits on a moderately low crude protein diet with or without methionine or urea supplementation. *Journal of Animal Science*, 63: 795-803.
- Singh B.B., Makkar H.P.S., Lal Krishna, 1988. Utilization by growing rabbits of a low crude protein diet with or without urea and groundnut cake supplementation. *Journal of Applied Rabbit Research*, 2 (1): 25-29.
- Singh B.B., Ajeigbe H.A., Tarawali S.A., Fernandez-Rivera S., Abubaka M., 2003. Improving the production and utilization of cowpea as food and fodder. *Field Crops Research*, 84: 169-177.
- SPSS Inc, 2010. PASW (Predictive Analytics Software) 17.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA.
- Van Hao N. and Ledin I., 2001. Performance of growing goats fed *Gliricidia maculate*. *Small Ruminant Research*, 39: 113-119.
- Vasconcelos I.M., Siebra E.A., Maia A.A.B., Moreira R.A., Neto A.F., Campelo G.J.A. and Oliveira J.T.A., 1997. Composition, toxic and antinutritional factors of newly developed cultivars of Brazilian soybean (*Glycine max*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75(4): 419-426.
- Volkoff B., 1976. Carte pédologique de reconnaissance à 1:200 000 de la République Populaire du Bénin. ORSTOM. Paris.

EXPLOITATION FORESTIÈRE À FAIBLE IMPACT DANS LES TECKERAIES DE LA LAMA (BENIN, AFRIQUE DE L'OUEST)

Denis GNANGUENON-GUESSE* ; Sunday Berlioz KAKPO; Augustin Kossi N. AOUDJI; Kourouma KOURA; Jean Cossi GANGLO

RESUME

Les méthodes classiques d'exploitation portent souvent atteinte aux écosystèmes forestiers. Les engins utilisés compactent le sol et détruisent la végétation, l'extraction de grands volumes de bois favorise l'érosion, réduit la diversité spécifique et diminue la capacité de régénération de la forêt. Afin d'apporter des alternatives réduisant ces impacts, pour une exploitation durable des plantations forestières particulièrement celle de la Lama, la présente étude compare les dispositifs d'exploitation forestière classique et à faible impact. L'analyse des impacts de ces deux systèmes d'exploitation a été faite sur la base des dégâts causés aux arbres de la plantation, aux essences autochtones de valeur et à la surface de sol dégradée par le tracteur. L'analyse comparative des résultats de l'Exploitation Forestière Classique et de l'Exploitation Forestière à faible Impact montre que le rendement journalier en grumes façonnées dans l'EFC subit une réduction de 11,34 % dans l'EFI. Le volume de grumes débardées est réduit de 29,45 % dans l'EFI par rapport à l'EFC. L'EFI a permis une réduction de plus de 55 % des dégâts totaux occasionnés sur le peuplement par rapport à l'EFC. La surface dérangée par les engins forestiers est de 2266,7 m² à l'hectare dans le système d'Exploitation Forestière Classique et de 631,2 m² à l'hectare dans le système d'Exploitation Forestière à faible Impact, soit une réduction de plus de 72 %.

Mots clés: Exploitation Forestière à faible Impact, forêt de la Lama, Bénin.

ABSTRACT

REDUCED IMPACT LOGGING IN PLANTATIONS OF TEAK OF LAMA (BENIN, WEST AFRICA)

The classic Logging methods often destroys forest ecosystems. The machines compact soil and disturbe vegetation, the extraction of big wood causes erosion, reduced the specific diversity and decreases the capacity of regeneration of the forest. In order to find solutions reducing these impacts, this survey compares two system, the first one is classic and the other is reduced impact. The analysis of the impacts of those two operating systems was done on the basis of damage to tree planting, the valuable indigenous species and the soil surface damaged by tractors. The comparative analysis of the results of the Conventional Logging and Reduced Impact Logging showed that the daily performance of logs shaped is reduced by 11.34 % in Reduced Impact Logging compared to Conventional Logging. The volume of logs is reduced by 29.45 % in Reduced Impact Logging compared to Conventional Logging. The experiment showed that Reduced Impact Logging has resulted in a reduction of more than 55 % of total damage on woods compared to conventional logging. The area damaged by forest machines were 2266.7 m² per hectare in conventional logging system and 631.5 m² per hectare in the Reduced Impact Logging system, i.e., a reduction of more than 72 %.

Keywords: Reduced Impact Logging, Lama forest, Benin.

Université d'Abomey-Calavi, Faculté des Sciences Agronomiques.
Laboratoire des Sciences Forestières. BP: 1493 Calavi Bénin;
labosciencesforestieres@gmail.com

* Auteur pour les correspondances (E-mail: guessedenis@gmail.com;
+22996741658)

Denis GNANGUENON-GUESSE* (guessedenis@gmail.com), Sunday Berlioz KAKPO (kakposunday@yahoo.fr), Kourouma KOURA (kourakourouma@yahoo.fr), Augustin Kossi N. AOUDJI (augustin.aoudji@gmail.com), Jean Cossi GANGLO (ganglocj@gmail.com)

1. INTRODUCTION

L'exploitation forestière représente une importante source de revenus en Afrique tropicale. Mais ses effets sont préjudiciables à la vitalité des peuplements et ont été soulignés par différents auteurs (Froehlich, 1979; Wingate-Hill et Jakobsen, 1982; Wästerlund, 1994). En raison de la dégradation des écosystèmes forestiers et de la perte de la diversité biologique, la gestion durable des ressources forestières est devenue, depuis ces deux dernières décennies, un domaine de recherche prioritaire, notamment en zones tropicales (Sist, 2000). Tout aménagement viable des forêts suppose nécessairement que leur exploitation et toutes les activités qui lui sont associées, ne portent pas atteinte à leur capacité de régénération, ni n'empêchent d'en tirer les produits et services indispensables à la prospérité des générations présentes et futures (FAO, 1996).

Les pratiques classiques d'exploitation (exploitation forestière classique) sont souvent destructrices pour les

écosystèmes forestiers. Les engins lourds tassent le sol et détruisent la végétation. Ainsi, l'extraction de grands volumes de bois favorise l'érosion du sol, entraîne la réduction de la diversité spécifique et de la capacité de régénération de la forêt (CIFOR, 1998; Durrieu de Madron *et al.*, 1998). Les techniques d'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI), récemment introduites en forêts tropicales, sont considérées aujourd'hui comme un des outils majeurs pour la gestion durable de ces forêts (Dyksta et Heinrich, 1996). Les méthodes d'exploitation à faible impact visent à réduire les dégâts provoqués par les différentes opérations d'exploitation forestière sur le peuplement lui-même et sur le sol forestier, par la mise en œuvre d'un certain nombre de dispositions pratiques (Sist, 2000). Son objectif est de préserver au mieux les ressources en bois ; mais elle consiste aussi en l'application de techniques d'exploitation planifiées et conduites dans un but de réduire les impacts sur l'écosystème forestier dans son ensemble (Yeboa *et al.*, 2004).

Dès les années 1950-60, quelques pionniers dont Nicholson

(1958) au Sabah (Malaisie), démontraient déjà le caractère destructeur de l'exploitation, pouvant endommager plus de la moitié du peuplement d'origine. Plus tard, d'autres études en Asie et en Amérique latine confirmaient ces résultats créant ainsi une véritable prise de conscience des conséquences écologiques et sylvicoles d'une exploitation incontrôlée (Estève, 1983 ; Hendrison, 1989).

En Afrique centrale, les études réalisées à grande échelle (Durrieu de Madron *et al.*, 1998 ; Parren, 1998 ; Jonkers, 2000) montrent que l'adoption de pratiques rationnelles d'exploitation permettent d'augmenter la production à l'hectare tout en réduisant les dommages au peuplement. Dans le système d'Exploitation Forestière Classique (EFC) en forêt semi-décidue, selon Durrieu de Madron *et al.* (1998), rapportés à l'hectare, les dégâts causés par l'abattage sont de l'ordre de 2% de la surface exploitée. Ce chiffre est à comparer au nombre de tiges abattues qui est de moins d'une à l'hectare. Le taux de dégâts directs dû à l'abattage est évidemment une fonction du nombre de tiges prélevées. Un mètre carré exploité pour le bois d'œuvre provoque des dégâts sur 4,3 m² de surface terrière (Mbolo, 1994). En Centrafrique, pour une exploitation de 3,7 tiges par hectare en forêt semi-décidue, la surface moyenne de trouées dues à l'abattage était de 350 m² par pied exploité, affectant 13% de la surface de la forêt (De Chatelperron et Commerçon, 1986). Pour le même nombre de tiges à l'hectare, la surface moyenne des trouées dues au débardage était de 200 m² par pied exploité, affectant 7,4% de la surface de la forêt (De Chatelperron et Commerçon, 1986). En Côte d'Ivoire, en forêt secondaire, pour des arbres de taille moyenne (40 à 50 cm de diamètre, issus d'étages intermédiaires et à houppier étriqué comme le Pouo (*Funtumia sp.*), la surface moyenne de la trouée est d'environ 50 m² par arbre abattu (Sangaré, 1990). Pour des arbres de diamètre variant de 50 à 60 cm, l'impact au sol du débardage pour différentes intensités d'exploitation a été évalué. Respectivement pour une surface de sol de 140 et 2365 m²/ha atteinte, 0,4 et 25,9 tiges par hectare sont débardées (Brevet *et al.*, 1992).

Au Bénin, particulièrement dans les plantations sous gestion de l'Office National du Bois (ONAB), l'exploitation forestière pratiquée (Exploitation Forestière Classique), provoque des dommages au peuplement par l'étêtement des arbres sur pied au cours des opérations d'abattage, des blessures et écorchures des arbres au cours du débardage. Elle impacte le sol avec les actions incontrôlées des débardeurs.

Cependant, il ressort de plusieurs travaux (Mbolo, 1994; Dyksta *et al.*, 1996; Bertault *et al.*, 1997; Durrieu de Madron *et al.*, 1998; Sist, 2000; Durrieu de Madron *et al.*, 2011; Leroy *et al.*, 2013), qu'il est possible de minimiser les dégâts occasionnés lors de l'exploitation forestière, grâce à la méthode d'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI). Ainsi, cette étude a pour objectif global d'analyser puis de comparer les impacts des systèmes d'Exploitation Forestière Classique et à faible Impact dans les plantations forestières de la Lama. De façon spécifique, il s'agit: (1) d'évaluer les rendements des ouvriers dans les deux systèmes (EFC) et (EFI); (2) d'analyser les impacts de l'Exploitation Forestière Classique (EFC) et de l'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI) sur le peuplement et sur le sol.

2. MILIEU D'ÉTUDE

La forêt classée de la Lama est gérée par l'Office National du Bois (ONAB) de la République du Bénin. Cette forêt est subdivisée en trois secteurs forestiers dont celui de Massi qui représente notre zone d'étude. Ce secteur occupe la partie nord-est du domaine classé de la Lama dans le bas Bénin (figure 1). Il est situé à une centaine de kilomètres de la côte, et s'étend entre les latitudes 6°56' et 7°00' nord et les longitudes 2°08' et 2°15' est.

La forêt de la Lama est soumise à l'influence d'un climat subéquatorial à deux saisons sèches et deux saisons de pluie. Le secteur forestier de Massi est caractérisé par une grande saison de pluies de mars à juillet, suivie d'une petite saison sèche correspondant au mois d'août. Viennent ensuite une petite saison de pluies de septembre à octobre et une grande saison sèche de novembre à février. La pluviométrie moyenne annuelle est de 1 180 mm (ONAB, 2005). La température moyenne y est de 27°C avec des maxima de 32°C et des minima de 21°C (données calculées sur la période de 1941 à 2000). L'humidité relative varie de 52% à 95%. Elle est exceptionnellement élevée dans la Lama en saison sèche ; même en harmattan (entre décembre et janvier), l'humidité reste élevée avec un brouillard épais au levé du jour (ONAB, 2005).

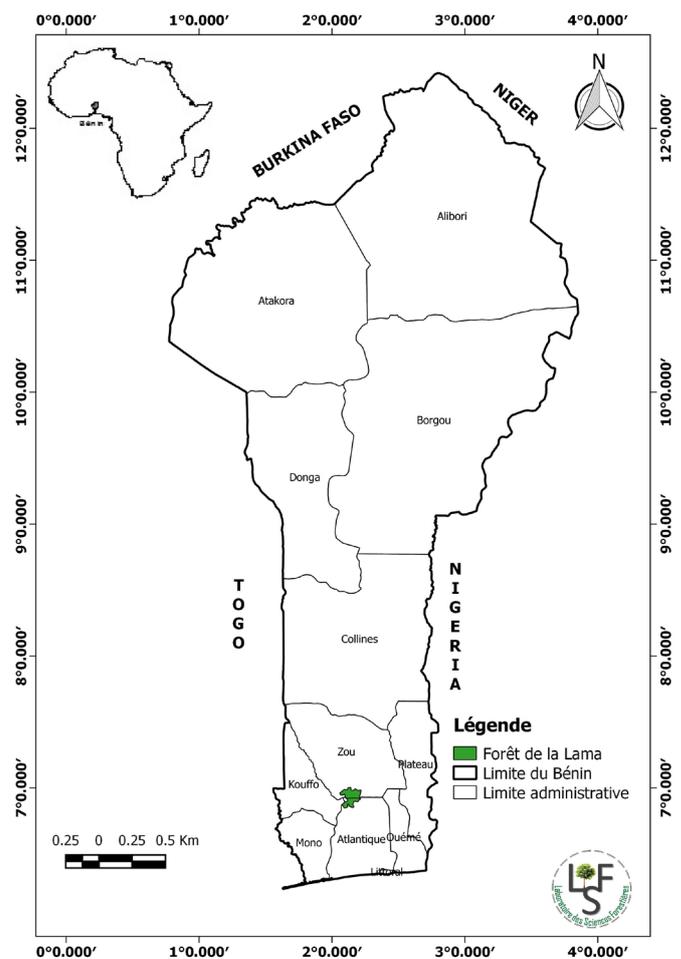


Figure 1: Situation géographique de la forêt classée de la Lama au Bénin

3. MATERIEL ET MÉTHODES

3.1. Matériel de travail

3.1.1. Matériel végétal

L'expérimentation a eu lieu dans le secteur forestier de Massi, dans une plantation de *Tectona grandis* L.f., installée en 1990. Cette plantation a été mise en place sur des parcelles qui abritaient une forêt dense semi-décidue dégradée par les pressions anthropiques (ONAB, 2005). Selon les inventaires forestiers (ONAB, 2005), la densité moyenne à l'hectare du peuplement principal est de 289 pieds/ha dont 282 pieds de teck de 26 cm de diamètre moyen avec 15,5 m²/ha de surface terrière et 7 pieds d'autres essences (*Gmelina arborea* L., *Cedrela odorata* L., *Terminalia superba* Engl. & Diels et *Khaya senegalensis* Desr) de 32 cm de diamètre moyen et 0,5 m²/ha de surface terrière.

Le sous-bois de la plantation comporte des espèces autochtones de valeur entretenues durant les différentes activités sylvicoles (ONAB, 2005). Ces espèces autochtones de valeur atteignent une densité moyenne de 25 pieds à l'hectare et sont composées de *Azelia africana* Sm. ex. Pers, *Antiaris toxicaria* Lersch, *Anogeissus leiocarpa* (DC) Guill. & Perr., *Diospyros mespiliformis* Horsch ex. DC, *Ceiba pentandra* L. Gaertn, *Dialium guineense* Willd, *Holarrhena floribunda* (G. Don) Durand & Chinz, *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam., *Ficus* sp. L., *Milicia excelsa* Welw, *Elaeis guineensis* Jacq.

3.1.2. Matériel de collecte

Différents matériels sont utilisés dans la réalisation de l'opération d'abattage. Une machette est utilisée pour nettoyer le pourtour de l'arbre, et procéder à l'élimination des lianes pouvant empêcher la chute de l'arbre. L'équipe de bûcheronnage se sert d'une hache pour préparer l'entaille de direction. Une paire de scies passe-partout est ensuite utilisée pour l'abattage des arbres et le façonnage des grumes. L'équipe emploie la scie en arc pour l'ébranchage de l'arbre abattu. Elle se sert d'une masse métallique pour enfoncer les coins dans le bois. Les grands coins sont utiles dans l'orientation de la chute de l'arbre dans la direction choisie ; et les petits coins facilitent la pénétration de la scie passe-partout dans le bois au cours du façonnage. D'autres matériels comme le tourne-bille et le mètre en bois sont respectivement utilisés par les bûcherons pour faire tomber les arbres encroués et mesurer les grumes durant le façonnage. L'opération de débardage est réalisée par un tracteur muni des accessoires pour le débardage à savoir treuil, chaînes, câbles, roulettes, crochets, etc.

Les cartes topographique et parcellaire du secteur de Massi ont été utilisées pour l'orientation et l'ouverture des pistes de débardage et des bandes d'expérimentation. Les coordonnées géographiques puis l'altitude des placeaux, des placettes et des bandes ont été relevées grâce à un appareil GPS de type «Garmin» tandis que le chronométrage des différentes phases de toutes les activités d'abattage et de débardage a été fait grâce à un chronomètre de marque « Smartimes». Un mètre ruban pi et un décimètre de 50 m ont été utilisés, respectivement pour mesurer les diamètres médians des grumes et la longueur des grumes et autres distances. Des cordeaux ont été utilisés pour matérialiser

les placeaux et les placettes.

3.2. Méthodes d'étude

3.2.1. Dispositifs d'étude de l'EFC et de l'EFI

L'expérimentation a été conduite dans les deux dispositifs par les ouvriers sur la même parcelle. Dans ce cadre d'étude, l'Exploitation Forestière Classique (EFC) se place dans le cas d'une exploitation industrielle (non artisanale) et les forêts étudiées sont dotées d'un plan d'aménagement participatif. En effet, dans l'EFC, deux bandes de 2,0 ha de superficie chacune (60 m x 333,333 m) ont été délimitées. La largeur des bandes a été maintenue à 60 m pour ne pas changer les conditions de travail adoptées dans les parcelles traitées en éclaircie futaie. La largeur des pistes de débardage varie de 3 à 4 m. Elles sont tracées perpendiculairement à la piste latérisée. Des placettes rectangulaires de 250 m² (12,5 m x 20 m) chacune ont été installées dans des placeaux rectangulaires de 10 ares (25 m x 40 m) chacun, distants de 10 m les uns des autres et disposés sur chaque bande d'exploitation de la manière suivante:

- le premier placeau est installé à 20 m de la piste latérisée. Il est disposé au milieu de la bande à 17,5 m de chacune des pistes de débardage dans le système d'Exploitation Forestière Classique (figure 2);
- le second placeau distant de 10 m du premier est installé au bord d'une piste de débardage ;
- le troisième placeau distant également de 10 m du second est installé en bordure de la piste opposée de débardage, et ainsi de suite comme l'indique la figure 2.

Chaque placeau est divisé en quatre placettes égales de 250 m² (12,5 m x 20 m) chacune et numérotées dans le sens des aiguilles d'une montre.

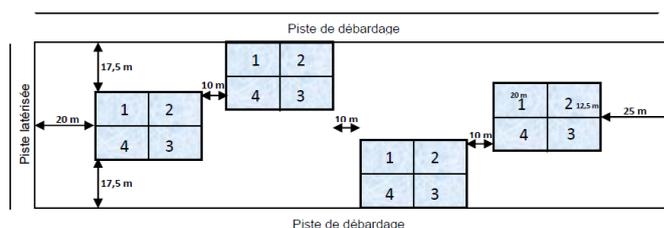


Figure 2 : Mise en place des placeaux et des placettes dans la bande (EFC)

Dans le système d'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI), deux bandes de 2,0 ha de superficie chacune ont été délimitées. Elles ont chacune une largeur de 50 m pour permettre une couverture totale des bandes par les câbles de débardage et une longueur de 400 m. Les pistes de débardage ont une largeur de 3,75 m égale à celle des interlignes. Elles sont tracées perpendiculairement à la piste latérisée. La hauteur des souches est de 5 cm sur les pistes de débardage pour faciliter le passage des tracteurs et d'au plus 10 cm dans la plantation. L'entaille de direction est faite correctement jusqu'au tiers (1/3) du diamètre de l'arbre dans la direction de chute choisie. Le trait d'entaille réalisé à la scie passe partout est tracé à une hauteur de 5 cm du sol. Le débardeur doit veiller sur le

système de treuillage des grumes lors du débusquage afin d'éviter l'écorchure des troncs d'arbres et le décapage de la terre arable. Le tracteur chargé rentre entièrement sur la piste latérisée avant de prendre son angle de virage pour éviter de blesser les arbres qui se trouvent dans les angles et en bordure des pistes.

Des placettes rectangulaires de 250 m² (12,5 m x 20 m) chacune ont été installées dans des placeaux rectangulaires de 10 ares (25 m x 40 m) chacun, distants de 20 m les uns des autres et disposés sur chaque bande d'exploitation de la manière suivante:

- Le premier placeau est installé à 20 m de la piste latérisée. Il est disposée au milieu de la bande à 12,5 m de chacune des pistes de débardage dans l'Exploitation Forestière à faible Impact (figure 3).
- Le second placeau, distant de 20 m du premier, est installé au bord d'une piste de débardage.
- Le troisième placeau distant également de 20 m du second est installé en bordure de la piste opposée de débardage et ainsi de suite comme l'indique la figure 3, ceci pour bien couvrir la bande.
- Chaque placeau est divisé en quatre placettes égales de 250 m² (12,5 m x 20 m) chacune et numérotées dans le sens des aiguilles d'une montre.

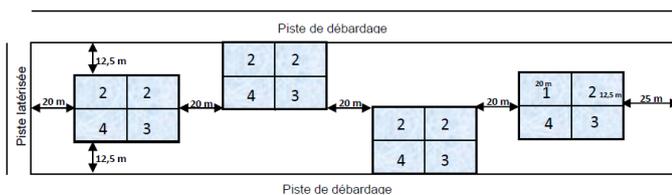


Figure 3 : Mise en place des piste de débardage et des placettes dans la bande (EFI)

3.2.2. Evaluation du rendement des ouvriers dans l'EFC et l'EFI

Dans le but d'étudier le rendement des ouvriers dans chaque système d'exploitation forestière, les données suivantes ont été collectées: nombre d'arbres abattus, nombre de grumes obtenues par arbre et nombre de grumes façonnées par l'équipe de bûcheronnage par jour de travail. Le diamètre médian et la longueur de chaque grume ont été mesurés. Au niveau de l'équipe de débardage, le nombre de grumes débardées par jour dans chacun des deux systèmes d'exploitation étudiés a été relevé. Les paramètres (moyennes et volumes) des grumes ont été calculés sur la base de 13 et 17 jours de travail respectivement dans l'EFC et l'EFI.

Les moyennes sont déterminées par la formule:

$$Moy = \sum_{i=1}^n X_i / n$$

Moy = la moyenne de grumes ou d'arbres abattus,
 x_i = le nombre ou la quantité de grumes ou d'arbres abattus,

n = le nombre de jours ou de placeaux.

- Le volume a été calculé grâce à la formule de HUBER:

$$V = \frac{\sum_{i=1}^n D_i^2 \pi L_i}{4}$$

Avec: V = volume (m³) de grumes façonnées ou débardées par équipe; D_i = diamètre médian de la grume (i); L_i = Longueur de la grume (i) et n = nombre de grumes; $\Pi = 3,14$.

Les rendements moyens des bûcherons et des débardeurs ont été calculés par la formule: $Rend = \frac{Q}{D}$

Avec: Q = Quantité ou volume de grumes et D = durée ou nombre de jours de travail.

Ces différents paramètres ont servi de critères de comparaison entre les deux méthodes d'exploitation forestière (EFC et EFI).

3.2.3. Analyse des impacts de l'EFC et de l'EFI sur le peuplement et sur le sol

Sur chaque bande, une superficie de 60 ares répartis en six (06) placeaux de 10 ares divisés en quatre placettes chacun, a été utilisée pour analyser dans chaque type d'exploitation les impacts sur: le peuplement artificiel (composé principalement de *Tectona grandis*), le peuplement naturel (composé d'essences autochtones de valeur issues de la régénération naturelle) et le sol. Pour une évaluation des dégâts occasionnés par chaque opération (abattage et débardage), il a été recensé dans chaque placette, le nombre d'arbres seulement étêtés, le nombre d'arbres seulement écorcés, le nombre d'arbres écorcés et étêtés et enfin le nombre d'arbres brisés aussi bien pour les essences autochtones de valeur que pour le teck qui est l'espèce principale de la plantation. Les essences autochtones préalablement inscrites sur la fiche de collecte des données sont marquées par une croix si elles sont blessées ou brisées. Celles qui n'étaient pas préalablement inscrites sont mentionnées dans une rubrique créée à cet effet. Le nombre de pieds de teck et des essences autochtones de valeur endommagés est calculé par hectare.

L'estimation de la surface de sol dérangé par le tracteur durant les travaux de débusquage et de débardage est basée sur l'évaluation de la fraction (1/2, 1/3, 1/4, 1/5) de la surface du sol dérangée par lesdits travaux dans chaque type d'exploitation.

3.2.4. Analyse statistique des données

En vue d'analyser les résultats obtenus, les tests statistiques de comparaison des moyennes ont été réalisés après vérification de la normalité et de l'homogénéité des variances. Lorsque ces derniers ne sont pas vérifiés, respectivement une normalisation et une homogénéisation des variances sont essayées à l'aide d'une transformation logarithmique des données. Après cette transformation, le test paramétrique t de student est réalisé en vue de comparer les résultats si la normalité et l'homogénéité des variances sont vérifiées. Lorsqu'elles ne sont pas vérifiées, le test non paramétrique de Mann Whitney est utilisé pour comparer les résultats. Ces différents tests ont été réalisés grâce au logiciel Minitab 17.

4. RÉSULTATS

4.1. Rendement des ouvriers dans les systèmes EFC et EFI

Le travail d'abattage réalisé sur les deux bandes de 2 ha chacune dans le cadre de l'étude d'Exploitation Forestière Classique a occupé l'équipe de bûcheronnage pendant

13 jours. Il ressort que dans le système EFC, le nombre de grumes façonnées et réceptionnées est de 198 pour un volume total de 69,9 m³, soit 5,38 m³ de grumes par jour. Ce nombre de grumes provient de 129 arbres balivés et abattus sur les bandes, soit environ 9 arbres coupés et façonnés par jour (tableau 1). Toujours dans le même système EFC, le débardage a été réalisé par une équipe composée d'un conducteur et deux aides débardeurs. Il a fallu six (06) jours à l'équipage pour débarder les 198 grumes façonnées

= 0,004). Par rapport aux volumes journaliers obtenus par les bûcherons (4,8 m³ pour l'EFI et 5,38 m³ pour l'EFC) dans la mise en œuvre des deux systèmes, la différence n'est pas significative ($p = 0,114$). Des rendements journaliers obtenus par les débardeurs dans la mise en œuvre de l'EFI et de l'EFC, il ressort que le nombre de grumes débardées par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au nombre de grumes débardées par jour dans le cadre de l'EFC ($p = 0,00011$).

Tableau 1 : Comparaison des rendements journaliers des bûcherons et des débardeurs dans l'EFC et l'EFI

Rendements		EFI	EFC	Statistique calculée	P-value
Rendements des bûcherons	Nombre d'arbres coupés par jour	6,76 ± 1,71	9,92 ± 1,38	t= +5,42	<0,0001
	Nombre de grumes façonnées par jour	11,76 ± 3,11	15,23 ± 2,86	W= 270	0,004
	Volume de grumes façonnées par jour (m ³)	4,8 ± 0,96	5,38 ± 1,06	t=+1,63	0,114
Rendements des débardeurs	Nombre de grumes débardées par jour	20,00 ± 2,58	33 ± 8,46	t= +5,27	0,00011
	Volume de grumes débardées par jour (m ³)	8,12 ± 1,46	11,7 ± 2,33	t=+3,76	0,0021
	Nombre de voyages par jour	7,20 ± 1,03	9,17 ± 2,56	W=68	0,063

t : t de student ; W : Mann Whitney

en 55 voyages. Par jour, les trois ouvriers débardent 33 grumes pour un volume moyen équivalent à 11,7 m³, soit 3,6 grumes par voyage de 1,3 m³.

Dans le système EFI, l'abattage a duré 17 jours. L'équipe de bûcherons a abattu au total 115 arbres avec une production de 200 grumes d'un volume total de 81,2 m³. Le rendement journalier de l'équipe est de 4,8 m³ correspondant à 11,8 grumes produites par 6,8 arbres coupés et façonnés. Pour le débardage, l'équipage a débardé les 200 grumes en 72 voyages pendant 10 jours. Par jour, l'équipage a débardé donc 20 grumes d'un volume moyen équivalent à 8,1 m³, soit 2,8 grumes par voyage de 1,1 m³.

Le tableau 1 présente la comparaison des rendements journaliers obtenus par les ouvriers (bûcherons et débardeurs) dans le système d'Exploitation Forestière Classique à ceux du système d'Exploitation Forestière à faible Impact.

Il ressort de ce tableau que le nombre d'arbres coupés par jour par les bûcherons dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au nombre d'arbres coupés par jour dans la mise en œuvre de l'EFC ($p < 0,0001$). Le nombre de grumes façonnées par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est aussi significativement inférieur au nombre de grumes façonnées dans le cadre de l'EFC (p

Le volume de grumes débardées par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au volume de grumes débardées par jour dans le cadre de l'EFC ($p = 0,0021$). Quant au nombre journalier de voyages effectués dans la mise en œuvre des deux systèmes, la différence n'est pas significative ($p = 0,063$).

4.2. Evaluation des impacts de l'EFC et de l'EFI sur le peuplement et le sol

Il ressort de notre étude qu'en moyenne 24,2 pieds/ha de teck ont été perturbés dans la mise en œuvre de l'EFC contre une moyenne de 12,5 pieds/ha dans la mise en œuvre de l'EFI. Pour les essences autochtones, en moyenne 5 pieds/ha ont été perturbés dans la mise en œuvre de l'EFI contre une moyenne de 20 pieds/ha dans la mise en œuvre de l'EFC. La densité totale d'arbres endommagés est de 39,1 pieds à l'hectare dans le cadre de l'EFC et de 17,5 pieds à l'hectare dans la mise en œuvre de l'EFI, soit une réduction de 55,2 %. Une superficie de 2266,7 m²/ha a été dérangée dans le cadre de l'EFC tandis que seulement une superficie de 631,2 m² a été perturbée dans la mise en œuvre de l'EFI, soit une réduction de 72,1%.

Le tableau 2 présente les dégâts (arbres étêtés, écorcés, écorcés et étêtés, arbres brisés) sur le teck, les essences

Tableau 2: Comparaison des dégâts des deux systèmes (EFC et EFI) sur le teck, sur les essences autochtones et sur le sol

Végétation et sol	EFI	EFC	Statistique calculée	P-value
Teck (nombre moyen de pieds endommagés/ha)	12,5 ± 0,45	24,2 ± 1,16	W = 102	0,003
Essences autochtones (nombre moyen de pieds endommagés/ha)	5 ± 0,67	20 ± 1,04	W = 94,5	0,0009
Superficies dérangées (m ² /ha)	631,2 ± 21,11	2266,7 ± 50,05	W = 78	0,0000

t: t de student; W: Mann Whitney

autochtones et sur le sol (surface de sol dérangé) lors la mise en œuvre de l'EFI et de l'EFC. Il ressort que les dégâts observés sur le teck dans la mise en œuvre de l'EFI sont significativement inférieurs ($p = 0,003$) aux dégâts observés sur le teck dans le cadre de l'EFC. Ceci s'explique par les précautions prises et les actions menées par les bûcherons au cours de l'abattage ainsi que les débardeurs durant le débusquage dans la mise en œuvre de l'EFI. Les dégâts observés sur les essences autochtones dans la mise en œuvre de l'EFI sont significativement inférieurs ($p = 0,0009$) aux dégâts observés sur les essences autochtones dans le cadre de l'EFC. Ceci peut s'expliquer par l'efficacité des critères élaborés pour la mise en œuvre de l'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI).

Les dégâts observés sur le sol dans la mise en œuvre de l'EFI sont significativement inférieurs ($p = 0,0000$) aux dégâts observés sur le sol dans le cadre de l'EFC. Ce résultat s'explique par le fait que les actions menées par les débardeurs durant les travaux de débusquage dans la mise en œuvre de l'EFI ont permis de réduire considérablement les dégâts causés au sol.

5. DISCUSSION

Le nombre d'arbres coupés par jour par les bûcherons dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au nombre d'arbres coupés par jour dans la mise en œuvre de l'EFC ($p < 0,0001$). Ceci s'explique par le fait que dans le cadre du système d'Exploitation Forestière à faible Impact, les bûcherons prennent toutes les précautions dans le choix de l'arbre balivé à couper afin d'éviter au mieux les dégâts au peuplement et au sol. En effet, cette technique d'abattage permet de préserver davantage les arbres sur pied mais nécessite plus de temps aux bûcherons. Egalement, le nombre de grumes façonnées par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au nombre de grumes façonnées dans le cadre de l'EFC ($p = 0,004$). Cette différence significative s'explique par le lien existant entre le nombre d'arbres abattus et le nombre de grumes façonnées. Tous les arbres abattus sont systématiquement façonnés en grumes. Ainsi, plus il y a d'arbres abattus, plus il y aura de grumes façonnées. L'analyse des volumes journaliers de grume façonnées dans la mise en œuvre des deux systèmes montre qu'il n'existe pas une différence significative ($p = 0,114$) malgré les précautions et le temps perdus dans l'application des critères de l'EFI. En comparant les rendements journaliers obtenus par les débardeurs dans la mise en œuvre de l'EFI à ceux obtenus dans le cadre de l'EFC, il ressort que le nombre de grumes débardees par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au nombre de grumes débardees par jour dans le cadre de l'EFC ($p = 0,00011$). Ceci peut s'expliquer par les précautions et attentions que nécessite la mise en œuvre de l'EFI pour limiter les dégâts au peuplement. Ainsi, la mise en œuvre de l'EFI entraîne donc une perte de temps aux débardeurs et partant un faible nombre de grumes débardees par jour. Le volume de grumes débardees par jour dans la mise en œuvre de l'EFI est significativement inférieur au volume de grumes débardees par jour dans le cadre de l'EFC ($p = 0,0021$). Cela s'explique par le fait que, plus il y a de grumes débardees par jour, plus le volume journalier de grumes débardees est important. Ceci signifie que la perte

de temps observée au cours du débardeage dans la mise en œuvre de l'EFI n'affecte pas significativement le nombre moyen de voyages réalisés par jour dans la mise en œuvre de l'EFI.

En effet, l'adoption de bonnes pratiques d'abattage n'affecte pas significativement le rendement journalier des bûcherons ce qui rejoint les résultats obtenus par Durrieu de Madron *et al.* (1998). Parren (1998) et Jonkers (2000) en Afrique Centrale, ont montré que l'adoption de pratiques rationnelles d'exploitation permet de maintenir la production à l'hectare. Des études menées dans plusieurs concessions forestières d'Indonésie, indiquent que l'EFI peut être mise en pratique pour augmenter la performance de la récolte en forêt (Klassen, 2000 ; Agung et Hinrichs, 2000). Pourtant, la plupart des concessionnaires forestiers en Indonésie hésitent à adopter l'EFI, essentiellement parce qu'elle nécessite du personnel bien formé et des changements majeurs dans les opérations de terrain, et parce que les coûts et bénéfices ne sont pas encore évidents (Hinrichs et Ruslim, 2001).

Les dégâts occasionnés par l'abattage, en dehors de l'ébranchage observé durant la chute de l'arbre, sont caractérisés surtout par l'étêtage des grands arbres créant ainsi une ouverture dans le couvert végétal. Au niveau du peuplement restant, la densité totale d'arbres endommagés est de 39,1 pieds à l'hectare dans le cadre de l'EFC et de 17,5 pieds à l'hectare dans la mise en œuvre de l'EFI, soit une réduction 55,2 %. Nos résultats rejoignent ceux de Durrieu de Madron *et al.* (1998) selon qui l'abattage crée d'abord une ouverture du couvert à l'emplacement de la cime de l'arbre abattu. La chute de l'arbre est la principale cause de bris des cimes des arbres avoisinants et de chablis. Ce phénomène a connu une réduction assez importante dans la mise en œuvre de l'EFI. Le taux élevé de réduction (75,0 %) des espèces autochtones endommagées et le taux de réduction (48,3 %) de pieds de teck endommagés en comparaison avec les résultats de l'EFC montrent l'efficacité des critères élaborés de l'EFI et le respect de ces principes par les bûcherons au cours de l'abattage et par les débardeurs durant le débusquage. Les dégâts occasionnés sur le peuplement dans la mise en œuvre de l'EFC sont plus importants que ceux occasionnés dans le cadre de l'EFI. Ceci confirme les résultats obtenus dans d'autres expérimentations dans les forêts naturelles d'Indonésie par Bertault et Sist (1997) qui soulignent que les techniques d'exploitation à faible impact ont permis d'une part une réduction de 33 % des dégâts totaux et d'autre part une réduction de moitié de la proportion d'arbres détruits par rapport à l'Exploitation Forestière Classique à Bornéo dans la province de Kalimantan Est.

Selon Fargeot *et al.* (2004), l'indice de reconstitution d'une espèce donnée est corrélé négativement aux dégâts d'exploitation. Les résultats de la présente étude et les travaux antérieurs montrent que les techniques d'exploitation forestière à faible impact ont un intérêt majeur pour réduire les dégâts au peuplement résiduel et améliorer la reconstitution. Les dégâts d'abattage, par la destruction des tiges de diamètre moyen, conditionnent également de façon significative la production commerciale ultérieure de la forêt. Il convient donc de limiter le plus possible la destruction des tiges d'avenir par l'utilisation des techniques d'exploitation à faible impact

(Fargeot *et al.*, 2004). Ainsi, parmi les techniques EFI, l'abattage directionnel est recommandé (Jonkers et Van Leersum, 2000; Jonkers, 2000). L'avantage de cet abattage directionnel serait de positionner l'arbre de sorte qu'il n'y ait pas besoin de réaliser un débusquage et de passer directement au débardage, permettant ainsi de limiter les dégâts liés aux manœuvres du bulldozer ou du skidder (Durrieu de Madron *et al.*, 2011). De plus, il est susceptible de faire tomber l'arbre dans une direction minimisant les dommages provoqués au sein du peuplement d'avenir resté sur pied (Durrieu de Madron *et al.*, 2011).

Par rapport au sol, une réduction de 72,1 % de superficie dégradée a été observée dans l'EFI. Ces résultats confirment ceux obtenus par les chercheurs du Centre International de Recherche forestière (CIFOR) en 1998 qui ont souligné que dans certaines expériences d'EFI menées dans les forêts tropicales de plaine, les dommages au sol et aux régénérations préexistantes ont été réduits d'environ 50 % par rapport aux méthodes classiques. Sangaré (1990), souligne également que pour des débardages de 0,4 et 25,9 tiges par hectare, la surface de sol atteinte est respectivement de 140 et 2365 m²/ha dans une forêt secondaire de la Côte d'Ivoire. Nugent *et al.* (2003) trouvent que la circulation des machines sur les sols forestiers augmente la compaction du sol de 30 à 50%. La capacité de régénération des espèces est altérée suite aux perturbations liées à l'exploitation telles que la compaction et l'érosion du sol suite au passage des engins en forêt (Pinard et Cropper, 2000 ; Wood *et al.*, 2003). Selon Deconchat et Balent (2001), plus l'état de surface du sol est perturbé, plus la diversité (en richesse spécifique ou en indice de Shannon) augmente localement à court terme. Pour Halpern et Spies (1995) au contraire, plus l'état de surface du sol est perturbé, plus la richesse spécifique diminue à court terme et plus le délai de retour à la situation d'origine est long. Le délai de retour à la situation d'origine relève souvent du moyen terme (cinq à quinze ans). Toutefois, dans certains cas (forts tassements, ornières profondes et humides), l'influence des perturbations du sol peut se prolonger sur plusieurs décennies (Halpern et Spies, 1995). La compaction des sols réduit leur porosité et leur capacité en air et peut aboutir à un défaut d'oxygénation des racines (Gosselin, 2004). Les perturbations du sol peuvent avoir des conséquences directes, sur la microfaune du sol (Gosselin, 2004 ; Ampoorter, 2011).

6. CONCLUSIONS

La présente étude a permis la comparaison de l'Exploitation Forestière Classique (EFC) à l'Exploitation Forestière à faible Impact (EFI) dans les plantations forestières de la Lama. L'expérimentation a montré principalement qu'avec les opérations d'abattage, le rendement journalier moyen de l'équipe de bûcheronnage est de 5,38 m³ dans le cadre de l'EFC et de 4,8 m³ dans la mise en œuvre de l'EFI. Le nombre d'arbres coupés par jour par les bûcherons, le nombre de grumes façonnées par jour, le nombre de grumes débardées par jour et le volume de grumes débardées par jour dans la mise en œuvre de l'EFI sont significativement inférieurs à ceux obtenus dans la mise en œuvre de l'EFC. Il a été constaté que les techniques d'exploitation

forestière à faible impact ont permis une réduction de 55,2% des dégâts totaux occasionnés sur le peuplement restant et une réduction de 72,1% de la surface dérangée par rapport à l'Exploitation Forestière Classique. Au vu de tout ceci, l'Exploitation Forestière Classique devrait faire place à des pratiques nouvelles soucieuses de la durabilité des ressources forestières. L'application des méthodes de l'Exploitation Forestière à faible Impact considérées comme l'un des outils majeurs dans la gestion durable des forêts est indispensable pour les plantations domaniales du Bénin qui accueillent de nos jours des industriels de bois et des exploitants privés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agung F. & Hinrichs A. 2000. Self-scoping handbook for sustainable management certification in Indonesia. SFMP Document N° 6a/2000.
- Alexander Hinrichs & Yosep Ruslim, 2001. Mise en œuvre de l'EFI en Indonésie. OIBT Actualités des Forêts Tropicales, Volume 9 Numéro 2.
- Ampoorter E, 2011. Soil compaction due to mechanized forest harvesting: quantification of ecosystem effects and exploration of recovery potential. PhD thesis, Ghent University, Ghent, Belgium.
- Bertault J.G., Sist P., 1997. An experimental comparison of different harvesting intensities with reduced-impact and conventional logging in East Kalimantan, Indonesia. *Forest Ecology and management*, **94**: 209-218.
- Brevet R., Tuo N. & Diahuissie A., 1992. Etudes des dégâts d'exploitation forestière en forêt dense humide. Exploitation de bois d'œuvre en forêt de Yapo-Mambo. IDEFOR-CIRAD, 30 pages.
- Fargeot C., Forni E., Nasi R., 2004. Réflexions sur l'aménagement des forêts de production dans le bassin du Congo. Bois et forêts des tropiques, 2004, N° 281
- CIFOR, 1998. Rapport annuel du Centre International de Recherche Forestière. 55 p.
- De Chatelperron G. & Commerçon R., 1986. Mise en exploitation du dispositif de recherche en forêt naturelle dans les forêts de Boukoko et La Lolé en République Centrafricaine. Projet F.A.C. A.R.R.F.C.T.F.T., 58 pages.
- Deconchat M., 2001. Effets des techniques d'exploitation forestière sur l'état de surface du sol, *Annals of Forest Sciences*, **58** : 653-661.
- Durrieu de Madron L., Bauwens S., Giraud A., Hubert D., Billand A., 2011. Estimation de l'impact de différents modes d'exploitation forestière sur les stocks de carbone en Afrique centrale. Bois et forêts des tropiques **308** (2): 12p.
- Durrieu de Madron L., Forni E. & Mekok M., 1998. Les techniques d'exploitation à impact réduit en forêt dense humide camerounaise. CIRAD-Forêt, France, 33 p.
- Dyksta D.P. & Heinrich R., 1996. Code modèle FAO des pratiques d'exploitation forestière. FAO, Rome (Italie), 85 p.
- Estève, 1983. La destruction du couvert forestier consécutive à l'exploitation forestière de bois d'œuvre en

forêt dense tropicale humide africaine ou américaine. Bois et Forêts des Tropiques, 201: 77-84.

Froehlich H. A., 1990. Soil compaction from logging equipment: effects on growth of young Ponderosa pine. *J. Soil Water Conserv.*, 34, pp. 276-277.

Gosselin M., Impacts des modalités d'exploitation : perturbations du sol, devenir des rémanents. Biodiversité et gestion forestière : connaître pour préserver. Synthèse bibliographique, Cemagref Editions, p. 257 - p. 269, 2004, Etudes Gestion des Territoires n20.

Halpern C. B. & Spies T.A., 1995, Plant species diversity in natural and managed forests of the Pacific Northwest, *Ecological Applications*, 5, 4, p. 913-934.

Hawthorne W. D., 1994. Fire damage and forest regeneration in Ghana. ODA Forestry series n°04, 53 p.

Hendriksen J., 1989. Série sur l'écologie et l'aménagement des forêts tropicales humides au Suriname, Université agricole de Wageningen, Pays-Bas, 204 p.

Jonkers W. & Van Leersum G., 2000. Logging in south Cameroon: current methods and opportunities for improvement. *International Forestry Review* 2 (1): 11-16.

Jonkers W., 2000. Logging, damage and efficiency: a study on the feasibility of reduced impact logging in Cameroon. Final report. Kribi, Cameroun, The Tropenbos-Cameroon Programme, 57 p.

Klassen A., 2000. Analisis aspek finansial dan produktivitas: reduced impact logging (RIL). Hutan Indonesia. Bulletin APHI. 9th edition, 8/2000.

Leroy M., Derroire G., Vendé J., Leménager T., 2013. La gestion durable des forêts tropicales. De l'analyse critique du concept à l'évaluation environnementale des dispositifs de gestion. AFD

Mbolo B. D., 1994. Etude des dégâts d'exploitation dans la zone d'action du projet A.P.I. de Dimako. Mémoire de fin d'étude

Dschang INADER-UDs, 79 p.

Mignanwande D. S. G., 2009. Contribution pour une Exploitation Forestière à faible Impact (EFI) dans les jeunes peuplements de la Lama (ONAB). Mémoire pour l'obtention de la licence professionnelle au Centre Autonome de Perfectionnement de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (CAP-EPAC), 44 p.

Nicholson D. I., 1958. An analysis of logging damage in tropical rain forest, *North Borneo Malayan Forester* 21: 235-245.

Nugent C., Kanali C., Owende P. M. O., Nieuwenhuis M., Ward S., 2003. Characteristic site disturbance due to harvesting and extraction machinery traffic on sensitive forest sites with peat soils. *Forest Ecology & Management* 180: 85-98.

ONAB, 2005. Plan d'Aménagement Participatif (PAP) des plantations forestières de Massi: Période 2004- 2023, 204 p.

Pinard M., Cropper W., 2000. Simulated effects of logging on carbon storage in dipterocarp forest. *Journal of Applied Ecology* 37: 267-283.

Sangaré M., 1990. Contribution à l'établissement du plan de gestion du massif forestier de SODEFOR- Côte d'Ivoire, 106 pages.

Sist P., 2000. Les techniques d'Exploitation à faible Impact. Bois et forêts des tropiques 265 : 31-43.

Wästerlund I., 1994. Environmental aspects of machine traffic. *J. Terramech.*, 31, pp. 265-277.

Wingate-Hill R. & Jakobsen B.F., 1982. Increased mechanization and soil damage in forests. *New Zealand Journal of Forest Science*, 12, pp. 380-393.

Wood M. J., Carling P. A. and Moffat A. J. (2003). Reduced ground disturbance during mechanized forest harvesting on sensitive forest soils in the UK. *Forestry* 76 (3), 345-361.

Yeboa A. K., Brechet L. & Soengas L.R.B., 2004. Evaluation des dégâts d'exploitation sur le peuplement forestier résiduel en forêt aménagée de Guyane Française. Guyane Française 14 au 22 septembre 2004, UMR ECOFOG, ONF, 32 p.

IDENTIFICATION ET HIÉRARCHISATION D'ÉLÉMENTS NUTRITIFS DÉTERMINANTS POUR LA PRODUCTION DU MAÏS (*ZEAMAYS* L.) SUR SOLS FERRUGINEUX TROPICAUX AU SUD DU TOGO

Gbénonchi MAWUSSI^{1,*}, Ayi Koffi ADDEN², Jean Mianikpo SOGBEDJI¹, Kwasi Dzola AYISAH¹, Komla SANDA¹

RESUME

Des essais agronomiques ont été conduits sur sols ferrugineux tropicaux dans un cycle biennal (2013-2014) auprès de 6 producteurs dans leurs champs familiaux. Les cultures de coton et de niébé servant de précédents culturaux à un essai soustractif sur le maïs (*Zea mays* L.) ont été menées en 2013. L'essai soustractif sur la culture de maïs a été conduit en 2014 avec les 6 producteurs repartis en deux groupes dont 3 producteurs avec précédent cultural coton et 3 producteurs avec précédent cultural niébé. Il a consisté en une combinaison de trois éléments majeurs dont l'azote (N), phosphore (P) et potassium (K) et en l'omission d'un élément en apportant les deux autres à des doses non-limitatives de 90 kg/ha de N, 30 kg/ha de P et 30 kg/ha de K. Le dispositif expérimental utilisé était celui en blocs complètement aléatoires à trois répétitions. Les rendements du maïs sont moins influencés par le précédent cultural. Les taux de recouvrement indiquent que l'azote a été l'élément minéral le plus utilisé par le maïs avec une valeur supérieure à 31% contre 11 et 9% pour P et K respectivement. Les résultats permettent de classer les trois éléments nutritifs étudiés par besoin d'apport prioritaire à la culture de maïs par ordre décroissant de N>P>K. L'amélioration des rendements de maïs sur sols ferrugineux tropicaux au Sud du Togo nécessite une sécurisation et un renforcement de la fertilisation minérale prioritairement à base de N et de P avec un plus grand besoin de N.

Mots clés : Togo, sol, précédent cultural, fumure minérale, rendement, maïs.

ABSTRACT

Identification and prioritization of determinant nutrient elements in maize (*Zea mays* L.) production on tropical ferruginous soils in southern Togo

Agronomic trials were conducted on tropical ferruginous soils in a 2-yr cycle (2013-2014) in 6 family-based fields. Cotton and cowpea crops were grown in 2013 and a maize (*Zea mays* L.)-based nutrient omission trials (NOT) were in 2014. Nutrient omission trial (NOT) was conducted on maize in year 2014 with these producers left in two groups to identify and prioritize limiting mineral nutrients in maize (*Zea mays* L.) production. The 6 family-fields included 3 fields with preceding cotton and 3 fields with preceding cowpea. The trial consisted of a combination of the three macro elements including nitrogen (N), phosphorous (P) and potassium (K) by omitting one of them and providing the other two at non-limiting application rates of 90 kg/ha of N, 30 kg/ha of P and 30 kg/ha of K. The experimental design was a randomized complete block with three replications. Maize yields are less influenced by the previous crop. The recovery rate of N, P and K indicate that nitrogen was the most used mineral element by maize with a recovery rate above 31% against 11 and 9% for P and K, respectively. The results show that N is the most limiting nutrient in maize production followed by P under both cotton and cowpea based cropping systems. The magnitude of nutrient need was N> P> K, indicating that N and P are the most needed crop nutrients towards improving maize grain yields in the studied agro ecosystem.

Key words: Togo, soil, cropping history, mineral fertilizer, maize yield

¹ - Ecole Supérieure d'Agronomie (ESA), Université de Lomé (UL), BP 1515 Lomé, Togo

² - Institut de Conseil et d'Appui Technique (ICAT), Unité Technique Café Cacao (UTCC), Kpalimé- Togo

* Correspondance, e-mail : gmawussi@gmail.com

Correspondance Téléphone : 00(228) 90 19 46 28

1- Introduction

L'économie togolaise reste dépendante du secteur agricole qui contribue à 45% du produit intérieur brut (Litsé *et al.*, 2011) et constitue la principale source de revenus et d'emplois pour environ 70% de la population active. Les exploitations sont de petites tailles et les méthodes culturales dans beaucoup de cas restent encore ancestrales caractérisées par l'emploi d'outils rudimentaires et par une faible utilisation d'intrants (semences améliorées, fertilisants minéraux et organiques etc.) contribuant ainsi à la dégradation continue des sols. Des auteurs estiment que la mise en culture des sols tropicaux par des méthodes culturales traditionnelles entraîne une perte de fertilité et de faibles rendements des

cultures (Pichot *et al.*, 1981; Pieri, 1989; Sedogo, 1993). En Afrique subsaharienne, les éléments nutritifs exportés par les récoltes des sols déjà pauvres ne sont pas remplacés de manière adéquate et l'utilisation d'engrais minéraux ou organiques en cultures vivrières reste insignifiante (Akanza et Yao-Kouamé, 2011). Dans les conditions actuelles de production agricole au Togo, la culture céréalière est de type pluvial sur des sols peu productifs naturellement pauvres en éléments minéraux. La fertilité des terres constitue le facteur limitant de l'accroissement des rendements. Devant cette situation, le déficit majeur pour les producteurs reste l'amélioration des rendements de cultures vivrières par l'apport d'engrais minéraux en particulier le rendement du maïs qui est la première principale culture vivrière. Ceci

peut être obtenu par l'application de nouvelles formules de fumure minérale dans des systèmes de cultures basés sur des précédents culturaux. Lendres (1992) signale que le maïs, en succédant au coton bénéficie de l'arrière effet de la fertilisation de celui-ci et améliore ainsi son rendement. Deux précédents culturaux arachide et niébé ont augmenté les rendements du sorgho de 54 et 64% respectivement sur sols ferrugineux tropicaux au Burkina Faso (Bado, 2002).

La zone de Notsé est l'une des zones cotonnières du Togo où dominant dans les systèmes de cultures les céréales et les légumineuses qui se succèdent généralement avec le coton dans l'assolement sur les exploitations familiales. La détermination des besoins prioritaires par rapport aux trois principaux nutriments (N, P et K) est donc nécessaire pour améliorer durablement la production du maïs dans cette zone agro écologique. Cette étude a pour objectif principal d'identifier et d'hierarchiser les éléments nutritifs les plus limitatifs dans la production du maïs. Il s'agissait spécifiquement d'évaluer l'effet combiné des formules de fumure minérale et des précédents culturaux coton et niébé sur le rendement du maïs et de déterminer le taux de recouvrement de chacun des éléments nutritifs N, P et K en fonction de la fumure minérale et du précédent cultural.

2- Matériel et méthodes

2.1- Zone de l'étude

L'étude a été conduite sur les exploitations familiales de 6 producteurs volontaires du village de Hahomègbé situé sur l'axe routier Notsé - Kati. Il s'agit d'une zone cotonnière où le maïs et le niébé occupent respectivement le premier rang parmi les céréales et les légumineuses cultivées. Le choix des producteurs a été fait avec les agents des structures d'encadrement des paysans, en occurrence ceux de l'Institut de Conseil et d'Appui Technique (ICAT). La distribution annuelle des pluies (1200 mm) est bimodale avec des pics en juin et septembre. Les sols ferrugineux tropicaux sont les plus dominants et occupés pour la production du coton, de céréales et de légumineuses. Les moyennes annuelles des températures maximales et minimales sont respectivement 24°C et 34°C.

2.2- Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental adopté était celui en blocs complètement randomisés à trois répétitions. Le précédent cultural et la formule de fumure minérale sont les deux facteurs étudiés. Le dispositif expérimental est constitué de 3 blocs représentant les précédents culturaux et de 5 parcelles élémentaires représentant les formules de fumure minérale. L'essai a consisté en une combinaison de trois éléments majeurs N, P et K, à omettre un élément en apportant les deux autres à des doses maximales déterminées sur la base des doses recommandées et appliquées dans la zone d'étude pour la culture de maïs : 200 kg/ha de NPK 15-15-15 et 100 kg/ha d'urée (46% N). Pour cette raison, cinq différents traitements ont été constitués :

- 1- $N_0P_0K_0$: témoin sans apport des éléments N, P et K ;
- 2- $N_0P_{30}K_{30}$: apport de 30 kg/ha de P et 30 kg/ha de K sans azote ;
- 3- $N_{90}P_{30}K_0$: apport de 90 kg/ha de N et 30 kg/ha de P sans

potassium ;

- 4- $N_{90}P_0K_{30}$: apport de 90 kg/ha de N et 30 kg/ha de K sans phosphore ;
- 5- $N_{90}P_{30}K_{30}$: fumure complète, apport de 90 kg/ha de N, 30 kg/ha de P et 30 kg/ha de K.

2.3- Gestion du sol et de la culture

Les essais agronomiques ont été conduits sur sols ferrugineux tropicaux pendant deux ans (2013 et 2014) auprès de 6 producteurs dans leurs champs familiaux. Les cultures de coton et de niébé devant servir de précédents culturaux à l'essai soustractif sur le maïs ont été menées durant la campagne agricole de 2013. L'essai soustractif sur la culture de maïs a été conduit en 2014 avec les 6 producteurs repartis en deux groupes dont 3 producteurs à précédent cultural coton et 3 producteurs à précédent cultural niébé. Les parcelles élémentaires mesuraient chacune 100 m² (10 m x 10 m). Les quatre types d'engrais minéraux, l'urée 46% N, le triple super phosphate 46% P₂O₅, le chlorure de potassium 60% K₂O et le complexe NPK 15-15-15, ont été appliqués au 15^e jour après le semis. Seule l'urée a été apportée une seconde fois en fumure d'appoint au 45^e jour après le semis.

La variété de maïs "Ikéné" très répandue dans la zone d'étude était le matériel végétal utilisé. Les engrais minéraux utilisés sont : l'urée 46% N ; le triple super phosphate 46% P₂O₅, le chlorure de potassium 60% K₂O et le complexe NPK 15-15-15. Le mode de préparation du sol appliqué à toutes les parcelles était le labour manuel effectué à la daba. Le semis a été fait en ligne et en poquet. La profondeur de semis était d'environ 3 cm avec des écartements de 80 cm entre les lignes et 40 cm entre les poquets. La quantité de semence était de 2 grains par poquet. Seul le désherbage manuel à la daba a été pratiqué. Chaque parcelle a bénéficié de trois sarclages manuels: le premier effectué 14 jours après semis, le second 21 jours après le premier et le troisième associé au buttage a été réalisé 21 jours après le second. Les engrais ont été épandus en bandes et recouverts de terre immédiatement après l'apport. Le buttage a été réalisé manuellement à la daba après le second épandage de la fumure.

2.4- Collecte et analyse des données

Les rendements ont été déterminés à la récolte sur des carrés de rendement de 100 m² (10 m x 10 m). Les paramètres mesurés pour chaque carré de rendement étaient le poids des grains et de la paille. La technique de récolte a consisté à détacher l'épi des spathes et à garder les spathes sur les tiges. La paille et les grains ont été séchés au soleil et leur poids mesuré à l'aide d'un peson. Dans chaque cas, le rendement moyen de chaque groupe de 3 producteurs est exprimé en kg/ha au taux d'humidité de 14%. Le taux de recouvrement d'un élément permet de connaître en pourcentage la quantité de cet élément que la culture a utilisée. Le taux de recouvrement (TR en %) est calculé par la formule mathématique suivante :

$$TR(\%) = \frac{(N, P \text{ ou } K)_{pf} - (N, P \text{ ou } K)_{pnf}}{(N, P \text{ ou } K)_{Qt}} \times 100$$

(N, P ou K)_{pf}: N, P ou K prélevé par les plantes de la parcelle fertilisée

(N, P ou K)_{pnf}: N, P ou K prélevé par les plantes de la parcelle non fertilisée

(N, P ou K)Qt : Quantité totale de N, P ou K apportée par les fertilisants.

Pour cela, des échantillons composites de grain de maïs d'environ 250 g chacun et des échantillons de plants de maïs entiers, à raison de trois plants choisis au hasard sur chaque parcelle élémentaire ont été utilisés pour la détermination des teneurs en azote total, phosphore total et potassium au laboratoire. Les plants de maïs entiers arrachés ont été hachés, mélangés, séchés au four à 60°C jusqu'à masse constante et broyés par parcelle (Sogbedji *et al.*, 2006). Ainsi, les échantillons de paille et de grain ont été analysés par des méthodes standard de Kjeldhal pour l'azote total, de Dabin modifiée pour le phosphore total et du spectrophotomètre d'absorption atomique pour le potassium (IITA, 1982).

La hiérarchisation du besoin de maïs en éléments minéraux N, P et K a été faite suivant le principe d'essais soustractifs et sur la base des rendements en maïs grain (IFDC, 2009).

L'ensemble des données (rendements grain et paille) a été saisi dans le tableur Excel et l'analyse de variance (ANOVA) réalisée avec le logiciel CropStat. La séparation des groupes homogènes a été faite par le test de Newman-Keuls au seuil de 5%.

3- Résultats

3.1- Effet combiné du précédent cultural et de la fumure minérale sur le rendement du maïs

Le Tableau I présente les rendements moyens en maïs grain et paille des deux groupes de producteurs en fonction des précédents culturaux et des différents traitements de fumure. Il ressort de ce tableau deux groupes homogènes distincts de traitements aussi bien pour le rendement grain que pour le rendement paille. Les traitements $N_{90}P_{30}K_{30}$, $N_{90}P_{30}K_{0}$ et $N_{90}P_{0}K_{30}$ forment le meilleur groupe qui diffère de façon significative du groupe formé par le témoin ($N_0P_0K_0$) et le traitement $N_{90}P_{30}K_{30}$. On constate que l'absence de N au niveau du traitement $N_0P_{30}K_{30}$ a entraîné une perte significative de rendement par rapport à la fumure minérale complète $N_{90}P_{30}K_{30}$. En effet, une perte de rendement en maïs grain de près de 56,69% (1630 kg contre 2875 kg) sous précédent cultural coton, de 59,31% (1459 kg contre 2460 kg) sous précédent cultural niébé et une perte en rendement paille de près de 61,35% (3670 kg contre 5982 kg) sous précédent cultural coton et de 76,84% (3581 kg contre

4660 kg) sous précédent cultural niébé ont été enregistrées. Malgré l'absence du P et du K respectivement au niveau des traitements $N_{90}P_{0}K_{30}$ et $N_{90}P_{30}K_{0}$, ces deux traitements permettent d'obtenir des rendements en maïs grain et paille compétitifs à ceux de la fumure minérale complète $N_{90}P_{30}K_{30}$ (Tableau I). Bien que les traitements $N_{90}P_{30}K_{0}$, $N_{90}P_{0}K_{30}$ et $N_{90}P_{30}K_{30}$ forment un groupe homogène, on constate en numérique que les rendements moyens du traitement $N_{90}P_{30}K_{0}$ sont les plus élevés. Suivant le principe des essais soustractifs et sur la base des rendements (Tableau I), il ressort que le maïs a besoin en toute première priorité de N

Tableau I- Effet combiné du précédent cultural et de la fumure minérale sur le rendement moyen en maïs grain et paille

Traitements	Rendement grain (kg/ha)		Rendement paille (kg/ha)	
	Précédent coton	Précédent niébé	Précédent coton	Précédent niébé
$N_0P_0K_0$	1435 ^b ±20	1310 ^b ±19	3460 ^b ±23	3350 ^b ±22
$N_{90}P_{30}K_{30}$	1630 ^b ±27	1459 ^b ±18	3670 ^b ±20	3581 ^b ±19
$N_{90}P_{30}K_0$	3015 ^a ±33	2620 ^a ±35	6205 ^a ±28	5210 ^a ±32
$N_{90}P_0K_{30}$	2715 ^a ±22	2340 ^a ±34	5080 ^a ±29	4890 ^a ±30
$N_{90}P_{30}K_{30}$	2875 ^a ±23	2460 ^a ±29	5982 ^a ±31	4660 ^a ±33

puisque la formule $N_{90}P_{30}K_{30}$ réduisait considérablement le rendement suivi de P étant donné que la formule $N_{90}P_0K_{30}$ réduisait également le rendement mais dans une moindre mesure par rapport à la soustraction de N, tandis que la soustraction de K dans la formule $N_{90}P_{30}K_0$ n'a pas influencé le rendement quand N et P sont appliqués en quantité suffisante. La hiérarchisation est donc N>P>K. Par ailleurs, les résultats montrent que les rendements moyens en maïs grain et paille de tous les traitements de fumure minérale sont légèrement plus élevés lorsqu'ils ont été installés sur des parcelles à précédent cultural coton. Cependant, la différence de rendement entre le précédent cultural coton et le précédent cultural niébé n'est pas significative pour tous les traitements.

3.2- Taux de recouvrement des éléments nutritifs N, P et K

Pour un même élément minéral N, P et K, les résultats ne révèlent aucune différence significative entre les traitements de fumure minérale en ce qui concerne les taux moyens de recouvrement. La comparaison des taux moyens de recouvrement des trois éléments minéraux indique que l'azote a les taux de recouvrement les plus élevés compris entre 31,15 et 33,30% contre un taux de recouvrement de P et K compris entre 8,07 et 13,12% (Tableau II).

Tableau II- Taux moyen de recouvrement de N, P et K (%) en fonction du précédent cultural et de la fumure minérale

Traitements	Recouvrement de N %		Recouvrement de P %		Recouvrement de K %	
	Précédent coton	Précédent niébé	Précédent coton	Précédent niébé	Précédent coton	Précédent niébé
$N_0P_0K_0$	-	-	-	-	-	-
$N_{90}P_{30}K_{30}$	-	-	11,90 ^a ±06	9,7 ^a ±08	9,11 ^a ±03	8,6 ^a ±07
$N_{90}P_{30}K_0$	33,30 ^a ±13	30,12 ^a ±12	13,12 ^a ±08	11,05 ^a ±06	-	-
$N_{90}P_0K_{30}$	32,23 ^a ±12	29,22 ^a ±11	-	-	8,9 ^a ±06	8,22 ^a ±05
$N_{90}P_{30}K_{30}$	31,15 ^a ±11	28,19 ^a ±10	12,09 ^a ±09	10,18 ^a ±07	9 ^a ±05	8,07 ^a ±04

Les moyennes affectées d'une même lettre dans une même colonne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% par le test de Newman-Keuls.

4- Discussion

Les résultats indiquent que les meilleurs rendements moyens en maïs grain et paille ont été obtenus avec les différents traitements contenant N : $N_{90}P_{30}K_0$, $N_{90}P_0K_{30}$ et $N_{90}P_{30}K_{30}$ et c'est en absence de N dans la formule de fumure minérale que les rendements sont les plus bas. On observe également que la fumure minérale sans P ($N_{90}P_0K_{30}$) ou sans K ($N_{90}P_{30}K_0$) permet d'obtenir des rendements compétitifs à ceux de la fumure minérale complète ($N_{90}P_{30}K_{30}$) (Tableau 1). Ces observations révèlent que N constitue l'élément nutritif majeur qui limite le plus le rendement du maïs dans les systèmes de rotation cotonnier/maïs et niébé/maïs. Elles permettent d'appréhender la difficulté pour le sol à couvrir les besoins en azote du maïs. On en déduit que la suppression de P ou de K d'une formule de fumure minérale ne semble pas influencer les rendements dans les agro systèmes de cotonnier/maïs et niébé/maïs. Les besoins en P et K du maïs semblent être couverts par la capacité nutritive intrinsèque du sol et de la fertilisation résiduelle du précédent cultural. Les résultats permettent d'estimer que les sols de la zone d'étude sont potentiellement bien pourvus en P et K. Le rôle déterminant de N dans la production du maïs que démontrent ces résultats est en accord avec le constat fait par certains auteurs (Yaro *et al.*, 1997 ; Kabrah *et al.*, 1996) qui affirment que le déficit en azote fait enregistrer les plus faibles rendements en maïs grain et paille.

La comparaison des rendements en fonction du précédent cultural montre qu'aucune différence significative n'a été enregistrée entre le précédent coton et le précédent niébé. Ces résultats indiquent que les rendements du maïs sont moins influencés par la nature du précédent cultural maïs, probablement par la fertilisation résiduelle. Une analyse préalable des différents sols des agro systèmes respectifs permettra d'approfondir les résultats actuels. Les taux de recouvrement de N, P et K en fonction de la fumure minérale et du précédent cultural indiquent que l'azote a été l'élément minéral le plus utilisé par la culture du maïs avec une valeur supérieure à 31% contre 11 et 9% pour P et K respectivement (Tableau II). Les accroissements de rendements en maïs grain et paille en fonction des différents traitements indiquent que la hiérarchisation des besoins de la culture du maïs en éléments nutritifs N, P et K est par ordre décroissant : $N > P > K$. Nos observations recourent celles de Kodjo *et al.* (2013) qui rapportaient que, sur sol ferrugineux tropical appauvri et sol ferrugineux tropical concrétionné d'Alafia dans la commune de Savè au Bénin où a été expérimenté un système de culture pure de maïs, l'élément le plus limitant restait incontestablement l'azote (N) suivi du phosphore (P) et du potassium (K) par ordre de priorité. Toutefois, une étude ultérieure avec les indices de Chaminade (Koné *et al.*, 2013) permettra de consolider ce résultat.

5- Conclusion

Un essai soustractif réalisé sur la culture du maïs a permis d'identifier et d'hiérarchiser les besoins en éléments nutritifs limitatifs de la production du maïs sur sols ferrugineux tropicaux en fonction du précédent cultural et de la fumure minérale. Il s'est révélé qu'en absence de l'azote dans la formule de fumure minérale, on enregistre les plus faibles rendements du maïs, alors que l'absence du phosphore ou

du potassium n'affecte pas les rendements en maïs grain et paille. Par ordre décroissant, le besoin en azote se révèle le plus important suivi de celui en phosphore : $N > P > K$. Les trois formules d'engrais $N_{90}P_{30}K_0$, $N_{90}P_0K_{30}$ et $N_{90}P_{30}K_{30}$ testées donnent des rendements comparables en maïs grain et paille. Il y a donc besoin de poursuivre l'étude en comparant des doses croissantes d'azote et de phosphore afin de dégager la dose optimale à appliquer au maïs sur sols ferrugineux tropicaux de la zone d'étude.

6- Remerciements

Les auteurs remercient l'ONG (Organisation Non Gouvernementale) AFHON (Actions en Faveur de l'Homme et la Nature) pour son appui financier et matériel dans l'exécution du travail. Leurs remerciements vont aux agents de l'Institut de Conseil et d'Appui Technique ICAT-Notsé pour leur collaboration technique dans la réalisation de cette étude. Ils remercient vivement tous les producteurs agricoles de la localité qui ont accepté abriter les essais agronomiques sur leurs parcelles et contribué à la conduite de l'étude depuis sa mise en place jusqu'à la fin.

7- Références bibliographiques

- Akanza K.P., Yao-Kouamé A. 2011. Fertilisation organo-minérale du manioc (*Manihot esculenta* Crantz) et diagnostic des carences du sol. *Journal of Applied Biosciences* 46: 3163 – 3172.
- Bado B.V. 2002. Rôle des légumineuses sur la fertilité des sols ferrugineux tropicaux des zones Guinéennes et soudaniennes du Burkina Faso. Thèse de Philosophie Docteur (Ph. D). Université Laval, Québec. 184p.
- IFDC (International Fertilizer Development Center). 2009. Development and Dissemination of Sustainable Integrated Soil Fertility Management Practices for Smallholder Farmers in Sub-Saharan Africa. Technical Bulletin IFDC – T-71. Muscle Shoals, Alabama, U.S.A.
- IITA 1982. Automated and semi-automated methods of soil and plant analysis manual, series N° 7 IITA, Ibadan, Nigeria
- Kabrah V., Vao N.R., Dea G.B., Couloud J.V. 1996. Effet de l'apport d'engrais et de la matière organique sur le rendement en grains chez le maïs. *Cahiers Agriculture* 5 :189-93.
- Kodjo S., Adjanooun A., Akondé T.P., Aïhou K., Kpagbin G., Gotoechan H., Igue A.M. 2013. Diagnostic participatif de la fertilité des sols des exploitations agricoles à base de maïs (*Zea mays*) dans les départements du Zou et des Collines au Bénin. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB)*. 39 - 53.
- Koné B., Fatogoma S., Chérif M. 2013. Diagnostic of mineral deficiencies and interactions in upland rice yield declining on foot slope soil in a humid forest zone. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research*. 3 (7): 11-20.
- Lendres P. 1992. Pratiques paysannes et utilisation des intrants en culture cotonnière au Burkina Faso. Mémoire d'ingénieur tropical. CNEARC, Montpellier, 80 p.

- Litsé J.K., Bakoup F., Ndiaye-Diop M., Diallo K., Doffonsou R.A., Mutsinzi J.-P., Zouhon-Bi Gouri S., Ekpo A., Sanogo I., Dade L., Fall M., Faraoun M., etc. 2011. Togo document de stratégie pays 2011-2015. Département des opérations pays - Région Afrique de l'Ouest 1. BAD / FAD 37 p.
- Pichot J., Sedogo M.P., Poulin J.F., Arrivets J. 1981. Evolution de la fertilité d'un sol ferrugineux sous l'influence des fumures minérales et fumures organiques. *Agronomie Tropicale*, Vol 33, (2) 122 - 133.
- Pieri C. 1989. Fertilité des terres de savanes. Bilan de trente ans de recherche et de développement agricoles au sud du Sahara, 444 P.
- Sedogo P.M. 1993. Evolution des sols ferrugineux lessivés sous culture : incidence des modes de gestion sur la fertilité. Thèse de doctorat, mention Sciences naturelles (Agronomie - écologie - pédologie), / Université de Cote d'Ivoire. 330 P.
- Sogbedji J.M., van Es H.M., Agbeko K.L. 2006. Cover cropping and nutrient management strategies for maize production in Western Africa. *Agronomy Journal* 98:883-889.
- Yaro D.T., Iwuafor E.N.O., Chude V.O., Tarfa B.D. 1997. Use of organique manure and inorganique fertilizer in maize production: A field evaluation. In strategy for sustainable maize production in West and Central Africa, 237-239p.

EFFETS DE LA DIGESTION DANS LE RUMEN SUR LES PROPRIÉTÉS ANTHELMINTHIQUES DE *BRIDELIA FERRUGINEA* (BENTH.), *MITRAGYNA INERMIS* (WILLD.) KUNTZE ET *COMBRETUM GLUTINOSUM* (PERR. EX DC.)

Alowanou G. Géorcelin¹, Olounladé A. Pascal^{1,2}, Koudandé O. Delphin³, Babatoundé Séverin⁴, Hounzangbé-Adoté M. Sylvie¹.

RESUME

Plusieurs études réalisées ces dernières années ont montré que les plantes fourragères, *Mitragynainermis*, *Combretumglutinosum* et *Brideliaferruginea* possèdent des activités anthelminthiques *in vitro* sur les trois stades de développement du nématode *Haemonchus contortus*. La présente étude a été entreprise pour évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro*, des résidus issus de la digestion dans le rumen des poudres de feuilles des trois plantes sur la migration des larves L₃ de *H. contortus* et le devenir des tanins et flavonoïdes soupçonnés en être les responsables. Les résidus obtenus après incubation à des points cinétiques de 0h, 24h, 48h et 72h des poudres de feuilles des trois plantes dans le rumen des ovins munis de fistules ont servi aux différents tests. Les tanins, les flavonoïdes et les phénols totaux ont été dosés dans les extraits des résidus des plantes. Le test d'inhibition de la migration larvaire a permis d'évaluer les propriétés anthelminthiques des extraits de résidus des plantes. Les teneurs en tanins, flavonoïdes et phénols totaux dans les résidus des plantes issus de la digestion dans le rumen ont varié en fonction des temps d'incubation ($p < 0,05$) mais indépendamment des plantes incubées ($p > 0,05$). Le pourcentage d'inhibition de la migration des larves a été dose-dépendante ($p < 0,001$) et fonction du temps d'incubation des plantes ($p < 0,001$). Les trois plantes semblent avoir conservé leurs propriétés anthelminthiques après incubation *in sacco* dans le rumen confirmant l'usage de ces dernières par les petits éleveurs.

Mots clés: *Mitragynainermis*, *Combretumglutinosum*, *Brideliaferruginea*, digestion *in sacco*, propriétés anthelminthiques

ABSTRACT

Effects of digestion in the rumen on the anthelmintic properties of *Bridelia ferruginea* Benth., *Mitragyna inermis* (Willd.) Kuntze and *Combretum glutinosum* Perr. Ex De.

Several studies carried out these last years showed that the fodder plants, *Mitragyna inermis*, *Combretum glutinosum* and *Bridelia ferruginea* have an anthelmintic activity *in vitro* on the three stages of development of the nematode *Haemonchus contortus*. The present study was undertaken to evaluate the anthelmintic properties *in vitro*, residues resulting from digestion in the rumen of the leaves powders of the three plants on the migration of *H. contortus* larvae L₃ and to become of tannins, flavonoids and total phenol suspected to be the responsible. Residues obtained after incubation at kinetic points of 0h, 24h, 48h and 72h of plants leaves in the sheep's rumen were used for the various tests. The total tannins, flavonoids and phenols were proportioned in the extracts of plants residues. Inhibition test of larval migration was enabled to evaluate residues anthelmintic properties. Contents in tannins, flavonoids and phenols in plants residues resulting from digestion in the rumen were varied according to times of incubation ($p < 0,05$) but independently of plants incubated ($p > 0,05$). The percentage of inhibition of larval migration was dose dependent ($p < 0,001$) and function on the time of plants incubation ($p < 0,001$). The three plants seem to have preserved their anthelmintic properties after incubation *in sacco* into the rumen, confirming the use of these last by the small breeders.

Key words: *Mitragyna inermis*, *Combretum glutinosum*, *Bridelia ferruginea*, digestion *in sacco*, properties anthelmintic.

¹Laboratoire d'Ethnopharmacologie et de Santé Animale, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey-Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

²Laboratoire Pluridisciplinaire, Ecole Nationale des Sciences et Techniques Agricoles, Université d'Agriculture de Kétou, BP : 95 Kétou, Bénin

³Laboratoire de Recherches Zootechnique, Vétérinaire et Halieutique, Institut

National des Recherches Agricoles du Bénin, 01 BP 884 Cotonou, Bénin.

⁴Laboratoire de Zootechnie, Faculté des Sciences Agronomiques, Université d'Abomey Calavi, 01 BP 526 Cotonou, Bénin.

Auteur correspondant: Alowanou Goué Géorcelin, galowanou@gmail.com, (+229) 96006258, 03BP3397 Cotonou, Bénin.

Introduction

Les parasitoses digestives causées par les nématodes gastro-intestinaux constituent des pathologies majeures chez les petits ruminants entretenus au pâturage et, peuvent parfois entraîner des pertes importantes de production (Hoste *et al.*, 2005 ; Andrea *et al.*, 2011) menaçant ainsi la sécurité alimentaire (Hannah *et al.*, 2015). La pathogénie des strongles gastro-intestinaux repose sur la perturbation de l'assimilation des aliments et la genèse de lésions traumatiques à la muqueuse digestive de l'hôte. Il en résulte une diminution de la fonction d'absorption, la sécrétion puis l'excrétion de substances qui perturbent de par leur nature biochimique

variée l'équilibre physiologique de l'hôte vertébré (Hoste *et al.*, 1997; Hassanpouret *et al.*, 2011). Les désordres ainsi créés ont une influence négative sur les paramètres zootechniques des animaux notamment des moutons (*et al.*, 2002). Cette influence se traduit par une diminution de l'ingestion alimentaire, une réduction du poids corporel, une diminution de la production de laine et de la production laitière chez les moutons. Le contrôle de ces parasites a toujours été basé sur l'utilisation des molécules de synthèse qui ont fini par montrer leurs limites telles que la résistance développée par les parasites face aux anthelminthiques de synthèse, la cherté et l'inaccessibilité de ces derniers. Dans ces

conditions, il devient opportun d'envisager de nouvelles méthodes de lutte antiparasitaire (Satyavir Singh and Gupta, 2010) notamment l'usage des plantes médicinales potentiellement anthelminthiques (Wabo-Ponéet *al.*, 2011). Dans la perspective d'explorer ces plantes, plusieurs études ethnobotaniques et ethno-pharmacologiques ont été menées dans le monde et surtout en Afrique ces dernières décennies (Alawaet *al.*, 2003 ; Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Gakuubi et Wanzala, 2012). Parmi ces plantes figurent *M.inermis*, *C.glutinosum* et *B.ferruginea*, trois plantes de la pharmacopée africaine utilisées par les petits éleveurs dans la lutte contre les parasitoses gastro-intestinales des ruminants (Koné *et al.*, 2008 ; Djoueché *et al.*, 2011 ; Attindéhouet *al.*, 2012). Une étude antérieure menée par Alowanouet *al* (sous presse) sur l'évaluation des propriétés anthelminthiques de la poudre de feuilles des trois plantes sur trois stades de développement de *H. contortus* *in vitro* a confirmé la pertinence de l'usage à but anthelminthique de ces plantes par les éleveurs. Les extraits des trois plantes se sont montrés efficaces en inhibant l'éclosion des œufs, la migration des larves L₃ et la motilité des vers adultes du parasite. Ces propriétés seraient rendues possibles grâce aux molécules bioactives contenues dans les différents organes des plantes notamment les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les tri-terpènes, les dérivés quinoniques et les saponosides (Néné Bi *et al.*, 2009; Owoseniet *al.*, 2010; Akuodoret *al.*, 2011; Yahaya *et al.*, 2012; Soréet *al.*, 2012). *M.inermis*, *C.glutinosum* et *B.ferruginea* sont également des espèces fourragères consommées par les animaux. Cette utilisation nous conduit vers les problèmes de recherche comme l'effet de la dégradabilité *in sacco* sur les propriétés anthelminthiques des plantes dans le rumen et le devenir des molécules bioactives contenues dans les plantes après digestion au niveau du rumen. C'est dans le but de répondre à cette question de recherche que cette étude a été entreprise pour évaluer les propriétés anthelminthiques *in vitro* des résidus issus de la digestion dans le rumen des poudres de feuilles des trois plantes sur *H.contortus*.

Matériels et méthodes

Récolte et préparation des plantes

Les feuilles de *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* ont été récoltées matures respectivement à Savè, Kandiet Comé. Un herbier a été réalisé, et *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* ont été identifiées et authentifiées à l'Herbier National de l'Université d'Abomey-Calavi respectivement sous les numéros: AA6527/HNB, AA6528/HNB et AA6529/HNB. Les feuilles des plantes ont été séchées en salle à la température ambiante du laboratoire. Après deux semaines de séchage, elles ont été broyées au tamis de 2 mm de maille dans un moulin à marteau. La poudre est conservée dans un bocal hermétique à la température ambiante.

Réalisation de la dégradabilité *in sacco*

□ Matériel animal et rationnement

Cinq (5) bœufs adultes de race Djallonké pesant en moyenne 30 kg ont été utilisés. Ces animaux fistulés ont porté des canules du rumen de 4 cm de diamètre, lavées tous les jours avec du Dettol à 5%. Durant l'expérimentation, les bœufs ont été logés en stabulation entravée et ont reçu une ration d'entretien à base de *Panicum maximum* var. C1 frais et un complément (graines de coton et épluchures de manioc) à raison de 50 g

matière sèche/ kg PV distribuée en 2 repas à 8 h et à 16 h. Cette ration a été distribuée aussi bien en période pré - expérimentale qu'expérimentale. La composition centésimale de la ration est la suivante : 70% de *Panicum maximum* var. C1 frais + 30% de concentré, c'est à dire 35 g/kg PV de *Panicum maximum* var. C1 frais, 7,5 g matière sèche/kg PV de graines de coton et 7,5 g matière sèche/kg PV d'épluchures de manioc par repas. Cette proportion est généralement utilisée dans les études de dégradabilité *in sacco* (Babatoundé, 2005). Les graines de coton ont été distribuées le matin et les épluchures de manioc l'après-midi. Les animaux ont disposé de blocs à lécher à base de sels minéraux et ont reçu de l'eau *ad libitum*.

□ Préparations des sachets et des échantillons à incuber

Les sachets en toile de nylon de porosité 42 µm et de dimensions internes: 10 cm x 15 cm ont été utilisés. Les supports des sachets ont été des tuyaux en plastiques souples de 1 cm de diamètre et 10 cm de longueur. Dans leurs bords supérieurs, les tuyaux ont été reliés par un fil en nylon de 0,60 mm de diamètre et de 25 cm de longueur pour faciliter leur retrait du rumen. Chaque tuyau a correspondu à une des espèces de plantes en études si bien qu'un animal en expérimentation a reçu trois tuyaux. Les sachets vides ont été séchés à l'étuve à 60°C pendant 24 h avant d'être pesés à l'aide d'une balance analytique de précision au 1/10 mg. Deux pesées ont été effectuées sur les sachets vides. Après les pesées, les sachets ont été remis à l'étuve à 60°C pendant 30 minutes avant d'être pesés à nouveau. La prise d'essai a été de 5 g de matière broyée au tamis de 2 mm. Les sachets ont été ensuite fermés par un collier de serrage en plastique avant leur fixation sur le tuyau.

□ Incubation des sachets dans le rumen

Les trois (03) tuyaux portant les sachets ont été introduits dans le rumen juste avant les repas. Chaque tuyau a porté 3 sachets disposés en quinconce, chaque sachet représentant un temps d'incubation pour un fourrage donné. L'étude de dégradabilité *in sacco* a été établie sur trois points de cinétique (24, 48 et 72 heures), ceci afin de permettre une digestion complète des poudres des plantes. L'introduction des sachets a été réalisée de manière séquentielle afin de retirer en même temps les trois sachets à la fin de la période d'incubation considérée.

□ Récupération, lavage et pesée des sachets après incubation

Au terme de l'incubation, les sachets ont été retirés du rumen pour l'ensemble des animaux. Le retrait s'est fait grâce au fil en nylon relié au bout du tuyau. Une fois retirés, ils ont été rincés sous jet d'eau au robinet. Après les lavages successifs, les sachets ont été séchés avec leur contenu à l'étuve à 40°C pendant 48 h. A la sortie de l'étuve, deux pesées ont été réalisées sur les sachets avec leur contenu et de la même manière que pour les pesées de sachets vides avant incubation. Après cette double pesée le contenu des sachets a été récupéré dans un récipient en plastique pour les analyses ultérieures.

Techniques de préparation des extraits

Les résidus obtenus après incubation des poudres dans le rumen sont extraits dans une solution d'acétone dans une proportion de 70:30 (acétone-eau distillée) pendant une heure sous agitation magnétique à 50°C. Après filtration du mélange, le filtrat est recueilli et évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. La phase aqueuse obtenue a été mise à l'étuve à 40°C pour l'évaporation à sec. L'extrait ainsi obtenu est pesé puis conservé au réfrigérateur à 4°C.

Etude quantitative des extraits acétoniques des résidus issus de la digestion dans le rumen des plantes

Les métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins condensés et les phénols totaux suspectés dans la littérature d'avoir des propriétés anthelminthiques ont été dosés dans les résidus des plantes issus de la digestion dans le rumen. A cet effet, pour la quantification des phénols totaux, la méthode utilisée a été basée sur celle décrite par Singleton (1998), les teneurs des flavonoïdes ont été mesurées par une méthode adaptée de Zhishen *et al.* (1999) et Kim *et al.* (2003) et le dosage des tanins condensés a été effectué selon la méthode de Heimler *et al.* (2006).

Activité biologique des trois plantes

□ Extraction des larves

Les larves infestantes ont été obtenues par coproculture à partir de matières fécales de brebis préalablement infestées artificiellement par une souche pure de *H. contortus*, laissées en culture à température ambiante pendant 10 jours. Les larves ont ensuite été extraites de la masse fécale par le dispositif de Baermann dont le principe repose sur l'hygrotopisme des larves.

□ Test de migration larvaire

Le test appliqué repose sur la mesure du taux de migration des larves du parasite à travers une membrane après contact avec les extraits à tester. Le pourcentage de larves ayant traversé la membrane permet de calculer l'inhibition de la migration larvaire (LMI) associée aux extraits de plantes (Rabelet *et al.*, 1994). Une quantité connue de larves L_3 (1000 L_3 /ml) est mise en contact pendant 3 heures à 23 °C avec chaque extrait à tester à différentes concentrations (1200, 600, 300 et 150 μ g/ml) à raison de 3 répétitions par concentration. Un témoin négatif (tampon PBS, pH 7 et 0,15 M) a permis d'évaluer la migration des larves en absence de la plante. Un témoin positif (lévamisole 125, 250 et 500 μ g/ml) a été également constitué. Les larves L_3 sont ensuite rincées 3 fois et centrifugées, puis laissées en migration à travers des mailles de 20 μ m de diamètre pendant 3 heures à une température de 23 °C. Les larves ayant migré sont reprises dans un volume de 1,5 ml. Le nombre de larves est alors compté dans 200 μ l. Le pourcentage d'inhibition de la migration larvaire a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$LMI = \frac{T - M}{T} \times 100$$

Où T le nombre total de L_3 ayant été en contact du PBS et M le nombre de L_3 en contact avec les extraits.

Analyses statistiques

Les différentes valeurs de la quantification des métabolites secondaires et de la migration des larves infestantes ont été intégrées dans un modèle d'analyse de variance sur mesure répété à deux facteurs (temps d'incubation, résidu de la plante testée) exécuté dans le logiciel R (R Core Team, 2013). La comparaison des différentes moyennes a été faite à l'aide de la procédure SNK qui exécute le test Student-Newman-Keuls (SNK) à l'aide du package agricolae (Mendiburu, 2013) du logiciel R (R Core Team 2013). Les moyennes générées ont servi à construire les graphes d'illustration. Les différences sont considérées significatives au seuil de 5%.

Résultats

Dosage de quelques composés chimiques contenus dans l'extrait acétonique des résidus de plantes issus de la digestion dans le rumen

Dosage des phénols totaux

Aucune différence significative n'a été observée sur la teneur des phénols totaux dans les résidus en considérant la poudre de feuilles des plantes incubée ($p > 0,05$). Néanmoins la teneur des phénols a variée en fonction des différents temps d'incubation ($p < 0,05$). Il aurait eu d'énormes pertes en concentration des phénols totaux ($p < 0,05$) de 0h (avant incubation) à 72h (après incubation) dans les résidus issus de la digestion dans le rumen de la poudre des plantes (Figure 1). Cependant excepté les extraits de *M. inermis*, entre les points cinétiques 24h, 48h et 72h la perte a été négligeable ($p > 0,05$) (Figure 1).

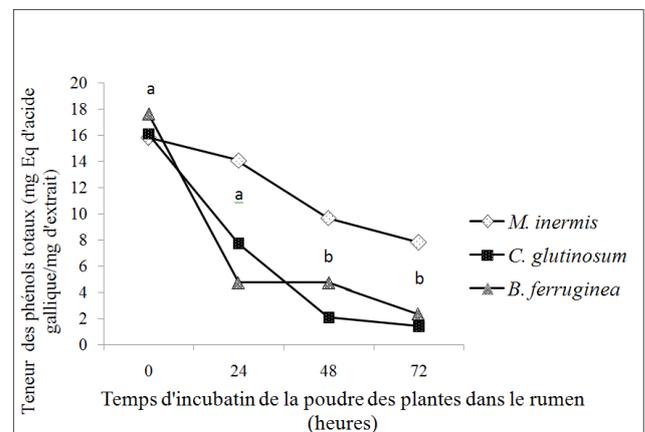


Figure 1: Teneur des phénols totaux dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Dosage des flavonoïdes totaux

La variation de la teneur des flavonoïdes dans les résidus n'a été ni fonction de la plante ($p > 0,05$) ni du temps d'incubation des plantes ($p > 0,05$). Il aurait eu du début de l'incubation (0h) à la fin (72h) une baisse significative ($p > 0,05$) en concentration des flavonoïdes dans la poudre de feuilles des plantes au niveau du rumen (Figure 2). Néanmoins notons que 24h après l'incubation des plantes, leur teneur a sensiblement augmenté avant de baisser (Figure 2). Cette légère augmentation laisse penser à un effet additif des molécules chimiques lors de la perte de matière au niveau des poudres incubées au cours de la digestion dans le rumen.

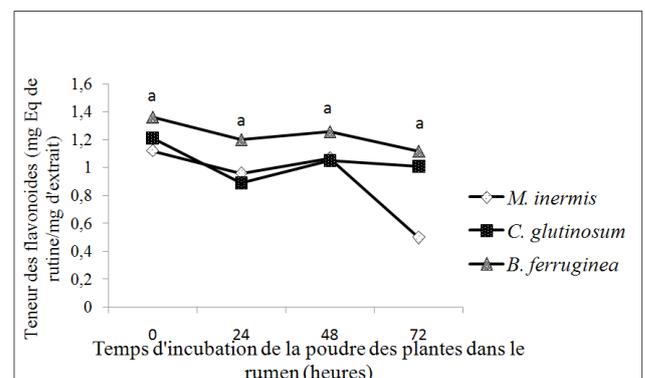


Figure 2: Teneur des flavonoïdes dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Dosage des tanins condensés totaux

La teneur des tanins dans les résidus des plantes a variée en fonction du temps d'incubation des plantes ($p < 0,05$) mais pas suivant la plante incubée ($p > 0,05$) (Figure 3).

Une diminution significative ($p < 0,05$) de la teneur en tanin dans la poudre simple (avant incubation) aux résidus de poudre (après incubation) des trois plantes a été constatée (Figure 3). Cependant entre les points cinétiques 24h, 48h et 72h la différence n'était pas significative ($p > 0,05$). Il y aurait eu un effet additif 48h après l'incubation des plantes puisque la teneur en tanins de *M. inermis* a sensiblement augmentée (0,89 mg) par rapport au temps d'incubation 24h (0.7 mg) (Figure 3).

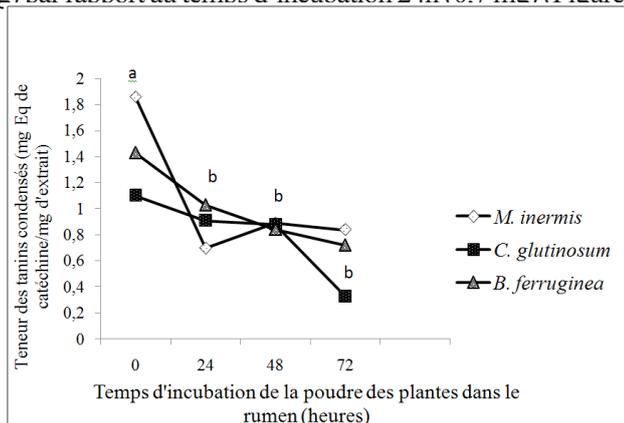


Figure 3: Teneur des tanins condensés dans les résidus et la poudre simple des plantes.

Les valeurs avec des lettres différentes sont significatives à $p < 0,05$.

Effets de l'extrait acétonique des résidus des trois plantes issus de la digestion sur la migration des larves (L_3) de *Haemonchus contortus*

L'action inhibitrice des plantes sur la migration des larves de *H. contortus* a été dose dépendante ($p < 0,001$) et fonction du temps d'incubation des plantes d'autre part ($p < 0,001$) (Figures 4,5et 6).

Aux fortes doses de 1200 et 600 $\mu\text{g/mL}$ la migration des larves de *B. ferruginea* a été fortement inhibée quel que soit le type d'extrait et le temps d'incubation de la plante ($p < 0,05$) (Figure 4). Cependant, à la dose moyenne de 300 $\mu\text{g/mL}$, l'extrait simple et celui de la poudre incubée à 48h ont significativement bloqué la migration des larves ($p < 0,05$). A la faible dose de 150 $\mu\text{g/mL}$ excepté la poudre incubée à 24h, l'effet inhibiteur des extraits de la plante a été non négligeable ($p < 0,05$) (Figure 4).

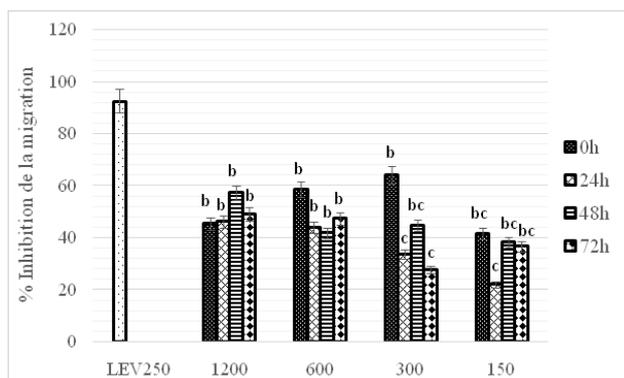


Figure 4: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction du temps d'incubation de *B. ferruginea* dans le jus de rumen des ovins.

Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

Les extraits des résidus de *C. glutinosum* à l'exception de l'extrait du résidu de 72h à la dose de 300 $\mu\text{g/mL}$ ont significativement réduit la migration des larves aux doses de 1200, 600 et 300 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$) (Figure 5). La différence entre les effets de l'extrait de la poudre simple et ceux des résidus de la plante n'a pas été significative ($p > 0,05$) (Figure 5).

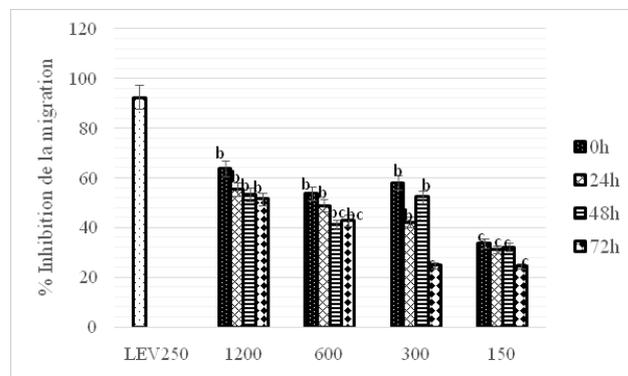


Figure 5: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction du temps d'incubation de *C. glutinosum* dans le jus de rumen des ovins. Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

L'extrait de la poudre simple et ceux des résidus de *M. inermis* ont inhibé à plus de 40% la migration des larves de *H. contortus* quelle que soit la dose et le temps d'incubation excepté les extraits de 24h, 72h de la dose 300 $\mu\text{g/mL}$ et ceux de 0h, 24h et 72h de la dose 150 $\mu\text{g/mL}$ (Figure 6). L'action inhibitrice obtenue avec l'extrait de la poudre simple a été pratiquement la même avec les extraits des résidus de la plante ($p > 0,05$) (Figure 6).

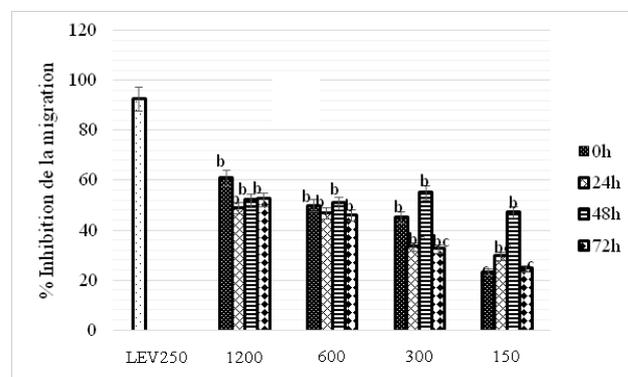


Figure 6: Variation de l'inhibition de la migration larvaire de *H. contortus* en fonction de la dose et du temps d'incubation de *M. inermis* dans le jus de rumen des ovins. Chaque bande représente la moyenne \pm ESM, $n = 3$, a ($p < 0,001$) ; b ($p < 0,01$) et c ($p < 0,05$) comparé au témoin négatif (PBS).

Discussion

L'efficacité des feuilles de *M. inermis*, *C. glutinosum* et *B. ferruginea* dans une étude récente a été démontrée sur trois stade de développement (œufs, larves, vers adultes) du parasite hématophage *H. contortus* (Alowanouet al., sous presse). Le test de migration larvaire utilisé dans l'étude pour évaluer l'effet antiparasitaire des résidus des plantes est un test rapide et moins couteux pour la détermination de l'effet des substances qui pourraient causer la paralysie des nématodes gastro-intestinaux (D'Assonvilleet al., 1996). Les extraits du résidu des plantes issu de la digestion dans le rumen d'une manière générale ont inhibé la migration des

larves de *H. contortus* et cette inhibition est dose dépendante avec une efficacité beaucoup plus prouvée avec *M. inermis* et *C. glutinosum*. Les deux plantes se sont montrées en effet plus efficaces que *B. ferruginea* dans l'étude précédente qui a porté sur l'effet de la poudre simple des plantes (Alowanouet *al.*, sous presse). Les plantes ont conservé leur efficacité après une incubation dans le rumen de 24 à 72h. La diminution de la migration des larves L₃ par les extraits des résidus des plantes observée dans cette étude pourrait être à l'origine de la perturbation de leur installation dans la paroi de la muqueuse du tube digestif. Cette action inhibitrice de la migration des larves de *H. contortus* serait rendue possible grâce aux grandes familles de composés chimiques mises en évidence dans cette étude à savoir les tanins, les flavonoïdes et les phénols totaux. En effet Molanet *al.* (2003), Brunet (2008) ont montré que les flavonoïdes induisaient des altérations structurelles au niveau des larves infestantes empêchant ainsi leur migration. Les flavonoïdes et les tanins contenus dans la fraction polaire de *Leucaena leucocephala* (Adémola et *al.*, 2005) ont montré un effet sur la migration des larves L₃ de *H. contortus*. De même Olounladé *et al.* (2011) ont rapporté une inhibition de migration des larves L₃ de *H. contortus* due aux tanins pour *Zanthoxylum zanthoxyloides* et *Newbouldialaavis*. Notons dans cette étude une augmentation de l'effet anthelminthique des extraits des résidus des plantes après 48h d'incubation. Cette observation peut être expliquée par l'effet additif des métabolites secondaires en l'occurrence les tanins. L'évolution de la teneur des flavonoïdes dans les résidus n'a été ni fonction de la plante incubée ni du temps d'incubation des plantes. Cette observation laisse penser que la digestion par les bactéries dans le rumen n'a eu aucun effet sur la structure et le métabolisme de ce composé chimique. Ce qui expliquerait la forte inhibition de la migration des larves L₃ par les extraits des résidus issus des plantes ayant subi la digestion dans le rumen.

Une perte non négligeable de la teneur en tanins condensés et en phénols totaux dans le rumen a été observée au cours de l'incubation de la poudre de feuilles des plantes. En effet, chez les ruminants, le rumen est un compartiment doté d'un écosystème qui abrite plusieurs types de microorganismes majoritairement anaérobies ou anaérobies facultatives, et qui se caractérise par un pH proche de la neutralité (6 à 7) (Brunet, 2008). Ainsi, lorsque les tanins condensés sont ingérés, ils se fixent aux protéines salivaires (en particulier avec les protéines riches en proline) ou alimentaires (Butter *et al.*, 1999) aux enzymes bactériennes (Brunet, 2008) et forment avec elles des complexes stables au pH du rumen (Aertset *al.*, 1999). La formation des complexes tanins condensés-protéines serait à la base de la diminution de la teneur en tanins condensés observée et de manière logique celle des phénols totaux. Mais cette perte est quand même bénéfique pour les animaux. Au fait, un apport faible et modéré de tanins condensés produit des effets positifs sur les paramètres zootechniques, la physiologie digestive et la santé des animaux (Min *et al.*, 2003; Waghorn et Mc Nabb, 2003). Ainsi la concentration en tanins condensés dans les résidus des plantes après incubation a été suffisante pour inhiber fortement la migration des larves de *H. contortus* dans cette étude. En étude *in vivo*, le mécanisme s'explique mieux. En effet selon Brunet (1999), la stabilité de ces complexes tanins condensés-protéines devient défavorisée au pH acide de l'abomasum. Ainsi, les conditions de l'abomasum induisent une libération des tanins condensés fixés. Ces derniers sont

par la suite disponibles dans les portions du tube digestif qui font suite au rumen, ce qui justifierait l'aptitude des plantes qui en contiennent à perturber la viabilité des vers adultes ou la fertilité des vers femelles (Hounzangbé-Adoté, 2004 ; Marie-Magdeleine *et al.*, 2010 ; Azando *et al.*, 2011).

Conclusion

La présente étude a mis en évidence *in vitro* l'action inhibitrice des extraits des résidus de *B. ferruginea*, *C. glutinosum* et *M. inermis* sur la migration des larves infestantes de *H. contortus*. Les propriétés anthelminthiques des plantes sont conservées après une incubation *in sacco* dans le rumen avec de légères variations malgré les pertes en métabolites secondaires enregistrées. Ce travail conforte encore plus le choix des petits éleveurs de l'Afrique de l'Ouest à traiter leurs animaux par l'usage des trois plantes. Néanmoins il serait intéressant dans des études ultérieures de voir le mode d'action de ces métabolites secondaires soupçonnés en être les responsables.

Remerciement

Les auteurs sont reconnaissants au Projet Valorisation des Plantes locales pour l'Amélioration de la santé et de la Production des animaux d'élevage (VPMAP) en Afrique de l'Ouest financé par l'UEMOA à travers le Projet PAES et le Rectorat de l'Université d'Abomey-Calavi du Bénin à travers le Projet « Valorisation des plantes médicinales de la pharmacopée béninoise pour l'amélioration de la santé animale et humaine (VPMAS) » pour le financement de cette étude. Profondes gratitude à l'endroit des reviewers pour leurs précieuses contributions au manuscrit.

Références

- Adémola IO, Akanbi AI, Idowu SO (2005). Comparative nematocidal activity of chromatographic fraction of *Leucaena leucocephala* seed against gastrointestinal sheep nematodes. *Pharmacy and Biology*, 43: 599-604.
- Aerts RJ, Barry TN, McNabb WC (1999). Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 75 (1-2): 1-12.
- Akuodor GC, Mbah CC, Anyalewechi NA, Idris-Usman M, Iwuanyanwu TC, Osunkwo UA (2011). Pharmacological profile of aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark in the relief of pain and fever. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(22): 5366-5369.
- Alawa CBI, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezey NP, Alawa JN, Bowman DD (2003). *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* & *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, 113: 73-81.
- Alawa CBI, Adamu AM, Gefu JO, Ajanusi OJ, Abdu PA, Chiezey NP, Alawa JN, Bowman DD (2003). *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary Parasitology*, 113: 73 - 81.
- Alowanou GG, Azando VBE, Olounladé AP, Adenilé DA, Akouédégni CG, Daga DF, Hounzangbé-Adoté MS. *In vitro* anthelmintic activity of *Bridelia ferruginea*, *Combretum glutinosum* and *Mitragyna inermis* leaves extracts on three life - cycle stages of

the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. (Submitted).

Andrea B, Doeschl-Wilson R, Davidson J, Conington T, Roughsedge MR, Hutchings BV (2011). Implications of host genetic variation on the risk and prevalence of infectious diseases transmitted through the environment. *Genetics*, 188: 683-693.

Attindéhou S, Hounnigmassoun MA, Salifou S, Biaou CF (2012). Inventorying of herbal remedies used to control small ruminant's parasites in Southern Benin. *International Multidisciplinary Research Journal*; 2(8):14-16.

Azando EVB, Hounzangbé-Adoté MS, Olounladé PA, Brunet S, Fabre N, Valentin A, Hoste H (2011). Involvement of tannins and flavonoids in the *in vitro* effects of *Newbouldialaevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*; 180 : 292-297.

Babatoundé S (2005). Etude et prédiction de la valeur alimentaire de graminées et de légumineuses fourragères en zone tropicale humide du Bénin. Thèse de doctorat Unique. Gembloux Agro-Bio Tech (ULg) - Université de Liège. 265 p

Brunet S (2008). Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestifs des ruminants. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 2008. 246 pp.

Bruneton J (1999). Tannins. In: *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes*

Butter NL, Dawson JM, Buttery PJ (1999). Effects of dietary tannins on ruminants. In: *Secondary Plant Products* Nottingham-University-Press, Nottingham, pp. 51-70.

D'Assonville JA, Janovsky E, Versley A (1996). In vitro screening of *Haemonchus contortus* third stage larvae for ivermectin resistance. *Veterinary Parasitology*, 61:73-80.

Djoueché CM, Azebaze AB, Dongmol AB (2011). Investigation of Plants Used for the ethnoveterinary control of gastrointestinal parasites in Bénoué Region, Cameroon. *Tropicicultura*; 29(4): 205-211.

Gakuubi MM, Wanzala W (2012). A survey of plants and plant products traditionally used in livestock health management in Buuri district, Meru County, Kenya. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8:39.

Hassanpour S, Eshratkhab B, Sadaghian M, Maherisis N, Chaichisem Sari M (2011). Relationship between plasma minerals and nematode infection load in Moghani ewes. *Global Veterinaria*, 6 (4):357-361.

Heimler D, Vignolini P, Dini MG, Vincieri FF, Romani A (2006). Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties. *Food Chemistry*, 99: 464-469.

Hoste H, Huby F, Mallet S (1997). Strongyloses gastro-intestinales des ruminants: conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Point Vétérinaire*, 28: 53-59.

Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C (2005). Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in

goats. *Small Ruminant Res.* 60, 141-151.

Hounzangbé-Adoté MS (2004). Propriétés anthelminthiques de 4 plantes tropicales testées *in vitro* et *in vivo* sur les nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants Djallonké. Thèse de doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin.

Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16:509-515.

Koné MW, Kamanzi A (2008). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in traditional veterinary. *South African Journal of Botany*, 74: 76-84.

Marie-Magdeleine C, Boval M, Philibert L, Borde A, Archimède H (2010). Effect of banana foliage (*Musa x paradisiaca*) on nutrition, parasite infection and growth of lambs. *Livestock Science*, 131(2-3): 234-239.

Min BR, Barry TN, Attwood GT, McNabb WC (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*; 106 (1-4), 3-19.

Molan AL, Duncan AJ, Barry TN, McNabb WC (2003). Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International*, 52 (3), 209-218.

Néné BSA, Traoré F, Soro TY, Souza A (2009). Etudes phytochimique et pharmacologique de *Bridelia ferruginea* benth (euphorbiaceae) sur la motricité du taenia coli de cobaye. *Afrique Science*, 05(2) : 305 - 320.

Olounladé PA, Hounzangbé-Adoté MS, Azando EVB, Tam Ha TB, Brunet S, Moulis C, Fabre N (2011). Etude *in vitro* de l'effet des tannins de *Newbouldialaevis* et de *Zanthoxylum zanthoxyloides* sur la migration des larves infestantes de *Haemonchus contortus*. *International Journal of Biological and Chemical Science*; 5: 1414-1422.

Owoseni A, Abimbola A, Ayanbamiji TA, Ajayi YO, Ikeoluwa B (2010). Antimicrobial and phytochemical analysis of leaves and bark extracts from *Bridelia ferruginea*. *African Journal of Biotechnology*, 9(7): 1031-1036.

Perry B, Randolph TH, Mcdermont JJ, Sones KR, Thornton PK (2002). Investing in Animal Health Research to alleviate Poverty. International Livestock Research Institute (ILLRI), Nairobi, Kenya.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Rabel B, McGregor P, Dough G (1994). Improved bioassay for estimation of effects of ovine gastrointestinal inhibitory mucus and on nematode larval migration anthelminthic. *International Journal of Parasitology*, 24: 671-676.

Satyavir S, Gupta SK (2010). A survey of anthelmintic

resistance in gastrointestinal nematode in sheep of Haryana. *Haryana Veterinary*, 49: 25-28.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1998). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu's 299:152-170.

Soré H, Hilou A, Sombie PAED, Compaoré M, Meda R, Millogo J, Nacoulma OG (2012). Phytochemistry and biological activities of extracts from two Combretaceae found in Burkina Faso: *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. And Perr. And *Combretum glutinosum* Perr. Ex D C. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 2 (5): 383-392.

WaboPoné J, Yondo J, Fossi TO, Komtangi MC, Bilong Bilong CF, Mpoame M (2011). The *in vitro* effects of *Chenopodium ambrosioides*

(Chenopodiaceae) extracts on the parasitic nematode *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 3(4): 56-62.

Waghorn, G, McNabb WC (2003). Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 383-392.

Yahaya O, Yabefa JA, Usman B (2012). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Combretum glutinosum* extract against some human pathogens. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(5): 233-236.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-559.

ANTIBODIES USED FOR AN IMMUNOLOGICAL CROSS-REACTIVITY BETWEEN POLAR TUBE PROTEINS OF *ENCEPHALITOOZON CUNICULI* (MICROSPORIDIA) AND PROTEINS POLAR FILAMENT OF *MYXOBOLUS EPISQUAMALIS* (MYXOZOA) PARASITE OF FLATHEAD MULLET *MUGIL CEPHALUS* (MUGILIDAE).

Malick Fall¹, Arfang Diamanka¹ and Bhen S. Toguebaye¹

ABSTRACT

Myxobolus episquamalis (Egusa, Maeno and Sorimachi, 1990), a myxosporean parasite, was found for the first time infecting scales with white cysts and fins of flathead mullet (*Mugil cephalus*) which is a common habitant of [tropical](#) and [subtropical](#) coastal waters and an important food fish species. Myxozoa are characterized by the presence of polar capsules each containing a coiled polar filament that serves after extrusion to anchor the parasite to the host tissue. This eversible polar filament also resembles the polar tube of Microsporidia, a large phylum of obligate intracellular eukaryotes that are fungal-related parasites. In the present study, we tested the ability of antibodies raised against microsporidian polar tube proteins (PTPs) to cross-react with antigens of *M. episquamalis*. Immunofluorescence assays (IFA) using antibodies directed against PTPs of the mammal microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* (Ec102, anti-PTP1/PTP2 and Ec1b, anti-PTP3) showed a strong fluorescence signal associated with extruded polar filaments of *M. episquamalis* spores. In Western blot, these antibodies cross-reacted with antigens of ~50/55 kDa (Ec102) and ~150 kDa (Ec1b) in size, suggesting the existence of common epitopes between microsporidian PTPs and *M. episquamalis* polar filament antigens. Specific mouse polyclonal antibodies were then produced against *M. episquamalis* antigens corresponding to two SDS-PAGE separated protein bands recognized by the antisera Ec102. As expected, these antibodies specifically stained polar filaments in IFA and by immunogold labelling in transmission electron microscopy (TEM).

Keywords: *Myxobolus episquamalis*, *Mugil cephalus*, polar filament, immunofluorescence assays, immunogold labelling, microsporidia, myxozoa.

RESUME

Utilisation d'anticorps pour une étude immunologique de réaction croisée entre les protéines du tube polaire de *Encephalitozoon cuniculi* (Microsporidie) et les protéines du filament polaire de *Myxobolus episquamalis* (Myxozoa) parasite du mullet *Mugil cephalus* (Mugilidae).

Myxobolus episquamalis (Egusa, Maeno et Sorimachi, 1990), appartient au phylum des Myxozoa. Cette myxosporidie a été identifiée pour la première fois au Japon parasitant les écailles de *Mugil cephalus* qui appartient à la famille des Mugilidae.

Les Myxosporidies et les Microsporidies ont pendant longtemps, été regroupés avec les Actinomyxidies dans le sous embranchement des Cnidospora Dolfein, 1901 avant d'être séparés en deux embranchements différents grâce aux travaux de Grassé (1960). Elles sont toutes les deux caractérisées par la présence d'un système d'ancrage comprenant un tube polaire chez les Microspora et un filament polaire enroulé en spirale à l'intérieur des capsules polaires chez les Myxozoa. Bien que le filament polaire de Myxozoa ne joue pas le même rôle que le tube polaire des Microspora, une homologie structurale de leurs protéines pourrait être envisagée. C'est dans cette optique que nous avons essayé de mettre en évidence des protéines homologues entre le tube polaire des Microspora et le filament polaire des Myxozoa en utilisant des anticorps hétérologues PTP1, 2 ou 3 (Protéine du Tube Polaire) de *Encephalitozoon cuniculi*, contre des antigènes de *Myxobolus episquamalis*. Pour cela, nous avons procédé à des marquages en Immunofluorescence, en Western blot et en Microscope électronique à transmission (MET). Des anticorps polyclonaux anti-*M. episquamalis* ont été produits chez la souris et testés de la même façon. Les résultats montrent qu'en immunofluorescence, en utilisant des anticorps dirigés contre les PTP de *Encephalitozoon cuniculi* (EC102, anti-PTP1 / PTP2 et EC1b, anti-PTP3), un fort signal fluorescent associé au filament polaire de *M. episquamalis* visible sur toute sa longueur en microscopie optique au grossissement X 400 a été noté. Ceci traduit une bonne réaction croisée entre les protéines du filament polaire et ces anticorps.

Les immunomarquages réalisés en Western blot, montrent que ces anticorps utilisés contre les antigènes de *M. episquamalis*, marquent des protéines de ~ 50/55 kDa (EC102) et ~ 150 kDa (EC1b) ce qui suggère l'existence d'épitopes communs entre les protéines du tube polaire (PTP) de *E. cuniculi* et des protéines du filament polaire de *M. episquamalis*.

En microscopie électronique à transmission, la présence des particules denses au niveau des parois internes des capsules polaires ainsi qu' autour des coupes du filament polaire traduisent des réactions croisées entre les protéines de ces deux structures.

Mots clés: *Myxobolus episquamalis*, *Mugil cephalus*, filament polaire, tube polaire, immunofluorescence, immunomarquage, microsporidie, myxozoa.

¹Animal Biology Department, Faculty of Sciences and Technics, Cheikh Anta Diop University of Dakar, Senegal.

Corresponding author:

Malick Fall

1. Introduction

Myxosporidia Grassé, 1970 are parasites of poikilothermic vertebrates and invertebrates, especially fishes. (Markiw and Wolf 1983; Wolf and Markiw 1984) were the first to discover to *Myxobolus cerebralis* parasite of salmonid fishes, a tubificid annelids as alternate hosts in which the myxosporean undergoes a schizogony and a gamogony, the sporogony ends with a triactinospore. This indirect two-stage life cycle was described in different marine and fish farm species (Rangel and al. 2009, Koie and al. 2013, Eszterbauer and al. 2015). Since, it has been established that, there may be an obligatory or facultative invertebrate host in most, if not all, Myxozoan life cycle. The direct-transmission fish-to-fish was demonstrated for some marine species (Diamant 1997, Redondo and al. 2002, Yasuda and al. 2002). In these later cases, not spores, but the proliferative stages are responsible for the transmission of the disease.

According to Canning and al (2014) the cell organization is typically eukaryotic with nucleus, endoplasmic reticulum, mitochondria and Golgi apparatus. Centrioles are not involved in nuclear divisions.

The Myxozoans spores are made with three cell groups: valve spores, polar capsules and sporoplasm or infective stage generally with two nuclei, or two sporoplasms each is containing one nucleus. They can be coelozoic or histozoic. They are extracellular parasites even if intracellular stages were described by (Lom and Arthur 1989).

Polar capsules which are rarely present in somatic cells but omnipresent in spores are essentially characteristic of Myxozoans. Each polar capsule contains a coiled polar filament, which is everted to anchor the spore and allow the sporoplasm to emerge from the spores valves and enter into the host.

The similarities observed between the polar capsules of myxozoan and cnidocysts (nematocysts) of cnidarians led Weill, 1938 to consider myxozoan to be aberrant cnidarians. This hypothesis was supported by ultrastructural studies (Lom and de Puytorac, 1965, Lom, 1969). Phylogenetic analysis of the SSU-rDNA permitted to place Myxozoa within the Metazoa (Smothers and al. 1994, Siddall and al. 1995). Furthermore, other phylogenetic analyses provided evidence of a close relationship between Myxozoa and Cnidaria (Jimenez-Guri and al. 2007, Holland and al. 2011, Nesnidal and al. 2013, Feng and al. 2014).

Some of myxozoans can cause substantial mortalities in fishes. This is the case of *Kudoa thyrsites* that causes soft flesh syndrome in farmed atlantic *Salmo salar* and *Oncorhynchus kisutch salmon* in British Columbia (Whitaker and Kent; 1991, Kent and al, 1994); *Ceratomyxa shasta* a microscopic Myxosporean that parasite the afflicts salmonid fish of the Pacific northwest (Bartholomew and al, 1989); *Tetracapsuloides bryosalmonae* a causative agent of proliferative kidney disease in salmonids (Kumar and al. 2013).

The systematic of Myxosporidian is always made on the basis of morphoanatomical characteristics of the spore, cytological characters and rDNA gene sequence (eg. El-Matbouli and

Hoffmann 1998, Kent and al. 2011, Woo and al. 2014, Fiala and al. 2015). However, biochemical and immunological techniques are increasingly used to develop both a sensitive diagnostic test (Chase and al. 2001, Kikuchi and al. 2013, Estensoro and al. 2014).

All members of the *Myxobolus* genus possess one sporoplasm with two nuclei, two cell valves and two polar capsules each containing a coiled polar filament required for the attachment to the host and its invasion (Fall and al. 1997, Diamanka and al. 2008).

Several studies were performed on the microsporidian polar tube and to date three different PTPs (PTP1, PTP2 and PTP3) have been described in the microsporidian species infecting mammals *Encephalitozoon cuniculi* (Delbac and al. 1998, Delbac and al. 2001, Peuvél and al. 2002). Concerning the proteins of the polar filament of Myxozoa, few studies were realised.

Chase and al (2014) showed the presence of conserved epitopes of polar filaments of closely related species of *Kudoa*. F-actin was detected in the walls of the polar filament of *Myxobolus pseudodispar* (Uspenskaya and Raikova 2004). Ringuette and al (2011) showed a conservation of polar filament epitopes bands to *M. pendula* and 2 related cnidarians (the anthozoan, *Nematostella vectensis*, and the hydrozoan, *Hydra vulgaris*).

In our study, we demonstrated the ability of antibodies directed against microsporidian polar tube proteins to cross-react with polar filaments antigens from *Myxobolus episquamalis*, a myxosporean species infecting scales and fins of flathead mulland (*Mugil cephalus*) Then, we produced specific antibodies against *M. episquamalis* polar filament proteins migrating at 50-55 kDa and confirmed the staining of polar filament by immunofluorescent assay (IFA) and by immunogold labelling in transmission electron microscopy (TEM).

2. Materials and methods

2.1 Biological material

Mugil cephalus, (Linné 1758) is a very common fish of Senegalese coasts and displays a great adaptability which enables him to live in very diverse physicochemical characteristics areas: sea, lagoons, lakes and estuaries .It can host various parasites among them *M. episquamalis* belonging to the phylum of Myxozoa. *M. episquamalis* forms compact whitish masses on the distal part of the scales (Fig.1) modifying very appreciably the external texture of fish. Each cyst mass ovoid or spherical and is formed several microcysts visible under magnifying glass.

The parastized fish were caught in the Senegalese coasts and transferred to the parasitology laboratory of animal biology department to be sacrifice. Scales from infected fishes were crushed in PBS (Phosphate Buffer Saline) with a *Potter* homogenizer to release *M. episquamalis* spores. The spore pellet was then washed three times for five minutes in PBS, centrifuged at 20 800 x g, and stored at 4°C.

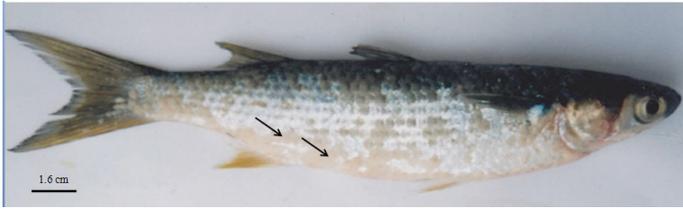


Fig. 1. Flathead mullet (*Mugil cephalus*) with numerous white cysts on its scales (arrows). These cysts contain mature spores of the myxosporean parasite *Myxobolus episquamalis*. Microcysts are 150-400 μm in length and form cystic masses of 7-9 mm x 5-6 mm.

2.2 Indirect immunofluorescence assays (IFA)

Spores of *M. episquamalis* (Fig.2) were smeared on circular cover glasses, lightly air dried and fixed with 100% methanol for 20 min at -80°C . Spores were permeabilized with PBS 0,5% Triton X-100 and saturated with PBS 5% skimmed milk. They were incubated with antibodies diluted at 1/100 in PBS 0,1% Triton X-100 for 1 hour. After washing with PBS 0,1% Triton X-100, they were incubated with a dilution of 1/1000 Alexa 488-conjugated goat anti-mouse IgG. Preparations were then examined with a DMR Leica epifluorescence microscope.

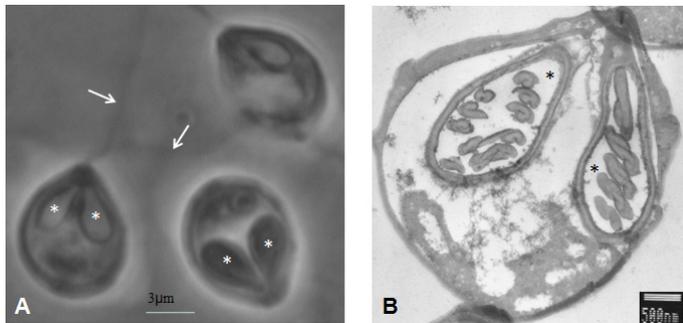


Fig. 2. Mature spores of *M. episquamalis* observed under light (A): X400 and transmission electron (B) microscope. Two polar capsules (asterisks) each containing a polar filament are present in the spores. These polar filaments can be extruded (arrows) from the capsules. Transmission electron microscopy revealed sections of the filament coiled inside each polar capsule

2.3 SDS-PAGE and Western blotting:

For SDS-PAGE and Western blotting, 6.10^7 spores of *M. episquamalis* were used to extract proteins. SDS-PAGE was performed using the method developed by (Laemli 1970). They were disrupted by 10 steps of freezing and thawing in liquid nitrogen and boiled for 15 min to solubilize proteins in a lysis buffer containing 2.5% SDS, 9 M urea and 100 mM DTT (Dithiothreitol). The proteins extract of *M. episquamalis* were separated by SDS-PAGE in denaturant conditions and transferred on polyvinyl difluoride (PVDF) membranes (Millipore). For immunological detection, membranes were saturated in PBS-milk 5% and incubated for 3 h with mouse antibodies (dilution 1:500) directed against polar tube proteins of the mammal microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*: Ec102 a monoclonal antibody reacting with both PTP1 and PTP2 (Delbac and al. 1998, 2001), and Ec1b a polyclonal antibody specific of PTP3 (Peuvel and al. 2002). After washing, membranes were reacted for 1 h with horseradish phosphatase alkaline-conjugated goat anti-mouse IgG (1:10,000 dilutions, Promega) and revealed by NBT-BCIP (Promega).

2.4 Antibody production

Polyclonal antibody (PAb) named M1 was produced in

SWISS mice from SDS-PAGE separated protein bands recognized by the *E. cuniculi* antisera Ec102. The animal house (agreement C63014.19) and the experimental staff (agreement 63-146) had been approved by the French Veterinary Services and experiments were conducted according to ethical rules. Coomassie-blue stained protein bands were excised and crushed in distilled water with a Potter homogenizer. Mice were injected intraperitoneally with samples homogenized with Freund's complete adjuvant for the first injection and Freund's incomplete adjuvant for the next injections (days 15, 21 and 28). Sera were collected 1 week after the last injection and stored at -20°C

2.5 Immuno-labelling in electronic microscopy

For immunogold labelling in transmission electron microscopy, *M. episquamalis* spores were fixed for 1 hour with 4 % paraformaldéhyde-0.1 % glutaraldéhyde in 0,1M cacodylate buffer, pH 7, 4. After infusion for 1h at room temperature in a 25% glycerol-5% DMSO (dimethylsulfoxide) mixture, the samples were frozen in pasty nitrogen. Ultracut ultramicrotome fitted with the low-temperature sectioning system FC4, were used to do ultrathin frozen sections (90 nm), using a dry sectioning device at -110°C . Sections were mounted on collodion-coated nicked grids and stored in PBS buffer prior to immunolocalization. After saturation for 1 hour with 1% ovalbumine in PBS, ultrathin sections were incubated for 3 hours with various dilutions (1:10 to 1:100) of the primary antibody (M1), then for 1 hour with a 1/100 dilution of goat anti-mouse IgG conjugated with 10 nm colloidal gold particles (Sigma). After washing, ultrathin sections were treated with a v/v mixture of methylcellulose /4% uranyl acetate for 10 minutes, and then observed with a JEOL 1200X transmission electron microscope.

3. Results

3.1. Diseases actions of *M.episquamalis*

M. episquamalis forms compact whitish masses on the distal part of the scales changing very appreciably the external appearance of the fish (Fig.1). Each cystic mass (7-9 mm x 5-6 mm) is ovoid or spherical and is formed of several microcysts (150-400 μm in length) containing *Myxobolus* spores. As described in the figure 2, the myxosporean species *Myxobolus episquamalis* is characterized by the presence of two valves spores, two polar capsules each containing a coiled polar filament and a sporoplasm with two nuclei.

3.2. Immunological cross-reactivity in immunofluorescence assay (IFA)

For detecting a cross reaction between protein polar filament of *M. episquamalis* and protein polar tube of *Encephalitozoon cuniculi* (Microsporidian), we first used the monoclonal antibody Ec102 directed against PTP1 (55 kDa) and PTP2 (35 kDa), of *E. cuniculi* and the polyclonal antibody Ec1b who reacted with a 150 kDa protein band corresponding to PTP3 of *E. cuniculi*. Interestingly, these antibodies produced a strong green fluorescent signal associated with the extruded polar filament of *M. episquamalis* what let suppose a cross-reaction between these antibodies and certain proteins of *M. episquamalis* in IFA (Fig. 3B and 3E). Two nuclei are visualized after DAPI staining (Fig.3C and 3F).

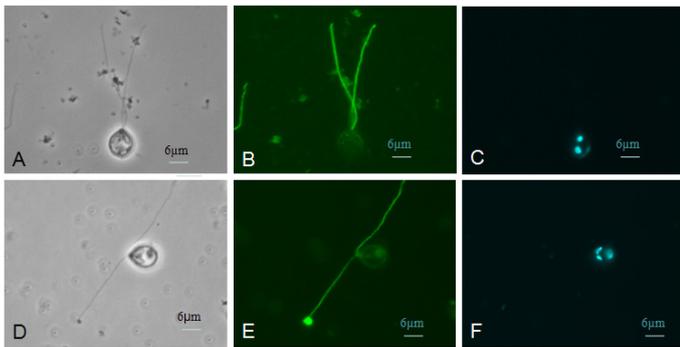


Fig. 3. Immunofluorescence (IFA) of *M. episquamalis* spores using Ec102 (A-C) and Ec1b (D-F) anti-polar tube protein antibodies (X200). Ec102 is a monoclonal antibody directed against *E. cuniculi* PTP1 and PTP2. Ec1b are polyclonal antibodies reacting with *E. cuniculi* PTP3. Both Ec102 (B) and Ec1b (E) cross-reacted with extruded polar filaments of *M. episquamalis*. A and D, phase contrast microscopy views; C and F, nuclei staining with DAPI.

3.3. Immunological cross-reactivity in Western blot

These antibodies were then used in Western blot against SDS-PAGE separated proteins of *M. episquamalis* (Fig.4). As shown in figure 4B, Ec1b mainly stained a protein band at ~150kDa whereas Ec102 labelled at least two protein bands migrating at 50-55 kDa in *M. episquamalis* protein lysates. We then injected the two bands around 50-55 kDa (see Fig.4A) to mice in order to produce antibody specific to *M. episquamalis* polar filament antigens. In IFA, the antiserum against the 50-55 kDa protein bands (M1 antibody) specifically reacted with the extruded polar filaments (Fig.4B), but not with polar filaments coiled within the polar capsules.

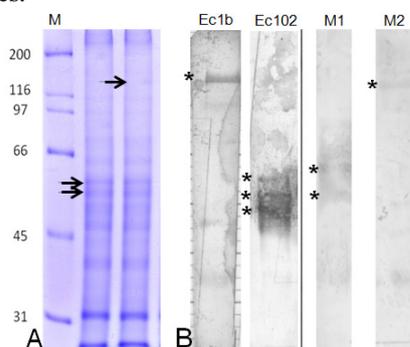


Fig. 4. SDS-PAGE (A) and immunoblotting (B) analysis of proteins from spores of *Myxobolus episquamalis* (12% polyacrylamide gel). A, In Coomassie-blue stained gel, arrows indicate the protein bands excised for mice immunization. B, In Western blot, protein bands reacting with antibodies are indicated by asterisks. The different antibodies correspond to Ec1b (anti-*E. cuniculi* PTP3), Ec102 (anti-*E. cuniculi* PTP1/PTP2), M1 (anti-50/55 kDa bands of *M. episquamalis*) and M2 (anti-150 kDa band of *M. episquamalis*). Sera were tested at 1:500 dilutions. M

3.4. Immunological cross-reactivity in microscopy electronic transmission (MET)

Immunolocalization experiments were also carried out at the ultrastructural level on thin sections *M. episquamalis* spores. As illustrated in figures 5C-D, electron-dense gold particles were distributed over cross sections of the intrasporal polar filament coiled within polar capsules and to the polar capsule walls.

4. Discussion

In the past, Myxosporidia were placed together with the Microsporidia in a new class of Protozoa called Cnidosporidia (reviewed in Lom, 1990. More recently, Microsporidia were reconsidered as fungal-related parasites (Thomarat and al. 2004) and Myxozoa as highly degenerate members of Cnidaria

(Jimenez-Guri and al. 2007, Holland and al. 2011, Nesnidal and al. 2013, Feng and al. 2014).

One of the character resemblances between these phyla is the presence of a polar filament/tube coiled inside the spore and having a role in the infection machinery. After discharge, the microsporidian polar tube is used to inject the infectious spore content within the host cell whereas the myxosporidian polar filament serves to anchor the parasite to the host cell tissue.

The chemical composition of the microsporidian polar tube was investigated in many species (reviewed in Weiss and al. 2014). Three main proteins referred to as PTP1, PTP2 and PTP3 were characterized in *Encephalitozoon cuniculi*, and orthologous proteins were then found in other microsporidian species. *E. cuniculi*, PTP1 (*i.e.* EcPTP1) is a proline-rich protein of 395-amino-acid in length, with a predicted molecular mass of 37 kDa and an acidic pI and characterized by the presence of 4 repeat units of 26 amino acids (Delbac and al. 1998); EcPTP2 is a 277-amino-acid basic protein, rich in lysine residues with a predicted molecular mass of 30 kDa (Delbac and al. 2001). EcPTP3 is a 1256-amino-acid protein, rich in glutamic acid, alanine, valine and lysine residues with a predicted molecular mass of 136 kDa (Peuvel and al. 2002). However, all these PTPs are subjected to post-translational modifications, including glycosylation, which increase their apparent molecular masses on electrophoresis gels as 55kDa for EcPTP1, 35kDa for EcPTP2 and 150 kDa for EcPTP3. Experiments using cross-linkers and yeast two-hybrid analysis revealed that these three PTPs can interact with each other during polar tube assembly, and this process would depend on disulfide linkages (Peuvel and al. 2002, Bouzahzah and al. 2010). PTP3 lacks cysteine residues whereas both PTP1 and PTP2 contain a high number of cysteines and have been shown to be solubilized in presence of high concentration of reducing agents. For these reasons, we used 100 mM DTT to solubilize the polar filaments of *M. episquamalis*. In particular, the myxosporidian protein bands migrating at 50-55 kDa (Fig. 4) and demonstrated to correspond to polar filament antigen(s) (Fig. 5) were only solubilized in presence of DTT, suggesting that disulfide bridges would also play an essential role in stabilizing myxosporidian polar filament components.

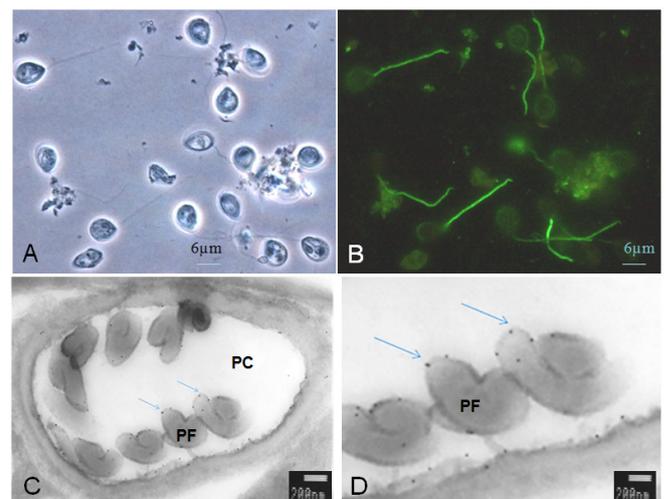


Fig. 5. Immunolabelling of *M. episquamalis* polar filaments in IFA (A-B) and transmission electron microscopy (C-D) using M1 antibodies directed against protein bands migrating at 50-55 kDa. In IFA, the extruded polar filaments are strongly labelled (B). A corresponds to phase contrast microscopy view. In electron microscope immunolabelling (C-D), gold particles are associated with the internal polar filament coiled inside a polar capsule (arrows). D corresponds to an enlargement of C. PF: Polar filament; PC: Polar capsule.

The molecular composition of the polar filament of Myxozoa is however more limited. Chase and al. (2001) generated several monoclonal antibodies (mAbs) against purified spores of *Kudoa thyrmites*, a myxozoan infecting muscle tissue of marine fishes. In immunofluorescence assays, the authors showed that two mAbs stained polar capsules and polar filaments of *K. thyrmites* and also cross-reacted with polar filaments of the closely related species *K. paniformis* and *K. crumena*. In Western blot, the mAb 3E8 specific of the polar filament reacted with protein bands of approximately 64 kDa in *K. thyrmites* and 90 to 120 kDa in *K. paniformis*, and to a doublet at 66 kDa in *K. crumena*. These cross-reactions argue for the presence of conserved epitopes between polar filament proteins of closely related species. Other components were also characterized, including F-actin that was detected in the walls of the polar filament of *Myxobolus pseudodispar* (Uspenskaya and Raikova, 2004). More recently, Ringuette and al (2001) generated a rabbit polyclonal antiserum (pAbMPPF) against the polar filament of the myxozoan *Myxobolus pendula*. In western blot, some major bands located at 35, 40, 42, 55, 70, 100, and 200 kDa were detected in *M. pendula* while a major band located at 40 kDa and 3 minor bands of 48, 70, and 130 kDa in size were detected in the closely-related species *M. bartai*. A cross-reactivity was also observed with protein bands at 15 and 165 kDa in the intestinal myxozoan parasite *Enteromyxum leei* (Estensoro and al. 2013). These results indicated once again a conservation of epitopes between myxozoan polar filament proteins. More interestingly, pAbMPPF cross-reacted in IFA with the polar filament of one type of nematocyst of the anthozoan *Nematostella vectensis* and the hydrozoan *Hydra vulgaris*, two related cnidarians. However, western blot analysis revealed an absence of immune-reactivity to nematocyst extracts, suggesting that this polyclonal antiserum recognized conformational epitopes. As preliminary data, Ringuette and al (2001) indicated that the proteins recognized by the polyclonal antiserum pAbMPPF contain glycine-rich hydrophobic domains with sequence similarity to spinalin. Spinalin is a 24-kDa glycine- and histidine-rich protein found in spines of *Hydra* nematocysts, with regions with partial homology to loricroins and keratins. Spinalin showed a high tendency to associate into dimers both *in vitro* and *in vivo* (Koch and al. 1998, Hellster and al. 2006).

In our study, we used two different antibodies directed against polar tube proteins of the mammal microsporidian *Encephalitozoon cuniculi*: the monoclonal antibody Ec102 that reacts with three *E. cuniculi* protein bands at 55 kDa (EcPTP1), 35 kDa (EcPTP2) and 28 kDa (undetermined protein) and the polyclonal antibody Ec1b that reacts with the 150 kDa EcPTP3. Immunofluorescent assays (IFA) using these antibodies revealed a strong fluorescence signal associated with extruded polar filaments of *Myxobolus episquamalis* spores, suggesting the existence of common epitopes between microsporidian PTPs and *M. episquamalis* polar filament antigens. In Western blot, Ec102 and Ec1b cross-reacted with antigens of sizes comparable to EcPTP1 and EcPTP3: ~50/55 kDa for Ec102 and ~150 kDa, for Ec1b. Some polar filament antigens with similar sizes (55 kDa in *M. pendula*, 120 kDa in *K. paniformis*) have been also reported in other myxosporean species (Chase and al. 2001, Ringuette and al. 2011). To confirm our results, we then produced specific mouse polyclonal antibody against

M. episquamalis antigens corresponding to two SDS-PAGE separated protein bands of 50-55 kDa in size recognized by the antisera Ec102. As expected, a specific labelling of the polar filament was observed by IFA and by immunogold staining in TEM (see figs. 4 and 5).

In conclusion, our study revealed immunological cross-reactivities between microsporidian PTPs and polar filament antigens from the myxosporean *Myxobolus episquamalis*, suggesting some conserved protein motifs between these antigens. However, no polar filament protein sequence with similarity to microsporidian PTPs has been identified so far. Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) search against the fully sequenced genomes of the Myxozoa *Thelohanellus kitauei* (Yang and al. 2014) and of two free cnidarians *Nematostella vectensis* (Putnam and al. 2007) and *Hydra magnipapillata* (Chapman and al. 2010, Steele, 2012) also failed to identify protein coding genes having homology with *E. cuniculi* PTP1 and PTP2. A possible strategy to characterize some *M. episquamalis* polar filament antigens at the molecular level would be to analyze by mass spectrometry the 50-55 kDa proteins after separation by one or two-dimensional gel electrophoresis, as it has been done for the identification of the *E. cuniculi* 55 kDa PTP1 (Delbac and al. 1998).

Acknowledgments

We would like to thank the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche du Sénégal through the FIRST «Fonds d'Impulsion à la Recherche Scientifique et Technologique».

Ethical approval: All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed.

REFERENCES

1. Bahri Sihem 1997 : Etude comparée de quelques Myxosporidies parasites de poissons Mugilidae de Méditerranée occidentale : aspects structuraux, biologiques et immunologiques. Thèse de Doctorat en Sciences biologiques, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II, 153 p.
2. Bouzahzah B., Nagajyothi F., Ghosh K., Takvorian P.M., Cali A, Tanowitz H.B., Weiss L.M. 2010: Interactions of *Encephalitozoon cuniculi* polar tube proteins. *Infect. Immun.* 78:2745-53.
3. Canning EU and Okamura B 2004: Biodiversity and Evolution of the Myxozoa. *Advances in Parasitology* Vol.56: 44-131.
4. Chase J.C., Booy M.H., Dawson-Coates J.A., Haddow J.D., Haines L.R., Whitaker D.J., Olafson R.W., Pearson T.W. 2003: Immunological detection of *Kudoa thyrmites* spores in muscle tissues of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 26:427-31.
5. Chase J.C., Dawson-Coates J.A., Haddow J.D., Stewart M.H., Haines L.R., Whitaker D.J., Ken M.L., Olafson R.W., Pearson T.W. 2001: Analysis of *Kudoa thyrmites* (Myxozoa: Myxosporea) spore antigens using monoclonal antibodies. *Dis. Aquat. Organ.* 45:121-9.
6. Delbac F., Peuvél I., Méténier G., Peyretailade E., Vivares C.P. 2001: Microsporidian invasion apparatus: identification of a novel polar tube protein and evidence for clustering of ptp1 and ptp2 genes in three *Encephalitozoon* species. *Infect. Immun.* 69:1016-24.
7. Delbac F., Peyret P., Méténier G., David D., Danchin A., Vivarès C.P. 1998: On proteins of the microsporidian invasive apparatus:

complete sequence of a polar tube protein of *Encephalitozoon cuniculi*. Mol. Microbiol. 29:825-34.

8. Diamanka A., Fall M., Diebakate C., Faye N., Toguebaye B.S. 2008: Identification of *Myxobolus episquamalis* (Myxozoa, Myxobolidae) in flathead mullet *Mugil cephalus* (Pisces, Teleostei, Mugilidae) from the coast of Senegal (eastern tropical Atlantic Ocean). Acta. Adriat. 49:19-23

9. Diamant A. 1997: Fish-to-fish transmission of a marine myxosporean. Dis. Aquat. Organ. 30:99-105.

10. El-Matbouli M., Hoffmann R.W. 1998: Light and electron microscopic study on the chronological development of *Myxobolus cerebralis* in *Tubifex tubifex* to the actinosporean stage triactinomyxon. Int. J. Parasitol. 28:195-217.

11. Estensoro I., Álvarez-Pellitero P., Sitjà-Bobadilla A. 2013: Antigenic characterization of *Enteromyxum leei* (Myxozoa: Myxosporidia). Dis. Aquat. Organ. 106:149-62.

12. Estensoro I., Redondo M.J., Álvarez-Pellitero P., Sitjà-Bobadilla A. 2014: Immunohistochemical characterization of polyclonal antibodies against *Enteromyxum leei* and *Enteromyxum scophthalmi* (Myxozoa: Myxosporidia), intestinal parasites of fish. J. Fish. Dis. 37:785-96.

13. Eszterbauer E., Atkinson S., Diamant A., Morris D., El-Matbouli M., Hartikainen H. 2015: Myxozoan Life Cycles: Practical Approaches And Insights. In B. Okamura, A. Gruhl, J.L. Bartholomew JI (Eds.), Myxozoan Evolution, Ecology And Development, Springer International Publishing Switzerland, Pp.175-198.

14. Fall M., Kpatcha K.P., Diebakate C., Faye N., Toguebaye B.S. 1997 : Observations sur des Myxosporidies (Myxozoa) du genre *Myxobolus* parasites de *Mugil cephalus* (Poisson, Téléostéen) du Sénégal. Parasite 2:173-180.

15. Fiala I., Bartosova-Sojkova P., Wipps C.M., Bartholomew J.L. 2015: Classification and phylogenetics of Myxozoa. In B. Okamura, A. Gruhl, Bartholomew J.L. (Eds), Myxozoan Evolution, Ecology and development, Springer International Publishing, Switzzland, pp. 85-110.

16. Feng J.M., Xiong J., Zhang J.Y., Yang Y.L., Yao B., Zhou Z.G., Miao W. 2014: New phylogenomic and comparative analyses provide corroborating evidence that Myxozoa is Cnidaria. Mol. Phylogenet. Evol. 81:10-8.

17. Foox J., Siddall M.E. 2015: The road to Cnidaria : history of phylogeny of the Myxozoa. J. Parasitol. 2015 Jan 26. (doi: 10.1645/14-671.1). Epub 2006 Jun 15.

18. Hellstern S., Standefeld J., Fauser C., Lustig A., Engel J., Holstein T.W., Ozbek S. 2006 Structure/function analysis of spinalin, a spine protein of Hydra nematocysts. FEBS J. 273:3230-7.

19. Holland J.W., Okamura B., Hartikainen H., Secombes C.J. 2011: A novel minicollagen gene links cnidarians and Myxozoans. Proc. Biol. Sci. 278:546-553.

20. Jimenez-Guri E., Philippe H., Okamura B., Holland P.W. 2007: Buddenbrockia is a cnidarian worm. Science 317:116-118.

21. Kaltner H., Stipl M., Knaus M., El-Matbouli M. 2007: Characterization of glycans in the developmental stages of *Myxobolus cerebralis* (Myxozoa), the causative agent of whirling

disease. J. Fish Dis. 30 :637-47.

22. Kent M.L., Andree K.B., Bartholomew J.L., El-Matbouli M., Desser S.S., Devlin R.H., Feist S.W., Hedrick R.P., Hoffmann R.W., Khattra J., Hallandt S.L., Lester R.J., Longshaw M., Palenzuela O., Siddall M.E., Xiao C. 2001: Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. J. Eukaryot. Microbiol. 48 :395-413.

23. Kikuchi Y., Ohnishi T., Furusawa H., Kawai T., Fukuda Y., Yokoyama H., Sugita-Konishi Y. 2013: ELISA detection of *Kudoa septempunctata* in raw *Paralichthys olivaceus* (olive flounder) using a chicken anti-Kudoa antiserum. Biocontrol Sci. 18:193-7.

24. Knaus M., El-Matbouli M. 2005: Characterisation of carbohydrate-binding sites in developmental stages of *Myxobolus cerebralis*. Parasitol. Res. 97:505-14.

25. Koch A.W., Holstein T.W., Mala C., Kurz E., Engel J., David C.N. 1998: Spinalin, a new glycine- and histidine-rich protein in spines of Hydra nematocysts. J. Cell Sci. 111:1545-54.

26. Køie M., Karlsbakk E., Einen A.C., Nylund A. 2013: A parvicapsulid (Myxozoa) infecting *Sprattus sprattus* and *Clupea harengus* (Clupeidae) in the Northeast Atlantic uses *Hydroides norvegicus* (Serpulidae) as invertebrate host. Folia Parasitol. 60:149-154.

27. Laemmli U.K. 1970: [Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.](#) *Nature* 227: 680-685.

28. Lom J. 1969: Notes on the ultrastructure and sporoblast development in fish parasitizing myxosporidian of the genus. *Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat.* 97:416-437.

29. Lom J. 1990: Myxozoa. In L. Margulis, J.O. Corliss, M. Melkonian, D.J. Chapman (Eds.) Handbook of the Protoctista; the structure, cultivation, habits and life histories of the eukaryotic microorganisms and their descendants exclusive of animals, plants and fungi, Jones and Bartlandt Publishers, Boston, pp. 36-52.

30. Lom J. and Arthur J.R. 1989: A guild line for preparation of species descriptions in Myxosporidia. Journal of Fish Diseases, 12: 151-156.

31. Lom J., de Puytorac P. 1965: Studies on the myxosporidian ultrastructure and polar capsule development. Protistologica 1:53-65.

32. Lom J., Dyková I. 2006: Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. Folia Parasitol. 53:1-36.

33. Lu Y.S., Nie P., Sun B.J. 2003: Dandection of *Myxobolus rotundus* (Myxozoa: Myxosporidia) in skin mucus of crucian carp *Carassius auratus auratus* using a monoclonal antibody. Dis. Aquat. Organ. 54:171-3.

34. MacKenzie K., Kalavati C. 2014: Myxosporidian parasites of marine fishes: their distribution in the world's oceans. Parasitology 141:1709-17.

35. Markiw M.E. and Wolf K. 1983: *Myxosoma cerebralis* (Myxozoa, Myxosporidia) ethiologic agent of Salmonid whirling disease requires Tubificid worm (Annelia: Oligochaeta) in its life cycle. *J. Protozool.* 30: 561-564.

36. Morris D.J., El-Matbouli M., Adams A. 2004: Extensive release of an antigen associated with the sporogonic stages of

- Myxobolus cerebralis* (Myxozoa: Myxosporaea) is dandected by a heterologous antibody raised to *Tandracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporaea). *Folia Parasitol.* 51:215-20.
37. Nesnidal M.P., Helmkampf M., Bruchhaus I., El-Matbouli M., Hausdorf B. 2013: Agent of whirling disease meands orphan worm: phylogenomic analyses firmly place Myxozoa in Cnidaria. *PLoS ONE* 8, e54576.
38. Okamura B., Gruhl A., Reft A.J. 2015: Cnidarian origin of Myxozoa. In: B. Okamura and al. (Eds.), *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*, Springer Intern Pub, Switzerland, pp. 45-68.
39. Peuvél I., Peyrand P., Méténier G., Vivarès C.P., Delbac F. 2002: The microsporidian polar tube: evidence for a third polar tube protein (PTP3) in *Encephalitozoon cuniculi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 122:69-80.
40. Putnam N.H., Srivastava M., Hellsten U., Dirks B., Chapman J., Salamov A., Terry A., Shapiro H., Lindquist E., Kapitonov V.V., Jurka J., Genikhovich G., Grigoriev I.V., Lucas S.M., Steele R.E., Finnerty J.R., Technau U., and Martindale M.Q., Rokhsar D.S. 2007: Sea anemone genome reveals ancestral eumandazoan gene repertoire and genomic organization. *Science* 317:86-94.
41. Rangel L.F., Santos M.J., Cech G., Székely C. 2009: Morphology, molecular data, and development of *Zschokkella mugilis* (Myxosporaea: Bivalvulida) in a polychaete alternate host. *J. Parasitol.* 95:561–569.
42. Redondo M.J., Palenzuela O., Rianza A., Macías Á., Álvarez-Pellitero P. 2002: Experimental transmission of *Enteromyxum scophthalmi* (Myxozoa), an enteric parasite of turbot *Scophthalmus maximus*. *J. Parasitol.* 88:482–488.
43. Redondo M.J., Cortadellas N., Palenzuela O., Alvarez-Pellitero P. 2008: Dandection of carbohydrate terminals in the enteric parasite *Enteromyxum scophthalmi* (Myxozoa) and possible interactions with its fish host *Psandta maxima*. *Parasitol. Res.* 102:1257-67.
44. Ringuette M.J., Koehler A., Desser S.S. 2011: Shared antigenicity between the polar filaments of myxosporaeans and other Cnidaria. *J. Parasitol.* 97:163-6.
45. Shpirer E., Chang E.S., Diamant A., Rubinstein N., Cartwright P., Huchon D. 2014: Diversity and evolution of myxozoan minicollagens and nematogalectins *BMC Evol. Biol.* 14:205.
46. Siddall M.E., Martin D.S., Bridge D., Desser S.S., Cone D.K. 1995: The demise of a phylum of protists: phylogeny of Myxozoa and other parasitic Cnidaria. *J. Parasitol.* 81:961-967.
47. Smothers J.F., von Dohlen C.D., Smith L.H. Jr, Spall R.D. 1994: Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. *Science* 265:1719-1721.
47. Steele R.E. 2012: The Hydra genome: insights, puzzles and opportunities for developmental biologists. *Int. J. Dev. Biol.* 56:535-42.
48. Thomarat F., Vivarès C.P., Gouy M. 2004: Phylogenetic analysis of the complete genome sequence of *Encephalitozoon cuniculi* supports the fungal origin of microsporidia and reveals a high frequency of fast-evolving genes. *J. Mol. Evol.* 59:780-91.
46. Timi J.T., Mackenzie K. 2015: Parasites in fisheries and mariculture. *Parasitology*.142:1-4.
50. Uspenskaya A.V., Raikova O.I. 2004: F-actin and beta-tubulin localization in the myxospore stinging apparatus of *Myxobolus pseudodispar* Gorbunova, 1936 (Myxozoa, Myxosporaea). *Tsitologiia* 46:748-54.
51. Weill R. 1938 : L'interprétation des Cnidosporidies et la valeur taxonomique de leurcnidome. Leur cycle compare à la phase larvaire des Narcomeduses Cuninides. *Trav. Station Zool. Wimereux* 13, 727–744.
52. Weiser J. 1985a: Phylum Myxozoa. In J.J. Lee, S.H. Hunter, E.C. Bovee (Eds.) *An Illustrated Guide to the Protozoa*. Allen Press. Lawrence, Kansas. pp. 384-392.
53. Weiser J. 1985b: Phylum Microspora. In J.J. Lee, S.H. Hunter, E.C. Bovee (Eds.) *An Illustrated Guide to the Protozoa*. Allen Press. Lawrence, Kansas. pp. 375-383.
54. Weiss L.M., Delbac F., Hayman J.R., Pan G., Dang X., Zhou Z. 2014: The Microsporidian Polar Tube and Spore Wall. In L.M. Weiss, J.J. Becnel (Eds) *Microsporidia: Pathogens of Opportunity*. Wiley-Blackwell. London, UK. pp. 261-306.
55. Wolf K., Markiw M.E. 1984: Biology contravenes taxonomy in the Myxozoa: New discoveries show alternation of invertebrate and vertebrate hosts. *Science* 225: 1449-1452.
56. Woo S.H., Seo J.S, Lee E.H. 2014: Discrimination and simultaneous detection of two myxozoan parasites belonging to genus *Thelohanellus* by multiplex polymerase chain reaction. *Vand. Parasitol.* 203:212-6.
57. Yang Y., Xiong J., Zhou Z., Huo F., Miao W., Ran C., Liu Y., Zhang J., Feng J., Wang M., Wang M., Wang L., Yao B. 2014: The genome of the myxosporaeon *Thelohanellus kitauei* shows adaptations to nutrient acquisition within its fish host. *Genome Biol. Evol.* 6:3182-98.
58. Yasuda H., Ooyama T., Iwata K., Tun T., Yokoyama H., Ogawa K. 2002: Fish-to-fish transmission of Myxidium spp. (Myxozoa) in cultured tiger puffer suffering from emaciation disease. *Fish Pathol.* 37:29–33.

CAPTIONS

Fig.1. Flathead mullet (*Mugil cephalus*) with numerous white cysts on its scales (arrows). These cysts contain mature spores of the myxosporaeon *Myxobolus episquamalis*. Microcysts are 150-400 µm in length and form cystic masses of 7-9 mm x 5-6 mm.

Fig.2. Mature spores of *M. episquamalis* observed under light (A) and transmission electron (B) microscope. Two polar capsules (asterisks) each containing a polar filament are present in the spores. These polar filaments can be extruded (arrows) from the capsules. Transmission electron microscopy reveals sections of the filament coiled inside each polar capsule.

Fig.3. Immunofluorescence (IFA) of *M. episquamalis* spores using Ec102 (A-C) and Ec1b (D-F) anti-polar tube protein antibodies. Ec102 is a monoclonal antibody directed against *E. cuniculi* PTP1 and PTP2. Ec1b are polyclonal antibodies reacting with *E. cuniculi* PTP3. Both Ec102 (B) and Ec1b (E) cross-reacted with extruded polar filaments of *M. episquamalis*. Sera were tested at 1:100 dilutions. A and D, phase contrast

microscopy views; C and F, nuclei staining with DAPI.

Fig.4. SDS-PAGE (A) and immunoblotting (B) analysis of proteins from spores of *Myxobolus episquamalis* (12% polyacrylamide gel). A, in Coomassie-blue stained gel, arrows indicate the protein bands excised for mice immunization. B, in Western blot, protein bands reacting with antibodies are indicated by asterisks. The different antibodies correspond to Ec1b (anti-*E. cuniculi* PTP3) and Ec102 (anti-*E. cuniculi* PTP1/PTP2). Sera were tested at 1:500 dilutions. M: molecular weight markers in kDa.

Fig.5. Immunolabelling of *M. episquamalis* polar filaments in IFA (A-B) and transmission electron microscopy (C-D) using M1 antibodies directed against protein bands migrating at 50-55 kDa. In IFA, the extruded polar filaments are strongly labelled (B). A corresponds to phase contrast microscopy view. In electron microscope immunolabelling (C-D), gold particles are associated with the internal polar filament coiled inside a polar capsule (arrows). D corresponds to an enlargement of C. Sera were tested at 1:100 and 1:10 dilutions in IFA (B) and TEM (C and D), respectively. PF: Polar filament; PC: Polar capsule.

PROPRIÉTÉS INSECTICIDES ET RÉPULSIVES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'*OCIMUM SANCTUM* L. ENVERS *DYSDERCUS VOELKERI* SCHMIDT (HETEROPTERA; PYRRHOCORIDAE)

N. A. Nadio^{1*}, W. P. Poutouli², P. Akantetou³, B. Laba¹, P. Tozou², M. E. Bokobana¹, K. Koba¹, C. Raynaud⁴, K. Sanda¹

RESUME

Dans le but de trouver des alternatives aux insecticides chimiques de synthèse pour la lutte contre un ravageur du cotonnier, nous avons évalué le potentiel insecticide et répulsif de l'huile essentielle d'*Ocimum sanctum* par contact sur les différents stades larvaires et les adultes de *Dysdercus voelkeri*. L'huile essentielle est extraite par hydrodistillation et caractérisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

L'analyse chimique a permis d'identifier la germacrène-D (25%), le β -caryophyllène (21,28%), le méthyl-eugénol (14,25%), l'eugénol (10,78%), le β -élémane (9,78%) et l'élémol (7,64%) comme composés majoritaires.

L'étude des propriétés insecticides de l'huile essentielle a montré une efficacité sur tous les stades de l'insecte. Ainsi à la concentration de 1 $\mu\text{L.L}^{-1}$, l'huile essentielle tout comme l'Emir® (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), insecticide de synthèse recommandé en culture cotonnière et utilisé comme témoin positif, a entraîné 100% de mortalité sur tous les stades larvaires et adultes. La valeur moyenne de CL_{50} de l'huile essentielle est plus faible sur les stades larvaires III, IV et sur les adultes comparée à celle obtenue avec l'Emir®, ce qui traduit une plus grande efficacité de l'huile essentielle.

Les résultats de cette étude ont montré que cette huile essentielle possède des propriétés insecticides et répulsives intéressantes contre ce ravageur à tous ses stades de développement et pourrait servir comme alternative aux pesticides chimiques de synthèse.

Mots clés: *Ocimum sanctum*, huile essentielle, insecticide, répulsif, *Dysdercus voelkeri*

ABSTRACT

In order to find alternatives to synthetic insecticides to control *Dysdercus voelkeri* a major pest of cotton, we investigated the insecticidal and repellent effects of *Ocimum sanctum* essential oil by contact on the various larval stages and the adults of *Dysdercus voelkeri*. The essential oil was obtained by steam-distillation, and chemically analysed by GC and GC-MS.

The main components of this essential oil were respectively germacrene-D (25%), β -caryophyllene (21.28%), methyl-eugenol (14.25%), eugenol (10.78%), β -elemene (9.78%) and elemol (7.64%).

The insecticidal properties of the investigated essential oil revealed suitable insecticidal activities on all stages of the insect. The use of 1 $\mu\text{L.L}^{-1}$ of essential oil and Emir® (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$) allowed 100% mortality on all larval stages and adults. The LC_{50} of essential oil were lower than that of Emir® on the larval stages III, IV and on the adults, revealing that essential oil was more effective than Emir®.

These findings showed that this essential oil have interesting insecticidal properties against this cotton pest and could be useful as alternative to the synthetic pesticides.

Key words: *Ocimum sanctum*, essential oil, insecticide, *Dysdercus voelkeri*

1. Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale, Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, BP. 20131, Lomé Togo

2. Laboratoire de Biologie Animale et de zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo.

3. Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA), BP 1163, Lomé, Togo.

4. Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, Arômes et Métrologie Senso-

rielle, UMR 1010, INP-ENSIACET, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, France

*Auteur correspondant, N° Tél. (00228)90891149, e-mail : nadiow@yahoo.fr

1. INTRODUCTION

Les végétaux sont en général attaqués par de très nombreux ravageurs de par le monde. Lorsque ces attaques concernent les plantes cultivées, l'agriculteur fait face à un problème autre que les facteurs édaphiques et climatiques. Celui-ci se trouve alors dans la nécessité de lutter contre ces ravageurs qui attaquent les plantes à tous les stades de leur développement, entraînant à des degrés divers, des dégâts

qui déprécient la valeur marchande des produits récoltés, des pertes de rendement et même des cas de famine dans le monde. Le cotonnier, une plante textile cultivée pour ses fibres et ses graines oléagineuses, attire beaucoup d'insectes ravageurs. Hargreaves (1948) a identifié en culture cotonnière, 482 espèces d'insectes en Afrique au sud du Sahara. Au Togo, cette culture constitue une source de croissance économique potentielle avec des répercussions positives sur les revenus des « cotonculteurs » et de l'Etat

(Gbakenou *et al.*, 2007), car c'est le principal produit agricole d'exportation pour le pays. Dans la sous-région ouest africaine, la commercialisation du coton constitue aussi la principale source de revenu monétaire, pour la plupart des cotonculteurs des zones de savanes humides ou sèches. C'est ainsi qu'au Burkina Faso, le coton est considéré comme une importante source de revenu pour 200 000 exploitants (Gnankiné *et al.*, 2007).

Parmi les facteurs entomologiques qui portent préjudice à la culture cotonnière, le genre *Dysdercus* (Hemiptera; Pyrrhocoridae) constitue, dans les régions favorables à cette culture, un facteur limitant de sa production (Pierrard, 1972). Les pertes totales attribuées aux insectes, varient de 30% dans les attaques les plus bénignes, à plus de 90% dans les conditions de parasitisme intense (Petiot, 2011).

Pour faire face à ces ravageurs, les producteurs ont recours aux insecticides chimiques de synthèse utilisés malheureusement en grande quantité et parfois même malgré leur prohibition (DDT, aldrine, endrine etc.). La Société de Fibres et Textiles du Burkina Faso (Sofitex, 2003) estimait en 2003 que 2,5 millions de litres d'insecticides étaient appliqués chaque année dans les champs de cotonniers au Burkina Faso. Au Togo, les insecticides chimiques de synthèse utilisés de nos jours pour lutter contre les ravageurs du cotonnier sont: la cyperméthrine contre les chenilles, le chlorpyrifos-éthyl contre les acariens, le chlorpyrifos-méthyl, le Deltaphos® (deltaméthrine + triazophos), l'acétamépride et l'Emir® (acétamipride + cyperméthrine) contre les piqueurs-suceurs, etc. (Akantétou *et al.*, 2012). L'Emir® est largement utilisé dans la protection du cotonnier contre divers ravageurs au Togo notamment les *Dysdercus*. Cet insecticide largement recommandé et utilisé en pulvérisation ULV (Ultra-low volume) contre les ravageurs sur tout le territoire peut se révéler très dangereux pour la santé de l'utilisateur, de l'environnement et même pour le consommateur car en Afrique, les cultures cotonnières sont souvent conduites en association avec les cultures vivrières. Comme l'ont signalé Deguine et Vaissayre (2000), les matières actives (monocrotophos, deltaméthrine, diméthoate...) utilisées contre les piqueurs suceurs ont une forte toxicité avec des risques non négligeables pour la santé humaine et pour l'environnement. En effet, suite aux cas de décès liés à l'utilisation des insecticides, les aspects toxicologiques concernant la santé humaine et l'utilisation des pesticides en Afrique Subsaharienne ont été discutés (Katary *et al.*, 2002). Selon cette étude, les taux de mortalité des personnes intoxiquées par l'endosulfan et par les organophosphorés étaient respectivement de 5,5 % et 65,22 %.

Au-delà du problème de santé publique, c'est celui de la résistance des ravageurs qui est préoccupant, obligeant les agriculteurs à augmenter progressivement les doses appliquées. Des cas d'intoxication de toutes natures sont observés chaque année dans nos pays suite à l'épandage non raisonné d'insecticides homologués ou prohibés (Bouguéra, 1988; Dümmler *et al.*, 1993). Cette situation dramatique interpelle tous les acteurs impliqués dans la protection des cultures.

Pour cela, il est urgent de rechercher et de promouvoir de

nouvelles pratiques phytosanitaires qui auraient pour effets, d'une part, l'obtention de produits agricoles de bonne valeur marchande, et d'autre part, le respect des concepts socio-écologiques de chaque écosystème en préservant ainsi à long terme notre environnement. C'est dans cette perspective que des recherches doivent être orientées vers les biopesticides comme certaines plantes aromatiques de la flore endémique possédant des propriétés insecticides et insectifuges. Ceci permettrait de valoriser celles-ci en contribuant à l'amélioration des pratiques phytosanitaires et à la réduction des risques qui leur sont associés. C'est dans cette perspective que nous avons choisi, pour le présent travail, d'évaluer les propriétés insecticides et répulsives de l'huile essentielle d'*Ocimum sanctum* L. sur *Dysdercus voelkeri*. Cette plante aromatique de la flore du Togo est traditionnellement utilisée comme insecticide, insectifuge et médicament (Chaumont *et al.*, 2001; Tchatcha, 2008).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel végétal et extraction de l'huile essentielle

La biomasse utile est constituée de feuilles et inflorescences d'*O. sanctum* récoltées sur la parcelle expérimentale de "l'Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (URASE)" de l'Université de Lomé au Togo.

Un échantillon de 50 g de feuilles et d'inflorescences séchées sous abri à la température du laboratoire (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) a servi pour l'extraction de l'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation pendant 1 heure à l'aide d'un dispositif en verre de type Clevenger (Clevenger, 1928). L'huile essentielle brute extraite a été conservée au réfrigérateur à 4°C dans des flacons en actinite hermétiquement fermés par des bouchons en caoutchouc et recouverts par du papier aluminium afin de la protéger contre l'effet de la lumière.

2.2 Méthodes d'analyse et identification des constituants de l'huile essentielle

L'analyse et l'identification des constituants de l'huile essentielle obtenue ainsi que la détermination de sa composition centésimale relative ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée et à la spectrométrie de masse (CPG-SM).

2.2.1 L'analyse des constituants de l'huile essentielle

Les analyses par CPG-FID ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe de type Hewlett- Packard 5890 série II, équipé d'une colonne capillaire apolaire: 50 m x 0,22 mm ; épaisseur du film: 1 µm, BPX-5 (polysilphélinène-siloxane, SGE). La température du four était programmée de 50°C à 150°C (3°C/min) et de 150°C à 240°C (5°C/min) puis maintenue en isothermie (5 min). La température de l'injecteur et du détecteur étaient respectivement de 280°C et 300°C. Les échantillons d'huile ont été injectés en utilisant un mode split/splitless (10/1) et l'hélium comme gaz vecteur (débit 1ml/min). La composition centésimale est calculée à partir de l'aire de chaque pic

chromatographique.

Un volume de 0,2µL d'huile essentielle diluée dans l'hexane dans une proportion de 5µL d'huile essentielle dans 1 ml de solvant hexane soit un facteur de dilution de 5‰ a été injecté manuellement.

Les analyses en CPG-SM ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard 5890 SERIE II couplé au spectromètre de masse de type Hewlett Packard 5971 SERIES. La colonne capillaire (SGE, BPX – 5 : 50 m x 0,22 mm; épaisseur du film:1 µm) était connectée à la source du spectromètre de masse. Les spectres de masse ont été enregistrés en mode scan à 70eV (35-350 amu). La température de la source était de 230°C. La programmation du four était la même que pour les analyses CPG-FID. Les échantillons d'huile ont été injectés en utilisant un mode split/splitless (10/1) et l'hélium comme gaz vecteur (débit 1ml/min). L'injection a été effectuée dans les mêmes conditions analytiques qu'en CPG-FID à savoir 0,2 µl d'échantillon d'huile essentielle diluée dans l'hexane à 5‰.

2.2.2 L'identification des constituants de l'huile essentielle

Les composés ont été identifiés (i) par la détermination de leur indice de rétention (RI) selon la série des *n*-alcane (C5-C18) et par comparaison aux bases de données de la littérature (Kondjoyan et Berdague, 1996), (ii) par recherche de correspondance de leur spectre de masse avec ceux de la bibliothèque de spectre Wiley 275 et NIST, 2005, (iii) par comparaison de leur spectre de masse avec ceux rapportés dans la littérature (McLafferty, 1994).

2.3 Tests biologiques

2.3.1 Dispositif expérimental

Les tests ont été réalisés *in vitro* dans les conditions de laboratoire suivant un dispositif complètement aléatoire. Deux types de produits ont été utilisés : l'huile essentielle d'*O. sanctum* et le produit chimique de synthèse (témoin positif : Emir® d'origine commerciale à 1 µg.l⁻¹, composé d'acétamipride 16g/L + cyperméthrine 72g/L. Pour l'huile essentielle d'*O. sanctum*, cinq concentrations ont été préparées: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1µl.L⁻¹. La dose zéro (0), constituée d'eau distillée, a servi de témoin absolu (contrôle). Pour chaque concentration, les tests ont été faits sur les différents stades de l'insecte placés dans des boîtes de Petri distinctes.

Les larves et adultes de *D. voelkeri* ont été capturées sur des plants de cotonniers (*Gossypium hirsutum*) dans une plantation expérimentale installée à la Station d'Expérimentation Agronomique de l'Ecole Supérieure d'Agronomie de l'Université de Lomé. L'infestation des plants de cotonniers par *D. voelkeri* était naturelle. Une fois prélevés, les larves et les adultes sont ramenés au laboratoire et laissés pendant 30 à 45 minutes (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) pour leur acclimatation avant la réalisation des bio-essais.

Les individus de chaque stade ont été traités séparément. En effet l'unité expérimentale est constituée par une boîte de Petri de 90 mm de diamètre contenant vingt (20) sujets (de chacun des stades larvaires testés (stades II, III et IV) et 20 adultes), en présence de graines et de morceaux de feuilles de cotonniers. Chaque objet ou traitement a été répété 5 fois.

Les bio-essais au laboratoire ont été effectués selon la méthode de contact direct entre produit et insecte. Les larves de stades II, III, IV et les adultes de *D. voelkeri* ont été utilisés séparément pour les différents tests de laboratoire car c'est à partir du stade larvaire II jusqu'au stade adulte que ces insectes créent beaucoup de dégâts sur leurs plantes hôtes.

Les solutions tests sont préparées chaque jour juste avant les tests, en diluant l'huile essentielle d'*O. sanctum* dans de l'eau distillée additionnée d'une petite quantité du Tween 80 comme émulsifiant à la dose de 0,1% non toxique pour les différents stades de l'insecte. Le témoin négatif est constitué d'eau distillée additionnée du Tween 80 à 0,1%. Ainsi, après avoir placé les insectes dans les boîtes de Petri, nous avons fait une application topique à l'aide d'une seringue, 40 µl de chaque produit sur chaque larve et les adultes et leur comportement était observé après 24 heures d'exposition. Les boîtes de Petri avec leurs contenus étaient placés dans les conditions de laboratoire (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) pour les différentes observations.

2.3.2 Détermination des taux de mortalité

Les taux de mortalité des insectes soumis aux différents produits à différentes concentrations, sont évalués 24 heures après la mise en contact. Une loupe binoculaire a été utilisée pour dénombrer les insectes morts. Un insecte est considéré comme mort quand il ne réagit plus à un contact à l'aide d'une aiguille légèrement chauffée et posée sur les parties sensibles comme les antennes. La mortalité est calculée et corrigée selon la formule d'Abbott (1925).

$$Mc = \frac{Me - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Mc = mortalité corrigée en pourcentage

Me = mortalité de l'échantillon testé

Mt = mortalité dans le témoin non traité

2.3.3 Analyse des résultats

Les résultats obtenus ont été analysés statistiquement au moyen du logiciel STATISTICA puis discriminés au test de Duncan au seuil de 5 %.

La concentration létale à 50 %, (CL₅₀) de chaque produit a été estimée, après 24 heures d'exposition des insectes aux différentes concentrations testées. Ces valeurs ont été déterminées à partir d'une courbe étalon donnant les variations de la mortalité en fonction des concentrations croissantes des produits.

2.3.4 Effet répulsif de l'huile essentielle sur papier filtre

L'effet répulsif de l'huile essentielle à l'égard des larves de stades II, III et IV et les adultes *D. voelkeri* a été évalué en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald *et al.* (1970). Ainsi, les disques de papier filtre Wattman n°2 de 9 cm de diamètre utilisés à cet effet ont été coupés en deux parties égales. Cinq concentrations d'huile essentielle ont été préparées (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1 µl.L⁻¹) par dilution dans l'acétone. Ensuite, 0,5 ml de chacune des solutions ainsi préparées a été répandue uniformément sur une moitié du disque tandis que l'autre moitié a reçu uniquement 0,5 ml d'acétone.

Après quinze minutes, temps nécessaire pour l'évaporation complète du solvant de dilution, les deux moitiés des disques ont été ressoudées au moyen d'une bande adhésive. Le disque de papier filtre ainsi reconstitué a été placé dans une boîte de Petri et un lot de 20 insectes a été introduit au centre de chaque disque. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque concentration.

Au bout de deux heures, le nombre d'insectes présents sur la partie de papier filtre traitée à l'huile essentielle (Nt) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement à l'acétone (Nc) ont été relevés. Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante de McDonald *et al.* (1970):

$$PR = \frac{Nc - Nt}{Nc + Nt} \times 100$$

Le pourcentage moyen de répulsion pour l'huile essentielle a été calculé et attribué selon le classement de McDonald *et al.* (1970) à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Analyse de l'huile essentielle

L'huile essentielle d'*O. sanctum* utilisée est incolore, obtenue à partir de la biomasse sèche des feuilles et des inflorescences avec un rendement de 1,8 % en masse. Les vingt-cinq composés identifiés représentent 98,32% des composés détectés. Le germacrène-D (25%), le β-caryophyllène (21,28%), le méthyl-eugénol (14,25%), l'eugénol (10,78%), le β-élémane (9,78%) et l'élémol (7,64%) sont les composés majoritaires (Tableau I).

L'huile essentielle d'*O. sanctum* analysée au cours de ce travail est constituée accessoirement d'hydrocarbures monoterpéniques (1,11%) avec quatre composés identifiés. Elle contient aussi trois monoterpènes oxygénés (1,19%). La composition chimique de cet échantillon d'huile essentielle est différente de celles précédemment décrites par Chaumont *et al.* en 2001 au Togo avec le méthyl-eugénol (74,5%), l'estragole (7,4%), le 1,8-cinéole (6,2%) et l'α-farnésène comme composés majoritaires. Elle est également différente de celle décrite par Vioch *et al.* (2006) en Thaïlande avec l'eugénol (41,5%), le γ-caryophyllène (23,7%) et le méthyl-eugénol (11,8%) comme composés

majoritaires. Enfin, la composition chimique de l'huile essentielle d'*O. sanctum* diffère aussi de celle analysée par Khan *et al.* en 2010 en Inde avec comme composés majoritaires le méthyl-chavicol (44,6%) et le linalol (21,8%). L'essence décrite dans ce travail présente aussi une grande différence avec celle décrite en Inde par Rao *et al.* (2011) avec le méthyl-eugénol (72,5%) comme seul composé majoritaire et diffère de celle décrite par Padalia et Verna en 2011, en Inde, dans laquelle les principaux composés sont l'eugénol (67,4%), le β-élémane (11,0%), le β-caryophyllène (7,3%) et le germacrène-D (2,4%).

De telles différences de composition de l'huile essentielle d'*O. sanctum* du Togo par rapport à celles décrites dans la littérature pourraient s'expliquer par les conditions de culture de la plante, la période de récolte, les conditions climatiques, édaphiques, les techniques d'extraction et de conservation de l'huile essentielle avant son analyse chromatographique (Dabire *et al.*, 2011 ; Yayi-Ladekan *et al.*, 2011). Les chimiotypes sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles. Pour une espèce végétale donnée, la proportion des différents constituants peut varier de façon importante au cours du cycle végétatif de la plante. L'impact des facteurs de l'environnement (température, humidité relative, durée d'insolation, etc.) et les techniques culturales (apport d'engrais) pour les espèces cultivées peuvent également intervenir dans la composition chimique des huiles essentielles ; leurs composants chimiques peuvent varier même si elles appartiennent à la même zone géographique. Les plantes utilisées par Chaumont *et al.* (2001) proviennent de la Région des Plateaux tandis que celles que nous avons utilisées pour l'extraction sont cultivées dans la station expérimentale agronomique de l'Université de Lomé (Région maritime).

La prise en compte des conditions de cultures, de récolte, de traitement de la biomasse avant l'extraction de l'huile essentielle et celles de sa conservation avant les analyses pourraient garantir la stabilité de sa composition chimique.

3.2- Tests biologiques

3.2.1- Sensibilité des larves et adultes de *D. voelkeri* à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Les résultats sur l'évolution des taux de mortalité cumulés et corrigés des larves et adultes de *D. voelkeri* en fonction de la dose des produits testés ont été consignés dans le Tableau II. Les taux de mortalité de chaque stade augmentent avec la concentration d'huile essentielle dans la solution test.

- Sensibilité des larves de stade II et III à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Au contact d'une goutte (40 µl) d'huile essentielle de 1 µl.L⁻¹ ou d'une goutte d'Emir® (1 µg.L⁻¹), les larves des stades II et III se sont immobilisées immédiatement et dans la plupart des cas, la mort s'en est suivie aussitôt. Dans de rares cas cependant, des larves ont continué d'agiter leurs antennes et pattes avant la survenue définitive de la mort. Les doses de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8 µl.L⁻¹ ont induit respectivement des taux de mortalité de 16,61 ; 33,34 ; 53,32 ; 68,31% pour les larves de stade II et 16,60 ; 31,64 ;

Tableau I: Composition chimique de l'huile essentielle d'*O. sanctum* acclimaté au Togo

Composés identifiés	Indices de rétention calculés	Indices de rétention selon Adams, 2001	Aires des pics [%]	Identification
Monoterpènes			1,11	
α -thujène	935	930	0,12	SM ^a , IR ^b
α -pinène	990	979	0,15	SM, IR
α -phellandrène	1033	1010	0,27	SM, IR
α -terpinène	1019	1017	0,57	SM, IR
Monoterpènes oxygénés			1,19	
terpinéol-4	1180	1071	0,40	SM, IR
pipéritone	1253	1260	0,53	SM, IR
thymol	1290	1307	0,26	SM, IR
Phenylpropanoïdes			25,03	
eugénol	1359	1353	10,78	SM, IR
methyl-eugénol	1408	1404	14,25	SM, IR
Sesquiterpènes			60,91	
β -élémane	1391	1387	9,78	SM, IR
β -caryophyllène	1425	1420	21,28	SM, IR
germacrène D	1487	1485	25,00	SM, IR
β -selinène	1493	1490	1,44	SM, IR
δ -cadinène	1645	1623	1,54	SM, IR
α -cubébène	1351	1355	0,25	SM, IR
β -cubébène	1388	1386	0,55	SM, IR
β -bisabolène	1506	1503	0,79	SM, IR
(E)- γ -bisabolène	1515	1510	0,28	
Sesquiterpènes oxygénés			10,08	
élémol	1550	1518	7,64	SM, IR
Endo-1-banbonalol	1561	1563	0,28	SM, IR
Carryophyllène oxyde	1583	1579	0,31	SM, IR
γ -eudesmol	1638	1632	0,26	SM, IR
β -eudesmol	1651	1658	0,43	SM, IR
α -eudesmol	1654	1643	0,37	SM, IR
Acide benzène-1,2-dicarboxylique	1828	1823	0,79	SM, IR
Total identifié (%)			98,32	

^a: identification basée sur l'indice de rétention,

^b: identification basée sur la comparaison des spectres de masse

46,62 ; 65,03 % pour les larves de stade III.

L'huile essentielle d'*O. sanctum* et l'Emir® ont occasionné respectivement à 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ et 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 100% de mortalité des larves.

- Sensibilité des larves de stade IV à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Les larves de ce stade ont été moins sensibles à l'huile essentielle aux concentrations de 0,2 et 0,4 $\mu\text{l.L}^{-1}$, montrant des mortalités respectives de 13,35% et 28,37%. Aux

concentrations plus élevées (0,6 et 0,8 $\mu\text{l.L}^{-1}$) les taux de mortalité ont atteint 43,3% et 60 %. La mortalité totale a été également obtenue pour l'huile essentielle d'*O. sanctum* et l'Emir® respectivement à 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ et 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$

- Sensibilité des adultes de *D. voelkeri* à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Le contact d'une goutte (40 μl) d'huile essentielle de 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ sur les adultes a provoqué certes, leur immobilisation avant la mort mais cela n'a pas été instantané. Par rapport aux larves, les taux de mortalité ont été faibles. Nous avons obtenu pour les

concentrations de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8 $\mu\text{L.L}^{-1}$ respectivement des taux de mortalité de 11,68 ; 26,61 ; 38,39 et 51,46 %.

(0,536 $\mu\text{L.ml}^{-1}$) et le stade adulte le moins sensible avec une moyenne de CL_{50} très élevée (0,627 $\mu\text{L.ml}^{-1}$).

Tableau II: Activité insecticide de l'huile essentielle d'*O. sanctum* sur les différents stades de développement de *D. voelkeri* après 24 heures

Stades de l'insecte	Taux de mortalité après 24 h (%)					
	Concentrations ($\mu\text{L.L}^{-1}$)					
	0,2	0,4	0,6	0,8	1	Emir*
II	16,61±2,3	33,34±2,3	53,32±2,3	68,31± 2,3	100 ±0,0	100 ±0,0
III	16,60±2,3	31,64±2,3	46,62±2,3	65,03±2,3	100 ±0,0	100 ±0,0
IV	13,35±2,3	28,37±2,3	43,33±2,3	60,20±4,1	100 ±0,0	100 ±0,0
Adulte	11,68±2,3	26,61±2,3	38,39±2,3	51,46±2,3	100 ±0,0	100 ±0,0

* Emir® (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$)

3.2.2- Les concentrations létales à 50% (CL_{50}) des deux produits sur les différents stades de l'insecte

Les CL_{50} de l'huile essentielle ont été plus faibles sur les trois derniers stades des insectes par rapport à celles de l'Emir®; donc l'huile essentielle a été plus efficace. Par contre, sur les larves de stade II, la moyenne des CL_{50} de l'huile essentielle a été plus élevée (0,536 $\mu\text{L.l}^{-1}$) que celle de l'Emir® (0,520 $\mu\text{L.l}^{-1}$) (Tableau III).

Dans l'ensemble, nous pouvons conclure que l'action insecticide de l'huile essentielle d'*O. sanctum* à faible dose a été moindre sur les insectes adultes que sur les larves. Les individus adultes sont plus résistants que les différents stades larvaires.

L'huile essentielle d'*O. sanctum* possède des propriétés insecticides sur tous les stades larvaires et sur les adultes de *D. voelkeri*. Cependant, cette action a varié en fonction de la concentration. Ceci pourrait s'expliquer par la présence dans cette huile essentielle, de composés alcooliques et cétoniques qui ont la propriété de dissoudre les téguments protecteurs des insectes (Agossou, 2001; Sanda *et al.*, 2006). L'action de cette huile essentielle serait due à ses propriétés dissolvantes qui pourraient être attribuées à ses composés majoritaires que sont le Germacrène-D (25,00%) et le β -Caryophyllène (21,28%). L'huile essentielle d'*O. sanctum* a été potentiellement insecticide comme l'Emir®. Les deux constituants majoritaires dans l'huile essentielle d'*O. sanctum* sont des molécules actives et volatiles qui agiraient par contact sur les téguments des insectes. Cependant, nous n'excluons pas l'effet synergiste éventuel des autres constituants minoritaires de cette huile essentielle car les effets toxiques de l'eugénol (10,78%), du β -élémane (9,78%), du méthyle eugénol (14,25%) et de l'élémol (7,6%) sur les insectes méritent d'être recherchés pour déterminer leur effet respectif sur les différents stades du ravageur.

L'analyse de la variance et la discrimination des résultats au test de Duncan au seuil de 5 % ont montré qu'il y a eu des différences significatives entre la sensibilité des différents stades de l'insecte face aux différents produits testés.

La sensibilité de *D. voelkeri* à l'huile essentielle a été fonction de l'âge de l'insecte c'est-à-dire de son stade, le stade II ayant été le plus sensible avec une moyenne des CL_{50} très faible

La plus grande sensibilité de la larve de stade II s'expliquerait par sa fragilité du point de vue constitution tégumentaire, les adultes ayant un tégument plus coriace.

Tableau III: Moyennes des CL_{50} des différentes substances testées sur les différents stades de développement de *D. voelkeri*

Stades de développement de l'insecte	CL_{50} des différentes substances testées ($\mu\text{L.L}^{-1}$)	
	HE <i>O. sanctum</i>	Emir®
II	0,536a	0,520a
III	0,568b	0,570b
IV	0,590c	0,604c
Adulte	0,627d	0,631d

A l'intérieur d'une même colonne, les moyennes affectées d'une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre elles (test de Duncan, $p \leq 0,05$)

3.2.3 Effet répulsif de l'huile essentielle

Les résultats du tableau IV montrent que l'huile essentielle a un effet répulsif modéré sur les larves de stade II avec un pourcentage moyen de répulsion de 45% correspondant à la classe III selon McDonald *et al.* (1970). Ce tableau indique un effet répulsif sur les larves des stades III et IV avec respectivement des pourcentages de répulsion de 69,6 et 79% qui correspondent à la classe IV. Enfin l'huile essentielle a un effet très répulsif sur les individus adultes avec un pourcentage moyen de répulsion de 84,6% ce qui permet de la ranger dans la classe V. D'une manière générale, cette huile essentielle a des propriétés répulsives sur les individus des différents stades de développement de *D. voelkeri* et cet effet est plus marqué sur les stades âgés. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les larves de stades II étant encore plus jeunes, tous leurs organes sensoriels ne sont pas encore complètement développés par rapport aux adultes. Des études réalisées sur d'autres ravageurs de cultures ont démontré les propriétés répulsives de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* notamment sur les pucerons *Aphis gossypii* et les charançons du maïs *Sitophilus zeamais* (Bokobana *et al.*, 2014; Laba *et al.*, 2015). Bowers *et al.*, (1993) ont identifié la pipéritone comme constituant majoritaire de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* et que ce constituant a une activité répulsive sur les fourmis du genre *Crematogaster* (Hymenoptera). D'autres huiles essentielles se sont révélées répulsives comme les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*, d'*O. canum*, du *Thuya*

Tableau IV:

Stades de développement de l'insecte	Pourcentage de répulsion après 2 h d'exposition (%)					Répulsivité moyenne (%°)	Classe	Effet de la substance testée
	Concentrations ($\mu\text{L.L}^{-1}$)							
	0,2	0,4	0,6	0,8	1			
II	35	40	45	50	55	45	III	Modérément répulsif
III	60	65	70	75	78	69,6	IV	répulsif
IV	70	78	80	82	85	79	IV	répulsif
Adulte	80	82	85	87	89	84,6	V	Très répulsif

plicata contre les termites (Grace *et al.*, 1994 ; Songai 2008) et celle de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les *Acanthoscelides obtectus* (Ndomo *et al.*, 2009).

4. CONCLUSION

La présente étude a permis d'évaluer les activités insecticide et répulsive de l'huile essentielle d'*O. sanctum* sur différents stades de développement de *D. voelkeri*. Elle a révélé que l'huile essentielle possède des propriétés insecticides intéressantes en laboratoire sur les différents stades du ravageur tout comme l'Emir®. Nos investigations ont aussi mis en évidence un effet répulsif plus marqué sur les adultes que sur les trois stades larvaires testés. Ces résultats pourraient trouver leur application dans la lutte contre *Dysdercus* spp au Togo et dans la sous région ouest africaine où sévit le ravageur. Mais d'autres études plus poussées méritent d'être entreprises pour déterminer la nature de l'activité des différents composés de cette huile essentielle car leur proportion dans l'huile essentielle entière est non négligeable et la détermination de conditions optimales d'utilisation à grande échelle.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**, 265-267.
- Adams R.P., 2001. Identification of essential oil components by gaz chromatography /quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, Illinois, Allured Publishing Corporation. p 2-8.
- Agossou A.B., 2001. Evaluation comparatives des effets pesticides de plantes locales: *Cymbopogon schoenanthus* L., *Jatropha curcas* L et *Ocimum gratissimum* L. sur des ravageurs du chou: *Plutella Xylostella* (Lepidoptera; Yponomeutidae) et *Aphis Spiraecola* (Homoptera; Aphididae). Mémoire de fin d'études agronomiques. ESA-UL. Lomé, 52p.
- Akantetou P.K., Koba K., Poutouli W.P., Laba B., Ayéva B., Bonfoh B. et Sanda K., 2012. Niveau d'infestation des populations d'*Aphis gossypii* Glover (Homoptera; Aphididae) en culture cotonnière au Togo. *Cam. Jor. Biol. Bioch. Sc.*, **20**, 30-41.
- Bouguera M. L., 1988. Chimie et développement ACCT Paris, 307p.
- Bokobana M., Koba K., Poutouli W. P., Akantetou P. K., Nadio N. A., Laba B., Tozoo P., Raynauld C., Sanda K., 2014. Evaluation du potentiel insecticide et répulsif de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. sur *Aphis gossypii* Glover (Homoptera :Aphididae), ravageur du cotonnier au Togo. *Revue Cames*. **02** (02) :48-55
- Bowers W. S., Ortego F., You X., Evan P. H., 1993. Insect repellents from in Chinese pinkly ash *Zanthoxylum bungeanum*. *Journal of National products* (6): 935-938.
- Chaumont J.P., Mandin D., Sanda K., Koba K. et de Souza C. A., 2001. Activités antimicrobiennes in vitro de cinq huiles essentielles de Lamiacées togolaises vis-à-vis des germes représentatifs de la microfaune cutanée. *Acta. Bot. Gallica.*, **148**(2), 93-101.
- Clevenger J.F., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **17**, 336-341.
- Dabire C, Nebie R.H.C., Belanger A., Nacro M., et Sib F.S., 2011. Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **5**(3): 1082-1095.
- Deguine J-P, Vaissayre M., 2000. Proposition pour une gestion durable des populations de puceron, d'aleurodes chez les petits producteurs de coton africain. Acte de la Réunion Phytosanitaire Coraf – Réseau Coton. 22-25 Février 2000 Lomé (Togo) 209-218.
- Dümmler C., Schwab A., Jäger-Mischke I., Thiam A., Stoll G., Görden R. et Prexler-Schwab S., 1993. Pesticides et agriculture tropicale. Dangers et alternatives. Edition PAN/CTA. Weikersheim, 281p.
- Gbakenou K.I., Akantetou K.P., Tokoro A., Bolowa A., Tchagodomou O., Toky P., Ayéva B., Djagni K.K., 2007. Situation sur les principales cultures de rente du Togo: coton, café, cacao et noix de coco. *Rapport Annuel ITRA*, 9-33.

- Gnankiné O., Traoré D., Sanon A. Traoré N. S. et Ouedraogo A. P.**, 2007. Traitements insecticides et dynamique des populations de *Bemisia tabaci* Gennadius en culture cotonnière du Burkina Faso. *Cahiers d'Agricultures*. **16** (2), 101-109.
- Grace J. K. and Yamamoto R. T.**, 1994. Natural resistance of Alaska-cedar, redwood, and teak to Formosan subterranean termites. *Forest Prod. J.* **44**(3): 41-45.
- Hargreaves E.**, 1948. List of Recorded Cotton insects of the world. *Ed. Commonwealth Institute of Entomology*. London. 50p.
- Katary A., Prudent P. & Djihinto C. A.**, 2002. La gestion de la résistance de *H. armigera* au pyréthrinoides au Bénin et les programmes de protection du cotonnier dans ce pays, résultats de la campagne 2001/2002 et bilan de la stratégie actuelle. Acte de la quatrième réunion-bilan du PR-PRAO, 9 au 12 /04/ 2002, Cotonou (Bénin). pp 42-72
- Khan A., Ahmad A., Akhtar F., Yousuf S., Xess I., Khan L.A. and Manzoor N.**, 2010. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res. Microbiol.*, **161**(10), 816-23.
- Kondjoyan N. and Berdage J.L.**, 1996. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Edition Laboratoire Flaveur, Station de Recherche sur la viande, INRA de Theix, St Genes Champanelle, France. 234 p.
- Laba B., Koba K., Poutouli W., Akantetou P., Bokobana M. E., Tozou P., Nadio N. A., Raynaud C., Sanda K.**, 2015. Evaluation des propriétés insecticides et insectifuges de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (Poaceae) contre les adultes de *Sitophilus zeamais* (Mostch) (Coleoptera: Curculionidae). (*Sous presse Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences*).
- Lagière R.**, 1966. Le cotonnier: Techniques Agricoles et Protections Tropicales. Maisonneuve et Larose 11 PARIS, 305 p.
- McLaferty F.W.**, 1994. The Wiley Registry of Mass Spectral Data; 6th ed. Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM, version 3.10., Newfield.
- McDonald L.L., Guy R.H. & Speirs R.D.**, 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. *Marketing. Res. Rep.* n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric., 183 p.
- National Institute of Standards and Technology**, 2005. PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH, Mass Spectra Library. Perkin-Elmer Corp: Norwalk, CT.
- Ndomo A.F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F. M.**, 2009, Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*. **27** (3): 137-143
- Padalia R.C., Verma R.S.**, 2011. Comparative volatile oil composition of four *Ocimum* species from northern India. *Nat. Prod. Res.*, **25**(6), 569-75.
- Petiot E.**, 2011. Soigner les plantes par les huiles essentielles, végétales et minérales. Edition de Terran. France. 135 p
- Pierrard G.**, 1972. Le contrôle de *Dysdercus volkeri* Schmidt défini par l'acquisition de connaissances de la biologie de l'insecte et de ses dégâts. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat de Gembloux, Belgique, 135 p.
- Rao B.R., Kotharia S.K., Rajput D.K., Patel R.P. and Darokar M.P.**, 2011. Chemical and biological diversity in fourteen selections of four *Ocimum* species. *Nat. Prod. Commun.*, **6**(11), 1705-10.
- Sanda K., Koba K., Poutouli W., Idrissou N. and Agossou A.B.**, 2006. Pesticidal properties of *Cymbopogon schoenanthus* against the Diamondback Moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera; Hyponomeutidae). *Discov. Innov.*, **18**(3), 212-217.
- Sofitex**, 2003. Rapports techniques sur la campagne agricole cotonnière mars-avril 2003, Bobo-Dioulasso. Burkina-Faso.
- Songaï M. S.**, 2008. Etude du potentiel insecticide des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* L. et d'*Ocimum canum* Sims sur *Trinervitermes germinatus* Wasmann et *Macrotermes subhyalinus* Rambur (Isoptère:Termitidae). Memoire d'Ingénieur Agronome, Université de Lomé, p. 50.
- Tchatcha K.**, 2008. Propriétés insecticides des huiles essentielles d'*Acrocalymma pubescens* Benth, *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng, *Ocimum sanctum* L. sur *Dysdercus . volkeri* Schmidt. Mémoire de DEA/ESA/UL, 55p
- Viyoch J., Pisutthanan N., Faikreua A., Nupangta K., Wangtorpol K. and Ngokkuen J.**, 2006. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*. *Int. J. Cosmet. Sci.*, **28**(2), 125-33.
- Yayi-Ladekan E., Kpoviessi D.S.S., Gbaguidi F., Kpadonou-Kpoviessi B. G. H., Gbenou J., Jolival C., Moudachirou M., Accrombessi C.G., Quetin-Leclercq J.**, 2011. Variation diurne de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims cultivé au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **5**(4), 1462-1475.

