

# ACTES DU SYMPOSIUM

TECHNOLOGIES & INNOVATIONS AGRICOLES: SOLUTIONS  
INTELLIGENTES FACE AU CLIMAT POUR LA TRANSFORMATION DES  
SITUATIONS D'URGENCE ET DE POST URGENCE

## Symposium Proceedings

AGRICULTURAL TECHNOLOGIES & INNOVATIONS: CLIMATE-SMART  
AGRICULTURE FOR TRANSFORMATION IN POST AND CURRENT EMERGENCIES



**TARSPro**  
Technologies et Innovations Agricoles pour  
l'Accroissement des Productivités et la Transformation de la Production  
et des Exploitations Familiales en Afrique de l'Ouest et du Centre.

Par CORAF



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Swiss Agency for Development  
and Cooperation SDC



INSTITUT NATIONAL DES  
RECHERCHES AGRICOLES DU BENIN  
MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'ELEVAGE ET DE LA PÊCHE

# Table des matières

## ARTICLES EN FRANÇAIS

<b>PRÉFACE.....</b>	<b>3</b>
<b>THÈME 1: AGRICULTURE INTELLIGENTE FACE AU CLIMAT .....</b>	<b>7</b>
• Espèces aquacoles et stratégies de promotion de l'aquaculture au Benin : une revue.	7
<b>THÈME 2 : NUISIBLES ET MALADIES / PEST AND DISEASE .....</b>	<b>17</b>
• Sensibilité des variétés d'anacardiers ( <i>Anacardium occidentale</i> ) « pomme jaune » et « pomme rouge » au foreur de tiges, <i>Apate terebrans</i> (Coleoptera : Bostrichidae), en Côte d'Ivoire .....	17
• Efficacité des extraits des aqueux de <i>Thevetia peruviana</i> et de <i>Tephrosia vogelii</i> dans le contrôle d' <i>Aphis craccivora</i> et de <i>Megalurothrips sjostedti</i> sur le niébé au Tchad.....	29
• Distribution Spatio-Temporelle des Cochenilles Farineuses Vectrices de la Maladie du Swollen Shoot du Cacaoyer au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire .....	40
<b>THÈME 4 : POST-RÉCOLTE.....</b>	<b>54</b>
• Stabilisation du fromage de soja à travers l'amélioration du procédé et équipement de transformation .....	54

## PAPERS IN ENGLISH

<b>PREFACE.....</b>	<b>65</b>
<b>Theme 1: Climate-smart agriculture.....</b>	<b>68</b>
• The role of phytoestrogenic plants in smart and sustainable tilapia aquaculture in Nigeria. ....	68
<b>Theme 2: Pests and disease.....</b>	<b>84</b>
• Prevalence of cashew dieback ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) and inventory of fungi species associated disease in Burkina Faso.....	84
<b>THEME 4: Post-harvest .....</b>	<b>102</b>
• Vulnerability of Kponan yam from Côte d'Ivoire during conservation based on harvesting and field storage practices .....	102
• Review of WAAPP Developed Fish Smoking KILN Technology on Fish Product Quality, Distribution and Adoption in Nigeria and The ECOWAS Sub-Region.....	111
• Improved process and reduction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) contamination of kilichi, a grilled meat produced in Niger .....	119

# PRÉFACE

Les rapports précédents ont révélé un lien faible entre la recherche scientifique et le développement agricole, avec de faibles investissements dans de nombreux pays en développement. La recherche agricole est cruciale pour garantir la sécurité alimentaire, la nutrition, les revenus et de meilleures conditions de vie aux petits producteurs ruraux, tout en minimisant l'impact sur l'environnement. Elle contribue à modifier les systèmes de production agricole en augmentant la productivité et les revenus des agriculteurs.

Cependant, le secteur agricole est confronté à de nouveaux défis, parmi lesquels les maladies des cultures et les effets du changement climatique. Ces défis peuvent être relevés grâce à des technologies innovantes développées par la recherche scientifique. Le lien entre la recherche scientifique et le développement agricole doit être renforcé afin de produire suffisamment d'aliments nutritifs, de limiter les importations de denrées alimentaires, d'assurer la sécurité alimentaire, de réduire la pauvreté et de parvenir à un développement durable.

À cet égard, un colloque international sur l'état de la recherche et du développement agricoles en Afrique de l'Ouest et du Centre a été organisé par le CORAF et le premier du genre s'est tenu du 19 au 21 juin 2022 à Cotonou, en République du Bénin. Le thème de la conférence était «Technologies et innovations agricoles : L'agriculture intelligente face au climat pour s'adapter aux défis actuels».

Le symposium, auquel ont assisté 150 participants, a commencé par un appel à résumés et 32 résumés ont été reçus de la part d'auteurs répartis dans la région de l'Afrique de l'Ouest et du Centre, parmi lesquels 10 articles ont été acceptés en tant qu'articles de recherche complets.

Cette conférence a rassemblé des résultats de recherche innovants et des recommandations sur l'agriculture intelligente face au climat, la gestion des ravageurs et des maladies, les pratiques de gestion post-récolte afin d'augmenter la durée de conservation des produits. Il a également fourni des idées pour améliorer la productivité agricole et la sécurité alimentaire, ainsi que des contributions internationales qui ont permis aux sélectionneurs de plantes, aux chercheurs, aux étudiants, aux entreprises privées et aux décideurs nationaux en matière d'agriculture de discuter de leurs résultats de recherche et de leurs réalisations.

Je remercie chaleureusement les auteurs pour ces recherches de qualité et je salue leur engagement à faire progresser la science agricole dans la région. J'espère que les résultats de recherche des diverses présentations orales et par affiches, ainsi que les discussions et les débats, conduiront au développement de technologies agricoles améliorées qui encourageront de nouvelles initiatives de recherche dans le domaine de l'agriculture durable.

Les résultats et les discussions du symposium, présentés dans ce volume, reflètent l'engagement du CORAF à faire progresser l'agriculture dans la région, à relever les défis contemporains et à promouvoir des solutions innovantes au profit de l'Afrique de l'Ouest et du Centre.

Enfin, j'apprécie le soutien continu de la Coopération suisse dans la mise en œuvre de projets soutenant la recherche agricole et le développement de technologies et d'innovations agricoles pour accroître la résilience des systèmes de production et des exploitations familiales dans la région de l'Afrique de l'Ouest et du Centre.

Je vous souhaite une bonne lecture.



**Dr Abdou TENKOUANO**

Directeur exécutif

# ARTICLES EN FRANÇAIS

## Thème 1: Agriculture intelligente face au climat

Espèces aquacoles et stratégies de promotion de l'aquaculture au Bénin : une revue

- Aliou Fousseni, Wilson W. L. Jere, Luc Gangbe, Simon Ahouansou Montcho, Antoine Chikou, Vincent Joseph Mama

## Thème 2: Nuisibles et maladies

Sensibilité des variétés d'anacardiers (*Anacardium occidentale*) « pomme jaune » et « pomme rouge » au foreur de tiges, *Apate terebrans* (Coleoptera : Bostrichidae), en Côte d'Ivoire

- ALIKO Yédé Jean, GBOTOGNON Oscar Jaures, OUALI N'GORAN San-Whouly Mauricette

Efficacité des extraits aqueux de *Thevetia peruviana* et de *Tephrosia vogelii* dans le contrôle d'*Aphis craccivora* et de *Megalurothrips sjostedti* sur le niébé au Tchad

- MBAIDIRO Taambajim'd Josué, Gapili NAOURA, DJENASSEM Alfred, DOYAM Nodjasse Amos

Distribution Spatio-Temporelle des Cochenilles Farineuses Vectrices de la Maladie du Swollen Shoot du Cacaoyer au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire

- N'guettia Akoua Miézan Claudine, Oro Zokou Franck, Akesse Ettien Narcice, Ouali N'goran San-whouly Mauricette

## Thème 4 : Post-récolte

Stabilisation du fromage de soja à travers l'amélioration du procédé et équipement de transformation

- HOUSSOU Paul Ayihadji Ferdinand, ALAVO Makosso, DANSOU Valère, GBWADINOU Etienne Mahoutin, HOTEGBNI Bodéhoussè Abel, ZANNOU Hugue, HONGBETE Franck



# ARTICLES EN FRANÇAIS



# THÈME 1 : AGRICULTURE INTELLIGENTE FACE AU CLIMAT

## Espèces aquacoles et stratégies de promotion de l'aquaculture au Benin : une revue

**Aliou Fousseni** <sup>(1,5)</sup>, Wilson W. L. Jere <sup>(1)</sup>, Luc Gangbe <sup>(2)</sup>, Simon Ahouansou Montcho<sup>(3)</sup>, Antoine Chikou <sup>(4)</sup>, Vincent Joseph Mama <sup>(5)</sup>

(1) Department of Aquaculture and Fisheries Science; Lilongwe University of Agriculture and Natural Resources (LUANAR). PO Box 219 Lilongwe, MALAWI.

(2) Programme de Recherche en Productions Halieutiques; Centre de Recherches Agricoles en Production Animales et Halieutiques. Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (CRA-PAH / INRAB). N'Dali, BENIN

(3) Ecole d'Aquaculture, Université Nationale d'Agriculture (EAq / UNA). Campus d'Adjohoun. BP 55 Porto-Novo

(4) Laboratoire d'Hydrobiologie et Aquaculture ; Faculté des Sciences Agronomiques. Université d'Abomey-Calavi (LHA-FSA / UAC). 01B.P. 526 Cotonou. Benin.

(5) Organisation pour la promotion du Developpement Durable et de la Culture (DDC ONG)

### Auteur Correspondant

#### **Aliou Fousseni**

Chargé de la Formation et des Recherches. DDC ONG. Cotonou, BENIN

Doctorant en Aquaculture et Sciences Halieutiques. Lilongwe University of Agriculture and Natural Resources (LUANAR). MALAWI.

Tél : +229 66013195      e-mail : [alioufouss@yahoo.fr](mailto:alioufouss@yahoo.fr)

### Résumé

Le développement de l'aquaculture au Bénin fait face à de nombreux défis dont notamment le faible taux de croissance des poissons en élevage et la non-disponibilité d'aliments de qualité et à faible coût. Afin de stimuler la production aquacole et d'évaluer les efforts déployés jusqu'à présent pour la diversification des espèces de poissons d'aquaculture au Bénin, une revue de la littérature a été réalisée. Il ressort des différentes études que de nombreuses espèces de poissons présentent des potentialités pour la domestication et leur introduction en aquaculture reste à faire. Il s'agit notamment de plusieurs espèces de tilapias comme *Oreochromis aureus*, *Coptodon*

guineensis, Sarotherodon melanotheron, Sarotherodon galilaeus, le poisson-serpent africain Parachana obscura, le poisson-chat africain Heterobranchus longifilis et Chrysichtys nigrodigitatus et Heterotis niloticus. Le Tilapia Sarotherodon galilaeus est une des espèces candidates qui peut égaler Oreochromis niloticus (l'espèce la plus cultivée au Bénin) en ce qui concerne la croissance et les aspects économiques. L'amélioration génétique pourrait être le meilleur moyen d'améliorer les performances de l'espèce et de généraliser sa culture par les pisciculteurs.

**Mots clés :** Espèces aquacoles ; Stratégies de promotion, Sarotherodon galilaeus; Amélioration génétique.

## Abstract

The development of aquaculture in Benin faces many challenges, including the low growth of farmed fish and the unavailability of quality, low-cost feed. In order to boost aquaculture production and assess the progress made to date towards diversification aquaculture fish species in Benin, a literature review was carried out. The various studies show that many fish species have the potential to be domesticated and therefore, introduced into aquaculture. These include several tilapia species such as Oreochromis aureus, Coptodon guineensis, Sarotherodon melanotheron, Sarotherodon galilaeus, the African snakehead Parachana obscura, the African catfish Heterobranchus longifilis, Chrysichtys nigrodigitatus and Heterotis niloticus. The tilapia Sarotherodon galilaeus is one of the candidate species that can challenge the performance of Oreochromis niloticus (the most widely farmed species in Benin) in terms of growth and income generation. Genetic improvement could be the best way to improve the species' performance and make it more widely cultivated by fish farmers.

**Key words:** Aquaculture species; Promotion strategies ; Sarotherodon galilaeus; Genetic improvement.

## 1. Introduction

Le poisson est une source importante de protéines pour la sécurité alimentaire et nutritionnelle et fournit des revenus substantiels aux pêcheurs et aux pisciculteurs en République du Bénin. La consommation de poisson fournit aux êtres humains des micronutriments tels que le fer, le zinc, le calcium et la vitamine A, qui sont nécessaires à l'entretien de l'organisme et à la croissance (Charo-Karisha, 2017). Les poissons consommés au Bénin proviennent essentiellement de la pêche et de l'aquaculture.

Le secteur des pêches et de l'aquaculture contribue à hauteur de 3% au produit intérieur brut (PIB) du Bénin. Malgré cette importance, la production halieutique nationale stagne autour de 40 000 tonnes de poissons par an depuis les années 2000. Cette situation est due à l'augmentation de l'effort de pêche entraînant la surpêche, à l'utilisation des méthodes et engins de pêche non adaptées et dévastatrices et à la dégradation des écosystèmes aquatiques causée par la pollution des rivières, lacs et lagunes. En 2017, la production nationale de poissons était évaluée à 52 811 tonnes (pêche de capture et aquaculture combinée) contre une demande estimée à 180 000 tonnes (PNDF Aquaculture, 2019). Pour combler ce déficit, les importations de poissons congelés sont passées de 40.000 tonnes en 2004 à plus de 160.000 tonnes l'an depuis 2016 (Belco Latifou et al., 2020). Cette importation de poissons constitue une grande menace pour la sécurité alimentaire de la population béninoise et la perte de devise pour l'Etat béninois. Il est donc nécessaire d'augmenter la production commerciale de poissons, notamment de poissons d'élevage, pour assurer la sécurité alimentaire et nutritionnelle des populations et améliorer les revenus des acteurs impliqués dans la filière poisson.

Depuis 2005, de nombreux projets et programmes tels que le Programme de Productivité Agricole en Afrique de l'Ouest (PPAAO), le Projet de Vulgarisation de l'Aquaculture Continentale (PROVAC), le Programme d'Appui à la Diversification Agricole (PADA) et le Programme Technologies pour la Transformation de l'Agriculture en Afrique / Compact Aquaculture (TAAT) ont été mis en œuvre pour booster la production piscicole et stimuler le développement de l'industrie aquacole au Bénin. Grâce à ces initiatives, les compétences des pisciculteurs ont été renforcées sur les techniques de production piscicoles. De même, les transformatrices ont été équipées en technologies de transformation des produits halieutiques et l'ajout de la valeur.

Grâce à ces efforts, on note de plus en plus un accroissement de la production aquacole (PNDF Aquaculture, 2019). Toutefois, le développement escompté de la pisciculture peine à se concrétiser. Cela est due à deux raisons majeures : la faible performance des souches de tilapia *O. niloticus* (espèce la plus élevée au Benin) et l'inaccessibilité des alevins de qualité d'une part et le manque d'aliments locaux performants pour l'alimentation des poissons d'autres parts. Pour pallier à ces difficultés, plusieurs travaux de recherche ont été entrepris en vue d'améliorer les souches de tilapia *O. niloticus* existantes dans les élevages piscicoles et/ou de proposer de nouvelles espèces plus performantes aux pisciculteurs. Par ailleurs, d'autres investigations ont permis d'améliorer les caractéristiques et les performances de la provende fabriquée localement pour l'alimentation des poissons en élevage.

Le présent article fait la synthèse des recherches aquacoles notamment en ce qui concerne la diversification des espèces de poisson d'élevage au Benin et les avancées technologiques pour l'alimentation des poissons. Il présente également les enjeux et les stratégies de promotion du secteur de l'aquaculture au Benin.

## 2. Méthodologie

Le présent article fait la synthèse des travaux réalisés dans le domaine de l'aquaculture depuis une vingtaine d'année au Benin. La méthodologie adoptée s'est basée sur la revue de littérature réalisée en deux étapes à savoir la collecte et le classement de la documentation et l'analyse de la littérature ainsi constituée.

Ainsi, les articles scientifiques publiés dans les revues nationales et internationales ont été recensés grâce à la recherche internet. De plus, nous avons consulté les différents travaux réalisés dans le cadre des mémoires de Master, thèses d'Ingénieur et thèses de doctorat au niveau des différentes facultés et écoles des universités nationales du Benin (FSA, EPAC, UNA, FAST, etc.). Enfin, nous avons consulté les rapports des différents programmes et projets de recherche dans les directions et instituts de recherche spécialisés en aquaculture au Benin (INRAB, DPH, IRHOB, PADA, etc.).

La deuxième étape a consisté à l'analyse des articles et autres documents collectés lors de la recherche documentaire. Une attention particulière a été accordée aux travaux ayant rapport à la domestication et l'évaluation des performances de croissance des espèces piscicoles en captivité. De plus, le point a été fait sur les recherches relatives à l'alimentation des poissons. En, les documents de politiques et stratégies de promotion de l'aquaculture ont fait l'objet d'une analyse pour en sortir les meilleures stratégies pouvant permettre un développement durable de l'aquaculture béninoise.

### 3. Résultats

#### 3.1 Inventaire des espèces d'élevage en aquaculture au Benin

L'aquaculture béninoise connaît un essor depuis une dizaine d'années. Ce développement est devenu plus significatif grâce aux diverses initiatives aussi bien privés (création de fermes piscicoles) que public (mise en œuvre de plusieurs programmes et projets). Ce développement a entraîné un intérêt de plus en plus croissant des pisciculteurs pour la diversification des espèces aquacoles. En effet, sur la base des résultats obtenus dans les autres pays de la sous-région et d'Afrique, le gouvernement Benin a encouragé l'introduction des tilapias (*Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, *O. hornorum*) notamment dans la « ferme d'alevinage de Godomey » depuis les années 1980 (Lazard, 1990).

Actuellement, le tilapia *Oreochromis niloticus* constitue avec le poisson-chat *Clarias gariepinus*, les deux espèces de poissons les plus largement élevé en aquaculture au Bénin (PNDF Aquaculture, 2019). Toutefois, la production du tilapia *O. niloticus* souffre de la mauvaise gestion des géniteurs et de l'amenuisement du potentiel de croissance des souches utilisées ; ce qui rend les élevages peu productifs et peu rentables pour les pisciculteurs. En ce qui concerne le clarias, les barrières socio-culturelles limitent l'expansion de son élevage notamment dans le Sud-Bénin (qui concentre plus de 80% des pisciculteurs) où ce poisson constitue un totem pour la plupart des communautés.

Face à cette situation, l'une des stratégies mise en place par le gouvernement à travers le Plan Stratégique de Relance du Secteur Agricole (PSRSA) puis le Programme d'Action du Gouvernement (PAG) pour l'amélioration de la production piscicole consiste à promouvoir l'utilisation des espèces adaptées aux conditions d'élevage et à cycles court. Il s'agit particulièrement de mettre au point de nouvelles souches du tilapia *Oreochromis niloticus* et/ou d'introduire de nouvelles espèces présentant de bonnes performances de croissance dans les élevages. (PSRSA, 2011 ; PNDF Aquaculture, 2019).

Dans ce contexte de nombreuses investigations ont été réalisées afin d'évaluer les performances de plusieurs espèces de poissons d'eau douce en condition d'élevage. Ainsi il ressort des différents travaux qu'en dehors de l'espèce *O. niloticus* largement répandu dans les élevages surtout au sud-Bénin, d'autres espèces de tilapia ont été domestiquées et font l'objet d'élevage expérimental à petite échelle dans les fermes piscicoles privées. Il s'agit de *Oreochromis aureus*, *Coptodon guineensis*, *Sarotherodon melanotheron* et *Sarotherodon galilaeus* (Amoussou et al, 2016 ; Toko Ibrahim et al, 2011). Ces espèces présentent des caractéristiques intéressantes pour pallier aux difficultés rencontrées dans les élevages à base de *O. niloticus*.

D'autres expérimentations ont été conduites afin de déterminer les performances des autres espèces de poisson en captivité en vue de leur introduction dans la pisciculture. Ainsi, Kpogue et al. (2018) rapportent que le poisson à tête de serpent *Parachana obscurra* (famille des Channidae) présente de bonnes performances de croissances et pourrait être une espèce candidate pour la pisciculture. L'inconvénient avec cette espèce est la difficulté d'approvisionnement en alevins car sa reproduction en captivité reste un défi. Aussi, l'inventaire réalisé dans le cadre de l'élaboration de la stratégie de développement de l'aquaculture béninoise a révélé la présence de l'espèce *Heterotis niloticus* (famille des Osteoglossidae) dans les exploitations piscicoles. L'élevage de cette espèce se fait à échelle réduite généralement pour l'autoconsommation (PNDF Aquaculture 2019). Cette espèce présente un potentiel aquacole élevé en raison de sa forte croissance, sa double respiration, la bonne qualité gustative de sa chair et sa relative haute valeur commerciale (Monentcham, 2009) et est la deuxième espèce d'élevage en Côte d'Ivoire derrière *Oreochromis*

*niloticus* (Amon et al, 2021). Au Benin, des efforts devront être faits notamment en termes d'approvisionnement en alevins et l'alimentation pour son introduction effective dans les élevages piscicoles.

En dehors des poissons, on rencontre également de petites unités crevetticoles qui sont à l'étape d'expérimentation. Le problème majeur dans l'élevage des crevettes est la production de post-larves capable de survivre aux conditions d'élevage en milieu contrôlé. Toutes fois des efforts en termes de recherche s'intensifient. En effet, Gangbe et al (2016) ont rapporté que la crevette géante d'eau douce *Macrobrachium vollenhovonii* peut survivre en milieu contrôlé et des rations à base de tourteaux de coprah peuvent favoriser sa survie et sa croissance en milieu contrôlé.



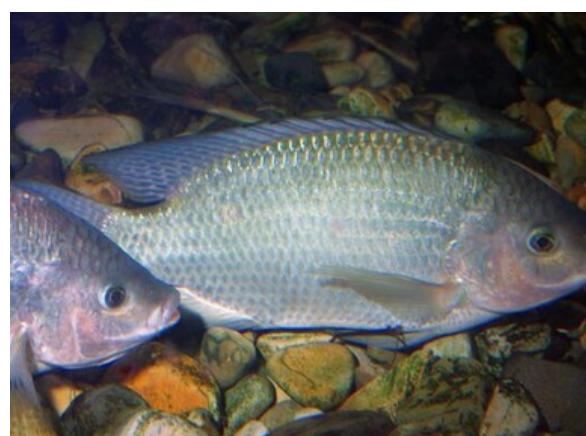
**Parachana obscura (Günther, 1861)**



**Coptodon guineensis (Günther, 1862)**



**Sarotherodon melanotheron (Ruppel, 1852)**



**Sarotherodon galilaeus (Linnée, 1758)**



**Heterotis niloticus (Cuvier 1829)**



**Oreochromis niloticus (Linnee, 1758)**



**Clarias gariepinus (Burchell, 1822)**

### 3.2 Alimentation des poissons

L'un des contraintes majeures de l'aquaculture est le coût exorbitant de l'alimentation qui compte pour 60 à 70% du coût total de production. Afin de produire des provendes aquacoles performantes à moindre coût et réduire les coûts de production en pisciculture, plusieurs investigations ont été faites notamment sur l'incorporation des ingrédients locaux dans l'alimentation et l'utilisation des sources alternatives de protéine. Ainsi, Adeyemi et al (2020) rapportent que les viscères, les tourteaux de soja et les débris de poissons sont les plus utilisés en substitution de la farine de poisson qui est très onéreuse. Les autres ingrédients entrant de la fabrication locale de provende sont entre autres les feuilles de moringa, les tourteaux de coton, les sons de céréales (maïs, blé, riz, etc.). D'autres travaux ont permis d'incorporer le ver de fumier dans la provende pour poissons sous forme séchée, vivant et bouillie (Houndonougbo, 2018 ; Djissou, 2017).

Le processus de fabrication locale des provendes pour poisson comprend le mélange des ingrédients conformément à la formule alimentaire (qui est fonction du stade physiologique), la fabrication des granulés, le séchage et l'emballage (mise en sac). Ainsi, des emballages de 5kg sont faits au niveau de l'Ecole d'Aquaculture de L'Université Nationale d'Agriculture (Fousseni, 2022). Malgré ces efforts, l'inconvénient majeur de l'utilisation des provendes fabriquées localement est la non flottabilité des granulés sur l'eau ce qui ne favorisent pas une meilleure valorisation de ces provendes. Les recherches devraient donc être plus orientées vers ces aspects afin de soulager les pisciculteurs et promouvoir le développement du secteur.



**Photo 3 :** Séchage de provende locale



**Photo 8 :** Emballage de Provende aquacole fabriquée à l'EAq

### **3.3 Enjeux et stratégies de promotion de l'Aquaculture au Bénin**

Le développement du secteur de l'aquaculture au Bénin fait face à de nombreux défis. Selon le Plan stratégique de relance du secteur agricole au Bénin (PSRSA, 2011), les principaux défis sont les suivants :

- La mauvaise qualité des semences et les difficultés d'accès aux alevins dans certaines localités (notamment dans le nord).
- Accès limité aux aliments pour poissons de haute qualité entraînant des difficultés à nourrir les poissons.
- Mauvaise gestion des fermes piscicoles et encadrement technique insuffisant des pisciculteurs
- Coût élevé des investissements de base et absence de système de financement approprié ;
- Importation massive de poissons.

Pour surmonter ces défis et stimuler la production piscicole, une stratégie nationale a été élaborée dans le cadre le Programme national de développement de l'aquaculture du Bénin (PNDF). Cette stratégie recommande trois principales interventions à entreprendre (PNDF-Aquaculture, 2019) à savoir:

- L'utilisation d'espèces de poissons à croissance rapide adaptées aux eaux douces comme le tilapia, le poisson-chat africain, l'écrevisse d'eau douce et les espèces d'eau saumâtre comme le poisson-chat blanc (*Chrysichthys sp.*) ;
- L'organisation et la promotion des chaînes de valeur de l'aquaculture et de la pêche (production, transformation, normalisation et étiquetage, cadre de concertation et de commercialisation) ;
- La mise en place d'infrastructures de base pour soutenir la professionnalisation et la compétitivité de l'aquaculture (éclosseries, usines d'aliments pour animaux, centres de formation pour les professionnels de l'aquaculture, système de suivi de la santé et du bien-être des poissons, laboratoire de contrôle) qui sous-tendent la production de diverses espèces de poissons d'eau douce continentale.

## **4. Conclusion et perspectives**

Le développement de l'aquaculture est un impératif pour le gouvernement et les différents acteurs de la filière vue l'importance de plus en plus significative qu'elle occupe dans l'économie béninoise. Plusieurs espèces de poissons sont élevées dans les différentes exploitations. D'autres espèces présentant des potentialités pour l'aquaculture peinent à être adoptées par les pisciculteurs. Des travaux supplémentaires sur la sélection et l'amélioration génétique des poissons permettraient de booster durablement la production aquacole au Benin. Dans cette perspective, des investigations pourraient être conduites sur la caractérisation et l'évaluation génétique du tilapia *Sarotherodon galilaeus* qui présente des caractéristiques proches de *O. niloticus* en vue de l'élaboration d'un programme de sélection de l'espèce.

## **Remerciements**

Les auteurs remercient le German Academic Exchange Service (DAAD) et le African Center of Excellence AquaFish-ACE de Lilongwe University of Agriculture and Natural Resources (LUANAR), MALAWI pour le soutien financier.

## Références bibliographiques

Adékambi Désiré Adéyémia, Adéchola P. Polycarpe Kayodéa,\* Ifagbemi Bienvenue Chabia, Oloudé B. Oscar Odouaroa, Martinus J.R. Noutb, Anita R. Linnemannc., 2020. Screening local feed ingredients of Benin, West Africa, for fish feed formulation. *Aquaculture Reports* (17) 100386. PP 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100386>.

AMON Yao Nicolas(1), KONE Tiéhoua(1), KIEN NI Kakou Paul Valère et YAO Kouakou., 2021. Étude de la survie et de la croissance de *Heterotis niloticus* (Cuvier, 1829) élevé en bacs en béton. *Jour. Appl. Biosci. Vol.160 pp 16475-16481.* <https://doi.org/10.35759/JAbs.160.4>

Amoussou T. O., Toguyeni A., Imorou Toko I., Chikou A. & Youssao Abdou Karim I., 2016. Caractéristiques biologiques et zootechniques des tilapias africains *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) et *Sarotherodon melanotheron* (Rüppell, 1852) : une revue . *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 10(4): pp 1869-1887.

Belco Latifou A., Imorou Toko I., Elegbe H. A., Pelebe R.O.E., Tougan P.U., Boni A. R., V. Ahyi, E. S. Hossou, Z. Vissiennon & A. Chikou., 2020. Les Produits Halieutiques au Bénin : Sources d'Approvisionnement et Statistiques. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*. Vol. 21 No. 1 June 2020, pp. 152-167

Charo-Karisha C. H., 2017. Role of World Fish Egypt and Nigeria in Transforming Fisheries and aquaculture. Personal Communication. World Fish Egypte and Nigeria. 44p.

Djissou S. A., 2017. Bases biochimiques de formulation d'aliments sans farine de poisson pour la production de *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) et *Oreochromis niloticus* (Lineaus, 1758). *PhD Thesis Life and Earth Sciences ; University of Abomey-Calavi.* 195p.

Fousseni A., 2022. Rapport de Fin de Stage de Recherche. *Ecole d'Aquaculture ; Université Nationale d'Agriculture.* 21p

Houndonougbo K. P., 2018. Production de vers de fumier pour l'alimentation de *O. niloticus* et *Clarias gariepinus* en élevage. *PhD Thesis Life and Earth Sciences ; University of Abomey-Calavi.* 180 pages + Annex

Kpogue Gangbazo D. N.S, Dakpogan H. B. D'almeida A. F. M, Vodounnou J. V. D. S., Aissetche G., Mensah G. A. & Fiogbe E. D., 2018. Effet de la densité de mise en charge sur les performances zootechniques et la production chez les alevins de *Parachanna obscura* élevés en milieu contrôlé. *J. Appl. Biosci.*128: 12883 -1289.

LAZARD J., 1990. Transferts de poissons et développement de la production piscicole Exemple de trois pays d'Afrique subsaharienne. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 23 (3) : 251-265

GANGBE L., AGADJIHOUEDE H., ACHOH M. et LALEYE A. P., 2016. Survie et croissance de la crevette géante d'eau douce *macrobrachium vollenhovenii* (Herklotz, 1857) nourrie en captivité à base du tourteau du coprah, de la farine et du son de maïs. *Afrique SCIENCE* 12(3) (2016) 126 – 143

Monentcham M. S. E., 2009. Alimentation et Nutrition des juvéniles de *Heterotis niloticus* (Arapaimidae, Teleostei). Premières estimations des besoins nutritionnels et valorisation des sous-produits végétaux. *Thèse de Doctorat des Facultés Universitaires Notre Dame de la Paix Namur, Belgique, 144p.*

PNDF Aquaculture., 2019. Réalisation de l'étude de faisabilité du projet de Développement durable de la pisciculture Continentale en République du Benin. *Technical study report. 186p + Annex*

PSRSA., 2011. Plan Stratégique de Relance du Secteur Agricole au Bénin (PSRSA). *Version Définitif, Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche (MAEP), Cotonou, 117p.*

Toko I. I., Attakpa E. Y. & Elegbe H., 2011. Performances biologiques, zootechniques et nutritionnelles de *Tilapia guineensis* en milieux naturel et d'élevage. *International Journal of Biological and Chemical Sciences; Vol 4. N° 10. 4314/ijbcs.v4i5.65577.*



# THÈME 2 : NUISIBLES ET MALADIES / PEST AND DISEASE

## Sensibilité des variétés d'anacardiers (*Anacardium occidentale*) « pomme jaune » et « pomme rouge » au foreur de tiges, *Apate terebrans* (Coleoptera : Bostrichidae), en Côte d'Ivoire

ALIKO Yédé Jean<sup>1,2\*</sup>, GBOTOGNON Oscar Jaures<sup>2</sup>, OUALI N'GORAN San-Whouly Mauricette<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Milieux Naturels et Conservation de la Biodiversité, Unité de Formation et de Recherches en Biosciences, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Centre d'Excellence Africain sur le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture Durable, Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>3</sup> Laboratoire de Biocatalyse et Bioprocédés, Faculté des Sciences et Techniques Alimentaires, Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'Ivoire), 02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire

\* Auteur correspondant. E-mail : [alikoyed@yahoo.com](mailto:alikoyed@yahoo.com)

### Résumé

*Apate terebrans* est un grand foreur des rameaux et tiges, classé parmi les insectes ravageurs majeurs de l'anacardier (*Anacardium occidentale*) en Côte d'Ivoire. Dans une perspective de lutte par la résistance variétale, l'objectif de cette étude était d'identifier une variété d'anacardier qui soit moins sensible à *A. terebrans*. Spécifiquement, les taux d'infestation de deux principales variétés d'anacardiers, « pomme jaune (PJ) » et « pomme rouge (PR) », ont été évalués et leurs caractères physico biochimiques déterminés. Les infestations par *A. terebrans* ont été évaluées par dénombrément mensuel de ses orifices sur 755 anacardiers répartis dans trois vergers de la localité de Bondoukou (Nord-Est de la Côte d'Ivoire), de juillet 2018 à juin 2020. Aussi, une caractérisation morphologique des fruits et des dosages de composés primaires (nutriments) et de métabolites secondaires (toxines) ont été réalisés. La variété PR (45%) a été significativement moins abondante dans les vergers que la variété PJ (55%). Le taux d'infestation (TI) de la variété PR, variant de 2,46 à 4,78%, a été significativement inférieur à celui de la variété PJ (4,66 et 7,18%). Toutefois, la variété PJ a présenté les meilleurs traits agronomiques en termes de poids de la noix et de la pomme, avec des teneurs plus élevées en nutriments et plus faibles en toxines pour le ravageur. Ainsi, en identifiant la variété d'anacardier « pomme rouge » comme étant la moins sensible à *A. terebrans*, cette étude relève des déterminants essentiels pour la sélection de variétés d'anacardiers performantes et résistantes à *A. terebrans*.

**Mots clés :** *Apate terebrans*, anacardier, insecte ravageur, résistance variétale, composés primaires, métabolites secondaires

## 1. Introduction

L'anacardier (*Anacardium occidentale* L.) est principalement cultivé en zone tropicale d'Afrique et d'Asie pour sa production de noix de cajou (ou anacarde) et de pomme de cajou (Balogoun et al., 2014). Cette culture connaît une expansion en Afrique de l'Ouest, relevant de la valeur marchande de la noix de cajou, mais aussi de la capacité de la plante à se développer sur des sols moins fertiles et en conditions de sécheresse (Ruf et al., 2019). La Côte d'Ivoire occupe, depuis 2015, les rangs de premier pays producteur et exportateur mondial de noix de cajou, avec une production de 702.000 tonnes, soit 21% de la production mondiale (CCA, 2017). Ainsi, l'anacarde contribue fortement à la résolution des problèmes d'accès aux ressources financières et d'insécurité alimentaire, et participe également à lutter contre la dégradation des sols (Tandjiékpon et al., 2003 ; Sinan et Abou, 2016).

Malgré le rôle socio-économique important de l'anacarde en Côte d'Ivoire, sa culture fait face à plusieurs contraintes agronomiques et phytosanitaires, entraînant un faible niveau des rendements, environ 450 kg/ha contre 1200 kg/ha (Djaha et al., 2010). Il s'agit notamment du matériel végétal non amélioré (Kouakou et al., 2018), et la prolifération de phytopathologies (Soro et al., 2020) et d'insectes ravageurs (Akessé et al., 2018).

*Apate terebrans*, insecte des zones tropicales et arides (Ivie, 2002), et parasite forestier en Afrique (Schabel et al., 1999), fait partie des principaux insectes ravageurs de l'anacardier en Afrique de l'ouest (Agboton et al., 2017 ; Aliko et Ouali N'Goran, 2022). En effet, l'adulte creuse des galeries à l'intérieur des tissus ligneux de l'anacardier, dans lesquelles il se nourrit et vit, pouvant entraîner une mortalité de 30% des anacardiers (Vasconcelos et al., 2014).

En Côte d'Ivoire, la lutte chimique s'intensifie contre les insectes ravageurs de l'anacardier (PAC-CVA, 2017), dont *A. terebrans*, classé parmi les trois majeurs (CCA, 2017). Pourtant, ces insecticides chimiques de synthèse présentent de graves conséquences sur l'environnement et sur la santé humaine (Tilman, 2002). En revanche, tenant compte du lien entre les caractéristiques de la plante hôte et son choix par le ravageur (Stam et al., 2014), l'objectif de cette étude était d'identifier une variété d'anacardier qui soit moins sensible à *A. terebrans*, pour une perspective de lutte par la résistance variétale. Spécifiquement, les taux d'infestation des variétés d'anacardiers, « pomme jaune (PJ) » et « pomme rouge (PR) », ont été évalués et leurs caractères physico biochimiques déterminés.

## 2. Méthodologie

### 2.1. Zone d'étude

L'étude a été réalisée dans le département de Bondoukou (N8°02'23'' ; W2°47'54''), au Nord-Est de la Côte d'Ivoire. C'est une zone de forte production d'anacarde (Ricau, 2013), avec un niveau d'infestation par *A. terebrans* relativement moyen (CCA, 2017 ; Yéo et al., 2019). Le climat est de type équatorial de transition, avec quatre saisons : une grande et une petite saison de pluie, et une grande et une petite saison sèche. La température mensuelle varie de 20 à 33 °C, avec une pluviométrie annuelle comprise entre 942 et 1625 mm (Kouakou et al., 2017). La végétation naturelle est constituée de forêts et de savanes arborées (Guillaumet et al., 1971).

### 2.2 Sélection et description des sites d'étude

Trois vergers d'anacardiers ayant une superficie d'au moins 2 hectares et âgés de 15 à 20 ans, infestés par *A. terebrans*, et indemnes d'insecticides ont été choisis. La distance entre ces vergers était d'environ 8 à 25 kilomètres. Pour chaque verger, une parcelle élémentaire de 100 m x 100

m (1 ha) a été délimitée, à partir d'une lisière. Ensuite, celle-ci a été subdivisée en 13 quadrats de 20 m x 20 m (400 m<sup>2</sup>) équidistants de 20 m. Tous les anacardiers des 13 quadrats ont ensuite été numérotés de façon distincte à l'aide d'une encre indélébile. Chaque site d'étude a été géo-référencié à l'aide d'un GPS (Tableau 1).

**Tableau 1 :** Coordonnées géographiques des sites d'étude

<b>Département</b>	<b>Site d'étude</b>	<b>Coordonnées géographiques</b>		
		<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>	<b>Altitude (m)</b>
Bondoukou	BDK1	7°53.344'N	2°57.560'W	299
	BDK2	7°54.623'N	2°59.064'W	275
	BDK3	8°02.396'N	2°46.112'W	376

*BDK = Bondoukou*

### 2.3 Évaluation des infestations par *Apate terebrans*

Un échantillonnage systématique selon la méthode des quadrats a été effectué. Étant donné la vie cachée de *A. terebrans*, le suivi de ses infestations a été fait par le truchement des galeries qu'il creuse à l'intérieur de l'anacardier (Agboton et al., 2017). La présence de l'insecte à l'intérieur de l'anacardier se caractérise par une sciure fraîche du bois d'anacardier présente au niveau de l'orifice d'émergence de la galerie, dit « orifice frais », et sous l'anacardier infesté. Ainsi, dans cette étude, un « orifice frais » équivaut à une infestation. Durant deux années consécutives, juillet 2018 à juin 2020 (soit deux campagnes de production d'anacarde), tous les anacardiers marqués ont été inspectés chaque fin de mois, de sorte à dénombrer toutes les infestations présentes sur chaque anacardier infesté. Au total, 755 anacardiers ont été suivis mensuellement sur l'ensemble des trois sites d'étude.

Le taux d'infestation (TI) d'une variété d'anacardier a été calculé selon la formule suivante :

$$TI = \frac{\text{Effectif total des anacardiers de la variété infestés}}{\text{Effectif total des anacardiers de la variété}} \times 100$$

### 2.4 Caractérisation physique des variétés d'anacardiers

La caractérisation physique des variétés d'anacardiers a été fait à partir de huit caractères phénotypiques des fruits. Il s'agit de la couleur de la pomme, les poids du fruit (pomme avec noix), de la noix et de la pomme, les longueurs de la noix et de la pomme, la grande et petite circonférences de la pomme (Zoumarou-Wallis et al., 2016).

Pendant la fructification, en mars 2020, un screening des différents phénotypes de fruits d'anacardiers présents au sein des quadrats d'échantillonnage a été réalisé partant de deux caractères, à savoir la couleur et la forme des fruits. Ensuite, sur chaque phénotype de fruit identifié, 10 fruits mûrs de maturité totale, frais et apparemment sains (indemne de pathologie et de piqûre d'insecte), ont été récoltés en suivant les quatre points cardinaux, puis caractérisés. La récolte a été fait à la main ou à l'aide d'une perche, sans impacter la forme et le poids du fruit. Pour un site d'étude donné, les mesures des variables ont été faites le même jour, entre 7 h et 11 h, afin de limiter tout biais qui serait lié à la perte d'eau des fruits. Cette étude a été réalisée sur une période de cinq jours, sans une pluie enregistrée.

Les mensurations ont été réalisées à l'aide d'un pied à coulisse. La longueur de la pomme a été prise du point d'attache du fruit à la branche jusqu'au point de contact avec la noix ; et celle de la noix, du point d'attache avec la pomme jusqu'à l'extrémité inférieure de la noix. La petite et grande circonférence de la pomme ont été obtenues en mesurant, à l'aide d'un ruban mètre, le diamètre respectivement de la partie haute et de la partie basse de la pomme. Les mesures de poids ont été réalisées à l'aide d'une balance électronique de précision 0,01 g.

### **2.5 Caractérisation biochimique des variétés d'anacardiers**

Trois composés primaires ont été analysés, à savoir, les protéines, les lipides et les glucides totaux. Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins ont représentés les métabolites secondaires. Tous ces dosages ont été faits à partir de l'écorce de l'anacardier.

#### **● Collecte des échantillons d'écorce d'anacardier**

Cette étude a été réalisée uniquement dans le site BDK1, en mars 2020. Ainsi, six échantillons d'anacardiers de chacune des variétés « pomme jaune » et « pomme rouge » ont été choisis selon les critères suivants : i) être indemne de maladies et d'attaque d'insectes ; ii) être indemne de blessures (coup de machette, fracture d'une partie, etc.) ; iii) avoir le même âge, et être soumis au même microclimat. Sur chaque anacardier sélectionné, une surface de 64 cm<sup>2</sup> d'écorce d'anacardier a été prélevée à une hauteur de 1 m du sol, pour constituer les échantillons d'analyses. L'écorce de la plante a été choisie, car, selon Zangerl et Rutledge (1996), les parties de la plante qui ont un fort risque d'attaque présentent de fortes concentrations en toxines. Les échantillons prélevés ont été étiquetés, conditionnés au frais dans une glacière, puis placés au congélateur à - 20 °C, avant d'être analysés (30 jours après la collecte) au laboratoire de Biocatalyse et Bioprocédés de l'université NANGUI ABROGOUA de Côte d'Ivoire.

#### **● Protocoles des analyses biochimiques**

Les lipides ont été dosés suivant le protocole AFNOR (1986).

Le protocole AOAC (1990) a été utilisé pour quantifier les protéines.

Les fibres brutes ont été dosées suivant le protocole AOAC (1990).

La quantité de glucides a été déterminée selon la formule FAO (1998), après quantification des fibres brutes suivant le protocole AOAC (1990).

Le dosage des polyphénols a été fait à partir du protocole de Singleton et al. (1999).

Les tanins ont été dosés suivant le protocole de Bainbridge et al. (1996).

Les flavonoïdes ont été dosés à partir du protocole de Meda et al. (2005).

### **2.6 Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio 3.6.2, au seuil de 5%. Le test du Khi<sup>2</sup> de conformité a été utilisé pour comparer les proportions des variétés d'anacardiers au sein des sites d'étude. Les taux d'infestation des variétés d'anacardiers ont été comparés à partir du test du Khi<sup>2</sup>, après conformité de la règle de Cochran. Le test t de Student a été utilisé, après vérification de l'homogénéité des variances (test de Levene), pour comparer les abondances moyennes des infestations de chaque variété d'anacardier. Les paramètres morphologiques et biochimiques mesurés sur les variétés d'anacardiers ont été comparés à partir des tests t de Student et de Mann-Whitney, respectivement en cas d'homogénéité et de non homogénéité des variances (test de Levene).

### 3. Résultats

#### 3.1 Proportions et taux d'infestation des variétés d'anacardiers

Quatre variantes de couleurs de la pomme ont été identifiées au sein des trois sites d'étude de Bondoukou, à savoir, les couleurs jaune et jaune pâle, et les couleurs rouge et rouge orangée. Cependant, ces quatre variétés ont été regroupées en deux principales variétés. Il s'agit de la variété « pomme jaune (PJ) » qui regroupe les variantes jaune et jaune pâle, et la variété « pomme rouge (PR) » qui comprend les variantes rouge et rouge orangé (Figure 1).



**Figure 1 :** Quelques variantes de fruits de l'anacardier

**A :** illustration des variantes de la couleur des pommes de cajou

**B :** illustration des variantes de la forme au sein d'une même couleur de pommes

La proportion de la variété d'anacardier PJ (55%) a été significativement supérieure à celle de la variété PR (45%) (test Z :  $p < 0,001$ ), sur l'ensemble des trois sites d'étude. Cette tendance a été observée au niveau parcellaire, mais la différence significative n'a été relevée que dans le site BDK3.

Le test du Khi2 effectué pour comparer les taux d'infestation (TI) des deux variétés d'anacardiers, a révélé que le TI de la variété PJ (7,20%) a été significativement supérieur à celui de la variété PR (3,93%) ( $p = 0,04$ ), au cours de la première année du suivi (juillet 2018 à juin 2019). Cette tendance a été observée au niveau parcellaire, sans une différence significative. À la deuxième année du suivi (juillet 2019 à juin 2020), le TI de la variété PJ (5,24%) a été significativement supérieur à celui de la variété PR (2,62) ( $p = 0,05$ ). Cette tendance a aussi été observée à l'échelle parcellaire, avec aucune différence significative.

L'effectif moyen des infestations par anacardier infesté (EIAI) n'a pas varié statistiquement selon la variété. Toutefois, l'EIAI de la variété PJ, variant de  $3,55 \pm 3,13$  à  $25,33 \pm 21,94$ , était plus élevé que celui de la variété PR, compris entre  $4 \pm 2,83$  et  $6,67 \pm 3,78$ .

### 3.2 Caractéristiques morphologiques des variétés d'anacardiers

Au total, 210 fruits d'anacardiers ont été caractérisés sur l'ensemble des trois sites d'étude, dont 120 jaunes et 90 rouges. Des différences significatives ont été relevées entre les mesures des variables morphologiques des fruits des variétés « pomme jaune » et « pomme rouge ». Ainsi, les fruits jaunes ont présenté les meilleurs caractères morphologiques au niveau des sept variables morphologiques caractérisées (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Comparaison des caractères morphologiques des variétés d'anacardiers « pomme jaune » et « pomme rouge » de la localité de Bondoukou (Côte d'Ivoire)

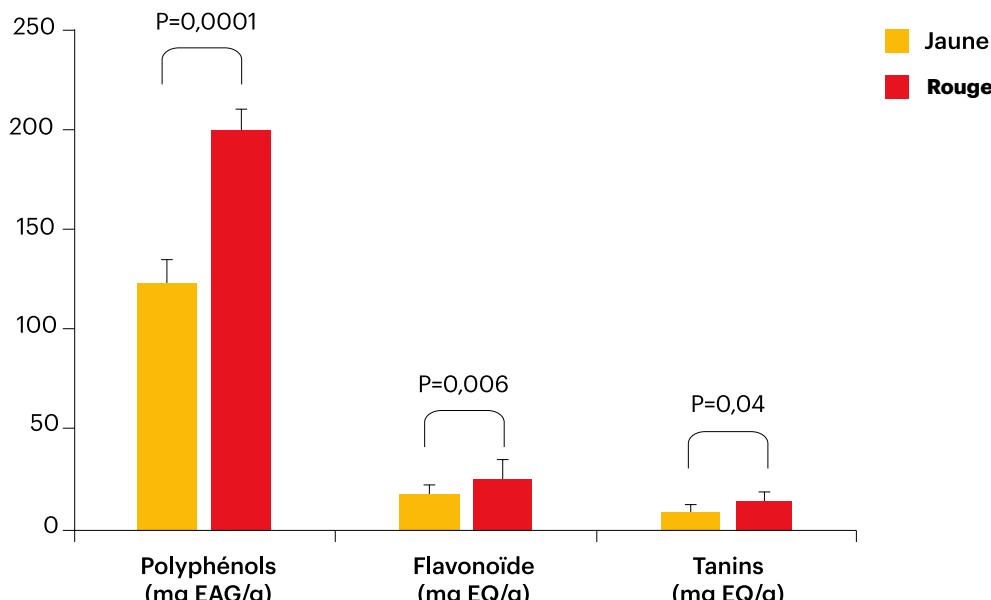
Variables morphologiques	Variétés d'anacardiers		
	Jaune	Rouge	P
Poids Fruit (g)	<b>70,95 ± 25,76</b>	<b>62,22 ± 24,34</b>	0,006
Poids Noix (g)	<b>6,64 ± 1,42</b>	<b>6,23 ± 1,55</b>	0,009
Poids Pomme (g)	<b>63,75 ± 23,66</b>	<b>58,12 ± 25,07</b>	0,02
Longueur Noix (cm)	<b>3,23 ± 0,23</b>	<b>3,11 ± 0,32</b>	0,007
Longueur Pomme (cm)	<b>7,86 ± 0,95</b>	<b>6,54 ± 1,13</b>	0,02
Petite Circonference Pomme (cm)	<b>11,60 ± 1,72</b>	<b>11,01 ± 1,93</b>	0,02
Grande Circonference Pomme (cm)	<b>14,98 ± 2,06</b>	<b>14,06 ± 2,61</b>	0,01

Les valeurs (moyenne ± écart-type) des variables morphologiques des variétés d'anacardiers sont comparées suivant les lignes. Les valeurs en gras sont statistiquement les plus grandes au seuil de 5%.

### 3.3. Caractéristiques biochimiques des variétés d'anacardiers

- Teneurs en métabolites secondaires

Les teneurs en métabolites secondaires (MS) (polyphénols, flavonoïdes et tanins) ont variées de manière très significative selon la variété d'anacardier. Ainsi, les plus fortes teneurs en MS ont été observées chez la variété « pommes rouge (PR) » (Figure 2).



EAG : équivalent acide gallique ; EQ : équivalent de quercétine ;

EAT : équivalent acide tannique

**Figure 2 :** Teneurs en métabolites secondaires des variétés d'anacardiers « pomme jaune » et « pomme rouge » de la localité de Bondoukou (Côte d'Ivoire)

- Composition en composés primaires

Aucune différence significative n'a été observée entre les teneurs en composés primaires (CPs) des variétés d'anacardiers « pomme jaunes » et « pomme rouges », bien que les teneurs des CPs de la variété PJ soient légèrement supérieures à celles de la variété PR (Tableau 3).

**Tableau 3** : Teneurs en composés primaires des variétés d'anacardiers « pomme jaune » et « pomme rouge » de la localité de Bondoukou (Côte d'Ivoire)

		<b>Composés primaires</b>		
<b>Localités</b>		<b>Protéines</b> (g/100 MS)	<b>Lipides</b> (g/100 MS)	<b>Glucides</b> (g/100 MS)
<b>Variétés</b>	Jaune	0,74 ± 0,11	0,14 ± 0,03	88,61 ± 2,32
	Rouge	0,65 ± 0,34	0,11 ± 0,11	87,33 ± 0,79
P		1	1	1

MS = Matière sèche

#### 4. Discussion

Une dominance significative de la variété d'anacardier « pomme jaune (PJ) » (55%) a été relevée au sein des sites d'étude par rapport à la variété « pomme rouge (PR) » (45%). Ce résultat est similaire à ceux de Zoumarou-Wallis et al. (2016) au Bénin, Ona et al. (2017) au Bangladesh et de Ibukun et Jackson (2019) au Nigéria. Cette forte dominance de la variété PJ serait inéluctablement imputable à ses meilleures performances agronomiques, notamment le poids de la noix, qui demeure le critère prépondérant du choix de la semence par les paysans pour la création de nouvelles plantations (Mneney et al., 2001). Rappelons que nos vergers sites ont tous été créés par les paysans, à partir de semences non améliorées, sélectionnées par ces paysans. Nos résultats des caractères morphologiques rejoignent en grande partie ceux de Adou et al. (2012) en Côte d'Ivoire et de Zoumarou-Wallis et al. (2016) au Bénin. Quant au poids de la noix, les valeurs moyennes ont été de 6,64 g pour la variété PJ, contre 6,23 g pour la variété PR. Ces valeurs sont comprises dans l'intervalle de poids 5,90 à 13,10 g obtenu par Kouakou et al. (2018) sur un ensemble de différentes variétés d'anacardiers, au centre-nord de la Côte d'Ivoire. Toutefois, nos valeurs sont inférieures à celles déterminées par Zoumarou-Wallis et al. (2016) au Bénin. Les différences de performances entre les variétés d'anacardiers « pomme jaune (PJ) » et « pomme rouge (PR) » seraient imputables à leurs caractéristiques intrinsèques. Cependant, les différences de résultats entre les auteurs seraient liées aux caractéristiques du sol du milieu d'étude, aux conditions climatiques, ainsi qu'à l'âge des anacardiers (Jena et al., 2016 ; Tarpaga et al., 2020).

La variété PJ a significativement été la plus attaquée (3,93 à 7,20%) par Apate terebrans que la variété PR (2,62 à 5,24%). Cette préférence du ravageur pourrait s'expliquer à partir de la composition biochimique des deux variétés d'anacardiers, qui constitue un facteur déterminant dans le choix de la plante hôte par les insectes phytophages (Schoonhoven et al., 2005 ; Sauvion et al., 2013). Les Bostrichides étant des espèces qui apprécient le bois à haute teneur en amidon (Nang'ayo et al., 1993 ; Peters et al., 2002), la préférence de la variété PJ par A. terebrans pourrait s'expliquer, d'une part, par le fait que cette variété présente une meilleure qualité nutritionnelle au vu de sa teneur relativement élevée en composés primaires (CP). En effet, bien que la présente étude n'ait montré de différence significative entre les teneurs de CPs des deux variétés, d'autres études menées en Côte d'Ivoire (Soro, 2012 ; Adou, 2017) ont montré que la variété « pomme jaune

(PJ) », en plus d'être plus riche en sucres totaux notamment le glucose, le fructose et le saccharose, semble être plus riche en sels minéraux que la variété « pomme rouge (PR) ». Selon Soro (2012), le glucose et le fructose représentent 96 à 98% des sucres totaux des pommes de cajou. Pourtant, les glucides représentent l'une des principales sources d'énergie des insectes (Kunieda et al., 2006 ; Miyamoto et Amrein, 2017). Comme les glucides, les lipides sont une source d'énergie essentielle pour le métabolisme des insectes (Filipiak et al., 2017). La préférence de la variété PJ par *A. terebrans* se justifierait, d'autre part, par sa faible teneur en métabolites secondaires, qui constituent des toxines pour les insectes ravageurs (Sauvion et al., 2013). Nos résultats sont en partie similaires à ceux de Soro (2012) et Adou et al. (2012) en Côte d'Ivoire, et Hédiblè et al. (2017) au Bénin, qui ont montré que les pommes rouges d'anacarde sont plus riches en polyphénols totaux que les pommes jaunes. Toutefois, nos valeurs restent inférieures aux leurs. Cette différence peut s'expliquer par le type de matériel végétal (la pomme d'anacarde) utilisé par ces auteurs, car la teneur en polyphénols varie selon les parties de la plante (Sauvion et al., 2013). Par ailleurs, selon Soro (2012), les teneurs en polyphénols relativement élevées de la pomme d'anacarde (comparativement à plusieurs fruits tropicaux tels que l'ananas, l'avocat et la mangue) expliqueraient son astringence qui limite sa consommation. En effet, Michodjehoun-Mestres et al. (2009) ont relevé que 98% de ces polyphénols sont sous formes condensées (tanins), composés responsables de l'astringence du fruit. Les observations de Michodjehoun-Mestres et al. (2009) expliqueraient fortement le fait que la variété d'anacardier à pommes rouges soit plus riche en tanins, comme l'indiquent nos résultats et ceux de Hédiblè et al. (2017) et de Agbangnan et al. (2018). Quant aux teneurs de flavonoïdes obtenues dans cette étude, elles sont en partie similaires à celles de Adou et al. (2012), en Côte d'Ivoire.

## 5. Conclusion

Cette étude a permis de caractériser deux principales variétés d'anacardiers au sein des vergers de la localité de Bondoukou, au Nord-Est de la Côte d'Ivoire. Il s'agit des variétés d'anacardiers « pomme jaune (PJ) » et « pomme rouge (PR) ». La variété PJ a été plus abondante dans les vergers, du fait de sa meilleure performance agronomique, notamment le poids de la noix et celui de la pomme. En outre, la teneur en nutriments de la variété PJ était relativement plus élevée, avec une teneur en toxines significativement plus faible que celle de la variété PR. Toutes ces caractéristiques de la variété PJ ont fait d'elle la plus attaquée par *A. terebrans*.

Le travail relève, d'une part, une relation entre le taux d'infestation des vergers d'anacardiers et leurs proportions en variétés d'anacardiers PJ et PR. Cette relation devrait être approfondie à travers une étude à grande échelle. D'autre part, ce travail ouvre des perspectives de sélection variétale, afin d'améliorer la productivité des variétés d'anacardiers ainsi que leur résistance aux insectes ravageurs dont *A. terebrans*.

## Remerciements

Les auteurs expriment leur gratitude au Centre d'excellence africain sur le changement climatique, la biodiversité et l'agriculture durable (CEA-CCBAD), à l'Agence universitaire de la francophonie (AUF), à l'Institut de recherche pour le développement (IRD), à la Fondation internationale pour la science (IFS) et au Comité de coopération scientifique et technologique (COMSTECH) de l'Organisation de la coopération islamique (OIC), pour leur soutien financier. Ils sont aussi reconnaissants au technicien superviseur des travaux de terrain, M. DUA Fofié Daniel, ainsi qu'aux différents paysans qui ont acceptés de mettre leurs parcelles à disposition.

## Références bibliographiques

- Adou M., Tetchi F.A., Gbané M., Kouassi K.N. & Amani N'G.G., 2012. Physico-chemical characterization of cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.) from Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 11: 32-43.
- Adou M., 2017. Caractérisation physico-chimique et toxicologique et étude de la stabilité des jus de différentes variétés de pommes d'anacarde (*Anacardium occidentale* L.) issues de trois zones écologiques de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, UFR des Sciences et Technologies des Aliments, Université Nangui Abrogoua, Abidjan, Côte d'Ivoire, 141 p.
- AFNOR, 1986. Aliments des animaux, méthodes d'analyses françaises et communautaires, recueil de normes françaises, 2<sup>ème</sup> édition, pp 131 134.
- Agbangnan D.C.P., Ggohaïda V., Bothon F.T.D., Kanfon R.E., Avlessi F., Wotto D.V. &
- Sohounhloue K.C.D., 2018. Nutritional profile and chemical composition of juices of two cashew apple's varieties of Benin. *Chemistry Journal*, 4(4): 91-96.
- Agboton C., Onzo A., Korie S., Tamò M. & Vidal S., 2017. Spatial and Temporal Infestation Rates of *Apate terebrans* (Coleoptera : Bostrichidae) in Cashew Orchards in Benin, West Africa. *African Entomology*, 25(1): 24-36.
- Akessé E.N., Ouali-N'Goran S.-W.M., N'Dépo O.R. & Tano Z.K.C., 2018. Population fluctuation of *Diaxocera trifasciata* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Cerambycidae), cashew branches girdler in the Brobo locality (Central Côte d'Ivoire). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(5): 1064-1070.
- Aliko Y.J. & Ouali N'Goran S.-W.M., 2022. Seasonal Fluctuation of The Populations of The Stem Borer, *Apate terebrans* (Coleoptera: Bostrichidae) in Cashew Orchards in North-Eastern Côte d'Ivoire (West Africa). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 15(4):1-12. doi:10.21608/EAJB-SA.2022.265487.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Washington DC, 124 p.
- Bainbridge Z., Tomlins K. & Westby A., 1996. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of Food Science and Agriculture*, 29: 77-79.
- Balogoun I., Saïdou A., Ahoton E.L., Amadji L.G., Ahohuendo C. B., Adebo I.B., Babatounde S., Chougourou D., Adoukonou-Sagbadja H. & Ahanchede A., 2014. Caractérisation des systèmes de production à base d'anacardier dans les principales zones de culture au Bénin. *Agronomie Africaine*, 26(1) : 9 – 22.
- CCA, 2017. Conseil du Coton et de l'Anacarde de Côte d'Ivoire. Consulté le 05 novembre 2017, <http://www.conseilcotonanacarde.ci>.
- Djaha J.B.A., N'guessan A.K., Ballo C.K. & Aké S., 2010. Germination des semences de deux variétés d'anacardiers (*Anacardium occidentale* L.) élites destinées à servir de porte-greffe en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 32 : 1995-2001.
- FAO, 1998. Compendium of food additive specifications. Expert Committee on Food Additives. 51<sup>st</sup> session. Geneva, Switzerland, pp 9-18.

Filiapiak M., Kuszewska K., Asselman M., Denisow B., Stawiarz E., Woyciechowski M., Weiner J., 2017. Ecological stoichiometry of the honey bee : Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. *PLoS ONE*, 12(8): e0183236, DOI: 10.1371/journal.pone.0183236, 31 p.

Guillaumet J.L. & Adjano houn E., 1971. La végétation. Dans : Le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Mémoire O.R.S.T.O.M. n ° 50 : 157 – 263.

Hédiblé L.G., Adjou E.S., Tchobo F.P., Agbangnan P., Ahohuendo B. & Soumanou M.M., 2017. Caractérisation physico-chimique et morphologique de pommes d'anacarde pour leur utilisation dans la production d'alcool alimentaire et de boissons spiritueuses. *Journal of Applied Biosciences*, 116 : 11546-11556.

Ibukun E.O. & Jackson U.E., 2019. Variation studies of morphological characters of cashew trees (*Anacardium occidentale* L.) on Kogi State University Campus, Anyigba, Kogi State, Nigeria. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 08(03): 017-022. DOI: 10.30574/gscbps.2019.8.3.0161

Ivie M.A., 2002. Bostrichidae in ARNETT et al. ed., American Beetles, 2 : 233-244.

Jena R.C., Samal K.C., Ajantaa Pal A., Das B.K. & Chand P.K., 2016. Genetic diversity among some promising Indian local selections and hybrids of cashew nut based on morphometric and molecular markers. *International Journal of Fruit Science*, 16(1): 69-93, DOI: 10.1080/15538362.2015.1046321.

Kouakou K.E., Moussa H., Kouassi A.M., Goula B.T.A. & Savane I., 2017. Redefinition of homogeneous climatic zones in Cote d'Ivoire in a context of climate change. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 8(11): 453-462.

Kouakou C.K., Konan A.D.S.-H., N'Da Adopo A., N'Da H.A., Djaha A.J.-B., Minhibo M.Y., Djidji A.H., Dosso M. & N'Guessan A.E., 2018. Agro-morphological characterization of cashew (*Anacardium occidentale* L.) ecotypes from North-Central of Côte d'Ivoire. *Fruits*, 73(5): 255–264, DOI: [10.17660/th2018/73.5.1](https://doi.org/10.17660/th2018/73.5.1).

Kunieda T., Fujiyuki T., Kucharski R., Foret S., AmentS.A., Toth A.L., Ohashi K., Takeuchi H., Kamikouchi A., KageE., Morioka M., Beye M., Kubo T., Robinson G.E. & Maleszka R., 2006. Carbohydrate metabolism genes and pathways in insects: insights from the honey bee genome. *Insect Molecular Biology*, 15: 563-576.

Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J. & Nacoulma O.G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571-577.

Michodjehoun-Mestres L., Souquet J.M., Fulcrand H., Meudec E., Reynes M. & Brillouet J.M., 2009. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. *Food Chemistry*, 114: 989-995.

Miyamoto T. & Amrein H., 2017. Gluconeogenesis: An ancient biochemical pathway with a new twist. *Fly*, 1: 218-223.

Mneney E., Mantell S. & Bennett M., 2001. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers to reveal genetic diversity within and between populations of cashew (*Anacardium*

*occidentale* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(4): 375-383, DOI: 10.1080/14620316.2001.11511380.

Nang'ayo F.L.O., Hill M.G., Chandi E.A., Chiro C.T., Nzeve D.N. & Obiero J., 1993. The natural environment as a reservoir for the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera : Bostrichidae) in Kenya. *African Crop Science Journal*, 1: 39-47.

Ona A.F., Amin M., Emteas M.A., Ahmad H. & Jamal Uddin A.F.M., 2017. Performance of Eight Cashew nut (*Anacardium occidentale*) Germplasm in Bangladesh. *International Journal of Business, Social and Scientific Research*, 5(4): 175-182.

PACCVA, 2017. Plan de gestion des pestes. Version finale (Côte d'Ivoire), 168 p.

Peters B.C., Creffield J.W. & Eldridge R.H., 2002. Lyctine (Coleoptera : Bostrichidae) pests of timber in Australia : A literature review and susceptibility testing protocol. *Australian Forestry*, 65(2): 107-119.

Ricau P., 2013. Connaître et comprendre le marché international de l'anacarde. Rongead, Côte d'Ivoire, 49 p.

Sauvion N., Calatayud P.-A., Thiéry D. & Marion-Poll F., 2013. Interactions insects-plantes. IRD, Quæ, France, ISBN IRD : 978-2-7099-1746-9, 752 p.

Schabel H.G., Hilje L., Nair K.S.S. & Varma R.V., 1999. Economic entomology in tropical forest plantations: An update. *Journal of Tropical Forest Science*, 11(1): 303-315.

Schoonhoven L.M., van Loon J.J.A., Dicke M., 2005. Insect Plant Biology. Oxford University Press, Oxford, 421 p.

Sinan A. & Abou K.N., 2016. Impacts Socio-Economiques De La Culture De L'anacarde Dans La Sous-Préfecture d'Odienné (Côte d'Ivoire). *European Scientific Journal*, 12(32) : 369 - 383.

Singleton V.L., Orthofer R. & Lamuela-Raventós R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152178.

Soro D., 2012. Couplage des procédés membranaires pour la clarification et la concentration du jus de pommes de cajou : performances et impacts sur la qualité des produits (Montpellier, SupAgro). Thèse de Doctorat de l'Institut SupAgro, Montpellier, France, 156 p.

Soro S., Sanogo S., Ouattara G.M., Silue N., Koné D. & Kouadio Y.J., 2020a. Analyse descriptive et facteurs agronomiques d'avant-garde de l'état sanitaire des vergers anacardiers (*Anacardium occidentale* L.) en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 16(30) : 72-86.

Stam J.M., Kroes A., Li Y., Gols R., van Loon J.J., Poelman E.H. & Dicke M., 2014. Plant interactions with multiple insect herbivores: from community to genes. *Annual Review of Plant Biology*, 65: 689-713

Tandjiekpon A., Lagbadohossou A., Hinvi J. & Afonnon E., 2003. La culture de l'anacardier au Bénin : Référentiel Technique. Edition INRAB, Bénin, 86 p.

Tarpaga W.V., Bourgou L., Guira M. & Rouamba A., 2020. Caractérisation agromorphologique d'anacardiers (*Anacardium occidentale* L.) en sélection pour le haut rendement et la qualité supérieure de noix brute au Burkina Faso. *International Journal of Biology and Chemical Sciences*, 14(9) : 3188-3199, DOI : 10.4314/ijbcs.v14i9.17.

Tilman D., Cassman K.G., Matson P.A., Naylor R. & Polasky S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418: 671-677.

Yéo K., Aliko Y.J. & Ouali-N'Goran S.-W.M., 2019. Dégâts et facteurs d'influence des infestations de *Apate terebrans* (Coleoptera, Bostrichidae, Pallas, 1772), ravageur de l'anacardier en Côte d'Ivoire : cas des localités de Bondoukou et de Bouna. *Reb-Pasres*, 3(3) : 11-21.

Zangerl A.R. & Bazzaz F.A., 1992. Theory and pattern in defense allocation, dans Fritz R. et Simms E.L., *Plant resistance to herbivores and pathogens*, University of Chicago Press, Chicago, pp 363-392.

Zoumarou-Wallis N., Bagnan A.M., Akossou J.Y.A. & Kanlindogbe B.C., 2016. Caractérisation morphologique d'une collection de fruits d'anacardier provenant de la commune de Parakou (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(6) : 2413-2422.

# Efficacité des extraits des aqueux de *Thevetia peruviana* et de *Tephrosia vogelii* dans le contrôle d'*Aphis craccivora* et de *Megalurothrips sjostedti* sur le niébé au Tchad

**MBAIDIRO Taambajim'd Josué<sup>1, 2, 3</sup>, Gapili NAOURA<sup>1</sup>, DJENASSEM Alfred<sup>1</sup>, DOYAM Nodjasse Amos<sup>1</sup>**

Institut Tchadien de Recherche Agronomique pour le Développement, ITRAD, BP : 5400 N'Djamena, Tchad

Université de Parakou, École Doctorale des Sciences Agronomiques et de l'Eau, BP : 123 Parakou, République du Bénin

Faculté d'Agronomie. Laboratoire de Phytotechnie, d'Amélioration et de Protection des Plantes (LaPAPP); Université de Parakou, République du Bénin.

\*Auteur correspondant, Email : [jmbaidiro@gmail.com](mailto:jmbaidiro@gmail.com) / Tel : +235 66781676

## Résumé

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp reste une importante source de protéines alimentaires au Tchad. Cependant, sa production est fortement entravée par les attaques d'insectes nuisibles et de maladies. La présente étude a évalué l'efficacité des extraits de *Tephrosia vogelii* et *Thevetia peruviana* contre le puceron du niébé (*Aphis craccivora*) et les thrips (*Megalurothrips sjostedti*) dans un dispositif en Blocs de Fisher avec 4 traitements et 4 répétitions. Les densités moyennes de pucerons et de thrips 30 plants ont été significativement la plus faible ( $P < 0,0001$ ) sur le traitement au Lambdacyalothrine + Acétamipride suivi des traitements à l'extrait de *Tephrosia vogelii* et *Thevetia peruviana*, le témoin non traité ayant enregistré la plus forte densité. Aussi, les parcelles ayant reçu l'insecticide chimique ou les bio pesticides ont enregistré des taux moyens d'infestation de pucerons significativement plus faibles ( $P < 0,0001$ ) par rapport au témoin. Quant au nombre de plants infestés par les pucerons, il a été significativement plus élevé sur le témoin non traité que sur les autres traitements. Les rendements en grains de niébé ont été significativement plus élevés ( $P < 0,001$ ) dans les parcelles traitées au Lambdacyalothrine + Acétamipride ( $536,33 \pm 26,21$  kg/ha) suivi des traitements à l'extrait de *Tephrosia vogelii* ( $332,91 \pm 9,50$  kg/ha) et *Thevetia peruviana* ( $283,66 \pm 6,65$  kg/ha). Par conséquent, l'utilisation des extraits de *Tephrosia vogelii* et *Thevetia peruviana* pourraient contribuer à une gestion efficace et durable de pucerons et thrips sur le niébé et pourrait donc constituer une alternative à la lutte chimique au Tchad

**Mots clés :** Efficacité, Extrait de plants, *Vigna unguiculata*, Aphid, Thrips, Tchad.

## Abstract

Cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp remain an important source of protein in Chad. However, its production is greatly hampered by pest and disease attacks. This study evaluated the efficacy of *Tephrosia vogelii* and *Thevetia peruviana* extracts against cowpea aphid (*Aphis craccivora*) and thrips (*Megalurothrips sjostedti*) in a Fisher Block device with 4 treatments and 4 replicates. Mean

aphid and thrips densities in 30 plants were significantly lower ( $P < 0.0001$ ) on the Lambdacyalothrin + Acetamiprid treatment followed by the treatments with *T. vogelii* and *T. peruviana* extracts, the untreated control having recorded the highest density. In addition, the plots that received the chemical insecticide or the biopesticides recorded significantly lower average aphid infestation rates ( $P < 0.0001$ ) compared to the control. Cowpea grain yields were significantly higher ( $P < 0.001$ ) in plots treated with Lambdacyalothrin + Acetamiprid ( $536.33 \pm 26.21$  kg/ha) followed by treatments with *T. vogelii* extracts ( $332.91 \pm 9.50$  kg/ha) and *T. peruviana* ( $283.66 \pm 6.65$  kg/ha). Therefore, the use of extracts of *Tephrosia vogelii* and *Thevetia peruviana* could contribute to an effective and sustainable management of aphids and thrips on cowpea and could therefore constitute an alternative to chemical control in Chad.

**Key words:** Efficacy, Plant extract, *Vigna unguiculata*, Aphid, Thrips, Chad.

## 1. Introduction

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Fabaceae), est l'une des principales légumineuses alimentaires produites au monde et particulièrement en Afrique de subsaharienne. Cependant, plusieurs contraintes d'ordre biotique et abiotique limitent sa production (Ajeigbe et al., 2010 ; Boukar et al., 2016). Ahmed et al., 2009 ont rapporté que 80 à 100 % des pertes de la production du niébé sont dues à des attaques des insectes ravageurs Ahmed et al., (2009). Les principaux ravageurs qui affectent la culture de sa mise en place jusqu'à la récolte sont entre autres : les pucerons (*Aphis craccivora* Koch), les thrips des fleurs (*Megalurothrips sjostedti* Tryb.), les foreurs de gousses (*Maruca vitrata* et *Helicoverpa armigera*) et les punaises brunes *Clavigralla tomentosicollis* Stal) (Egho, 2010 ; Issoufou et al., 2017).

La production du niébé au Tchad, reste cependant très faible avec un rendement moyen de 0,2 à 0,3 tonne à l'hectare contre un rendement potentiel de 0,8 à 1,5 tonnes à l'hectare (DSA, 2019). La culture du niébé se trouve en effet limitée par plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, la non-maîtrise des techniques culturales, la pauvreté du sol, les insectes ravageurs et les maladies qui limitent sa production et son rendement (Mbaïdiro et al., 2020).

Au regard de son importance économique, le premier recours des producteurs pour lutter contre les insectes ravageurs est l'utilisation systématique des pesticides chimiques de synthèse. Bien qu'efficaces de par leurs effets immédiats, l'utilisation de ces insecticides constitue un véritable danger pour l'environnement (problèmes de pollution de l'eau, de l'air) avec des conséquences sur la santé humaine (Weinberger & Srinivasan, 2009). L'utilisation non appropriée de ces insecticides entraîne le développement d'une résistance des insectes cibles. Par ailleurs, le coût élevé des insecticides chimiques de synthèse les rend inaccessibles aux petits exploitants agricoles. Il est donc impératif de développer des méthodes alternatives répondant aux exigences d'ordre économique, écologique et toxicologique (Mukendi, 2013). De ce fait, les pesticides botaniques tels que les extraits aqueux de neem, *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae), de ricin, *Ricinus communis* L. (Malpighiales : Euphorbiaceae), de *Thevetia peruviana* et de *Tephrosia vogelii*, localement disponibles, présentent un intérêt capital. Au Tchad peu d'études ont été menées sur les activités insecticides des plantes alors même que plusieurs plantes sont reconnues avoir des potentialités pour la lutte contre les déprédateurs des cultures. Mbaïdiro et al., 2020 ont démontré l'effet insec-

ticide de l'extrait aqueux de graines sur les thrips du niébé. C'est donc dans le but de combler ce gap que cette étude a été menée en vue de déterminer l'effet insecticide des extraits aqueux de feuilles de *Tephrosia vogelii* et des graines de *Thevetia peruviana* sur la dynamique de populations des pucerons, *A. craccivora* et de thrips *M. sjostedti* au champ en culture de niébé.

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Site de l'étude

L'étude a été menée à la station de recherche agronomique de Bébédjia 8°40'34" N; 16°33'58" E; 397 m d'altitude). Cette station est située en zone soudanienne du Tchad à 524 km au sud de N'Djamena (la capitale du pays). Elle jouit d'un climat de type tropical soudanien caractérisé par l'alternance d'une saison pluvieuse (4 à 5 mois) qui s'étend d'avril à octobre, et d'une saison sèche (7 à 8 mois) qui s'étend de novembre à mars. La pluviométrie annuelle se situe entre 600 mm et 1200 mm (DMN, 2019).

### 1.2. Matériel d'étude

#### 1.2.1. Matériel végétal

La variété améliorée de niébé, WITA utilisée dans cette étude a été obtenue de l'Institut Tchadien de Recherche Agronomique pour le Développement (ITRAD). Pour l'essai, les extraits aqueux des feuilles de *T. vogelii* et de graines *Thevetia peruviana* ont été utilisés. Le matériel végétal a été récolté à la station de recherche agronomique de Bébédjia, en août 2022.

#### 1.2.2. Matériel animal

*Aphis craccivora* Koch et *Megalurothrips sjostedti* seront les deux espèces animales qui ont fait l'objet de cette étude.

#### 1.2.3. Produit insecticide et bio pesticide testé

- Pacha 25 EC (Lambda cyathophane 15 g/l + acétamiprid 10 g/l) à la dose de 1L/ha
- L'extrait aqueux de feuilles de *Tephrosia vogelii*;
- L'extrait aqueux de feuilles de *Thevetia peruviana*.

### 1.3. Méthodes

#### 1.3.1. Préparation des extraits aqueux

**Extrait aqueux de feuilles de *T. peruviana*** : les feuilles fraîches de la plante ont été collectées pendant le jour et ont été finement broyées dans un mortier. 100 g du broyat a été mélangé avec 1 l d'eau et laissé macérer pendant 24h pour obtenir l'extrait aqueux de feuilles.

**Extrait aqueux de feuilles de *Tephrosia vogelii*** : les feuilles fraîches de la plante seront collectées pendant le jour et seront finement broyées dans un mortier. 100 g du broyat a été mélangé avec 1 l d'eau et laissé macérer pendant 24h pour obtenir l'extrait aqueux de feuilles.

**Tableau 2** : Récapitulatif des doses de traitement appliquées.

Pesticides	Doses	Volume d'eau
Lambda cyathophane + acétamiprid	1 L/ha	300 L
Extrait aqueux de graines <i>Thevetia peruviana</i>	100 g de broyat de feuilles	1 L
Extrait aqueux de feuilles de <i>Tephrosia vogelii</i>	100 g de broyat de feuilles	1 L

### 1.3.2. Mise en place de l'essai

L'essai a été mis en place suivant un dispositif en bloc de Fisher totalement randomisé avec quatre traitements et quatre répétitions. Les traitements ont été constitués des extraits de feuilles aqueux de feuilles de *Tephrosia vogelii* et *Thevetia puriviana* qui ont comparé à l'insecticide chimique lambda cyathophane + acetamiprid et un témoin non traité et sont présentés comme suit : T1 : le niébé non traité; T2 : le niébé traité à l'extrait aqueux de graines de *Thevetia puriviana*; T3 : le niébé traité à l'extrait aqueux de feuilles de *Tephrosia vogelii*; T4 : le niébé traité au lambda cyathophane + acétamiprid. Chaque bloc a abrité 4 parcelles élémentaires (soient au total 16 parcelles), séparées les unes des autres par une allée de 2 m. Chaque parcelle élémentaire mesurait 5 x 2,5 m avec les écartements de 1,5 m entre les parcelles et comportait 6 lignes de semis. Le niébé a été semé à raison de 2 graines par poquet et à un écartement de 0,50 m x 0,50 m, après une pluie utile d'au moins 20 mm. Un premier sarclage a été fait au 14<sup>e</sup> jour après la levée suivie d'un deuxième sarclage à 21 jours après le premier. Le démarlage à un plant par poquet a été fait après le premier sarclage. L'engrais céréale N, P, K (20-10-10) a été apporté comme fumure de fond, à une quantité équivalente à 150 kg/ha. Quatre applications ont été faites à l'intervalle de 7 jours au moyen de pulvérisateur à dos à partir du jour 35 après semis (JAS).

## 2. Collecte de données

### 2.1. Effet des traitements sur la densité de population d'*A. craccivora*

L'évaluation de la densité de population d'*A. craccivora* a été faite par un comptage direct des pucerons sur 30 plants de niébé choisis de façon aléatoire sur les 3 lignes centrales de chaque parcelle élémentaire : soit un total de 120 plants par traitement. Ces observations ont été faites tous les 7 jours après traitement à compter du 40<sup>e</sup> jour après semis où l'incidence des attaques est élevée, jusqu'au 68<sup>e</sup> jour après semis où les attaques deviennent négligeables.

### 2.2. Effet des traitements sur le nombre de plants infestés par *A. craccivora* et le taux d'infestation

L'estimation du nombre de plants infestés par *A. craccivora* a été faite par un comptage direct des pucerons sur 30 plants de niébé choisis de façon aléatoire sur les 3 lignes centrales de chaque parcelle élémentaire : soit un total de 120 plants par traitement. Le taux d'infestation des parcelles de niébé a alors été déterminé en faisant le rapport entre le nombre de plants infestés (c'est-à-dire, ceux abritant le ravageur) et le nombre total de plants échantillonés.

### 2.3. Effet des traitements sur la densité des *M. sjostedti*

Le comptage de *M. sjostedti* a été effectué sur 30 plants sélectionnés de façon aléatoire par parcelle sur les deux lignes de bordures. Sur chaque plant 10 fleurs ont été cueillies et mises dans de l'alcool à 70 ° et ramenées au laboratoire où le nombre de *M. sjostedti* a été compté et enregistré. Le *M. sjostedti*, ravageur attaquant les fleurs, les échantillons ont été réalisé après l'apparition des fleurs du 45<sup>e</sup> au 70<sup>e</sup> JAS.

### 2.4. Estimation du rendement en grain du niébé

A la récolte, un dernier échantillonnage a été fait pour évaluer le poids de grains par parcelle. Le poids de grains par parcelle a été évalué sur les 3 lignes centrales qui ont été récoltées et sur lesquels aucune ablation de fleurs n'a été faite sur les plants lors du comptage de *M. sjostedti*. La productivité ainsi déterminée est celle des trois lignes centrales de chaque parcelle élémentaire (soit 7,5 m<sup>2</sup>). Ce rendement a alors été rapporté à l'hectare pour plus de clarté et pour faciliter les comparaisons avec d'autres résultats de recherche.

### 3. Analyse des données :

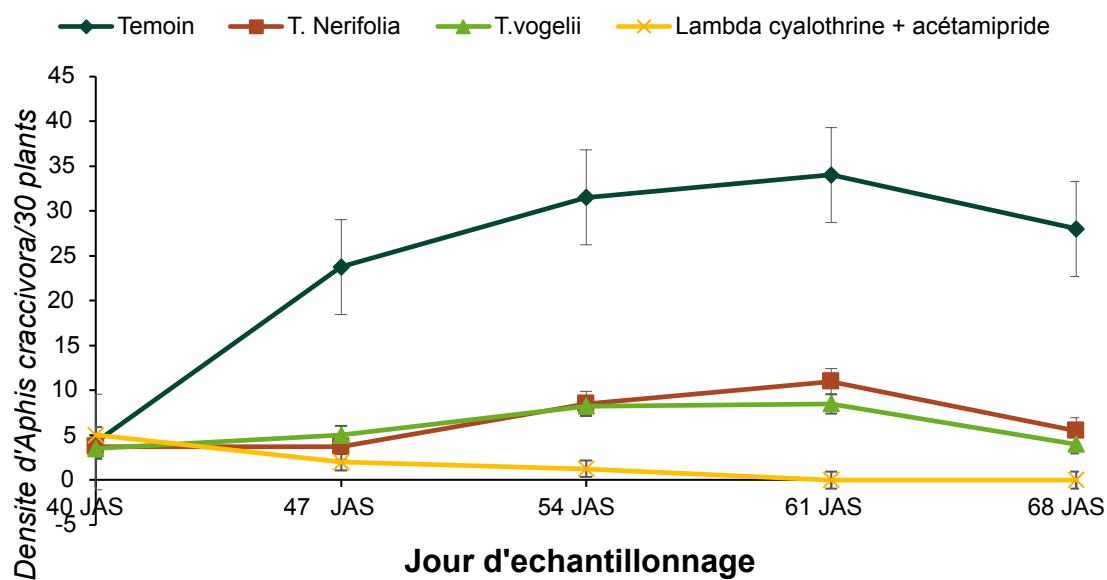
Les données ont été analysées après transformation par le logarithme ( $\log(X+1)$ ) et Arcsine  $\sqrt{}$  (percent  $x/100$ ), respectivement pour les densités et le taux d'infestation et les moyennes sont discernées le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5 %.

### 4. Résultats

#### 4.1. Effets des traitements sur la densité de population d'*A. craccivora*

La figure 1 présente l'évolution des densités d'*A. craccivora* par 30 plants dans les quatre traitements appliqués sur le maïs. Les observations ont montré de plus faibles densités de larves du ravageur au 40<sup>e</sup> jour après semis (40<sup>e</sup> JAS) sur tous les quatre traitements. Ces densités ont augmenté progressivement à partir du 40<sup>e</sup> JAS pour atteindre un pic au 61<sup>e</sup> JAS avant de décroître pour atteindre de faibles niveaux aux 68<sup>e</sup>JAS, jour du dernier échantillonnage. Les densités moyennes de population d'*A. craccivora* ont varié de  $1,65 \pm 0,70$  à  $24,40 \pm 2,05$  pucerons sur 30 plants. L'analyse de variance a révélé une influence significative des traitements sur la densité de population de *S. frugiperda* ( $ddl = 3$ ;  $F = 74,34$ ;  $P = 0,0001$ ). Le traitement à l'insecticide chimique, PACHA 25 EC (Lambda cyathophane + acétamiprid) a enregistré la plus faible densité de larves par 25 plants ( $1,65 \pm 0,70$ ) suivi des traitements au *T. Vogelii* et *T. peruviana* qui ont également montré des faibles densités et statistiquement similaires. Le témoin non traité a enregistré la densité de la larve la plus élevée.

**Figure 1**



**Figure 1:** Évolution de la densité d'*A. craccivora* sur les différents traitements

#### 4.2. Effet des traitements sur le nombre de plants infesté et le taux d'infestation par *A. craccivora*

Le tableau 3 montre le nombre de plants de niébé infestés et du taux d'infestation au niveau des différents traitements. Le nombre moyen de plants infestés a varié de  $0,45 \pm 0,18$  à  $17,35 \pm 1,02$  et le taux moyen d'infestation à varié de  $1,50 \pm 0,62$  à  $54,83 \pm 1,02$ . L'analyse de variance a montré un effet significatif des traitements sur le nombre de plants infestés ( $ddl = 3$ ;  $F = 193,75$ ;  $P < 0,0001$ ) et le

taux d'infestation ( $ddl = 3$ ;  $F = 140,75$ ;  $P < 0,0001$ ). Le témoin non traité a enregistré le plus nombre de plants infestés ainsi que le taux d'infestation le plus élevé tandis que l'insecticide chimique et les extraits de plantes ont obtenu le faible nombre de plants infestés et statistiquement similaires.

**Tableau 3 :** Nombre de plants infestés et le taux d'infestation par *A. craccivora*

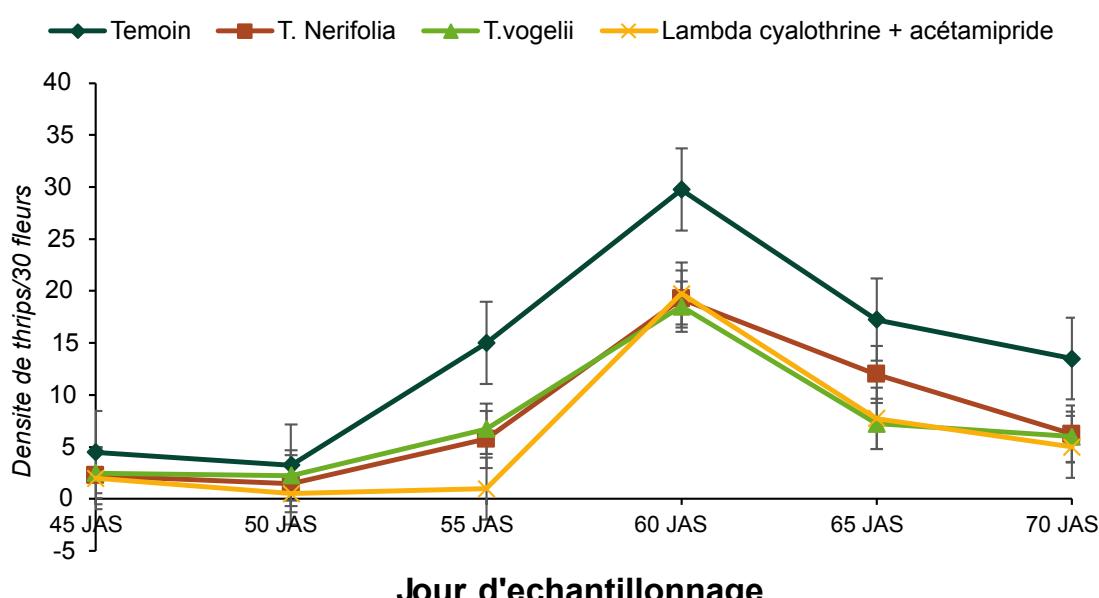
Traitement	Nombre de plants infestés	Taux d'infestation
Témoin	$17,35 \pm 1,02$ a	$54,83 \pm 3,85$ a
<i>T. Nerifolia</i>	$2,15 \pm 1,50$ b	$7,16 \pm 1,11$ b
<i>T.vogelii</i>	$2,15 \pm 1,50$ b	$7,16 \pm 1,11$ b
PATCHA 25 EC	$0,45 \pm 0,18$ b	$1,50 \pm 0,61$ b
ddl	3	3
F	193,75	140,75
Pr > F	0,0001	0,0001

Dans une colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes (SNK test)

#### 4.3. Effet des traitements sur la dynamique de la population de *M. sjostedti*

Le figure 3 montre l'évolution de la population de *M. sjostedti* collecté sur les fleurs durant l'étude. La densité de population de *M. sjostedti* était plus faible au 45<sup>e</sup> jour après semis sur tous les traitements avant de s'accroître pour atteindre un pic au 60<sup>e</sup> JAS sur tous les traitements et de décroître jusqu'au 70<sup>e</sup> JAS, jour du dernier échantillonnage. La densité moyenne a varié de  $6, \pm 1,57$  à  $14,17 \pm 2,36$ . L'analyse de variance a montré une influence significative des traitements ( $ddl = 3$ ;  $F = 4,07$ ;  $P < 0,009$ ) sur la population de *M. sjostedti*. Les parcelles traitées à l'insecticide chimique et aux extraits de plantes ont enregistré de faibles densités de population de *M. sjostedti* et statistiquement similaire.

**Figure 2**



**Figure 3 :** Dynamique de la population de thrips sur les différents traitements

#### **4.4. Impact des traitements sur le poids des grains et le rendement en grains du niébé**

Le tableau 4 présente le poids des grains obtenu au niveau de chaque traitements et l'estimation du rendement à l'hectare au niveau des différents traitements. L'analyse de variance a montré un impact significatif ( $P < 0,05$ ) des traitements sur le poids et le rendement en grains. L'insecticide chimique a obtenu le poids et le rendement en grains le plus élevé suivi du traitement à base de *T. vogelii* et *T. nerifolia*. Le plus faible poids et rendement en grains a été enregistré au niveau du témoin non traité.

**Tableau 4 :** effets des traitements sur le poids et le rendement en grains

<b>Traitements</b>	<b>Poids des grains (g)</b>	<b>Rendement en grains (kg/ha)</b>
Lambda cyathothrine + acétamipride	$402,25 \pm 19,66$ a	$536,33 \pm 26,21$ a
<i>T. vogelii</i>	$249,75 \pm 7,07$ b	$332,91 \pm 9,50$ b
<i>T. nerifolia</i>	$212,75 \pm 4,99$ c	$283,66 \pm 6,65$ c
Témoin	$45,50 \pm 2,10$ d	$60,66 \pm 2,80$ d
ddl	3	3
F	184,21	183,92
Pr > F	0,0001	0,0001

Dans une colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes (SNK test)

## **5. Discussion**

Cette étude a démontré l'efficacité des extraits aqueux de *Tephrosia. vogelii* et *Thevetia. peruviana* en comparaison avec l'insecticide chimique, PACHA 25 EC (Lambda cyathothrine + acétamipride) contre deux principaux insectes nuisibles du niébé : les pucerons (*Aphis craccivora* et *Megalurothrips sjostedti*). Il ressort que ces deux extraits de plantes ont significativement réduit la densité de population, le nombre de plants infestés et le taux d'infestation par *A. craccivora*. Aussi, une réduction significative de la densité de population de *M. sjostedti* après applications de ces deux biopesticides.

En effet, les extraits aqueux de *T. vogelii* et *T. peruviana* ont été aussi efficaces que l'insecticide chimique, PACHA 25 EC (Lambda cyathothrine + acétamipride) contre les pucerons et les thrips du niébé. L'insecticide chimique a été plus efficace que les deux extraits de plantes dans le contrôle des pucerons et des thrips du niébé. En général, les produits synthétiques ont un pouvoir insecticide plus élevé que les produits biologiques (Tonou et al., 2011). L'efficacité de cet insecticide a été rapportée par plusieurs auteurs dans la réduction des insectes ravageurs du niébé y compris les pucerons et les thrips (Horezeanu, 2017; Barry et al., 2022;).

La réduction significative de l'infestation et de la densité de population de pucerons dans les parcelles traitées avec *T. vogelii* et *T. peruviana* serait le résultat d'un contact chimique direct et d'un effet répulsif. Par conséquent, les pucerons du niébé doivent avoir été en contact direct avec les substances toxiques actives contenues dans ces extraits de plantes. Aussi, la mobilité réduite de ces pucerons qui peuvent rarement voler aurait favorisé leur contact direct par les pulvérisations de pesticides botaniques, ce qui pourrait entraîner une mortalité de ces ravageurs plus tard. L'efficacité de *T. vogelii* contre ses ravageurs pourrait être due à la présence de roténoïdes qui auraient

des propriétés insecticides comme démontré par plusieurs auteurs (Belmain et al., 2012; Mkindi et al., 2019). Les résultats de cette étude viennent en soutien aux observations de Stevenson et Belmain, 2017 selon lesquelles les substances toxiques présentes dans les roténoïdes avaient un effet sur la réduction de la population de pucerons. L'efficacité du *T. peruviana* contre ces ravageurs serait dû à la présence des composés phytochimiques contenus dans cet extrait tels que des alcaloïdes, des tanins, des glucosides stéroïdiens, des phénols, de l'acide chlorogénique, des terpénoïdes et des flavonoïdes avec des effets insecticides, insectifuges, régulateurs de croissance et anti-appétant (Ramamurthy, 2015). Ces résultats sont en accord avec les études réalisées par Birgucu et al., (2015), qui ont montré l'efficacité du *T. peruviana* dans le contrôle d'*Aphis gossypii* Glover et *Bemisia tabaci* Genn du fait de son effet anti-appétant. Ces résultats corroborent également les travaux de Kossou et al. (2000) qui ont rapporté que des extraits de *Thevetia nerifolia* *Azadirachta indica*, *Manihot esculenta* qui ont réduit significativement la population de pucerons.

Les résultats ont également montré que l'application des extraits aqueux de *T. vogelii* et *T. peruviana* a réduit significativement la densité de population de *M. sjostedti*. Le contact direct des thrips avec les composés phytochimiques suite aux pulvérisations de ces extraits de plantes pourrait expliquer cette réduction de la densité de thrips observée sur les fleurs de niébé. Les parcelles traitées à l'extrait *T. vogelii* ont montré une réduction considérablement la densité de thrips. Ces résultats viennent en soutien aux travaux effectués par Alao et al., (2011) qui ont rapporté l'efficacité de l'application de *Tephrosia vogelii* et *Petiveria alliacea* contre plusieurs ravageurs du niébé y compris le *M. sjostedti*. Aussi, une réduction significative de la densité des thrips a été observée sur les parcelles traitées avec le *T. peruviana*. BELLO et al., 2019, ont montré l'efficacité du *T. neriflora* réduction significative des populations de thrips. Bien que les études sur l'effet des extraits de *T. peruviana* contre les insectes nuisibles soient encore fragmentaires, plusieurs auteurs ont montré sa forte toxicité sur les insectes (Emeasor et al., 2005; Kareru, Keriko, Kenji, & Gachanja, 2010; Kumar, & Saha, 2012; Mishra, Gupta, & Kumar, 2015).

Le rendement de niébé obtenu dans cette étude semble être influencé par les plantes pesticides et par le traitement au pesticide synthétique. Le rendement plus élevé enregistré avec le traitement à l'insecticide chimique serait le résultat d'une faible infestation et de moins de dégâts causés par les insectes nuisibles. Plusieurs auteurs ont montré l'efficacité des pesticides synthétiques pour lutter contre les insectes par rapport à d'autres approches de lutte (El-Wakeil, 2013; Igogo et al., 2011; Mkenda et al., 2015). Les plantes pesticides, *T. vogelii* et *T. peruviana* ont permis d'avoir un rendement plus élevé par rapport au témoin non traité. Cependant, l'extrait de *T. vogelii* a enregistré un rendement supérieur en graines par rapport à l'extrait de *T. peruviana*. Cela pourrait s'expliquer par une teneur en azote plus élevée des parcelles traitées au *T. vogelii* qui aurait pu fournir de l'azote supplémentaire sous forme d'application foliaire (Jama et al., 2000). Les résultats de cette étude corroborent le résultat des travaux de Mkindi et al. (2020) qui ont montré, les extraits de *T. vogelii* pourraient augmenter la teneur en chlorophylle et améliorer la croissance et le rendement du niébé. L'extrait des plantes de *T. peruviana* a permis aussi d'obtenir un rendement élevé par rapport au témoin non traité qui enregistre le plus faible rendement. Plusieurs auteurs ont rapporté l'efficacité de *T. peruviana* dans l'amélioration du rendement de niébé (BELLO et al., 2019).

## Conclusion

L'étude a évalué l'efficacité des extraits de *T. vogelii* et *T. peruviana* sur les pucerons et les thrips du niébé. Les résultats ont montré que les deux ont réduit la population de pucerons et de thrips, ce qui a également conduit à des rendements plus élevés par rapport au témoin non traité. Les présents résultats montrent clairement que les deux pesticides botaniques ont été efficaces et

peuvent être inclus dans les stratégies de lutte contre *A. craccivora* et *M. sjostedti* comme alternative à la lutte chimique.

## Remerciements

Ce travail a été soutenu par le Projet de renforcement de la productivité agricole et résilience au climat (ProPAD). Les auteurs remercient les techniciens de la station de recherche de Bébédjia pour leur appui dans la mise en œuvre des activités de cette étude.

## Références

- Ahmed, B.I., Onu, I., Mudi, L., 2009. Field bioefficacy of plant extracts for the control of post flowering insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Nigeria. *Journal of Biopesticides* 2, 37–43.
- Ajeigbe, H.A., Singh, B.B., Adeosun, J.O., Ezeaku, I.E., 2010. Participatory on-farm evaluation of improved legume-cereals cropping systems for crop-livestock farmers: Maize-double cowpea in Northern Guinea Savanna Zone of Nigeria. *1foldr Import* 2019-10-08 Batch 1.
- Alao F.O. and Adebayo T. A., (2011). Comparative Toxicity of Botanical and synthetic Insecticides against major Field Insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). *Journal of Natural Product and Plant Resources*. 1 (3): 86-95.
- BARRY, R.B., DIKONGUE, H.P., NGAPOUT, M., NCHARE, U.L.K.B., MEWOUNKO, A., NGAKOU, A., NUKENINE, N.E., 2022. Efficacité de deux extraits de plantes dans le contrôle des insectes ravageurs de *Vigna unguiculata* L. (Walp) à Bertoua (Cameroun). *Journal of Experimental and Applied Tropical Biology*, Volume 2 (1): 11-18
- BELLO, S., COULIBALY, K., BABALAKOUN, O., ZOUNDJIHEKPON, J., 2019. Efficacité d'extraits aqueux de plantes pour le contrôle des thrips sur différents cultivars de niébé (*Vigna unguiculata*) au Nord-Ouest du Bénin. *Ann. UP, Série Sci. Nat. Agron.* Juin 2019; Vo I.9 (No.1): 107-122
- Belmain, S. R., Amoah, B. A., Nyirenda, S. P., Kamanula, J. F., and Stevenson, P. C., 2012. Highly variable insect control efficacy of *Tephrosia vogelii* chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.60 (40):10055–10063.
- Boukar, O., Fatokun, C.A., Huynh, B.-L., Roberts, P.A., Close, T.J., 2016. Genomic Tools in Cowpea Breeding Programs: Status and Perspectives. *Frontiers in Plant Science* 7.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M., 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52, 81-106.
- DSA, 2019. Donnée compilée des Superficies et de production Agricole (2010-2019). Direction de la Statistique Agricole.
- Egbo E.O. and Emosarrue S.O., 2010. Effect of Neem seed kernel extract on major insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp and influence on yield under calendar and monitored sprays. *Annals of Biological research* 1 (2): 210 – 220.
- El-Wakeil, N. E., 2013. Botanical Pesticides and Their Mode of Action. *Gesunde Pflanzen*. 65 (4): 125-149.

Horezeanu, L.L., 2017. Impacts of pesticide use practices and gender on cowpea productivity of smallholder farmers in Benin.

Jama, B., Palm, C., Buresh, R., Niang, A., Gachengo, C., Nziguheba, G., Amadalo, B., 2000. *Tithonia diversifolia* as a green manure for soil fertility improvement in western Kenya. *Agroforestry Systems*, 49 (2), 201-221.

Igogo, J. M., Ogendo, J. O., Kariuki, S. T. and Otaye, D. O., 2011. Insecticidal, antifeedant and repellent effects of *Tephrosia vogelii* Hook, and *Lantana camara* L. Aqueous crude extracts against golden flea beetle, *Aphthona whitfieldi* bryant in *Jatropha*, *Jatropha curcas* L. *Biopesticides International*.7 (2): 93-103.

Issoufou, O.H., Boubacar, S., Adam, T., Boubacar, Y., 2017. Identification des insectes, parasites et évaluation économique de leurs pertes en graines sur les variétés améliorées et locale de niébé en milieu paysan à Karma (Niger). *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11, 694-706.

Lao F. O. A., Adebayo T. A. and Laniran O. A. O., 2011. On - farm evaluation of natural toxicants from *Tephrosia vogelii* and *Petiveria alliacea* on *Megalurothrips sjostedti* and *Apion varium* of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) *Bangladesh J. Agri. Res.* 36 (4): 575-582.

Mbaidiro. T.J. Paraiso A., Gapili N., Doyam N.A., 2020. Effectiveness of aqueous extracts of neem seeds and deltamethrin in protection of cowpea (*Vigna unguiculata*): case of *Megalurothrips sjostedti* (Trybom). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 8 (5): 1189-1193. [www.entomol-journal.com](http://www.entomol-journal.com)

Mkenda, P., Mwanauta, R., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P., Mtei, K., & Belmain, S. R., 2015a. Extracts from field margin weeds provide economically viable and environmentally benign pest control compared to synthetic pesticides. *PLoS One*, 10 (11), 1-14.

Mkindi, A. G., Tembo, Y., Mbega, E. R., Medvecky, B., Smith, K. A., Farrell, I. W., ... Stevenson, P. C., 2019. Phytochemical analysis of *Tephrosia vogelii* across East Africa reveals three chemotypes that influence its use as a pesticidal plant. *Plants*, 8 (12), 1-11.

Mkindi, A., Mpumi, N., Tembo, Y., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P. A., Mtei, ... Belmain, S. R., 2017. Invasive weeds with pesticidal properties as potential new crops. *Industrial Crops and Products*, 110 (2017), 113-122.

Mkindi, A. G., Tembo, Y. L., Mbega, E. R., Smith, A. K., Farrell, I. W., Ndakidemi, P. A., ... Belmain, S. R., 2020. Extracts of common pesticidal plants increase plant growth and yield in common bean plants. *Plants*, 9 (2), 1-11.

Stevenson, P. C., Isman, M. B., & Belmain, S. R., 2017. Pesticidal plants in Africa: a global vision of new biological control products from local uses. *Industrial Crops and Products*, 110, 2-9.

Stevenson, P. C., Kite, G. C., Lewis, G. P., Forest, F., Nyirenda, S. P., Belmain, S. R., Sileshi, G. W., & Veitch, N. C., 2012. Distinct chemotypes of *Tephrosia vogelii* and implications for their use in pest control and soil enrichment. *Phytochemistry*, 78, 135-146.

Tembo, Y., Mkindi, A. G., Mkenda, P. A., Mpumi, N., Mwanauta, R., Stevenson, P. C., Ndakidemi, P. A.,

& Belmain, S. R., 2018. Pesticidal plant extracts improve yield and reduce insect pests on legume crops without harming beneficial arthropods. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1-10.

Tounou AK, God G, Amadou S, Agboka K, Gumedzoe YMD, Sanda K. 2011. Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbioceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. *J. Appl. Biosci.* 2011; 4: 2899-2914.

Weinberger, K., & Srinivasan, R., 2009. Farmers' management of cabbage and cauliflower pests in India and their approaches to crop protection. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 12 (4), 253-259.

# Distribution Spatio-Temporelle des Cochenilles Farineuses Vectrices de la Maladie du Swollen Shoot du Cacaoyer au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire

<sup>1</sup>N'guettia Akoua Miézan Claudine, <sup>2</sup>Oro Zokou Franck, <sup>1</sup>Akesse Ettien Narcice, <sup>1</sup>Ouali N'goran San-whouly Mauricette

<sup>1</sup>Laboratoire des Milieux Naturels et Conservation de la biodiversité, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny, Centre d'excellence Africain sur le changement climatique, la biodiversité et l'agriculture durable, 22 BP Abidjan 22, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Département de Biologie Végétale, Phytopathologie végétale et Épidémiologie, Université Péléfero Gon coulibaly de Korhogo, 28 BP 536 Abidjan 28, Côte d'Ivoire

Auteur correspondant: [clauguettia@hotmail.fr](mailto:clauguettia@hotmail.fr)

## Résumé

L'étude de la variation des cochenilles farineuses vectrices de la maladie du Swollen shoot du cacaoyer a été mené de Janvier 2018 à Décembre 2019. Elle a été conduite dans le département de Soubéré situé au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire. L'objectif était de déterminer la fluctuation des cochenilles farineuses dans les vergers de cacaoyers. Le suivi des cochenilles a été conduit dans un dispositif expérimental d'un hectare (1ha) subdivisées en cinq (5) quadrats de 20 m x 20 m. Chaque quadrat était constitué de 26 pieds de cacaoyers sur lesquels ont porté les observations. L'échantillonnage consistait à contrôler dans chaque bloc la présence ou l'absence des cochenilles sur les différents organes du cacaoyer à une hauteur de 2m. En présence de cochenilles, un comptage a été effectué sur chaque organe infesté jusqu'à 100 individus. Au-delà de cet effectif, les cochenilles ont été prélevées à l'aide d'une brosse et conservées dans des piluliers contenant de l'alcool 70° pour être dénombré au laboratoire. Les résultats obtenus ont montré que les cochenilles ont été présentes toutes l'année. Une forte activité des cochenilles a été observées aux mois de janvier à avril des deux années d'observation. Le pic de pullulation a été obtenu au mois d'Avril. *Formicococcus njalensis* a présenté quatre maxima tandis que *Planococcus citri* a présenté un seul maxima. Cette connaissance de la distribution permettra de proposer une méthode de lutte plus efficace.

**Mot clés :** Swollen shoot, Sud-Ouest, Cochenilles, Distribution, Côte d'Ivoire

## Abstract

The study of the variation in mealybug vectors of Swollen shoot disease of cocoa was conducted from January 2018 to December 2019. It was conducted in the Soubéré department in south-west Côte d'Ivoire. The objective was to determine the fluctuation of mealybugs in cocoa orchards. The mealybugs were monitored in an experimental set-up covering one hectare (1ha) subdivided into five (5) 20 m x 20 m quadrats. Each quadrat consisted of 26 cocoa trees on which observations were made. Sampling consisted of checking each block for the presence or absence of scale insects on the various cocoa tree organs at a height of 2m. If scale insects were present, a count was carried out on each infested organ up to 100 individuals. Above this number, the mealybugs were collected with a brush and preserved in pillboxes containing 70° alcohol for counting in the

laboratory. The results showed that the mealybugs were present throughout the year. High levels of mealybug activity were observed from January to April in both years. The peak of the outbreak was in April. *Formicococcus njalensis* had four maxima, while *Planococcus citri* had a single maximum. This knowledge of distribution will enable us to propose a more effective control method.

**Keywords :** Swollen shoot, Southwest, Mealybugs, Distribution, Côte d'Ivoire

## 1. INTRODUCTION

Le Cocoa Swollen Shoot Virus (CSSV) est considéré comme la maladie virale la plus importante limitant la production de fèves de cacao. Cette maladie endémique à l'Afrique de l'Ouest est caractérisée par des rougeurs sur le limbe des jeunes feuilles et par des gonflements de rameaux et de tiges (**Allainguillaume et al., 2018 ; ORO et al., 2020**). La maladie CSSV provoque la défoliation des cacaoyers, la destruction de la canopée, le dessèchement des branches et la mort des arbres (**Kouakou et al., 2011**). Elle a été décrite pour la première fois au Ghana en 1936 où des milliers d'hectares ont été ravagés. En 1942, le Swollen shoot a été signalé pour la première fois dans l'Est du pays par les planteurs ivoiriens à Sankadiokro et à Kongodia où cette maladie est restée confinée sans influence majeure sur la production.

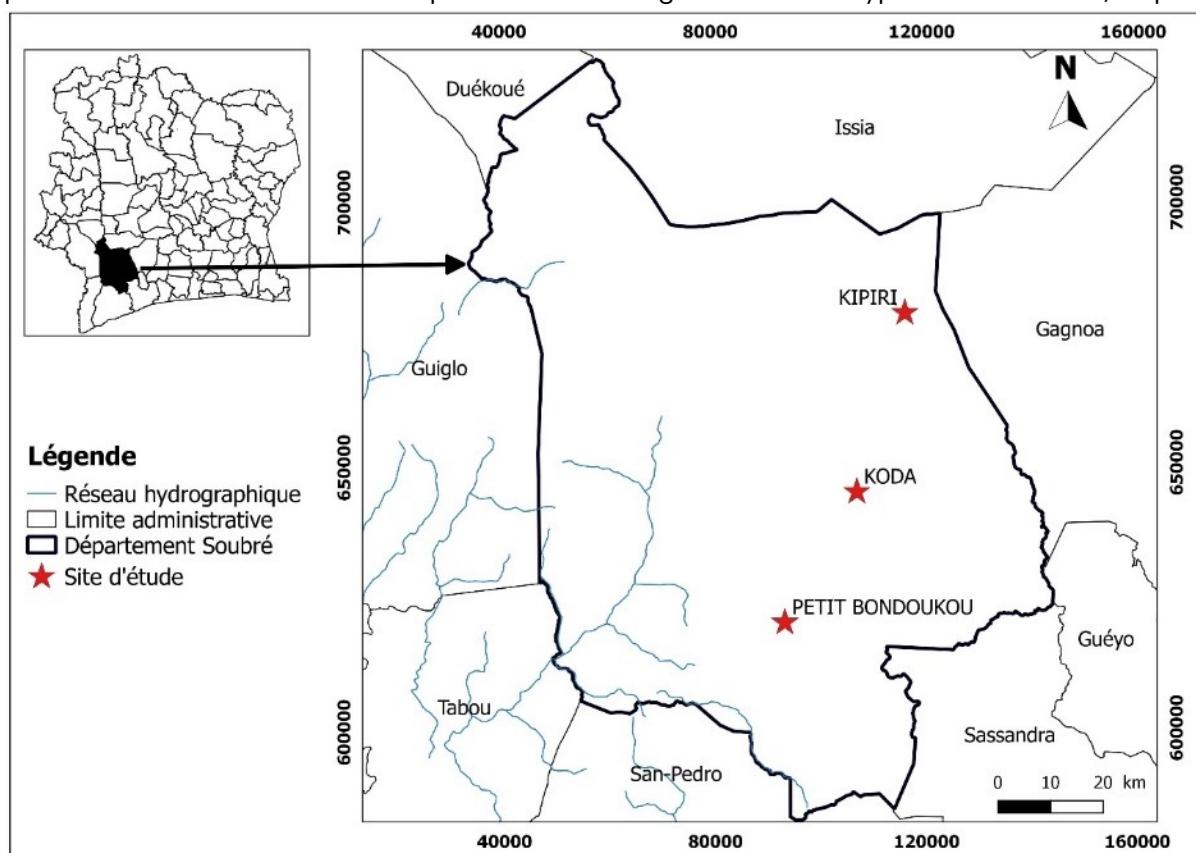
Depuis 2003, de nouveaux foyers sont apparus à Sinfra et à Bouaflé (Centre Ouest de la Côte d'Ivoire). Ces foyers se sont propagés dans toutes les zones de production entraînant des pertes de production allant de 40 à 100% (**Kouakou et al., 2011**). De nombreux vergers de cacaoyers ont été réduits à l'état de jachère par la maladie, offrant ainsi un paysage agricole de désolation. Au regard de sa propagation rapide, le Swollen shoot constitue ainsi une grave menace pour la production de cacao en Côte d'Ivoire. La maladie du Swollen shoot est d'origine virale et l'agent pathogène est le Cocoa Swollen Shoot Virus (CSSV), qui appartient au genre *Badnavirus*. Le virus est naturellement transmis par plusieurs espèces de cochenilles farineuses appartenant à l'ordre des Homoptères et à la famille des Pseudococcidae (**Allainguillaume et al., 2018**). La transmission de cette maladie par les cochenilles se fait d'un arbre malade à un arbre sain selon un mode semi-persistant. Des études antérieures réalisées au Ghana, au Togo, au Nigeria et en Côte d'Ivoire ont révélé au total seize espèces de cochenilles rencontrées dans les cacaoyers de l'Afrique de l'Ouest. Toutes ces espèces de cochenilles sont susceptibles de transmettent la maladie du Swollen shoot au cacaoyer (**Allainguillaume et al., 2018**).

En Côte d'Ivoire, les derniers travaux ont porté sur l'inventaire des cochenilles en 2015 et 2019, la caractérisation du virus et l'impact de la maladie en 2012 (**Kouakou, 2014 ; Obodji et al., 2015 ; N'Guessan et al., 2019**). Concernant l'étude de la dynamique des populations de cochenilles farineuses du cacaoyer, les études les plus intensives ont été menées au Ghana, au Nigeria et au Togo. Au Ghana, la population de cochenilles atteint son maximum au mois d'octobre et novembre. Au Togo, trois maximums sont observés en Janvier- Février, Avril-Mai et Août-Septembre. En Côte d'Ivoire très peu d'études ont été réalisées sur la dynamique de la population des cochenilles malgré l'importance de ce ravageur. Afin de corriger cette insuffisance, la présente étude a été conduite. Elle a pour objectif de déterminer la fluctuation des cochenilles farineuses du cacaoyer pour réussir une stratégie de gestion et de contrôle des cochenilles.

## 2. METHODES

### 2.1 Zone d'étude

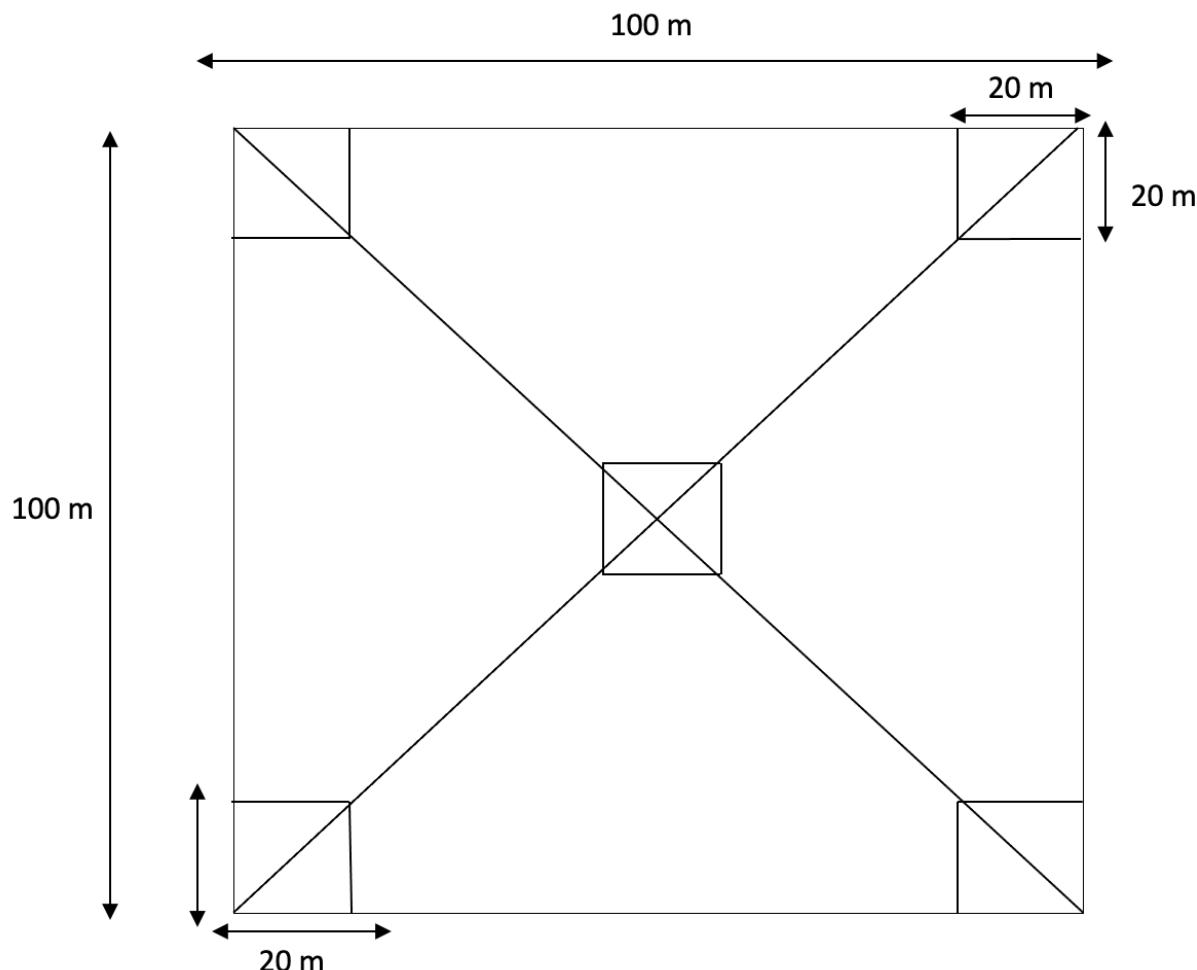
L'étude a été réalisée à Koda (6°38'W et 5°56'N), Kipiri (6°29'W et 6°8'N) et Petit Bondoukou (6°38'W et 5°56'N) qui sont des villages situés dans le département de Soubré, chef-lieu de la région de la Nawa, au Sud-Ouest de la Côte-d'Ivoire (**Figure 1**). L'étude a été conduite durant deux années (janvier 2018 à décembre 2019) dans des plantations paysannes âgées de 15 à 50 ans. Le département de Soubré est une zone forestière dont la végétation est essentiellement dominée par la forêt dense. Cette zone est caractérisée par un sol profond, perméable et bien drainé, qui est favorable à tout type de culture, notamment la culture du cacaoyer. Cette région a été choisie parce qu'elle constitue non seulement la principale zone de production de cacaoyers, mais, elle est également menacée par la maladie du Swollen shoot. Le climat rencontré est de type équatorial caractérisé par de fortes précipitations, une humidité atmosphérique élevée, de deux saisons des pluies et de deux saisons sèches qui alternent. La végétation est de type forestier dense, tropical



**Figure 1:** Carte de région de la Nawa qui met en exergue les sites d'expérimentation

### 2.2 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental (**Figure 2**) est constitué d'un bloc simple de 1 hectare comprenant cinq quadrats de 20 m X 20 m, dont un quadrat à chaque extrémité et un quadrat au centre du bloc. À l'intérieur de chaque quadrat, 26 arbres ont été choisis au hasard et numérotés (**Minengu et al., 2018**). Ce dispositif a été répété sur trois parcelles d'un hectare chacune.



**Figure 2 :** Dispositif expérimental constitué d'un bloc simple avec le positionnement des cinq quadrats

### 2.3 Observation et collecte des données

Le nombre de cochenille a été dénombré sur les arbres sélectionnés dans les différentes parcelles. Ces cochenilles ont été observées sur différents organes du cacaoyer dont les cabosses, les chérelles, les fleurs et le tronc à une hauteur de deux (2) mètres. Le comptage des cochenilles a été effectué in-situ jusqu'à 100. Au-delà de cet effectif de 100, les cochenilles ont été prélevées à l'aide de pinces souples et conditionnées dans des piluliers contenant de l'alcool à soixante-dix degré (70°). Ces piluliers ont été par la suite étiquetés (nom du site, numéro de la parcelle, numéro du bloc, numéro de l'arbre test et la date d'observation). Les échantillons ont été transportés au laboratoire pour être dénombrés. Toutefois, les organes infestés ont été marqués avec des rubans adhésifs afin de suivre l'évolution de la population des cochenilles dans le temps et dans l'espace. Au cours des deux années d'expérimentation, les observations ont été faites toutes les deux semaines.

## 2.4 Calcul du taux d'infestation

Le taux d'infestation est le pourcentage des différents organes infestés par les cochenilles. Les organes sur le tronc ont été compté à une hauteur de 0 à 2m. Il a été calculé selon la formule ci-dessous :

$$Ti = \frac{Ni \times 100}{N}$$

Ti : Taux d'infestation ; Ni : Nombre d'organes infestés par les cochenilles ; N : Nombre total d'organes sur le tronc

## 2.5 Analyse des données

Les données obtenues sur le suivi de l'évolution des populations des cochenilles ont été saisies et organisées par date d'observation avec le logiciel Microsoft Excel 2016. Il s'agissait de calculer le nombre moyen de cochenilles par arbre en fonction des temps d'observation. Les valeurs moyennes obtenues ont servi à établir la variation mensuelle des populations de cochenilles sur les sites de Koda, Kipiri et Petit Bondoukou.

## 3. RÉSULTATS

### 3.1 Espèces de cochenilles inventoriées

Onze (11) espèces de cochenilles farineuses ont été inventoriées *Formicococcuss njalensis*, *Planococcus citri*, *Ferrisia virgata*, *Pseudococcus longispinus*, *Dysmicoccus brevipes*, *Phenacoccus hargreavesi*, *Planococcus kenyae*, *Maconellicoccus hirsutus*, *Pseudococcus sp*, *Pseudococcus viburni* et *Pseudococcus jackbeardsleyi*. De toutes les cochenilles inventoriées, les espèces F. njalensis et P. citri ont été les plus abondantes sur les trois (03) sites et au cours des deux années d'observation. Pour la première année d'observation, l'abondance de F. njalensis a été de 72,73% de la population de cochenilles à Koda, de 95% de la population de cochenilles à Kipiri et de 82,44% de la population de cochenilles à Petit Bondoukou. Quant à l'abondance de P. citri, elle a été de 23,57% à Koda, de 15,15% à Petit-Bondoukou et de 4,44% à Kipiri. Pour la seconde année d'observation, F. njalensis a représenté 69,06% de la population de cochenilles à Koda, 85,32% de la population de cochenilles à Kipiri et 86,37% de la population de cochenilles à Petit Bondoukou. Concernant l'abondance de P. citri, elle a été de 28,13%, 2,37% et 11,56% respectivement à Koda, à Kipiri et Petit Bondoukou (Tableau 1).

Les neuf (09) autres espèces ont été minoritaires durant les deux (02) années d'observation sur l'ensemble des sites d'étude avec des abondances comprises entre 0 à 1,62%.

### 3.2 Taux d'infestation des organes des cacaoyers en fonction des sites

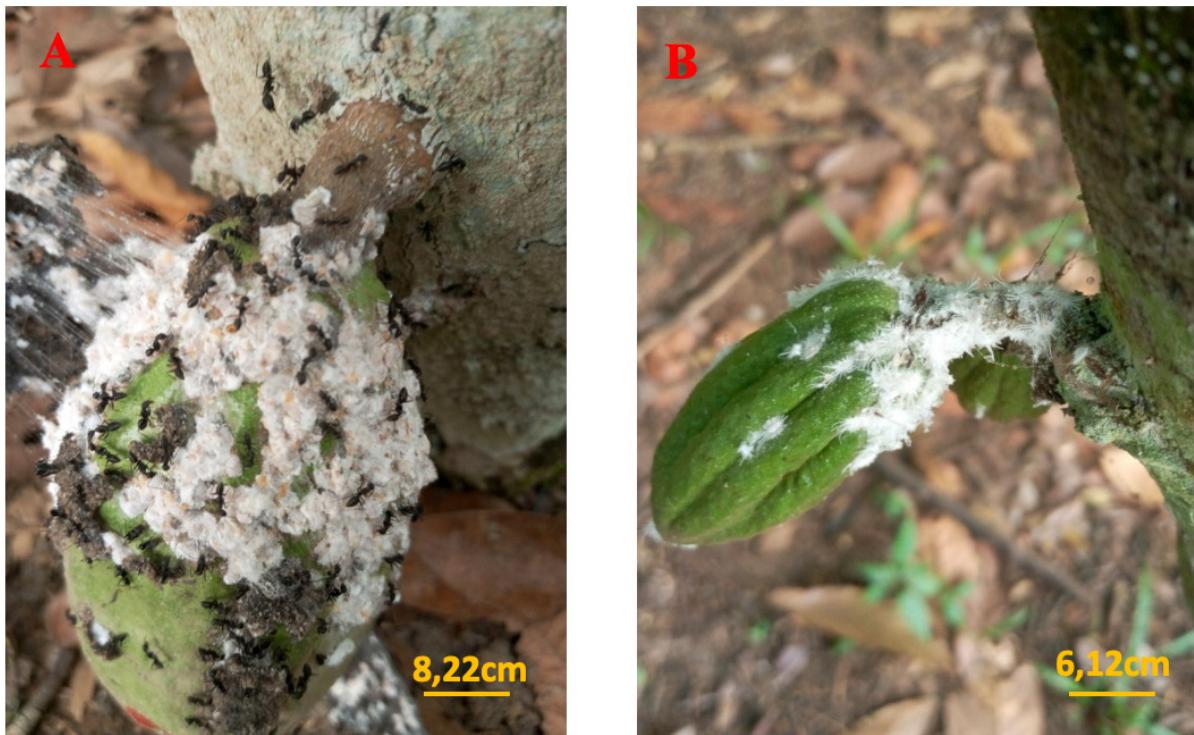
Les infestations des cochenilles ont été principalement observées sur les cabosses, les chérelles, les fleurs et le tronc. La plupart du temps, les cochenilles ont été observées sur les cabosses et les chérelles (Figure 3). Les infestations des fleurs et du tronc ont été faibles.

Au niveau de Koda, Kipiri et Petit-Bondoukou, le taux d'infestation des cabosses a été respectivement de 66,33%, 66% et 7%. Par contre sur les chérelles, cette infestation a été de 29% pour Koda, 26,55% pour Kipiri et de 22,55% pour Petit Bondoukou. Le taux d'infestation des fleurs et celui du tronc ont été inférieur à 5%, pour la localité de Kipiri le taux d'infestation sur les fleurs était de 6% (Figure 4).

**Tableau I** : Abondance relative des espèces en fonction des sites et des années d'observation

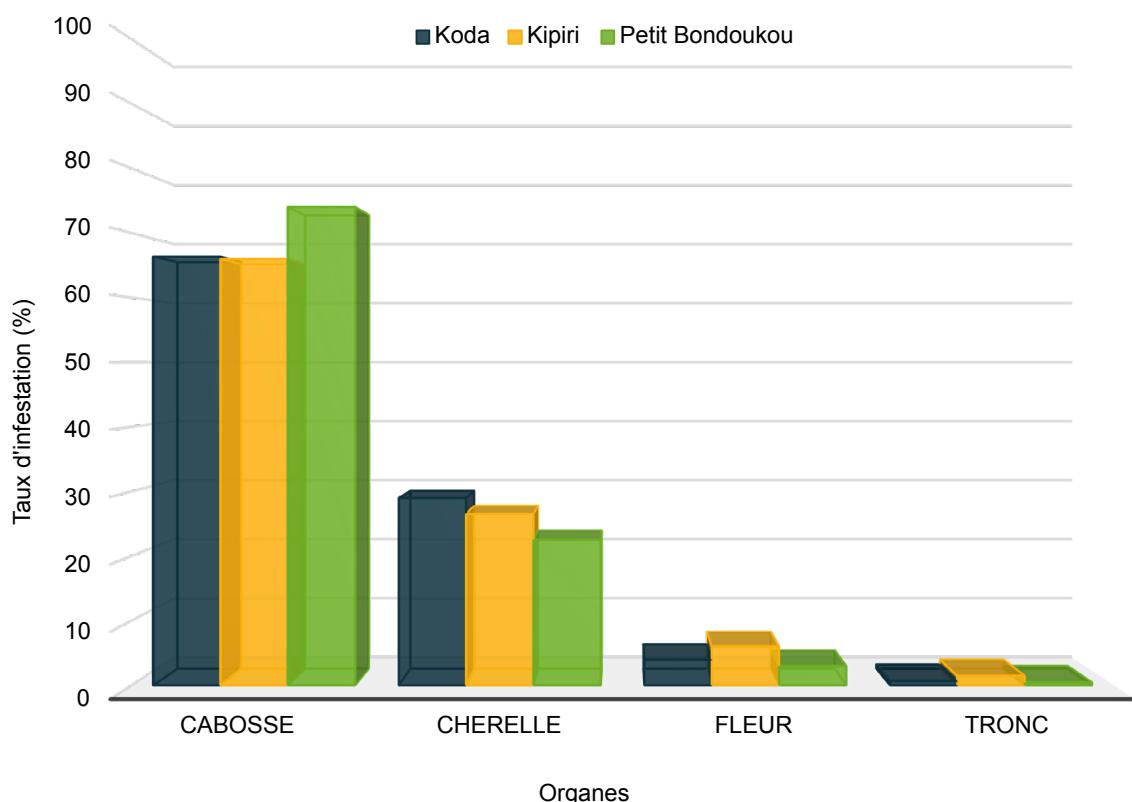
<b>Espèces</b>	<b>Année 1 (2018)</b>			<b>Année 2 (2019)</b>		
	<b>Koda (%)</b>	<b>Kipiri (%)</b>	<b>Pbkou (%)</b>	<b>Koda (%)</b>	<b>Kipiri (%)</b>	<b>Pbkou (%)</b>
<i>Formicococcus njalensis</i>	72,73	94,87	82,44	69,06	85,32	86,37
<i>Planococcus citri</i>	23,57	4,44	15,15	28,13	2,37	11,56
<i>Ferrisia virgata</i>	1,62	0,29	0,77	0,77	0,44	1,12
<i>Pseudococcus longispinus</i>	1,07	0,19	0,98	0,99	11,35	0,24
<i>Dysmicoccus brevipes</i>	0	0,02	0,13	0	0	0
<i>Phenacoccus hargreavesi</i>	0,013	0,015	0,11	0,099	0,04	0,03
<i>Planococcus kenya</i>	0,17	0,007	0,12	0,19	0,26	0,09
<i>Maconellicoccus hirsutus</i>	0,59	0,04	0,12	0,63	0,04	0,27
<i>Pseudococcus sp</i>	0	0	0	0	0	0,27
<i>Pseudococcus viburni</i>	0,06	0,01	0,02	0,07	0,03	0
<i>Pseudococcus jackbeardsleyi</i>	0,13	0,08	0,11	0,03	0,12	0

**Pbkou** = Petit Bondoukou



**Figure 3 :** Différents organes de cacaoyer infestés par les cochenilles farineuses

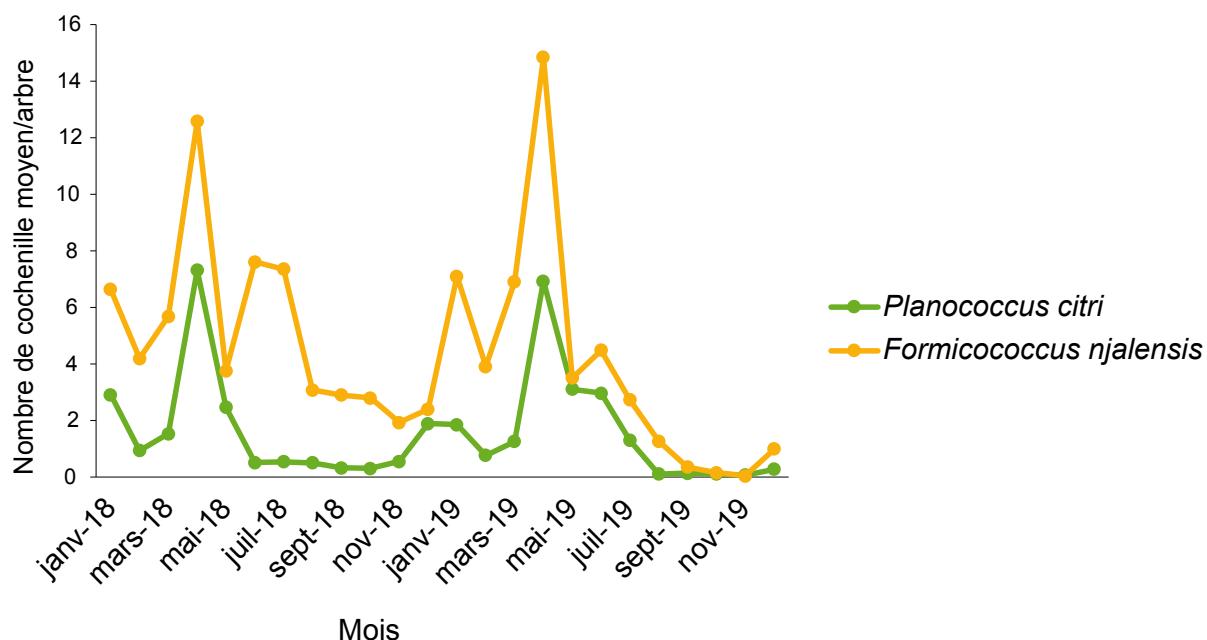
A : Cochenilles sur cabosse ; B : Cochenilles sur chérelle ;



**Figure 4 :** Taux d'infestation des cochenilles en fonction des organes du cacaoyer

### 3.3 Distribution mensuelle des espèces de cochenilles à Koda

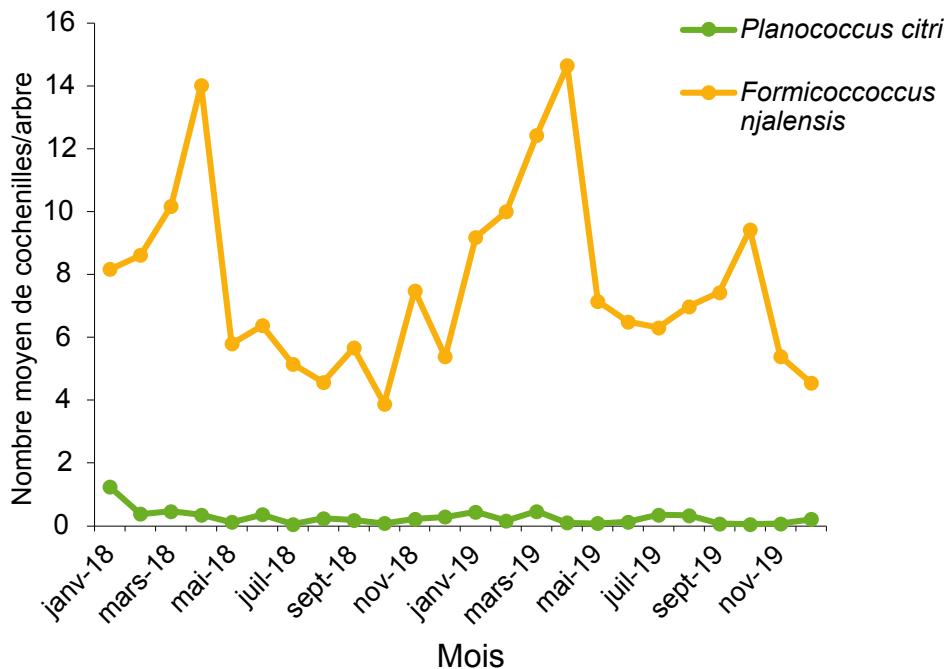
L'espèce *F. njalensis* a été la plus abondante avec 70% de la population. Elle est suivie de l'espèce *P. citri*. *F. njalensis* a présenté des pics d'abondances en janvier, avril et juin de l'année 2018 et 2019. Il a été observé en moyenne 7 à 15 individus de l'espèce *F. njalensis* par arbre. De juin à juillet de l'année 2018, le nombre d'individus de l'espèce a été stable. Cela a été le contraire pour l'année 2019 avec une baisse du nombre d'individus de l'espèce au mois de juillet. Du mois d'août à décembre des deux années d'observation une réduction du nombre moyen d'individus de l'espèce par arbre (1 à 4) a été observée. Durant la même période, l'espèce *P. citri* a eu un seul pic d'abondance au mois d'avril avec 7 à 8 individus en moyenne par arbre. Pour les autres mois, le nombre moyen de *P. citri* était en baisse dans les vergers de Koda. Pour les autres espèces, aucun pic de pullulation n'a été observé durant les deux années d'observation. Leur abondance a été faible tout au long des deux années d'observation (Figure 5)



**Figure 5 :** Fluctuation mensuelle des espèces de cochenilles farineuses à Koda en fonction des années d'observation

### 3.4 Distribution mensuelle des espèces de cochenilles à Kipiri

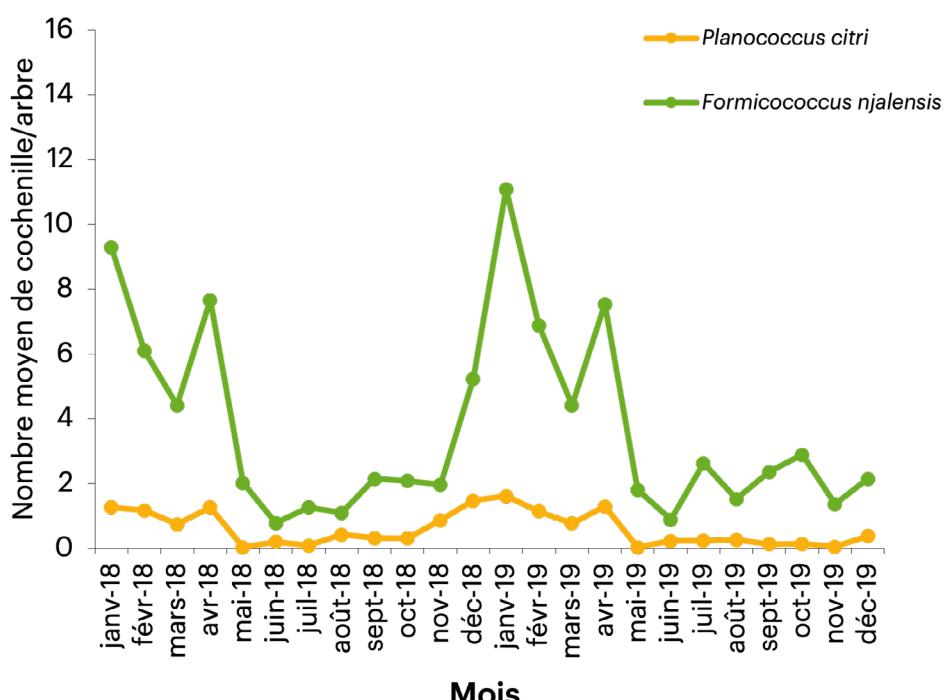
À Kipiri, seule l'espèce *F. njalensis* a présenté des pics d'abondance dans les vergers de cacaoyers. De janvier à avril, le nombre moyen de cochenilles est passé de 8 à 14 individus de l'espèce par arbre durant les deux années d'observation. De mai à décembre une évolution lente et plus ou moins constante du nombre d'individus de l'espèce *F. njalensis* a été constatée dans les vergers. Cette tendance a été observée aussi bien au cours de la première année qu'à la seconde année d'observation. La fluctuation de *F. njalensis* en 2018 a présenté quatre maxima contre deux pour l'année 2019. Il s'agit des mois d'avril, juin, septembre et novembre pour l'année 2018 et du mois d'avril et octobre pour l'année 2019. Concernant l'espèce *P. citri*, aucun pic de pullulation n'a été observé. L'évolution de l'espèce est restée constante au cours des deux années. (Figure 6).



**Figure 6 :** Fluctuation mensuelle des espèces de cochenilles farineuses à Kipiri durant les années d'observation

### 3.5 Distribution mensuelle des espèces de cochenilles à Petit Bondoukou

*F. njalensis* a été plus présent dans les vergers de cacaoyer de Petit-Bondoukou suivie de l'espèce *P. citri*. Au cours des deux années d'observation, *F. njalensis* a présenté deux maxima au mois de janvier et avril. L'abondance moyenne était de 9 à 11 individus de l'espèce pour le mois de janvier et de 7 à 8 individus de l'espèce par arbre pour le mois d'avril. D'avril à juin une baisse du nombre d'individus de l'espèce *F. njalensis* est constatée dans les vergers. Par ailleurs, de juin à décembre une évolution lente a été observée. Cette tendance a été maintenue au cours des deux années d'observation. Pour l'espèce *P. citri*, aucun pic de pullulation n'a été observé. L'évolution de l'espèce est restée constante de juin à décembre au cours des deux années d'observation (Figure 7).



**Figure 7 :** Fluctuation mensuelle des espèces de cochenilles farineuses à Petit Bondoukou durant les années d'observation

## 4. DISCUSSION

L'espèce *F. njalensis* et *P. citri* ont été les plus abondantes sur les trois sites au cours des deux années d'observation. *F. njalensis*, espèce majoritaire au niveau des trois sites a représenté environ 80% de la population de cochenille. Elle est suivie par l'espèce *P. citri* avec environ 15% de la population. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Dufour au Togo. **Dufour (1991)** a montré que *F. njalensis* représentait plus de 80% des effectifs de cochenilles recensées durant son étude. Ces résultats confirment ceux **d'Obodji et al. (2015)** et **N'Guessan et al. (2019)** qui ont montré dans leurs travaux dans la région de la Nawa que l'espèce *F. njalensis* est la plus abondante suivie de l'espèce *P. citri*. L'abondance de la population de *F. njalensis* par rapport aux autres espèces peut être expliquée par les conditions favorables à son développement. D'après **Dufour (1991)** *F. njalensis* se développe en abondance dans des champs de cacao bien couverts. Un ombrage dense formé par le couvert forestier ou l'ombrage propre des cacaoyers favorise la pullulation de *F. njalensis*. De plus, l'abondance de cette espèce pourrait être fonction de l'âge des vergers de cacaoyers. En effet, Au cours des observations, il a été observé une abondance plus élevée de *F. njalensis* à Kipiri et Petit Bondoukou dont les parcelles étaient plus âgées par rapport au site de Koda dont les parcelles étaient plus jeunes. *F. njalensis* sévit dans les cacaoyères adultes et sa pleine activité est limitée par la saison sèche. Lorsque l'ombrage diminue ou disparaît, *F. njalensis* cède progressivement sa place au groupe des *P. citri* qui deviennent dominants à leur tour dans la parcelle (**Nguyen-Ban, 1984**). Les autres espèces ont été minoritaires durant les deux années d'observation au niveau des trois sites d'étude avec une abondance de cochenille variant de 0 à 1, 62%. Cette minorité est probablement due à l'écologie de chaque espèce. En effet, certaines espèces de cochenilles telles que *F. njalensis* et *P. citri* sont fortement associées aux fourmis qui leur apportent assistance et protection. Par contre, d'autres espèces ne sont pas protégées par ces fourmis. Dans ces conditions, les espèces assistées par les fourmis sont favorisées et pullulent aux dépens des espèces qui ne sont pas entretenues (**Bigger, 1981**). **Strickland (1951)** a comparé les cochenilles libres à ceux qui sont associés aux fourmis et a observé que les proportions étaient plus élevées chez les cochenilles bénéficiant d'une protection des fourmis contrairement aux autres espèces sans protection.

Les espèces de cochenilles observées ont été recensées en majeur partie sur les cabosses. La position des cochenilles sur les cabosses est peut-être due au fait que les cabosses sont les organes renfermant plus de sève recherchée par les cochenilles pour leur alimentation. Les cochenilles ont été présentes toute l'année dans les vergers. Au Ghana, la dynamique des populations a relevé la présence tout au long de l'année des colonies de cochenilles (**Entwistle, 1972**). Selon **Lahive et al. (2018)**, les conditions climatiques ont un effet sur la physiologie du cacaoyer et donc sur les nouvelles poussées foliaires, de floraison et de fructification. Ce processus physiologique est déclenché au début de la saison pluvieuse et s'étale d'avril à juillet en vue de la grande récolte de septembre à janvier. Une seconde période de floraison est établie de novembre à janvier en vue de la récolte intermédiaire (**Mian, 2007**). La présence de fleur, de cherelles et de cabosses en permanence constitue une source de nourriture pour les cochenilles ce qui les rend présents dans les cacaoyères sur toute l'année. Sur les trois sites, la période de forte pullulation des cochenilles se situait en janvier et avril. Cette période correspond à la saison sèche (janvier à mars) et au début de la saison pluvieuse (mi-mars à avril). Ce résultat corrobore ceux de **Rü et al. (1987)** et **Mani et al. (2011)**. Selon ces auteurs, l'augmentation des effectifs de la population de cochenilles commence en saison sèche et les effectifs maximaux sont atteints après les premières pluies. Ce résultat pourrait être dû à la température élevée qui prévaut à cette période et qui contribue probablement à un développement plus rapide des cochenilles. Ce résultat est contraire à ceux obtenus par **N'Guessan (2019)** durant son étude sur les cochenilles du cacaoyer. Il a relevé un

grand pic en août dans la région de la Nawa et un grand pic en septembre dans les régions du Bélier, du Haut Sassandra, de l'Indenié- Djuablin et du Lôh- Djiboua. À Kipiri, une période de latence a été observée pour l'espèce *P. citri*. Cela pourrait être dû à une modification durant cette période du cycle de développement de *P. citri* dans la zone de Kipiri ou encore à un faible niveau de reproduction. Selon **anonyme (2012)**, un grand nombre de cochenilles farineuses qui bien qu'adultes et de taille raisonnable n'atteignent pas une maturité suffisante pour pondre des œufs pour une nouvelle génération. L'espèce *F. njalensis* a présenté 2 à 4 pics de pullulations au niveau des trois sites et des années d'observation. *P. citri* atteint 1 à 2 pics respectivement à Koda, et à Petit Bondoukou. Ce qui représente 2 à 4 générations annuelles pour l'espèce *F. njalensis* et 1 à 2 générations annuelles pour l'espèce *P. citri*. Il convient de noter que le nombre de pics rapportés dans la dynamique correspond au nombre de générations par an (**Moubarak et al., 2020**). Pour **Kreiter (2011)**, une même espèce selon la zone où elle vit pourrait être monovoltine ou polyvoltine et le nombre de générations varie selon la durée des différentes saisons. Par ailleurs, un décalage a été observé entre la période d'apparition des pics des espèces au niveau des trois sites bien qu'ils appartiennent à la même zone agro-écologique. La raison de ce décalage pourrait s'expliquer en partie par le changement des conditions climatiques d'un site à un autre et d'une année à une autre. La variation de population des insectes dépend principalement de la plante hôte et des conditions de cultures (**Hanski et Combefort, 1991 ; Babin, 2018**).

Concernant les autres espèces, aucun pic de pullulation n'a été observé durant les deux années d'observation. Cela pourrait être dû au fait que ces espèces ont été régulièrement présentes, mais avec de faibles fréquences.

## 5. CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer que *F. njalensis* et *P. citri* sont deux espèces majoritaires. L'étude a également montré que les cochenilles sont présentes toute l'année dans les parcelles à des niveaux plus ou moins importants. Une forte population de cochenille a été observée au mois d'Avril d'une année à une autre. Tandis que les faibles populations ont été observé sur la période de mai à décembre. L'espèce *F. njalensis* a présenté quatre générations annuelles, tandis que *P. citri* a présenté une génération annuelle avec un décalage entre les périodes d'apparition des pics. La détermination des périodes de forte abondance des espèces de cochenilles permettent de cibler les périodes propices de lutte.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre d'Excellence Africain sur le Changement Climatique, la Biodiversité et l'Agriculture durable (CEA-CCBAD) et Bayer Cropscience pour le financement de ces travaux. Remercions également World Agroforestry Centre (ICRAF) pour le cadre d'étude et les planteurs de cacao pour leurs disponibilités au cours de cette étude. Au CORAF pour notre participation au Symposium sur les Techniques et Innovations agricoles : Solution intelligentes face au climat pour la transformation des situations d'urgence et de post urgente et à la publication de cet article. Enfin, nous tenons à remercier les techniciens pour leurs appuis dans l'exécution des différents travaux de terrain.

## RÉFÉRENCES

- Babin R., 2018. Pseudococcidae, with a focus on its role as a vector of cocoa Swollen shoot virus disease. Fiche technique LOA : N°325120 : 27p
- Bigger M, 1981. The relative abundance of the mealybug vectors (Hemiptera: Coccidae and Pseudococcidae) of cocoa swollen shoot disease in Ghana. Cocoa Research Institute, 71 : 435-448.
- Dufour B. 1991. Place et importance des différentes espèces d'insectes dans l'écologie du CSSV (Cocoa Swollen shoot virus) au Togo. Café cacao thé, 35 (3) : 197- 204.
- Entwistle P.F. 1972. Pest of cocoa. Longman Group Limited, London, 779 p.
- Hanski I. & Cambefort Y. 1991. Dung beetle ecology, Princeton University Press, Princeton, New Jersey (État Unis), 12 : 481p.
- Kouakou K. 2014. Diversité Moléculaire au CSSV (Cacao Swollen shoot virus) et Epidemiologie de la maladie du Swollen shoot du cacaoyer (*Theobroma cacao L.*). Thèse de doctorat de l'Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 139p.
- Kouakou K., Kébé B. I, Kouassi N., Anno A. P., Aké S. & Muller E. 2011. Impact de la maladie virale du Swollen shoot du cacaoyer sur la production de cacao en milieu paysan à Bazré (Côte d'Ivoire). Journal of Applied Biosciences, 43 : 2947- 2957.
- Kreiter P., 2011. La lutte biologique et les cochenilles : Plus de cent ans d'histoire. In : AFPP les cochenilles : ravageur principal ou secondaire, 25 Octobre, Montpellier, 10p
- Mani M., Krishnamoorthy A. & Shivaraju C. 2011. Biological suppression of major mealybug species on horticultural crops in India. Journal of horticultural sciences, 6(2): 85-100.
- Minengu J.-D., Mpupu B., Dishiki D., Koshi F. & Mazianu C. 2018. Dynamique des populations des principales espèces de cochenilles des agrumes dans la ville de Kikwit (République Démocratique du Congo), Revue Africaine d'environnement et d'Agriculture, 1(1) : 12-18.
- Moubarak K., Seth W. N., Kokouvi K., Hada B., Guy C. G., Komira A. & Glitho I. 2020. Population fluctuation of the papaya mealybug *Paracoccus marginatus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in urban and Peri-urban areas of lomé (Togo). Journal of entomology and Zoology studies, 8(4) : 475-48.
- N'Guessan P. W., Kouamé N., Coulibaly K., Assi E. M., Kotaix A.J., Yapi A., Gouaméné C.N., Tahí M. G., Koné B., Guiraud B. H. S. B., Aka R. A. & Kassi K. E. 2019. Inventory and abundance of mealybug species in immature and nature cocoa farms in Côte d'Ivoire. Journal applied entomology, 00 : 1-7
- N'Guessan W.P., 2019. Inventaire, distribution géographique et dynamique des espèces de cochenilles vectrices du virus du Swollen shoot du cacaoyer (*Theobroma cacao L.*) en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 150p.
- Nguyen- Ban J. 1984. Variation d'abondance des Pseudococines vectrices de la maladie du Swollen shoot au togo. Café cacao thé, 28(2) : 103-110.
- Obodji A., N'guessan W.P., N'guessan K. F., Seri-Badama P., Aboua L. R. N., Kébé I. & Aka R. 2015. Inventory of the mealybug species associated to the cocoa tree (*Theobroma cacao L.*) in four pro-

ducing areas infected with the Swollen shoot disease in Côte d'Ivoire. *Journal of Entomology and Zoology studies*, 3(4) : 312- 316.

ORO Z. F., LALLIE H.- D., FOFANA J. I., Bi-ZAOULI P & DIALLO A. H. 2020. Impact du biostimulant Banzaï sur la production de cabosses dans le cas de la maladie du Swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire. *Afrique SCIENCE*, 16(5) : 93 – 105.

Rü B. & Fabres G., 1987. Influence de la température et de l'hygrométrie relative sur la capacité d'accroissement et le profil d'abondance des populations de la cochenille du manioc *Phenococcus manihoti* (Pseudococcidae), au congo. *Acta oecologica Applic*, 8(2) : 165-174.

Strickland A.H., 1951. The entomology of swollen shoot cocoa. The insect species involved with notes on their biology. *Bulletin Entomological Research*, 41 :725-748.



# THÈME 4 : POST-RÉCOLTE

## Stabilisation du fromage de soja à travers l'amélioration du procédé et équipement de transformation

HOUSSOU Paul Ayihadji Ferdinand<sup>1</sup>, ALAVO Makosso<sup>2</sup>, DANSOU Valère<sup>1</sup>, GBWADINOU Etienne Mahoutin<sup>2</sup>, HATEGNI Bodéhoussè Abel<sup>1</sup>, ZANNOU Hugue<sup>1</sup>, HONGBETE Franck<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programme Technologies Agricole et Alimentaire (PTAA) du Centre de Recherches Agricoles d'Agonkanmey (CRA-Agonkanmey) de l'Institut National des recherches Agricoles du Bénin (IN-RAB) ;

<sup>2</sup>Département de Génie de Technologie Alimentaire (GTA) de l'Ecole Polytechnique d'Abomey Calavi (EPAC) de l'Université d'Abomey-Calavi (UAC) ;

<sup>3</sup>Département de la Nutrition et des Sciences Alimentaires de la Faculté d'Agronomie (DNSA/FA)) de l'Université de Parakou (UP) ;

Auteur correspondant : Paul HOUSSOU, [houssou02@yahoo.fr](mailto:houssou02@yahoo.fr)

### Résumé

Le fromage de soja (*Glycine max L.*) est l'un des produits dérivés issu de la transformation artisanale du soja et très apprécié par la population béninoise. Du fait de sa teneur en eau élevée qui facilite le développement des microorganismes, la conservation du fromage de soja est difficile à température ambiante au niveau ménage. Avec la méthode de conservation par friture utilisée, le fromage de soja ne se conserve pas plus de trois (3) jours. L'objectif de l'étude est de stabiliser le fromage de soja à travers l'amélioration du procédé et l'équipement de transformation. Pour ce faire, 10 kg de graines de soja de variétés TGX 1910-14F ont été traitées pour produire du fromage de soja séché en utilisant quatre (04) modes de séchage : séchage traditionnel (ST), séchage avec le séchoir ATESTA (SAT), séchage avec le séchoir à convection forcée (SCF) et le séchage avec le séchoir BOSCH (SB). Les résultats obtenus ont montré que la durée de séchage avec SAT ( $6 \pm 0,5$  heures) est significativement inférieure à la durée de séchage du fromage avec ST ( $10 \pm 1,5$  heures), SCF ( $17 \pm 1$  heures) et SB ( $36 \pm 1$  heures). Aucune différence significative n'a été obtenue pour le rendement du fromage pour les quatre (04) modes de séchage. L'évaluation sensorielle a montré que le fromage séché avec SAT (60%) et SCF (33,33%) étaient les plus appréciés à cause de leur couleur attrayante et texture croustillante par rapport aux fromages séchés avec SB (0%) et ST (3,33%) qui ont une couleur sombre et une texture moins croustillante. Les analyses physico-chimiques ont montré que les teneurs en eau, pH, acidité titrable, teneur en cendres et de teneur en huile étaient respectivement en moyenne de  $88,45 \pm 2,39\%$  ;  $6,4 \pm 0,22\%$  ;  $0,35 \pm 0,06\%$  ;  $4,01 \pm 0,82\%$  et  $25,93 \pm 3,77\%$ . Du point de vue microbiologique, la qualité du fromage séché avec le séchoir ATESTA était meilleure par rapport aux trois autres fromages séchés.

**Mots clés :** Soja, séchoir amélioré, performance, qualité, Bénin

### Abstract :

Soy cheese (*Glycine max L.*) is one of the products derived from soy processing and highly appreciated by the Beninese population. Due to its high-water content, which facilitates the develop-

ment of microorganisms, soya cheese is difficult to preserve under room temperature in household conditions. With the use of deep-frying method, soy cheese cannot be kept for no more than three (3) days. The aim of the study is to stabilize soy cheese by improving the processing method and equipment. To this end, 10 kg of TGX soybeans were processed into dried soy cheese using four (04) drying modes: traditional drying (ST), drying using ATESTA dryer (SAT), drying using forced convection dryer (SCF) and drying using BOSCH dryer (SB). The results obtained showed that the drying time with SAT ( $6\pm0.5$  hours) was significantly shorter than the cheese drying time with ST ( $10\pm1.5$  hours), SCF ( $17\pm1$  hours) and SB ( $36\pm1$  hours). No significant difference was obtained in cheese yield for the four (04) drying modes. Sensory evaluation showed that cheese dried with SAT (60%) and SCF (33.33%) were the most appreciated for their attractive color and crispy texture, compared with cheeses dried with SB (0%) and ST (3.33%), which were darker in color and less crispy. Physico-chemical analyses showed that water content, pH, titratable acidity, ash content and oil content averaged  $88.45\pm2.39\%$ ;  $6.4\pm0.22\%$ ;  $0.35\pm0.06\%$ ;  $4.01\pm0.82\%$  and  $25.93\pm3.77\%$  respectively. From a microbiological point of view, the quality of cheese dried with the ATESTA dryer was better than that of the other three dried cheeses.

**Keywords:** Soy cheese, improved dryer, performance, quality, Benin

## 1. Introduction

Au Bénin, le soja est une légumineuse qui entre de plus en plus dans les habitudes alimentaires des populations sous diverses formes (Konnou et Ahouéya, 2017). Cette légumineuse est fréquemment transformée en milieu rural et urbain en plusieurs produits dérivés en l'occurrence le fromage de soja (OCDE et FAO, 2016 ; Houssou et Dansou, 2022). La transformation du soja est une activité génératrice de revenu pratiquée majoritairement par des femmes. Le fromage de soja a une texture molle et une humidité relativement élevée. La contrainte majeure rencontrée par ces transformatrices est la faible durée de conservation du fromage produit. En effet, le fromage produit ne peut se conserver que pendant 3 jours si et seulement s'il est frit à l'huile ou immergée dans l'eau salée. Une étude récente conduite par Houssou et al., (2021) a montré que le fromage de soja peut être aussi conservé sur de longue durée par la technique traditionnelle de séchage. Mais très peu de transformatrices s'y intéressent à cause de sa pénibilité. Le suivi technologique réalisé par ces auteurs auprès des transformatrices a montré que les contraintes majeures auxquelles sont confrontées ces acteurs sont : la longue durée du séchage et de torréfaction du fromage, la détérioration rapide de l'équipement de séchage et la faible capacité de cet équipement.. En effet, les matériels utilisés pour le séchage du fromage sont précaires et peu performants avec une durée de séchage relativement longue de 10 à 12 heures. Face à ces contraintes, il était nécessaire d'améliorer la technologie existante en vue de proposer aux acteurs une technologie appropriée pour le séchage / stabilisation du fromage de soja. Ainsi, trois différents séchoirs à savoir le Séchoir à Convection Forcé (SCF), le Séchoir ATESTA (SA), le séchoir BOSH (SB) ont été testés et comparés avec la technologie de séchage traditionnel pour le séchage du fromage. L'objectif de l'étude est de stabiliser le fromage de soja à travers l'amélioration du procédé et le séchoir approprié.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel végétal

La variété de soja TGX 1910-14F a été utilisée car elle est l'une des variétés répondant aux qualités recherchées pour la transformation soja en fromage (MAEP, 2016 ; Houssou et al., 2018).

#### 2.1.2. Caractéristiques des séchoirs testés

Trois types de séchoirs améliorés ont été utilisés pour les tests de séchage du fromage de soja. Ces trois séchoirs se présentent comme suit :

- Séchoir ATESTA muni d'un dispositif de panneau solaire (Figure 1) est un séchoir à gaz de forme verticale. Il est fabriqué en tôle ordinaire sous forme d'une caisse et surmonté d'une cheminée. L'intérieur comporte : une isolation en bois et contre-plaqué ; une

succession de sept (07) claires de séchage fait grillage de carreaux 1 cm ; un brûleur de gaz situé à la partie inférieure et un aspirateur qui aspire du bas vers le haut la chaleur produite par le brûleur de gaz tout en évacuant l'humidité de l'intérieur vers l'extérieur. L'aspirateur est alimenté par une source solaire PV (batterie solaire, module solaire PV, contrôleur de charge, etc.).

- Séchoir solaire à convection forcée (Figure 2), est un séchoir solaire fabriqué en tôle d'acier ordinaire avec une isolation interne en bois et contre-plaquée, ce séchoir est surmonté d'un capteur de chaleur (plexiglas) en forme de charpente qui sert en même temps de toiture et protège le produit lors de séchage contre les contaminants de l'environnement. Il possède trois compartiments dont deux qui servent de séchage et un pour le système de ventilation. Le système de ventilation est composé d'un ventilateur en Courant Continu, d'une batterie solaire et d'un module solaire photovoltaïque. La chaleur emmagasinée dans les compartiments de séchage est mélangée à l'air fourni par le ventilateur pour évacuer l'humidité du produit à sécher vers l'extérieur. L'intérieur de ce séchoir est peint en noir pour mieux capter la chaleur.
- Séchoir BOSH (Figure 3) est un séchoir électrique fabriqué en composite de plastique avec une série successive de 12 plateaux de séchage. Ce séchoir est doté d'une résistance chauffante à Courant Alternative et d'un système de ventilation monté en dessous de la résistance chauffante. Le système de ventilation permet de diffuser la chaleur produite par la résistance dans l'ensemble du système. L'humidité s'échappe par la partie supérieure de ce séchoir.
- Dispositif de séchage traditionnel (Figure 4) est un système de séchage constitué d'une poêle et d'un grillage traditionnel. Les fromages sont disposés sur le grillage au fond de la poêle puis recouvert par un plateau, l'ensemble est déposé sur un foyer traditionnel à bois.



Figure 1 : Photo d'un séchoir ATESTA muni d'un panneau solaire



Figure 2 : Photo d'un Séchoir solaire à convection forcée



Figure 3 : Photo d'un séchoir BOSH



Figure 4 : Photo du dispositif traditionnel de séchage du fromage de soja

## 2.2. Méthodes

### 2.2.1. Test de séchage des fromages de soja

La production de fromage frais utilisé pour les tests de séchage a été réalisée en utilisant la méthode décrite par Houssou *et al.*, (2018). Les fromages frais obtenus ont été découpés en de petites tranches de tailles inférieures ou égales à 0,5 cm d'épaisseur. La longueur et la largeur étaient respectivement de 3 cm et 1,5 cm. Sur chaque plateau, les tranches de fromage ont été disposées en couche mince et régulière afin de favoriser un séchage rapide et homogène. Les quatre séchoirs ont été remplis à leur pleine capacité de fromage frais soit 10 kg, 10 kg, 2 kg et 3 kg respectivement pour le séchoir ATESTA, le séchoir à convection forcée, le séchoir BOSH et le dispositif traditionnel utilisée comme témoin. Les essais de séchage ont été répétées trois fois pour chaque type de séchoir. Au cours du séchage, les données relatives à la quantité de produit initial et final et la durée de séchage ont été déterminés.

### 2.2.2. Détermination des paramètres physico-chimiques et microbiologiques des fromages séchés

Les teneurs en eau, en lipides et en cendres des fromages séchés ont été déterminées respectivement par thermogravimétrie, par extraction au soxhlet et par gravimétrie selon la méthode AOAC (1990). Quant au pH et l'acidité titrable, les échantillons des fromages de soja ont été évalués suivant la méthode modifiée de Nout *et al.*, (1989).

Pour la qualité microbiologique, les germes aérobies mésophiles et les entérobactéries ont été recherchés respectivement selon la méthode spécifiée par la norme ISO 4833-1 : 2013 et la norme ISO 21528-2 : 2017. Le dénombrement des colonies blanches ou colorées, lisses et crémeuses de levures et des moisissures sous forme poudreuse a été effectué après 5 jours d'incubation à 25 °C selon la norme ISO 21527-1-2 : 2008. Les *staphylococcus aureus* ont été dénombrés suivant la méthode décrite par la norme ISO 6888-2 : 2021.

### 2.2.3. Détermination de la qualité sensorielle du fromage séché issu des différents séchoirs

L'évaluation sensorielle a été réalisée suivant les méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments développé par WATTS *et al.* (1991). Les différents échantillons de fromage obtenus après séchage ont été soumis simultanément à un panel de 30 dégustateurs. Au cours des séances de dégustation, chaque dégustateur a reçu environ 10 g de chaque échantillon de fromage dans un plat jetable préalablement codé. Les échantillons ont été évalués en utilisant une fiche d'évaluation sensorielle conçue pour permettre à chaque dégustateur de donner une appréciation pour chaque paramètre évalué. Les critères de qualité tels que la couleur, l'arôme, le goût, la texture et l'acceptabilité générale ont été considérés. Une échelle hédonique à 5 niveaux a été utilisée pour l'appréciation de chaque critère.

### 2.2.4. Analyses statistiques des données

Le tableau Excel 2019 a été utilisé pour le calcul des moyennes et des fréquences. Le logiciel SPSS Statistics 23 a été utilisé pour la comparaison des moyennes des fromages séchés obtenus à partir des différents séchoirs.

## 3. Résultats

### 3.1. Performances techniques des quatre types de séchoir testés

Les résultats ont montré que les rendements au séchage était de  $34,73 \pm 0,49\%$  ;  $35,95 \pm 0,31\%$  ;  $35,75 \pm 0,35\%$  et  $34,64 \pm 0,60\%$  respectivement pour le séchoir ATESTA, le séchoir à Convection Forcée, le séchoir BOSH et le séchoir traditionnel (Tableau 1). L'analyse statistique de ces résultats

a révélé aucune différence significative entre ces rendements ( $P>0,05$ ). Concernant le temps de séchage, l'analyse de ce tableau indique que la durée de séchage du fromage séché avec le séchoir ATESTA est significativement ( $p<0,05$ ) inférieure aux durées de séchage du fromage séché avec les autres séchoirs. Il ressort aussi de ce tableau 1 que la durée de séchage varie significativement ( $P<0,05$ ) d'un séchoir à un autre.

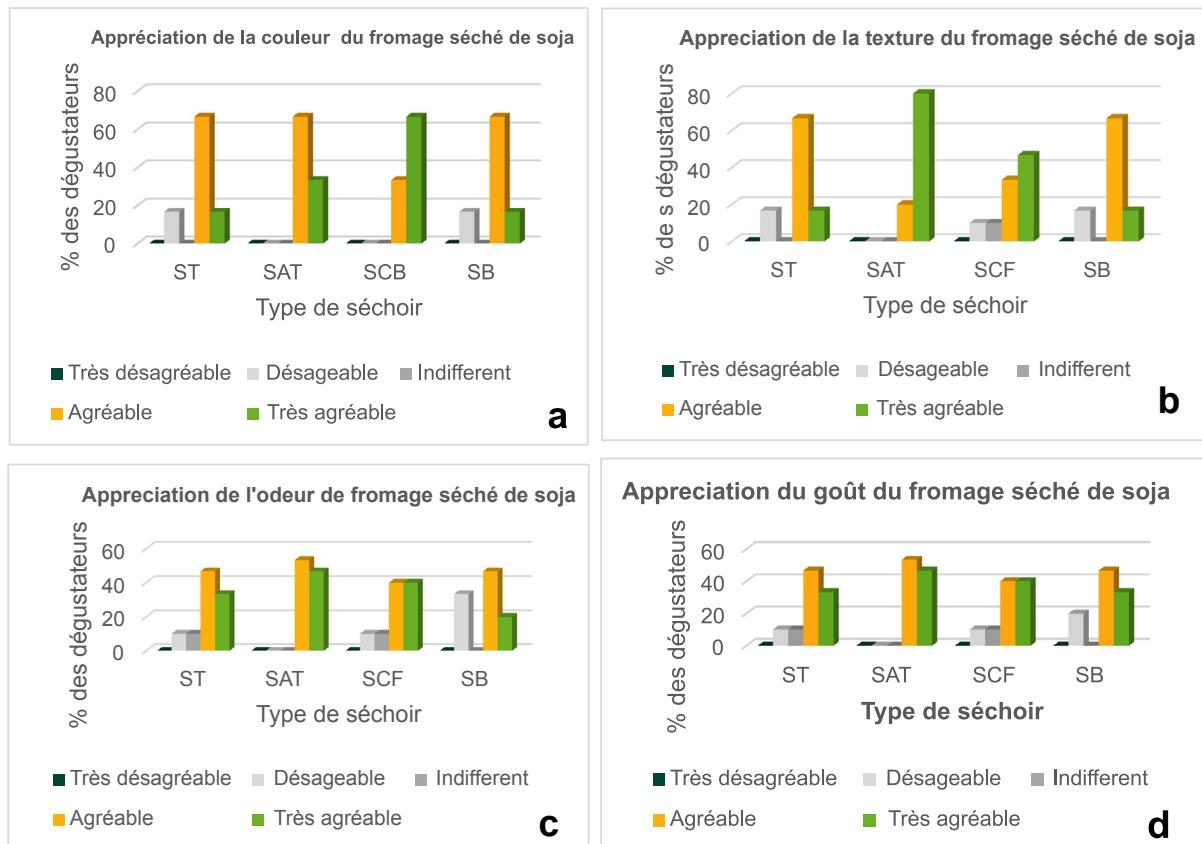
**Tableau 1:** Performances techniques des différents séchoirs

Type de séchoir	Quantité de fromage frais (kg)	Quantité de fromage séché (kg)	Rendement (%)	Durée de séchage (h)	Type d'énergie
Séchoir à Convection Forcée	10±0,5	3,6±0,01	35,95±0,31 <sup>a</sup>	20±1 <sup>a</sup>	Solaire
Séchoir ATESTA	10±0,30	3,47±0,05	34,73±0,49 <sup>a</sup>	6±0,5 <sup>b</sup>	Gaz
Séchoir BOSCH	2±0,05	0,715±0,01	35,75±0,35 <sup>a</sup>	48±0 <sup>c</sup>	Electrique
Séchoir traditionnel	3±0,5	1,04±0,02	34,64±0,60 <sup>a</sup>	10±1,5 <sup>d</sup>	Biomasse

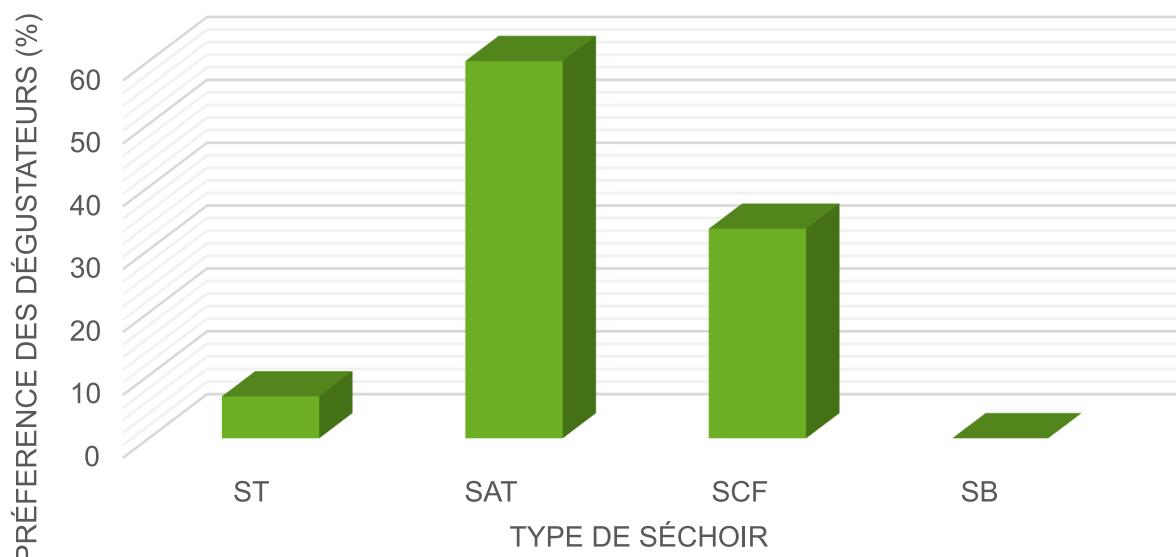
Les moyennes portant les lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes au seuil de 5%.

### **3.2. Qualité sensorielle du fromage séché de soja avec différents séchoirs**

Les fromages séchés avec les quatre types de séchoirs testés ont été évaluée suivant les critères de qualité tels que la couleur, la texture, l'odeur, le goût et l'appréciation globale. Les résultats obtenus pour l'acceptabilité générale ont montré que le fromage séché avec le séchoir ATESTA (60%) et le séchoir à Convection Forcée (53,33%) étaient les plus appréciés à cause de leur couleur attrayante et texture croustillante par rapport aux fromages séchés avec séchoir BOSCH (0%) et traditionnel (3,33%) qui ont une couleur sombre et moins croustillante. En considérant l'odeur, le fromage séché avec le séchoir ATESTA était le plus apprécié (46,67% des dégustateurs) pour son odeur très agréable devant le fromage séché avec le Séchoir à Convection Forcée (40% des dégustateurs), le Séchoir BOSCH (20%) et le Traditionnel (33,33%) (Figure 5 c). Sur la figure 6d, il a été observé que le niveau d'appréciation du goût des quatre fromages séchés avec les quatre séchoirs était similaire. Toutefois, le fromage séché avec le séchoir à Convection Forcée vient en tête avec une appréciation très agréable (66,67% des dégustateurs) suivi du fromage séché avec le séchoir ATESTA (53,33% des dégustateurs) suivi le fromage séché avec le séchoir Traditionnel (16,67% des dégustateurs) puis du fromage séché avec le séchoir BOSCH (3,33%).



**Figure 5 :** Pourcentage d'appréciation des différents critères de qualité (couleur, texture, odeur et goût) du fromage séché de soja produit en utilisant différents séchoirs



**Figure 6 :** Préférence des fromages séchés de soja

### **3.3. Caractéristiques physico-chimique et microbiologique des fromages séchés issus des différents séchoirs**

Dans le tableau 2 est présenté les caractéristiques physico-chimiques du fromage séché de soja avec les quatre types de séchoirs. La teneur en matière sèche du fromage séché avec le Séchoir ATESTA (SAT) (88,45%) et celle du Séchoir à Convection forcée (SCF) (86,39%) sont similaires et ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%. Mais ces teneurs en matière sèche sont supérieures ( $p<0,05$ ) à ceux des fromages séchés avec le Séchoir Traditionnel (ST) et le Séchoir BOSCH (SB). La même observation a été faite en ce qui concerne le pH des différents échantillons de fromage séché de soja. Ainsi, aucune différence significative n'a été observée entre le pH de SAT et SCF de même pour ST (6,19) et SB (6,28). La même tendance a été obtenue en considérant la teneur en huile des fromages de soja séchés avec les quatre types de séchoir. Pour ce qui concerne l'acidité titrable, il a été observé une différence significative ( $p<0,05$ ) entre SAT et les restes des échantillons avec SAT présentant la plus petite valeur soit 0,28%. Les résultats de la teneur en cendre des échantillons ont révélé que le fromage de soja séché par la méthode artisanale présente une teneur en cendre supérieure (ST=5,234%) à celle relevé au niveau des autres échantillons de fromage produit et séché par la méthode améliorée tous séchoirs confondus soient 3,54%, 3,66%, 3,6% relevés respectivement pour SAT, SCF et SB.

**Tableau 2 :** Caractéristiques physico-chimiques des fromages de soja séché

Type de séchoir	Matière sèche (%)	pH	Acidité titrable (%acide lactique)	Cendres (%) BS	Lipides (%) BS
<b>SAT</b>	88,45±0,56 <sup>a</sup>	6,69±0,01 <sup>a</sup>	0,28±0,01 <sup>b</sup>	3,54±0,01 <sup>b</sup>	28,25±0,21 <sup>a</sup>
<b>SCF</b>	86,38±0,24 <sup>a</sup>	6,435±0,02 <sup>a</sup>	0,32±0,00 <sup>a</sup>	3,66±0,06 <sup>b</sup>	29,73±0,17 <sup>a</sup>
<b>SB</b>	84,55±1,27 <sup>b</sup>	6,28±0,014 <sup>b</sup>	0,36±0,00 <sup>a</sup>	3,60±0,2 <sup>b</sup>	21,42±0,18 <sup>b</sup>
<b>ST</b>	82,89±0,45 <sup>b</sup>	6,185±0,02 <sup>b</sup>	0,42±0,02 <sup>a</sup>	5,23±0,15 <sup>a</sup>	24,34±0,19 <sup>b</sup>

Les moyennes portant les lettres différentes dans la même colonne sont significativement différentes au seuil de 5%.

**SAT** : Séchoir ATESTA ; **SCF** : Séchoir à Convection Forcée ; **SB** : Séchoir BOSCH ; **ST** : Séchoir Traditionnel.

L'analyse microbiologique a montré que la charge des staphylocoques et des levures et moisissures dénombrées dans le fromage séché de soja issu du séchoir traditionnel (ST) est supérieure à la norme Béninoise alors que les fromages séchés de soja issu du SAT, SCF, SB sont conformes à la norme (Tableau 4). Concernant les Germes aérobies mésophiles, seul le fromage séché issu du SAT est conforme à la norme Béninoise. Enfin, les fromages séchés issus de SCF et SB ne sont pas conformes à la norme en considérant les entérobactéries. Il ressort des résultats microbiologiques obtenus que la qualité du fromage séché avec le séchoir ATESTA est meilleure par rapport aux trois autres fromages séchés.

**Tableau 3 :** Qualité microbiologique des fromages séchés de soja

<b>Fromage séché</b>	<b>Staphylocoques (UFC/g)</b>	<b>Germes aéro- bies mésophiles (UFC/g)</b>	<b>Levures et moisissures (UFC/g)</b>	<b>Entérobactéries (UFC/g)</b>
ST	$18.10^3$	$>3.10^5$	$>15.10^4$	<10
SAT	<10	180	<400	<10
SCF	<10	$>3.10^5$	<100	$>15.10^4$
SB	<10	$>3.10^5$	<100	$4.10^5$
Critères Micro- biologiques (Norme Béni- noise, 2021)	<10 <sup>2</sup>	<3.10 <sup>5</sup>	<10 <sup>3</sup>	<10 <sup>2</sup>

**ST :** Fromage de Soja Séché issu du séchoir traditionnel ; **SAT :** Fromage de Soja Séché issu du séchoir ATESTA ;

**SCF :** Fromage de Soja Séché issu du séchoir à convection forcée ; **SB :** Fromage de Soja Séché issu du séchoir BOSCH.

#### 4. Discussion

Les trois séchoirs testés (séchoir ATESTA, séchoir à convection forcée et séchoir BOSCH) ont permis de sécher le fromage de soja jusqu'à un teneur inférieure à 12%. Bien que ces séchoirs ne présentent aucune différence significative par rapport au rendement en fromage séché, la durée de séchage a varié significativement d'un séchoir à une autre. La durée du séchage avec le séchoir ATESTA est de six (6) heures et est significativement inférieure à la durée de séchage des autres séchoirs améliorés (à convection forcée, BOSCH et traditionnel). Cette différence observée peut être liée à l'efficacité de la source d'énergie du séchoir ATESTA (gaz) qui est constante par rapport à la biomasse et l'énergie solaire utilisées respectivement pour le séchoir traditionnel et le séchoir à convection forcée comme type d'énergie. En outre, le séchoir ATESTA dispose d'une isolation thermique qui permet de concentrer et de conserver la chaleur à l'intérieur dudit séchoir. Enfin, bien que la durée de séchage liée à l'utilisation du séchoir à convection forcée soit relativement longue, la transformatrice ne paye rien en terme du coût d'énergie et constitue un avantage comparatif par rapport aux deux autres types de séchoirs testés. Mieux, la qualité du fromage séché avec le séchoir SAT est meilleure par rapport aux autres types de séchoir. En effet, les résultats de l'évaluation organoleptique des panélistes ont montré que les fromages séchés issus du séchoir ATESTA (SAT) et du séchoir à convection forcée (SCF) jouissent de la plus grande acceptabilité à cause surtout de la couleur et de la texture des fromages. Nous pouvons alors déduire que les consommateurs sont à la recherche d'un fromage séché croustillant, présentant peu d'odeur de soja, moyennement épicee et présentant une couleur très peu sombre. L'aspect couleur confirme les résultats de Dossou *et al.*, (2016) qui stipulent après des tests de dégustations réalisés sur le fromage peuhl séché que les consommateurs préfèrent des fromages à coloration claire. Par ailleurs, l'odeur du fromage séché avec la méthode traditionnelle n'avait pas été acceptée des dégustateurs surtout à cause de l'odeur de la fumée qui y est due à l'utilisation du bois comme combustible. En ce qui concerne la qualité physico-chimique, le fromage séché de soja issu du SAT présente les meilleures valeurs physico-chimiques recherchées. Cela peut s'expliquer par la rapidité du processus de séchage et confirme les conclusions de l'étude menée par PAFASP (2017).

stipulant que le séchoir ATESTA réduit le temps de séchage par rapport au séchage au soleil et améliore la qualité du produit séché. Cela confirme également les résultats de BOROZE (2011) qui stipule qu'en classifiant les indicateurs suivant les critères prioritaires que sont la qualité et le coût, il est recommandé d'utiliser le séchoir ATTESTA. Quant à la qualité microbiologique, les échantillons de fromage issu du séchoir ATTESTA présentent une très bonne qualité microbiologique comparativement aux autres échantillons car tous les séchoirs testés protègent mieux le fromage au cours du séchage contre les contaminations environnementales. De même, les différents fromages séchés sont conformes aux critères microbiologiques de la NORME BENINOISE (2021) portant sur le fromage de soja. Ce résultat est en lien avec les résultats de l'étude de Carboni (2016) qui stipule après une étude réalisée sur le séchage de la mangue que la qualité des mangues séchées obtenues dans les séchoirs ATTESTA répond aux standards d'hygiène et de production et est conforme aux protocoles de qualité HACCP.

## 5. Conclusion

L'évaluation des différents séchoirs pour le séchage et la stabilisation du fromage frais a montré que les trois séchoirs testés sont meilleurs par rapport à la pratique de séchage traditionnel. Toutefois, le séchoir ATTESTA a permis de sécher le fromage de soja plus rapidement par rapport aux autres séchoirs. De même, la qualité du fromage séché avec le séchoir ATTESTA est meilleure par rapport aux trois autres fromages séchés. Ainsi, l'utilisation du séchoir ATTESTA testé dans cette étude peut être proposée aux transformatrices pour la stabilisation du fromage frais par le séchage.

## Remerciements

Les auteurs de ce papier remercient le groupement de femme "Chilo" spécialisé dans la transformation de soja en fromage séché pour leur participation active à la présente étude.

## Références bibliographiques

- Boroze T., 2011. Outil d'aide à la conception de séchoirs pour les produits agricoles tropicaux. 236p
- Carboni S., 2016. Étude d'impact des actions du CEAS en matière d'innovations techniques : le cas de la mangue séchée. Les cahiers du CEAS, 40p.
- Dossou J., Montcho J., Londji S., Atchouke G., Odjo S., 2016. Procédé Amélioré De Conservation Et De Stabilisation Du Fromage Peuhl Par l'effet Combiné Du Traitement Thermique Et Du Conditionnement Sous Vide., European Scientific Journal vol.12, No.36 ISSN : 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431.
- Houssou P., 2021. Enquête auprès des acteurs de la filière soja en vue de déterminer les exigences qualités sur le lait et fromage de soja. 16-17p.
- Houssou P., Adegbola P., Djinadou K., Djivoh Y., Crinot G., Hotegni B., Dansou V., Todohoue C., 2018. Évaluation technologique et financière de la production de fromage à base de soja à petite échelle au bénin. Rev. Ivoir. Sci. Technol., 32 273 – 285. ISSN 1813-3290, <http://www.revist.ci>. 13p.
- Houssou P. A. F. et Dansou V., 2022. Guides de Bonnes Pratiques d'Hygiènes et de Fabrication de fromage à base de soja au Bénin. Document Technique et d'Informations (DT&I). ProQUAL/GIZ, ProQUAL/PTB, ANM Bénin. 19p. Dépôt légal N°13917 du 07-04-2022, 2ème trimestre, Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin. ISBN : 978-99982-58-56-3.

Konnon D., Ahoueya J., 2017. « Etat des lieux sur la filière soja au Bénin et identification de ses chaînes de valeurs ajoutées (CVA) porteuses ». Rapport provisoire. GIZ & MAEP/Bénin. 133 p.

MAEP (Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche), 2016. Catalogue Béninois des Espèces et Variétés végétales (CaBEV), 2016. INRAB/DPVPPAAO/ProCAD/MAEP & CORAF/WAAPP. 339 p. Dépôt légal N° 8982 du 21 octobre 2016, Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin, 4ème trimestre. ISBN : 978-99919-2-548-6.

NORME BENINOISE, 2021. Fromage de soja – specifications. Première édition, 12p.

Nout R., Hounhouigan J.D., Boekel T.V., 2003. Les aliments : Transformation, conservation et qualité. Margraf Publishers GmbH, Allemagne, 280p.

OCDE/FAO. 2019. « Perspectives agricoles de l'OCDE et de la FAO », Statistiques agricoles de l'OCDE (base de données), <http://dx.doi.org/10.1787/agr-outl-data-fr>.

PAFASP, 2017. « Guide de la transformation de la mangue par le séchage au Burkina Faso » Projet d'appui à la commercialisation de mangue séchée et de noix de cajou transformée, 54p.

Tchobo F., Ahouannou C., Amegnoïn A., Mazou M., Alitonou G., Sohounloue D., Soumanou M., 2013. « Physico-chemical and microbiological characteristics of dried Waragashi ». Afr. J. Food Sci. p448-455.

Watts B., Ylimaki G., Jeffery L., Elias L., 1991. « Méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments ». Ottawa, Ont., CRDI, 145 p.



# PAPERS IN ENGLISH

# Preface

Previous reports revealed a weak link between scientific research and agricultural development, with low investments in many developing countries. Agricultural research is critical for ensuring food security, nutrition, income, and better living conditions for small rural producers while minimizing environmental impact. It helps to change agricultural production systems by increasing productivity and farmers income.

However, the agricultural sector is facing new challenges, among which are crop diseases and the effects of climate change. These challenges can be addressed with innovative technologies developed through scientific research. The link between scientific research and agricultural development must be strengthened in order to produce enough nutritious food, limit food imports, achieve food security, reduce poverty, and achieve sustainable development.

In this regard, an international symposium on the state of Agricultural Research and Development in West and Central Africa was organized by CORAF and the first of its kind was held on June 19–21, 2022, in Cotonou, Republic of Benin. The theme of the conference was, «Agricultural Technologies and Innovations: Climate-Smart Agriculture for Adapting to Ongoing Challenges.»

The symposium, which was attended by 150 participants, started with a call for abstracts and 32 abstracts were received from authors spread across the West and Central Africa region, out of which 10 papers were accepted as full research papers.

This proceedings brought together innovative research findings and recommendations on climate-smart agriculture, pests and diseases management, post-harvest management practices to increase shelf-life of products. It's also provided insights for improving agricultural productivity and food security, as well as international contributions that allowed plant breeders, researchers, students, private companies, and national agriculture policymakers to discuss their research findings and achievements.

I warmly thank the authors for these quality research and commend their commitment towards advancing agricultural science in the region. It is my hope that the research findings from the various oral and poster presentations, as well as the discussions and debates, would lead to the development of improved agricultural technologies that would encourage new research initiatives in the field of sustainable agriculture.

The symposium's outcomes and discussions, presented in this proceeding volume, reflect the commitment of CORAF to advancing agriculture in the region, addressing contemporary challenges, and fostering innovative solutions for the benefit of West and Central Africa.

Finally, I appreciate the Swiss Cooperation's continued support in the implementation of projects supporting agricultural research and the development of agricultural technologies and innovations to increase the resilience of production systems and family farms in the West and Central Africa region.

I wish you happy reading.



**Dr Abdou TENKOUANO**  
Executive Director

# PAPERS IN ENGLISH

## Theme 1: Climate-smart agriculture

The role of phytoestrogenic plants in smart and sustainable tilapia aquaculture in Nigeria

- Nwangwu, D.C., Bake, G.G., Ibiyo, L.M.O., and Yisa, M.

## Theme 2: Pests and disease

Prevalence of cashew dieback (*Anacardium occidentale* L.) and inventory of fungi associated disease in Burkina Faso

- Oumarou Z. Dianda, Cyrille T. Zombre, Oumarou Traoré, Jacqueline Y. Kansié, Vianney W. Tar-paga, issa Wonni, and Rimnoma S. Ouedraogo.

## Thème 4: Post-harvest

Vulnerability of Kponan Yam from Côte d'Ivoire during conservation based on harvesting and field storage practices

- Kouakou Nestor KOUASSI, Yapo Hypolithe KOUADIO, Kouadio Benal KOUASSI, and N'Guessan Georges AMANI

Review of WAAPP Developed Fish Smoking KILN Technology on Fish Product Quality, Distribution, and Adoption in Nigeria and The ECOWAS Sub-Region

- Philip .I. IFEJIKA and Lilian.I. IFEJIKA

Improved process and reduction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) contamination of kilichi, a grilled meat produced in Niger

- Ramatou Boubacar Seydou, Yénoukounmè Euloge Kpoclou, Rabiou Labo Sanda, Iko Afé Herbert, Caroline Douny, Jacques Mahillon, Victor Bienvenu Anihouv, Marie-Louise Scippo, Djidjoho Joseph Hounhouigan



# Theme 1: Climate-smart agriculture

## The role of phytoestrogenic plants in smart and sustainable tilapia aquaculture in Nigeria

- Nwangwu, D.C.<sup>1,2</sup>, Bake, G.G.<sup>2</sup>, Ibiyo, L.M.O.<sup>1</sup> and Yisa, M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fish Genetics and Biotechnology Programme, Aquaculture and Biotechnology Department, National Institute for Freshwater Fisheries Research, P.M.B. 6006, 912106, New-Bussa, Nigeria.

<sup>2</sup>Department of Water Resources, Aquaculture and Fisheries Technology, Federal University of Technology, P.M.B. 65, 920101, Minna, Nigeria.

**Corresponding Email:** [cdnwangwu@gmail.com](mailto:cdnwangwu@gmail.com); **mobile:**+2348021581693, +2348035957410

### Abstract

The study investigated the control of prolific reproduction in *Oreochromis niloticus* culture using *Jatropha curcas* seed meal (JCSM). A total of 360 *O. niloticus* juveniles were used for the study in a 6 x 3 completely randomized design; using six dietary treatments (D1, D2, D3, D4, D5 and D6) with different inclusion levels of processed and unprocessed JCSM. The study indicated that both processed (toasted and soaked) and unprocessed (raw) *J. curcas* seed meal at both 10% and 20% inclusions were able to suppress unwanted reproduction in *O. niloticus* juvenile for 12 weeks. The best reproduction control effects were observed at 10% inclusions for toasted and soaked JCSM with the soaked group performing better than the toasted group. The highest significant growth performance ( $P<0.05$ ) of juvenile *O. niloticus* with respect to FBW, BWG and SGR (54.01g, 42.44g and 4.38% day-1 fish-1 respectively) were observed in the fish fed control diet (D1). The group of fish fed diet with 10% soaked JCSM (D4) performed significantly ( $P<0.05$ ) better than other groups fed on processed and unprocessed *J. curcas* seed meal in terms of growth parameters. The best feed utilization efficiency of the fish in terms of FCR and FE was observed in the control treatment (D1) and the treatment with 10% soaked JCSM (D4) with 2.38 and 3.35 for FCR, 0.42 and 0.30 for FE respectively. Using K-value of FCF the study inferred that the well-being of the fishes fed control diets (D1), 10% (D4) and 20% (D5) soaked *J. curcas* seed meal were intact while fishes in other groups i.e. 10% (D2) and 20% (D3) toasted *J. curcas* seed meal and 10% (D6) raw *J. curcas* seed meal were impaired but the survival rate (SR) of all the groups of fish was not negatively affected. The control group (D1) had the highest value ( $55.40 \times 10^6$ ) of WBC and the least value ( $26.16 \times 10^6$ ) was recorded from the group fed unprocessed JCSM after the hematological analysis of fish blood samples. From the study, it can be concluded that 10% and 20% inclusion levels of processed and unprocessed JCSM suppressed reproduction in *O. niloticus* juvenile for 12 weeks but also adversely affected their growth performance and nutrient utilization, hence lower inclusion levels of JCSM and other methods of utilization of *J. curcas* and other phytoestrogenic plants should be investigated.

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, *Jatropha curcas*, Phytoestrogenic plants, Smart aquaculture, 17-alpha-MT

## 1. Introduction

Climate change effects and responses demands and requires sustainable development with critical emphasis on three indicators viz- environmental, economic and social indicators. Although some strategies are being deployed in various regions to adapt and mitigate the effects of climate change on sustainable aquaculture in Nigeria, most of these methods tend to address the economic and social indicators with little emphasis on environmental protection and biodiversity conservation (Onada & Ogunola, 2016). Nigeria's aquaculture focuses mainly on freshwater fish with catfish species mainly cultured (WorldFish, 2018) thus the need for aquaculture specie diversification in a smart and sustainable way in Nigeria cannot be overemphasized.

Globally, the tilapias have been recognized as very good aquaculture candidates and presently the second most economically important fish in the world (FAO, 2020). Despite the widely reported production and progress of the tilapias in the global aquaculture, the common challenge of all the known commercial strain is their early maturation in sub-tropical and tropical climatic conditions which leads to prolific or excessive breeding and subsequent over-crowding in culture systems, resulting in stunting and poor yields of unacceptable market size fishes (Gabriel et al., 2015). Existing methods to produce monosex (all-male) tilapia population encompass technical limitations that make them inappropriate for small aquaculture farms. The use of synthetic hormones, especially 17-alpha-methytesterone (17-alpha-MT), has been responsible for the tremendous progress recorded in global tilapia growth. These synthetic hormones has a lot of associated problems such as bureaucratic impediments and cost of obtaining hormones for sex reversal, expertise requirements to handle the hormone and other problems such as environmental and public health concerns (Nwangwu et al., 2015). These have been identified as some of the major reasons for the low popularity of commercial tilapia culture in Nigeria. There is also, a global concern of the residual effect of synthetic steroids on the fish flesh, producers, consumers and the environment (Dauda et al., 2014); hence the need to explore other affordable, environmentally friendly and appropriate alternative technology. This has led to search for alternative approaches including the use of natural (organic) reproduction inhibitors found in plants (Ugoala et al., 2014).

The concept of harnessing the potentials of phytoestrogenic plants as natural (organic) reproductive inhibitors in tilapia aquaculture is novel and recently gaining attention in the growing interest for smart aquaculture. These plants, for example *Jatropha curcas*, *Eriosema psoreloides*, *Momordica charantia* amongst others have been studied and found to possess bioactive constituents that are structurally and/ or functionally similar to the synthetic hormones used in the tilapia industry and are capable of producing estrogenic effects in animals (Chakraborty et al., 2012). If given proper attention, many phytoestrogenic plants could replace the synthetic hormones used in the tilapia industry since they can be easily obtained and safer to the producer, consumer and environment. The study therefore aim to evaluate of the efficacy of processed and unprocessed *J. curcas* seed meal (JCSM) as a reproductive inhibitor and (or) sterility agent in the control of unwanted reproduction in tilapia culture.

## 2. Methodology

The study was conducted at the Hatchery Complex (9.880896, 4.540530) of National Institute for Freshwater Fisheries Research (NIFFR), New Bussa, Niger State, Nigeria.

Mature seeds of *J. curcas* were identified, collected from nearby Monai village and shelled. The seeds were prepared using two simple methods of detoxification i.e. toasting and soaking (48 hours) to obtain the processed *J. curcas* seed meal (JCSM). Both processed and unprocessed JCSM were subjected to proximate and bio-active constituent screening.

A pair (1 male and 3 female) of pure strains of *O. niloticus* broodstock were conditioned in a 3m × 5m happa setup in a 5m × 10m concrete tank and supplied with water from nearby Kigera reservoir. They were allowed to breed and the offspring nursed, raised to juvenile stage using a commercial feed (Coppens®). From the pool, a total of 360 mature and healthy juveniles were selected, sexed and acclimatized for one week, after which they were distributed six (6) treatments. In a 6 × 3 completely randomized design (CRD), twenty (20) fishes were stocked in each tank (2m × 2m × 1m) with male to female ratio of 1:3 in triplicates per treatment. The tanks were properly screened; water was supplied from Kigera reservoir and supported from the complex borehole.

Based on Nile tilapia nutritional requirements and ascertained proximate compositions of JCSM, Six (6) isonitrogenous dietary treatments (D1, D2, D3, D4, D5 & D6) were formulated at 35% CP and used for the study. A control diet (D1) with zero (0) gram *J. curcas* seed meal and five test diets (D2, D3, D4, D5 and D6) with *J. curcas* seed meal incorporated into the basal diet at 10%, 20% of toasted, soaked and 10% of raw respectively to replace the cellulose and fish meal part of the control (Table 1).

**Table 1:** Composition of experimental diets fed to juvenile *Oreochromis niloticus*

<b>Ingredients (g)</b>	<b>Experimental Diets</b>					
	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>
FM	336.30	269.10	224.30	273.90	233.90	276.90
SBM	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
GNC	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Toasted JCSM	0.00	100.00	200.00	0.00	0.00	0.00
Soaked JCSM	0.00	0.00	0.00	100.00	200.00	0.00
Raw JCSM	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
MM	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Millet	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Starch	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
Vitamin premix	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
SBO	30.70	29.90	26.40	26.20	19.10	27.10
Cellulose	133.00	101.00	49.30	99.90	47.00	96.00
Mineral	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
<b>Total</b>	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00

Fishes were fed at 5% body weight divided into two and given twice daily between 08:00 – 08:30 hrs and 17:00 – 18:00hrs for the duration of experiment and sampling was carried out fortnightly. Fish response to feeding and mortality were observed and recorded. Observations were also made while feeding and sampling to know if spawning have occurred in any of the experimental tanks. During this period water quality parameters were monitored and recorded.

From the data collated during the experimental duration, growth performance and feed utilization efficiency were evaluated. The growth parameters used were specific growth rate (SGR), body weight gain (BWG) and final body weight (FBW) while the feed utilization parameters used were

feed efficiency (FE) and feed conversion ratio (FCR). The survival rate (SR) and Fulton condition factor (FCF) were equally determined. As described by Workagegn *et al.* (2013), the following formulas were used in calculating the values for these parameters:

- BWG (grams per fish) = [(FBW - IBW) ÷ IBW];
- SGR (% per day per fish) = [(lnFBW - lnIBW) ÷ Dt] × 100;
- FCR = FI (gm) ÷ BWG (gm);
- FE = BWG (gm) ÷ FI (gm);
- FCF = BWG (gm) ÷ TL (cm)<sup>3</sup> × 100;
- SR = (NFS - NDF) ÷ NSF × 100;

**Note:** IBW = Initial Body Weight; Dt = days experimental duration; FI = Feed Intake; TL = Total Length; NFS = Number of Fish Stocked and NDF = Number of Dead Fishes.

Fish blood samples were collected via the pectoral peduncle with the aid of 2 ml hypodermic syringes. The blood samples were immediately put into an anticoagulant EDTA container and taken to the laboratory where they were analyzed for the following parameters – Mean cell volume (MCV), Mean cell Heamoglobin (MCH), Mean cell Heamoglobin concentration (MCHC), Red blood corpuscles (RBC), total white blood corpuscles (WBC), packed cell volume (PCV) and Heamoglobin (Hb).

All data were subjected to statistical analysis using IBM SPSS® Statistics Ver. 20. One-way analysis of variance (ANOVA) was used and the significance of differences ( $P < 0.05$ ) between mean values were tested with Duncan multiple range test (DMRT)



Plate I



Plate II



Plate III



Plate IV



Plate VI



Plate VII

Plate I: *Jatropha curcas* plant;

Plate II: Fresh *Jatropha curcas* seeds

Plate III: *Jatropha curcas* kernel / seed

Plate IV: Dry *Jatropha curcas* seeds

Plate V: *Jatropha curcas* pods

Plate VI: Toasted *Jatropha curcas* seed

### 3. Results

#### *Proximate and Bio-active component analyses*

The results of proximate composition of *J. curcas* seeds (processed and unprocessed) are presented in Table 2. The results showed that the processed seeds had a higher crude protein content (28% and 31.37% for soaked and toasted respectively) compared to the unprocessed seeds (25.93%).

The results of bio-active constituent analysis of *J. curcas* seeds (processed and unprocessed) are presented in Table 3. The results showed that alkaloids were not present in processed (toasted and soaked) seeds. Glycosides and oxalic acid were not present in the toasted seeds. Saponins, phenols, tannins and flavonoids were present in the processed and unprocessed seeds but in low concentration for the toasted seeds.

**Table 2:** Proximate composition of *Jatropha curcas* seeds (processed and unprocessed)

Sample	Mois-ture (%)	Ash (%)	CP (%)	CF (%)	C. Fat (%)	NFE (%)	Energy (K/CAL)
S - JC	8.33	2.30	28.00	3.29	49.35	8.73	591.07
T - JC	4.92	3.21	31.37	3.42	40.40	16.68	555.80
R - JC	7.45	2.42	25.93	3.09	42.50	18.61	560.66

Where: S-JC = Soaked *Jatropha curcas*, T-JC = Toasted *Jatropha curcas*, R-JC = Raw *Jatropha curcas*, CP = Crude Protein, CF = Crude Fibre, C. Fat = Crude Fat and NFE = Nitrogen Free Extracts

**Table 3:** Phytochemical constituents of *Jatropha curcas* seeds (processed and unprocessed)

Samples	Saponins	Phenols	Tannins	Glycosides	Oxalic acid	Alkaloids	Flavonoids
S – JC	++	++	++	+	+	-	++
T – JC	+	+	+	-	-	-	+
R – JC	++	++	++	++	++	+	+

Where: S-JC = Soaked *Jatropha curcas*, T-JC = Toasted *Jatropha curcas*, R-JC = Raw *Jatropha curcas*, “-” = Not Present, “+” = Present and “++” = Highly Present

#### Growth performance and feed utilization efficiency

Growth performance and feed utilization efficiency of *O. niloticus* juveniles fed 0% (control), 10%, and 20% of toasted, soaked and 10% of raw *J. curcas* seed meal is presented in Table 4. The highest significant growth performance ( $P<0.05$ ) of juvenile *O. niloticus* with respect to SGR, BWG and FBW were noticed in fish fed with control diet (D1). The group of fish fed diet with 10% soaked JCSM (D4) performed significantly ( $P<0.05$ ) better than the other groups fed diet with processed and unprocessed JCSM in terms of growth parameters. The best feed utilization efficiency of the fishes with respect to FE and FCR was noticed in fish that fed on the control diet (D1) and diet with 10% soaked JCSM (D4).

**Table 4:** Growth performance and feed utilization of *Oreochromis niloticus* juveniles fed diets with processed and unprocessed *Jatropha curcas* seed meal (12 weeks).

Values with the same superscript in the same row are not significantly different ( $P >0.05$ ).

Where: IBW = initial body weight, IBL = initial body length, FBW = final body weight, BWG = body weight gain, SGR = specific body weight, FI (g) = Feed Intake, FCR = Feed Conversion Ratio and FE = Feed Efficiency

Parameters	Experimental Diets					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
IBW (g fish <sup>-1</sup> )	11.57 <sup>a</sup> ±3.38	11.93 <sup>a</sup> ±3.44	12.32 <sup>a</sup> ±4.13	9.66 <sup>a</sup> ±3.05	9.24 <sup>a</sup> ±3.28	12.13 <sup>a</sup> ±2.06
IBL (cm fish <sup>-1</sup> )	8.73 <sup>a</sup> ±0.27	9.01 <sup>ab</sup> ±0.11	9.67 <sup>b</sup> ±0.85	9.0 <sup>ab</sup> ±0.30	8.60 <sup>a</sup> ±0.36	9.07 <sup>ab</sup> ±0.35
FBW (g fish <sup>-1</sup> )	54.01 <sup>c</sup> ±6.15	22.47 <sup>ab</sup> ±2.61	21.18 <sup>ab</sup> ±3.69	29.67 <sup>b</sup> ±5.39	20.18 <sup>a</sup> ±2.06	22.12 <sup>ab</sup> ±5.36
BWG (g fish <sup>-1</sup> )	42.44 <sup>c</sup> ±8.28	10.53 <sup>a</sup> ±3.31	8.86 <sup>a</sup> ±0.73	20.01 <sup>b</sup> ±2.86	10.94 <sup>a</sup> ±1.76	9.99 <sup>a</sup> ±6.74
SGR (% day <sup>-1</sup> fish <sup>-1</sup> )	4.38 <sup>c</sup> ±0.14	3.33 <sup>ab</sup> ±0.13	3.24 <sup>a</sup> ±0.20	3.67 <sup>b</sup> ±0.20	3.21 <sup>a</sup> ±0.11	3.28 <sup>a</sup> ±0.32
FI (g)	101.00 <sup>a</sup> ±5.32	59.60 <sup>c</sup> ±2.36	59.46 <sup>c</sup> ±2.72	67.04 <sup>b</sup> ±4.81	50.72 <sup>cd</sup> ±3.42	57.53 <sup>c</sup> ±2.10
FCR (g/g)	2.38 <sup>a</sup> ±2.12	5.66 <sup>a</sup> ±1.63	6.71 <sup>e</sup> ±1.34	3.35 <sup>b</sup> ±2.11	4.64 <sup>c</sup> ±2.09	5.76 <sup>d</sup> ±1.32
FE (g/g)	0.42 <sup>a</sup> ±2.04	0.18 <sup>d</sup> ±1.42	0.15 <sup>d</sup> ±1.60	0.30 <sup>b</sup> ±1.73	0.22 <sup>c</sup> ±2.08	0.17 <sup>d</sup> ±2.06

*Unwanted reproduction control in Oreochromis niloticus* juveniles fed *Jatropha curcas* seed meal Based on visual observations at feeding and sampling periods, fry were seen in the experimental tanks holding fishes fed control diets (D1) from 3 weeks into the experimental period. The first sets of fry were removed, and new sets of fry were again seen at subsequent sampling periods indicating steady reproduction. No fry were seen throughout the experimental period in all other experimental tanks holding fishes that were fed raw and processed (toasted and soaked) *J. curcas* seed meal. An examination of fish gonads also revealed the gonads of fish fed treated meals may have been impaired.



Plate VII



Plate VIII



Plate IX



Plate X



Plate XI



Plate XII

Plate VII: Fish / fry from a control tank

Plate VIII: *O. niloticus* eggs from a control tank

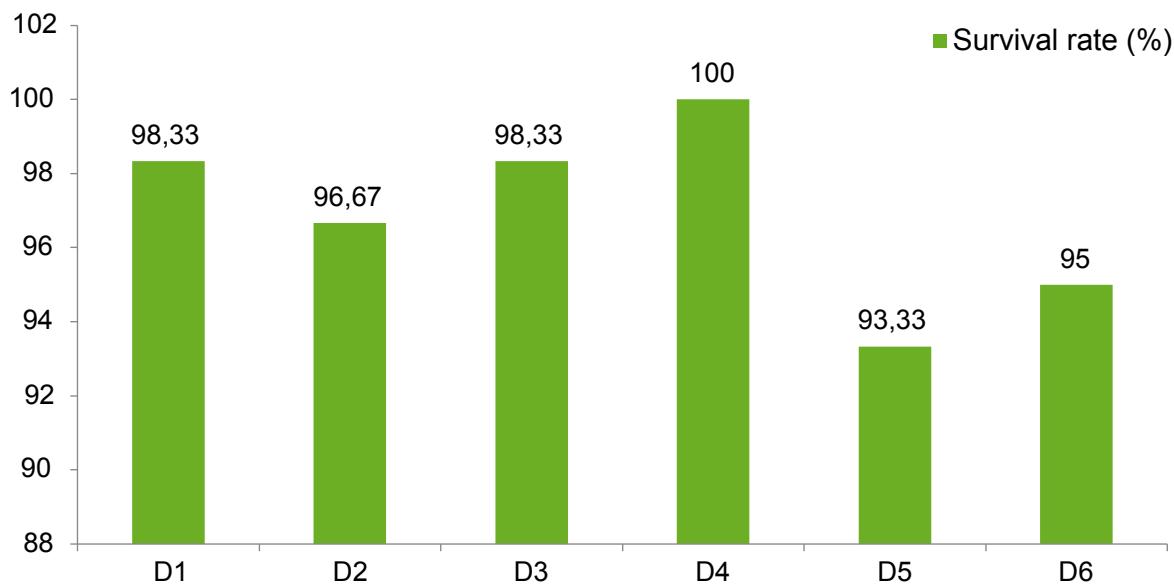
Plate IX: Fish ovary from control

Plate X: Fish ovary from treatments

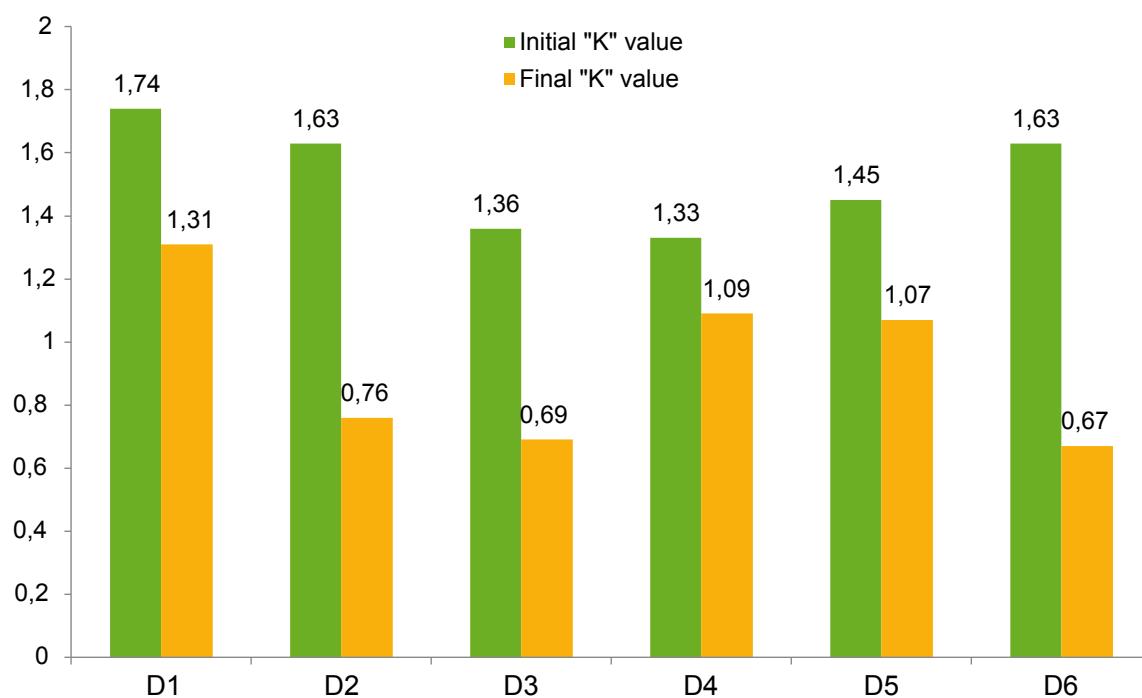
Plate XI: Fish testes from treatments

Plate XII: Fish testes from Control

Effect of processed and unprocessed *J. curcas* Seed Meal on survival of *O. niloticus* Juveniles and their haematological parameters is presented in Figure 1 and table 4 respectively.



**Fig. 1:** Percentage survival of *O. niloticus* juveniles fed processed and unprocessed JCSM (12 wks).



**Fig. 2:** FCF (K- value) of *Oreochromis niloticus* juveniles fed diets with processed and unprocessed *Jatropha curcas* seed meal (12 weeks).

**Table 5:** Haematology of *Oreochromis niloticus* juveniles fed processed and unprocessed *Jatropha curcas* seed meal for 12 weeks

Parameters	Treatments					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
PCV (%)	12.82	6.98	5.00	14.81	4.87	6.25
HB (g/dl)	4.27	2.33	1.67	4.94	1.63	4.17
RBC x 10 <sup>9</sup>	3.18	2.65	3.91	2.29	1.98	2.94
WBC x 10 <sup>6</sup>	55.4	51.12	37.32	43.60	40.52	26.16
MCV (fl)	4.03	2.63	1.28	6.47	2.43	2.13
MCH (pg)	13.43	8.79	4.27	21.57	8.23	7.09
MCHC	33.31	33.38	33.40	33.36	33.47	33.36

**Where:** PCV (%) = Packed Cell Volumes, HB (g/dl) = Heamoglobin, RBC = Red Blood Corpuscles, WBC = White Blood Corpuscles, MCV (fl) = Mean Cell Volume, MCH (pg) = Mean Cell Heamoglobin and MCHC = Mean Cell Heamoglobin Concentration

#### 4. Discussion

Generally, the results of proximate and phytochemical analyses of the *J. curcas* seeds used in the study were in agreement with reported values by other authors who worked on chemical, pathological evaluation (Nabil et al., 2011) and proximate, toxicological analyses (Ojo et al., 2015) of *J. curcas* seeds from Assiut, Egypt and Nassarawa, Nigeria respectively. This indicates seeds from West and North Africa could be same. The moisture contents of the processed and unprocessed *J. curcas* seed samples were basically low with values below the 15% moisture content needed as safe limit for storage of plant food materials (Sena et al., 1998). The variations in processed seeds (soaked & toasted) can be attributed to the processing technique where high moisture content (8.33%) in the soaked seeds is likely due to absorption of water molecules and lower moisture content (4.92%) in toasted seeds implies loss of water content due to heat.

Processing via soaking and toasting increased the crude protein value of the seeds compared to the unprocessed seeds. For the soaked seeds, it could be as a result of hydrolysis during soaking which increases the crude protein content (CP), a process commonly associated with activities of microorganisms while the increase in protein contents of toasted sample might be attributed to an increase in the free nitrogen content after toasting provided they are not toasted to a degree that denatures the protein. The crude fat of the raw seeds reduced slightly with toasting, and increased with soaking. A decline in lipid contents of Parkia seed with increasing period of toasting and increase with increased period of soaking has also been reported. The reduction in value of lipid as seen in the toasted JCSM may be attributed to loss of volatile essential fatty acids and denaturing effect of heat.

Mean water quality parameters recorded in all treatments from the study were not significantly different ( $P>0.05$ ), and are within the optimum range for aquaculture and normal growth of *O. niloticus* as stated (Azzaza et al., 2008). The good water quality parameters can be attributed to the unpolluted source of water supply, screened inlet pipes.

The initial body weight of the fishes recorded at the onset of the study were not significantly different ( $P>0.05$ ); thus, the different performances of the fish among treatments groups was as a result of the inclusion of JCSM. The study revealed that inclusion of processed and unprocessed JCSM at different proportions to the diet of juvenile *O. niloticus* exhibited unusual variation on feeding response, growth capacity and efficiency of feed utilization of the fishes. The results are in concurs with the works of Workagegn et al., (2013).

Fish fed with control diets exhibited more active feeding response than fish fed the processed and unprocessed JSCM and performed significantly ( $P<0.05$ ) higher in growth with better feed utilization efficiency. Amongst the fish fed JCSM, the group fed 10% toasted JCSM performed significantly ( $P<0.05$ ) better than fish fed the rest of the treatments. This can be attributed to the palatable nature of the control diet with low content of anti-nutritional factors which affects the dietary taste as well as restricts nutrients availability in other experimental diets. However, the average FBW of the fish increased reasonably from the initial value across all dietary treatments. The results of this study is similar with the previous works of Azzaza et al., 2011 and Workagegn et al., 2013 who adduced that higher concentration of anti-nutritional factors (ANFs) in feeds reduces nutrient availability, protein digestibility and minerals bioavailability especially Ca<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> which in turn impairs growth performance of the fish and increase wastage of nutrients via faeces. Ojediran et al., 2014 concluded that simple processing methods reduced the antinutrients with minimal effect on the saponin and phorbol esters present in the *J. curcas* kernel meal, which adversely affected feed intake, final weight, weight gain and feed gain ratio in dietary treatments observed by the depressed growth rate and high mortality in birds fed JCSM.

Similarly, the same trend was observed in feed utilization efficiency of juvenile *O. niloticus* fed processed and unprocessed JCSM in terms of feed conversion ratio (FCR) and feed efficiency (FE) with fish fed the control diet having the best FCR and FE followed by fish fed 10% soaked JCSM. The remarkable values recorded for the FE can be attributed to practical constraints in experiments with fish, especially in outdoor facilities, it was not possible to ensure that all food presented was ingested nor was it possible to collect uneaten food from the experimental tanks. Therefore, for calculation of FCR and FE, the amount of feed fed (instead of feed consumed/intake) was used without correction being made for any wastage. This could actually lead to overestimation of feed and underestimation of the ratios. Again, the number of female fishes in the control tanks carrying eggs at sampling time may have influenced the ABW of the group and consequently the DFR for the subsequent weeks.

In the study, reproductions of *O. niloticus* was suppressed in all treatments with processed and unprocessed *J. curcas* seed meal (JCSM) while the control treatments had free reproductive activities as evident in batches of spawning which occurred in the control tanks during the experiment. This observation implies that the JCSM (processed and unprocessed) rendered the treated fish incapable of successful reproduction within the experimental period. The results here are in conformity with the works of Ampofo-Yeboah (2013) using Pawpaw and Moringa seeds. The author reported that despite significant differences in biological parameters, female fish from the control treatment was noticed to be brooding eggs in her mouth while no reproductive activities were noticed all through the experimental duration of 60 days with the fishes (*Oreochromis mossambicus*)

that fed on the respective treatments of Pawpaw and Moringa seeds. He further adduced that the treatments impaired the maturation of gonads thereby interfering in spawning.

This view corresponds with the observation made (Ekanem and Okoronkwo, 2003) who worked with *Carica papaya* seed as anti-fertility agent in Nile tilapia. The authors reported that spawning did not occur in all replicates with the treatment for the experimental duration of 30 days while spawning occurred with fish in the control experiment at two weeks into the period and five weeks after. Fish in the low dose category also spawned 21 days after the treatment was terminated. They attributed the reproductive inhibition to phytoestrogens in pawpaw seeds. Similar reports were given by other authors like Jegede, 2011, Abdelhak *et al.*, 2013; Omeje 2016 with *Carica papaya* as sterility-inducing agents adducing that phytoestrogens at higher dosage in the Pawpaw seed meal (PSM) were destructive to testes and ovary tissues leading to disintegration of many cells, rendering the testes and ovaries devoid of spermatids and oocytes, respectively.

This suppression in reproduction can also be attributed to the presence of one or more phytoestrogens inhering both processed and unprocessed *J. curcas* seed meal which can act as EDCs in fish (*in vivo*). Information on the mode of action of EDCs is insufficient but the general view held about the process by which EDCs distort endogenous hormones is to antagonize or mimic the actions of endogenous hormones. These effects may either be estrogenic or anti-estrogenic (Lehtinen and Tana, 2001; Ososki and Kennelly, 2003). Estrogenic potentials are able to act like endogenous estrogens and produce estrogenic actions, whereas, that of the anti-estrogenic potentials can interrupt or obstruct estrogen receptors (ERs) and hinder estrogenic activity, thus producing inverse estrogenic actions (Ososki and Kennelly, 2003; Matozzo *et al.*, 2008).

Results from Blazer *et al.*, 2012; Sassi-Messai *et al.*, 2009; Cheshenko *et al.*, 2008; Manning, 2005; Mills and Chichester, 2005 and Damstra *et al.*, 2002 indicated that exposure of an organism to dosages of EDCs or natural hormones capable of interfering with the normal operation of the endocrine system could have severe effect on the reproductive endocrine system resulting in changes in the reproductive evolution (Ampofo-Yeboah, 2013). In addition, the present results are in agreement with reports from other investigators to affirm the effects of JCSM as a sterility agent or reproductive inhibitor in fish and other animals. For instance Nur and Sabrina (2013) concluded that *J. curcas* has anti implantation effects on pregnancy of Sprague dawley rats during early gestation period.

There is no significant difference in the survival rates of juvenile *O. niloticus* fed processed and unprocessed JCSM. Fish from all treatments survived well and the good survival rate can be attributed to careful experimental routines / handling, good water quality and adequate space in experimental tanks. This result on survival rate contradicts that of Workagegn *et al.*, 2013 who reported that fish fed control diets had significant higher survival rate as compared to the fish fed rest of the experimental diets with varying inclusion levels of *J. curcas* kernel meal (JCKM). This contradiction may be due to difference in culture medium as well as the size/age of the fish at time of experiment since older fish are more likely to withstand rigors emanating from the dietary treatments or experimental routines.

Again, while Workagegn *et al.*, 2013 reported that the FCF K-value of all fish were intact, the present study revealed the well-being of the fish in terms of FCF K-value were impaired for the toasted (D2, D3) and raw (D6) treatments. This can be attributed to the residual toxic anti-nutritional components of *J. curcas*. Chivandi *et al.*, 2006 and Tiurma *et al.*, 2010 both reported that dietary JCSM caused severe adverse effects in pigs and broiler chicken of 7-21 day old respectively. They

inferred that the detoxification procedure failed to completely remove and or neutralize the toxic anti-nutritional factors (ANFs) in the JCSM adding that some of the toxicity observed can be ascribed to the residual PEs in the JCSM.

The relatively low WBC values recorded in the group that fed on diet with 20% JCSM (toasted & soaked) and very low value recorded for the raw JCSM fed fishes when compared with the control and fishes fed with 10% JCSM (toasted & soaked) can be attributed to the residual and un-tempered toxins which the fish defense system will be battling, given that fish under similar conditions when compared with healthy fish normally exhibit fewer numbers of organic defense cells.

## 5. Conclusion

Processed (toasted and soaked) and unprocessed (raw) *J. curcas* seed meal at both 10% and 20% were able to suppress unwanted reproduction in juvenile *O. niloticus* for 12 weeks by impairment of fish gonads. Processed (toasted and soaked) and unprocessed (raw) *J. curcas* seed meal at both 10% and 20% can be tolerated by *O. niloticus* juveniles but their performance in terms of growth, feed utilization efficiency and overall well-being of the fish may be adversely affected, owing to insufficiency of the simple processing methods (toasting and soaking) to completely remove or neutralize the toxic components in JCSM.

From the study, it is recommended that lower inclusion levels of JCSM in tilapia feed as well as other processing methods for JCSM should be investigated in subsequent studies. Also there is need for further studies in the area of incorporating phytoestrogenic plants in tilapia feed for control of their prolific reproduction since this may provide a veritable alternative to existing methods of combating the prolific breeding nature of tilapias especially the use of synthetic hormones like 17 MT.

## Acknowledgement

Fish Genetics and Biotechnology Programme, Aquaculture and Biotechnology Department, National Institute for Freshwater Fisheries Research, P.M.B. 6006, 912106, New-Bussa, Nigeria.

Department of Water Resources, Aquaculture and Fisheries Technology, Federal University of Technology, P.M.B. 65, 920101, Minna, Nigeria.

## References

- Abdelhak M. E., Madkour F. F., Ibrahim M. A., Sharaf M. S., Sharaf M. M. and Mohammed, D.A, (2013). Effects of pawpaw, *Carica papaya* seeds meal on the productive performance and histological characters of gonads in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Indian Journal of Applied Research*, 3 (12), 34 - 37.
- Ampofo-Yeboah, A. (2013). Effect of phytogenic feed additives on gonadal development in Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Ph.D thesis, 254 pp. Stellenbosch University, South Africa, <http://scholar.sun.ac.za>.
- Azzaza, M. S, Dhrajef M. N. and Krajem M. M (2008). Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal water in southern Tunisia. *Journal of Thermal Biology*, 33, 98-105.

- Azzaza, N. A. E, El-Nisr, N. A, Elsharkawy, E. E and Elmotleb, E. A, (2011). Chemical and Pathological Evaluation of *Jatropha curcas* Seed Meal Toxicity With or Without Heat and Chemical Treatment. *Australian Journal of Basic and Applied Science*, 5: 49-59.
- Blazer, V. S., Iwanowicz, L. R., Henderson, H., Mazik, P. M., Jenkins, J. A., Alvarez, D. A. and Young, J. A.(2012). Reproductive endocrine disruption in smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*) in the Potomac River basin: spatial and temporal comparisons of biological effects. *Environmental Monitoring Assessment*, 184: 4309– 4334.
- Chakraborty, B. S., Molnar, T. and Hancz, C. (2012). Effects of methyltestosterone, tamoxifen, ganistein, and *Basella alba* extract on masculinization of guppy (*Poecilia reticulata*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science.*, 2(12), 48-52.
- Cheshenko K., Pakdel, F., Segner, H., Kah, O. and Egge, R. I. L. (2008) Interference of endocrine disrupting chemicals with aromatase CYP19 expression or activity, and consequences for reproduction of teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 155: 31–62.
- Chivandi, E., Erlwanger, K. H., Makupa, S. M., Read, J. S. and Mtimum, J. P. (2006). Effects of Dietary *Jatropha curcas* Meal on Percent Packed Cell Volume, Serum Glucose, Cholesterol and Triglyceride Concentration and Alpha-Amylase Activity of Weaned Fattening Pigs. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 1(1), 18 -24.
- Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R. and Van Der Kraak, G (eds) (2002). Chapter 4 Wildlife. pp33-50. *Global Assessment of the State of the Science of Endocrine Disruptor*. International Programme on Chemical Safety (IPCS). WHO/PCS/EDC/02.2. An assessment prepared by an expert group on behalf of the World Health Organization, the International Labour Organisation, and the United Nations Environment Programme. WHO/ILO/UNDP Publication.
- Dauda, A. B., Yakubu, S. O. and Oke, A. O. (2014). Curbing the menace of prolific breeding in “aquatic chicken” (Tilapia): A way out to improve fish production in Nigeria, *New York Science Journal*, 7 (4), 112-118. (ISSN: 1554-0200).
- Ekanem, S. B. and Okoronkwo, T. E. (2003) Pawpaw seed as fertility control agent on male Nile Tilapia NAGA, *WorldFish Center Quarterly*, 26 No. 2.
- FAO 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action*, Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Gabriel, N. N., Qiang, J., Kpundeh, M. D. and Xu, P. (2015). Use of herbal extracts in controlling reproduction in tilapia culture: Trends and prospects - A review. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh*, IJA\_67.2015.1178, 29p.
- Jegede, T. (2011). Effects of *Aloe vera* (Liliaceae) on the gonad development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus 1758). In: Fitzsimmons, K., & Liping, L (eds), *Proceedings of the 9th International symposiums on tilapia aquaculture*, 222-227 pp. Aquafish CRSP, Shanghai, China.
- Lehtinen, K. J. and Tana, J. (2001). Review of endocrine disrupting natural compounds and endocrine effects of pulp and paper mill and municipal sewage effluents. *The Finnish environment: Environmental protection*, 447, 1-73.

Logambal, S. M., Venkatalakshmi, S. and Michael, R. D. (2000). Immunostimulatory effect of leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. In *Oreochromis mossambicus* (peters). *Hydrobiologia*, 430, 113-120.

Macintosh, D. J. (2008). Risks associated with using Methyl-testosterone in Tilapia farming. 12p. Available on the internet web and accessed on 4th July from <http://cmsdevelopment.sustainable-fish.org.s3.amazonaws.com/2013/02/28/SFP%20MT%20paper-b3d73fec.pdf>

Maclean, N. (2003). Genetically modified fish and their effects on food quality and human health and nutrition trends. *Food Science and Technology*, 14, 242-252.

Mair, G. C. (2002). *Tilapia Genetics and Breeding in Asia*. In: R. D. Guerrero III and M. R. Guerrerodel Castillo (eds.). Tilapia Farming in the 21st Century, Proceedings of the International Forum on Tilapia Farming in the 21st Century, February 25-27, Los Baños, Laguna, Philippines.

Manning, T. (2005). Endocrine-Disrupting Chemicals: A Review of the State of the Science. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 11, 1-52.

Manosroi, J., Petchjul, K. and Manosroi, A. (2004). Effect of Flyoxymesteron fish feed granule on sex reversal of the Hybrid, thai red tilapia (*Oreochromis niloticus* linn. X *Oreochromis mossambicus* Linn.). *Asian Fisheries Science*, 17, 323-331.

Marchesan, M., Spoto, M., Verginella, L. and Ferrero, E. A. (2005). Behavioural effects of artificial light on fish species of commercial interest Ferrero. *Fisheries Research*, 73, 171-185.

Maruska, P. K. and Fernald D. R. (2013). Social regulation of male reproduction plasticity in an African cichlidae fish. *Society for Intergrative and Comparative Biology*, 53, 938-950.

Matozzo, V., Gagne, F., Marin G. M., Ricciardi, F. and Blaise, C. (2008). Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogen compounds in aquatic Invertebrates: A review. *Environment International*, 34, 531-545.

Megbowon, I., (2011). Tilapia Production in Nigeria. *Fisheries Society of Nigeria Quarterly Publication*, 4, 18-22.

Mills, L. J. and Chichester, C. (2005). Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of the Total Environment*, 343, 1- 34.

Mlalila, M., Mahika, C., Kalombo, L., Swai, H. and Hilonga, A. (2015). Human food safety and environmental hazards associated with the use of methyltestosterone and other steroids in production of all-male tilapia. *Environmental Science and Pollution Research*, Doi 10.1007/s11356015-4133-3.

Monteiro, P. R. R., Reis-Henriques, M. A. and Coimbra, J. (2000). Polycyclic aromatic inhibit in vitro ovarian steroidogenesis in the flounder (*Platichthys flesus* L.). *Aquatic Toxicology*, 48, 549-559.

Murphy, D. (2002). Gene expression studies using microarrays: principles, problems, and prospects. *Advances in Physiology Education*, 26, 256-270.

Nabil, A. E. A., Neveen, A., El-Nisr, Eman, E. E. and Eman A. E. (2011). Chemical and Pathological Evaluation of *Jatropha Curcas* Seed Meal Toxicity With or Without Heat and Chemical Treatment; *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(12), 49-59. ISSN: 1991-8178.

Nur, A. A. and Sabrina, S. (2013). Anti implantation effects of *Jatropha curcas* crude oil when fed to pregnant Sprague dawley rats during the early gestation period; *Advances in Life Science and Technology*, ISSN 2224-7181 (Paper) ISSN 2225-062X Vol. 14.

Nwangwu, D. C., Yisa, M. and Bake, G. G. (2015). The potentials of phytoestrogenic plants in tilapia production – A mini review. *Proceedings of 30th Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria* (FISON) Asaba. No: 87, Pp. 357 - 360.

Ojediran T. K., Adisa Y. A., Yusuf S. A. and Emiola I. A. (2014). Nutritional Evaluation of Processed *Jatropha curcas* Kernel Meals: Effect on Growth Performance of Broiler Chicks. *Journal of Animal Science Advances*, 4(11), 1110-1121. DOI: 10.5455/jasa.20141115115449

Ojo, R. J., Seriki, S., Seddon, S. B. and Ifeonu, S. C. (2015). Proximate and Toxicological Analyses of Detoxified *Jatropha Curcas* Seeds, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, (IOSR-JPBS) e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN: 2319-7676. 10, Issue 1 Ver. IV Pp. 23-26.

Omeje, V. O. (2016). Effect of Pawpaw (*Carica papaya*) seed meal on the reproductive, endocrine and immune system of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). PhD thesis, 145 pp. Stellenbosch University, South Africa, <http://scholar.sun.ac.za>.

Onada, O.A. and Ogunola, O.S. (2016) Climate Smart Aquaculture: A Sustainable Approach to Increasing Fish Production in the Face of Climate Change in Nigeria. *International Journal of Aquaculture and Fishery Sciences* 2(1): 012-017. DOI: 10.17352/2455-8400.000013

Ososki, A. L. and Kennelly, E. J. (2003). Phytoestrogens: a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy Research*, 17, 845-869.

Sassi-Messai, S., Gilbert, Y., Bernard, L., Nishio, S. I., Lagneau, K. F. F., Molina, J., Anderson-Lendahl, M., Benoit, G., Balaguer, P. and Laudet, V. (2009). The Phytoestrogen Genistein Affects Zebrafish Development through Two Different Pathways. *PLoS ONE*, 4(3), e4935doi:10.1371/journal.pone.0004935.

Sena, L. P, VanderJagt, D. J, Rivera, C., Tsin, A. T. C., Muhammadu, I., Mahammadu, O., Milson, M., Pastosyn, A. and Glew, R. H. (1998). Analysis of Nutritional Components of eight famine foods of the Republic of Niger. *Plant Foods for Human Nutrition*, 52, 17-30.

Tiurma, P., Wina, E., Tangendjaja, B. and Iskandar, S. (2010). Performance of broiler chicken fed physically and chemically treated jatropha (*Jatropha curcas*) seed meal. *Indonesian Journal of Agriculture*, 3(2), 121-126.

Ugoala, E., Ndukwe, G. I., Ayo R. G. O. and Mustapha, B. (2014). Natural products and aquaculture development., *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, (IOSR JPBS) e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676. 9, Issue 2 Ver. IV, PP 70-82

Workagegn, K. B., Ababbo, E. D. and Tossa, B. T. (2013). The effect of dietary inclusion of *Jatropha curcas* kernel meal on growth performance, feed utilization efficiency and survival rate of juvenile tilapia. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 4:193 doi:10.4172/2155-9546.1000193

WorldFish. (2018). WorldFish Nigeria Strategy: 2018-2022. Penang, Malaysia. 15p.



# Theme 2: Pests and disease

## Prevalence of cashew dieback (*Anacardium occidentale* L.) and inventory of fungi species associated disease in Burkina Faso

Oumarou Z. Dianda<sup>1</sup>, Cyrille T. Zombre<sup>1</sup>, Oumarou Traoré<sup>2</sup>, Jacqueline Y. Kansié <sup>1,3</sup> Vianney W. Tar-paga<sup>1</sup>, issa Wonni<sup>1</sup>, Rimnoma S. Ouedraogo<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Centre National de Recherche Scientifique et Technologique (CNRST)/ Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles (INERA), Station de Farako-Ba, 01 BP 910 Bobo Dioulasso 01, Burkina-Faso. [oumarou.dianda@yahoo.fr](mailto:oumarou.dianda@yahoo.fr) ; [wonniissa@yahoo.fr](mailto:wonniissa@yahoo.fr) ; [tarwendp@gmail.com](mailto:tarwendp@gmail.com).

<sup>2</sup>Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique (CNRST), Institut de Recherche en Sciences Appliquées et Technologies, Département Substances Naturelles, Direction Régionale de l'Ouest, 01BP 2393 Bobo-Dioulasso 01, Burkina Faso ; E-mail : [oumarou.traor@yahoo.fr](mailto:oumarou.traor@yahoo.fr)

<sup>3</sup>Université Nazi BONY de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. [yeri.jacqueline@gmail.com](mailto:yeri.jacqueline@gmail.com)

<sup>4</sup>Penn State University, Department of entomology. [rso11@psu.edu](mailto:rso11@psu.edu).

**Corresponding authors:** [oumarou.dianda@yahoo.fr](mailto:oumarou.dianda@yahoo.fr)

### Abstract

Cashew (*Anacardium occidentale*) plays a significant socio-economic role in Burkina Faso. However, cashew decline is one of the main biotic constraints to its production. This study aimed to characterize the cashew dieback disease by assessing its incidence and severity in the provinces of Houet, Kénédougou, Comoé, and Sissili. Samples were collected from diseased trees to identify fungal species associated with the characteristic symptoms. Morphological characteristics, PCR with specific primers, and in vitro pathogenicity tests on detached leaves were conducted on isolates of the most frequent species. The results revealed the presence of leaf blights, cankers, exudates on branches and trunks, and partial and total drying of tree canopies. A total of eight species of fungi (*Lasiodiplodia* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Botritis* sp., and *Aspergillus* sp.) were inventoried. The highest frequencies (39% and 12%) were recorded with the first three respectively. Isolates of *Lasiodiplodia* sp. showed morphological ( $24.42 \pm 1.97 \times 27.72 \pm 2.08$  and  $14.33 \pm 0.76 \times 15.54 \pm 1.17$  micrometer) and molecular (amplicons of size about 350 bp) characteristics close to *L. theobromae*.

Furthermore, all strains of this fungus species induced necrotic lesions following *in vitro* inoculations on detached leaves with variable sizes depending on the strain. This study provided insights into the extent of cashew decline, inventoried fungal species, and confirmed the presence of *L. theobromae* as a pathogen of the disease in Burkina Faso.

The observed complexity of symptoms and the isolated fungi suggest the involvement of a fungal complex in the disease. Thus, further phylogenetic and pathogenic analyses are necessary to identify the diversity of fungal species responsible for the disease in Burkina Faso.

**Keywords :** Cashew, decline, prevalence, inventories, fungal species, Burkina Faso

## 1. Introduction

Fruit crops play a significant role in Burkina Faso's agricultural sector (PNDES, 2016). Among these crops, cashew nuts hold the position of the third most important agricultural export product after cotton and sesame (DGPER, 2015). With approximately 60,000 producers, 97% of whom are situated in the Cascades, South-West, Hauts-Bassins, and Centre-West regions, the cashew industry generated over 66 billion CFA francs in 2016 (CAIB, 2018). Cashew tree orchards cover 255,000 hectares, representing 70.2% of the national fruit area in Burkina Faso (CAIB, 2018). Cashew nut yields range between 400 and 600 kg/ha and in 2016, the country exported 103,000 tons of raw nuts. The cashew tree significantly contributes to the socio-economic development of Burkina Faso, generating more than 117.11 billion FCFA (CAIB, 2018). Additionally, the cashew kernel, known for its rich content of phenol, oil, and sugars, finds applications in the food industry, pharmacology, and cosmetics (Lautié et al., 2001; Afouda et al., 2013; Ouédraogo et al., 2017).

Despite its socio-economic importance, the cashew industry is subject to numerous phytosanitary constraints, including tree desiccation. This disease affects numerous plant species, such as cocoa, mango, citrus, and guava, in different countries worldwide, including Cameroon, Saudi Arabia, Egypt, and Iran (Mvondo et al., 2018; Abd El-Aziz, 2019; Espargham et al., 2020; Komy et al., 2022). Cashew dieback has been reported in Brazil, Nigeria, and Guinea Bissau (Coutinho et al., 2017; Adeniyi et al., 2020; Monteiro et al., 2022). Ngoh et al. (2020) demonstrated that the disease occurs throughout the year in Cameroon but spreads more rapidly during the rainy season. *Lasiodiplodia theobromae* has been identified as one of the main pathogens associated with plant decline in numerous countries, including Burkina Faso (Malik et al., 2005; Al Adawi et al., 2006; Marques et al., 2013; Correia et al., 2016; Rodríguez-Gálvez et al.; 2017; Kwon et al., 2017; Banito et al., 2021). This fungus species affects over 500 host plants (Punithalingam, 1980) and is responsible for various pathologies, including leaf spots, dieback, peduncle rot, cankers, and potential host death (de Oliveira Costa et al., 2010; Sakalidis et al., 2011; Ismail et al., 2012) an investigation of mango plantations in Egypt resulted in the isolation of 26 *Lasiodiplodia* isolates that, based on previous reports from literature, were tentatively identified as *L. theobromae*. The aim of this study was to clarify the taxonomy of these isolates based on morphology and DNA sequence data (ITS and TEF1-alpha). Cashew trees experience symptoms such as gummosis of stems and twigs, blight, dieback of twigs and inflorescences (Muntala et al., 2021; Coutinho et al., 2017; Monteiro et al., 2020; Bautista-Cruz et al., 2019).

In Burkina Faso, the incidence of the disease has been assessed on mango trees, ranging from 42% to 86% in the main mango production areas (Dianda et al., 2018). Furthermore, seven species, including *L. theobromae*, have been inventoried in relation to the disease (Dianda et al., 2020). However, limited scientific information exists regarding the same symptoms observed on cashew trees in Burkina Faso.

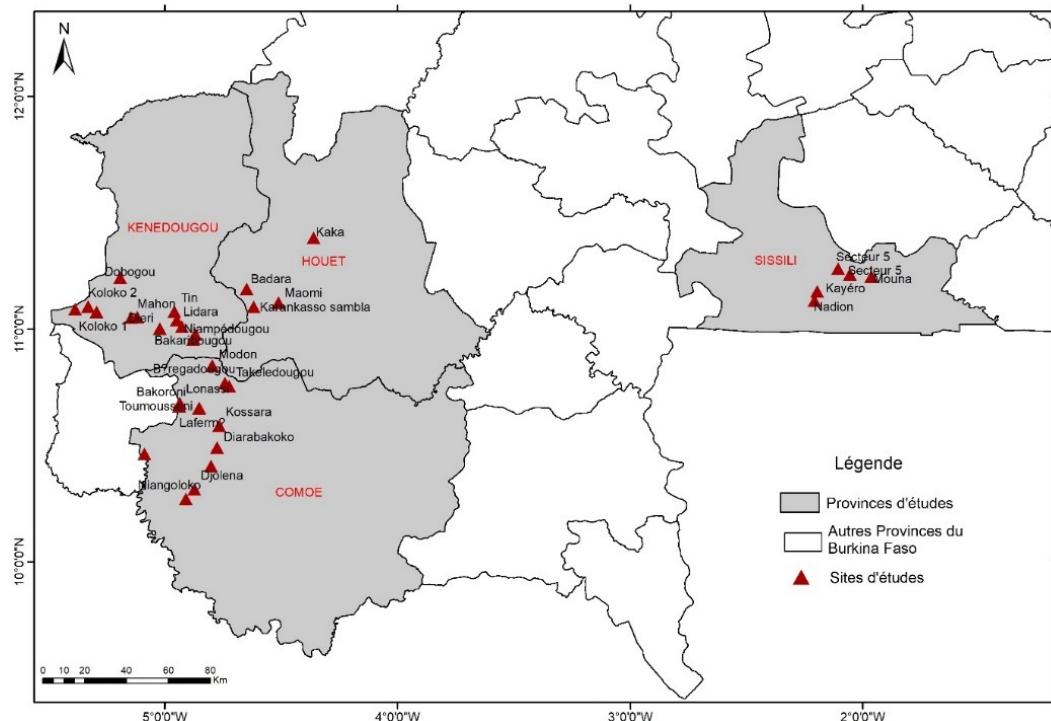
Given the significance of this sector and the fact that cashew trees belong to the Anacardiaceae family, there is a critical need to deepen our understanding of the pathology in the main production areas. Specifically, it is necessary to: (i) evaluate the incidence and severity of cashew decline,

(ii) inventory the fungal species associated with the disease, and (iii) characterize the most dominant fungal species in Burkina Faso.

## 2. Methodology

**2.1 Study area:** The survey and collection of samples were carried out in four major cashew nut producing provinces (Kénédougou, Comoé, Houet and Sissili) in Burkina Faso (Figure 1).

Indeed, in order of importance of production these are the Cascades (40%), South-West (30%), Hauts Bassins (20%) and Centre Ouest (10%) regions (ACA, 2017). The first three provinces are located in the southern Sudanian zone with a wet season (May to November) and a dry season (December to April). The average temperatures vary between 24°C and 30°C with a relatively small thermal amplitude of 5°C (Kabore, 1988). This agro-ecological zone has a rich vegetation composed of wooded savannahs, shrublands and open forests. Annual rainfall is between 900 mm and 1200 mm. On the other hand, Sissili is located in the northern Sudanian zone with a rainfall ranging from 700 mm to 900 mm (Bonfigliol, 2010). Isolations and characterization of fungi were carried out in the phytopathology/mycology laboratory of the Center National de Spécialisation en Fruits et Légumes (CNSFL).



**Figure 1:** Map of surveyed sites in the four cashew producing provinces

**2.2 Incidence and severity of cashew decline evaluation:** The study consisted of randomly selecting orchards varying in size from at least 1 to 2 ha from five localities at least 10 km apart in each province. The assessment of incidence and severity was performed on 50 trees randomly selected in each plantation along the diagonals. The scale of Ramos et al. (1997) was used to evaluate severity (Table 1).

The assessment was made through visual observations on the north, south, east and west sides of the crown of each tree. The severity of dieback symptoms in twigs and branches on individual trees was rated using a scale from 1 to 5, where 1 = Trees free of disease; 2 = An early stage of infection characterized by browning of leaf petioles and midveins and presence of distal or marginal leaf blade necrosis in one or two branch; 3 = the presence of dead leaves, which may remain attached, in the tips of several branches, vascular browning, and evidence of pathogen invasion of vascular tissues, formation of tyloses in xylem vessels, and dark inclusions and fungal hyphae present in stem sections; 4 = dead leaves and progressive defoliation extending to many larger branches along with increased severity and spread of vascular symptom; 5 = severe dieback that extended to major portions of the tree.

Incidence rate of cashew decline was estimated from the ratio between the number of diseased trees and the total number of trees inspected (Cooke., 2006).

$$I = \Sigma \left( \frac{n}{N} \right) * 100$$

I: average incidence by province; : number of diseased trees per orchard in each province : total number of trees observed in a given province (N=250).

The disease severity index at a site was determined using the equation of (Cooke., 2006) :

$$Is = \Sigma \left( \frac{Xi * ni}{Ne * Z} \right) * 100$$

Is : site severity index ; : Severity of the disease on the tree, : Number of trees of severity , Ne: Total number of trees observed (Ne=50). : Highest severity scale (corresponding to grade 5).

**Sampling of infected organs:** Within each orchard, the sample was taken from fifteen diseased cashew trees chosen at random along the diagonals. A total of 75 samples were collected per province. They were placed in paper envelopes bearing the collection number, the date, the name and the geographical coordinates of the locality and then kept cool in a cooler. They are transported and stored at 4°C in the laboratory for the inventory of associated fungal species.

**2.3 Inventory and frequency of fungal species associated with the cashew disease:** Plant materials were surface disinfected by sequential washing in 70% EtOH (30 s or 1 min), house hold bleach (NaOCl 5%) for one minute, and then rinsed in distilled sterilized water and dried in sterile filter paper. Small pieces between the healthy tissues and infected one were cut into and placed in 8-cm-diameters Petri dishes which contains moistened blotting.

Plates were incubated at 25°C in the dark until the fungi growth appeared. Conidia of fungal species were observed under a binocular loupe and under a montage microscope, followed by the identification of each isolate obtained, using the identification key of (Marthur and Kongsdal, 2003). The frequency of the isolated fungi from the plated pieces of collected samples on 150 cashew trees from the 4 areas, was calculated using a formula described by Larignon and Dubos (1997):

$$Ti = \frac{ni * 100}{N}$$

: Infection rate of a species of fungus; : number of trees infected by the species; total number of trees concerned by the study. Average infection rate for each species was calculated from those from the four provinces. Pure cultures were obtained by excising a hyphal tip from colony margins emerging from the tissue pieces onto fresh PDA and incubated at the same conditions (Dianda et al., 2020).

**2.4 Morphology of *Lasiodiplodia* sp. isolates:** The macro- and micro-morphological characteristics of ten isolates were examined. Colony features and pigmentation were observed after seven days incubation on PDA, while the growth rate of each isolate was measured in triplicate after 72 h of incubation. Production of conidia were obtained by transferring a plug of 7-days mycelia culture on disinfested (as described above) cashew leaves maintained on 1% water agar.

The characteristics of conidia (shape, size, colour, longitudinal striations and presence or absence of septum) were observed after three weeks of incubation in a 12-h photoperiod of fungal cultures on PDA. Fifty conidia were measured for each isolate using a light microscope (Euromex, The Netherlands) with a micrometer at 40 X magnification.

**2.5 DNA extraction and PCR:** Approximately 20 mg of mycelium were scraped from the PDA surface, placed in a sterile 2 mL microcentrifuge tube, freezed with liquid nitrogen and grinded into a fine powder using a microcentrifuge tube pestle. Total DNA was extracted using the Plant Tissue protocol of the (Freitas, 2016). Quality and integrity of the DNAs were checked on an agarose electrophoresis gel. The Lt347 partial gene sequences of all fungal isolates were amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) from genomic DNA using specific primers Lt347-F (forward primer) and Lt347-R (reverse primer) of *L. theobromae* (Xu et al., 2015). Each PCR reaction was performed in a total reaction volume of 25 µl including 5 µl Hot FIREpol Blend Master mix (Solis Biodyne, Tartu, Estonia), 1 µl of 10 µM each forward, and reverse primer, 2 µl of genomic DNA (20 ng/µl) and 16 µl distilled water. All PCRs were carried out in a Thermo Hybaid PXE Thermal Cycler.

Reaction cycles were: (i) an initial denaturation step of 95 °C for 10 min; followed by (ii) 30 cycles including denaturation at 94°C for 60 seconds; hybridization at 60°C for 30 seconds; an extension at 72°C for 60 seconds and (iii) a final step of 72°C for 10 min. Amplification products were separated by 1% w/v agarose gel and stained with Ethidium bromide. PCR products were purified using the PCR Promega kit (Promega Corporation, WI, États-Unis) following the manufacturer's instructions. Molecular weight of the PCR amplicons was estimated using a 100 bp ladder (Solis Biodyne Data Sheet).

## **2.6 In vitro pathogenicity on leaves of *L. theobromae* strains**

Ten isolate of *L. theobromae* were tested for pathogenicity on detached cashew leaves under controlled laboratory conditions. Healthy leaves of the same size and age were selected for the inoculation. Leaves after surface disinfected by 10% house bleach solution (3-5% sodium hypochlorite) for 2 min then were washed in sterile distilled water and left to dry in the air. Five leaves were used for each isolate. Leaves were wounded in one point on the upper surface of leave midrib by pressing slightly using a sterile (Ismail, 2011). Two perpendicular lines following the length and width of the leaves were drawn on the lid of the dish containing the detached leaves to measure

$$D = \frac{(d_1 + d_2)}{2}$$

the size of the lesions. Petri dishes were incubated at 28°C in the laboratory. Observations were made daily to monitor the appearance of necrosis. The evolution of the lesions in each dish was evaluated through the formula :

D : Average diameter of the strains in Petri dishes, et Measurement of the two (02) perpendicular lines. An average is calculated from the average diameters in the five (05) boxes for each strain.

### **2.7 Statistical analysis**

Excel 2013 software was used for data entry, organization of data, and creation of charts and figures. Incidence and severity data in the different study localities were subjected to analyses of variance (ANOVA) using R and the means were separated by the TurkeyHDS and Newman-Keuls test, respectively, at the 5% threshold.

## **3. Results**

### **3.1 Symptoms in all surveyed areas:**

First, we noticed the disease symptoms in all plant tissues, including leaves, twigs, and apical tips. Symptoms at early stages of the disease included leaf chlorosis that lead to leaf necrosis, and groups of necrotic leaves (Figure 2A) that could be seen dispersed throughout the canopy. Later, a blight-like appearance developed followed by the dropping of the infected leaves (Figure 2B). Moreover, twigs died from the tips back inwards (Figure 2C). In more advanced states, the disease gave rise to severe defoliation and even plant death (Figure 2D).

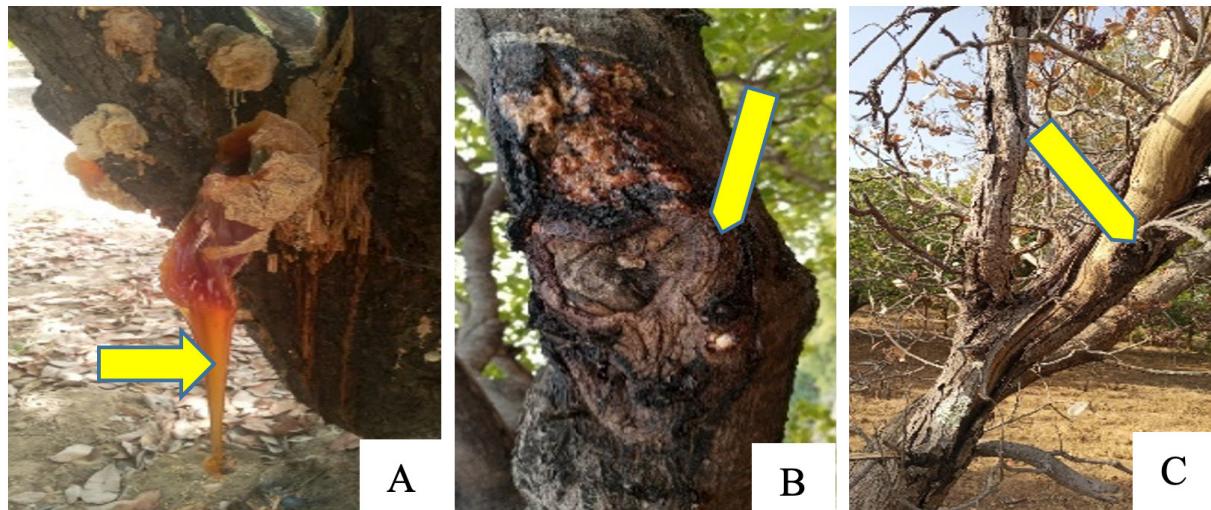


**Figure 2 :** Decline symptoms on *Anacardium occidentale* in Burkina Faso

(**A**: Leaf necrosis; **B**: twigs died from the tips back; **C**: Twigs died from the tips back inwards; **D**: Plant death).

### **3.2 Other symptoms observed on diseased trees**

The apparent symptoms are gum oozing (Figure 3A), rotting signs and canker (Figure 3B) and bark splitting formation (Figure 3C).



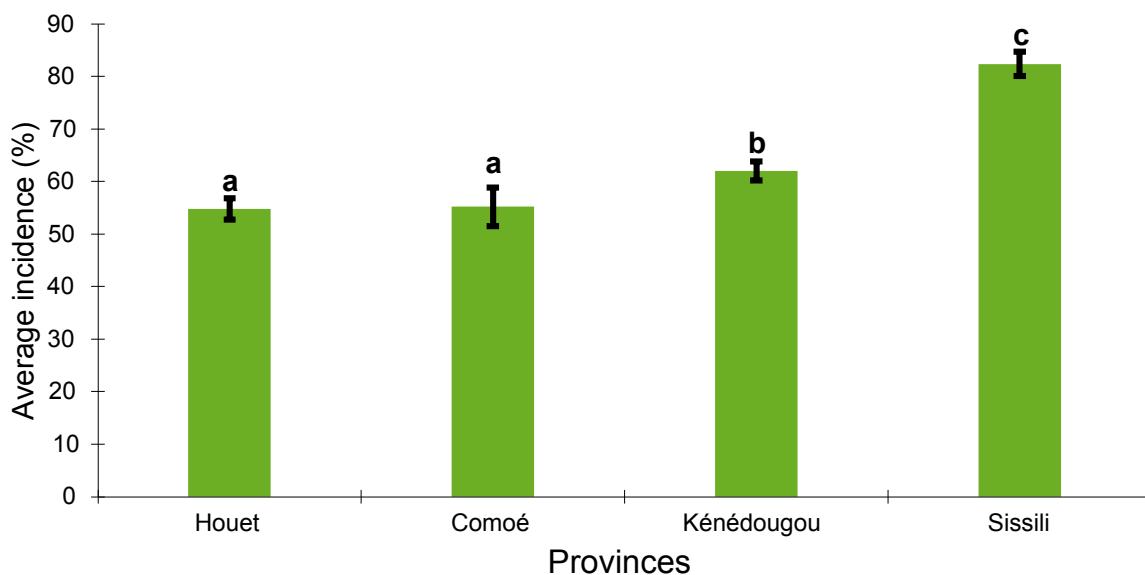
**Figure 3:** Other symptoms observed on diseased trees

(A: gum oozing; B: canker; C: bark splitting)

#### 3.4 Average incidence of disease in the provinces:

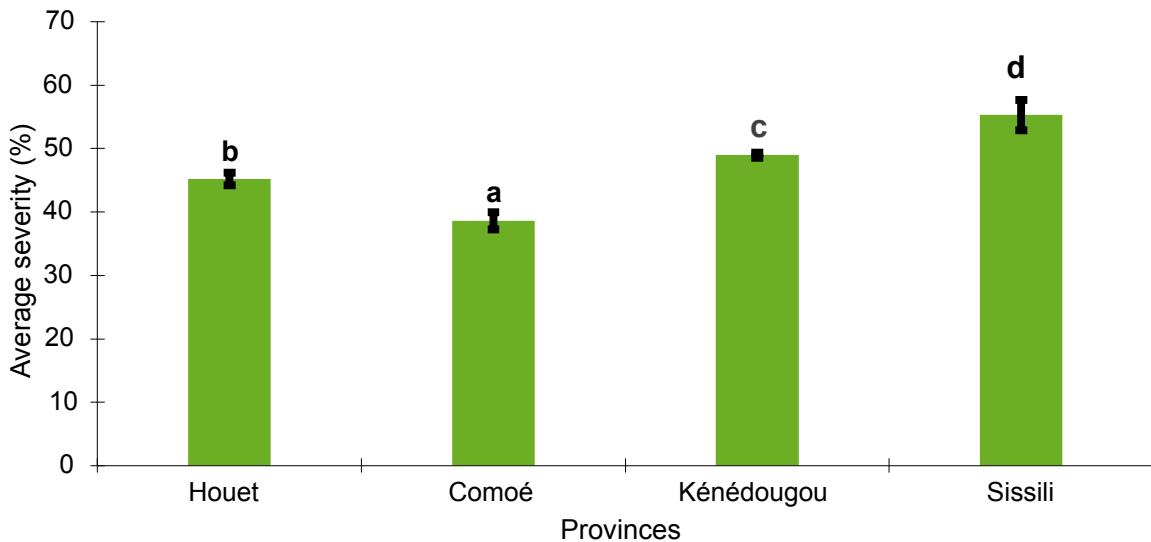
A highly significant difference ( $P<0.001$ ) was obtained in the evolution of the incidence of dieback in the four sites. Indeed, average incidences range from 54.8 to 82.4%.

Highest incidence rate is found in Sissili. Intermediate value (62%) was recorded in Kénédougou. The low incidence rates (54.8 and 55.2%) come from Houet and Comoé respectively (Figure 4).



**Figure 4 :** Average incidence of disease in the four provinces (Values followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to the TukeyHDS test).

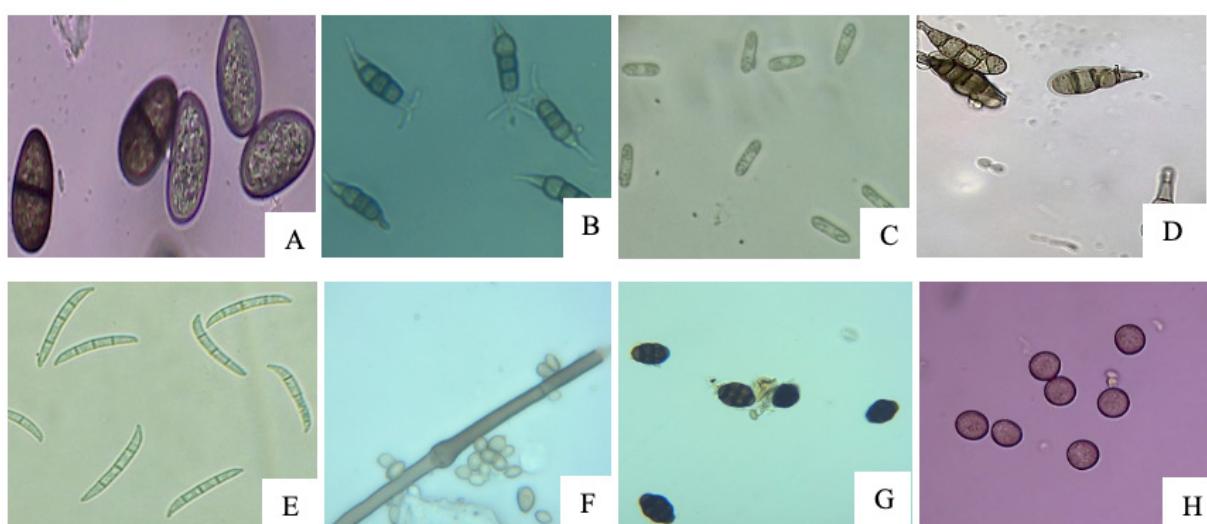
Average severity of cashew decline in the sites : As for severity, it varied between 38.64% and 55.28%. Highest average value was also recorded in the province of Sissili (55.28%). The lowest average value was recorded in Comoé with 38.64% (Figure 5).



**Figure 5 : Average severity of cashew decline in the four provinces** (Values followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to the TukeyHDS test).

### 3.5 Fungus species inventoried from cashew decline:

A complex of eight species of fungi was inventoried from the samples collected. These are: *Lasio-diplodia* sp., *Pestalotiopsis* sp. and *Colletotrichum* sp. which were observed on all organs (leaves, branches and roots) collected. These species were also found in all four provinces visited. Five species namely: *Botritis* sp., *Curvularia* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. and *Aspergillus* sp. (Figure 6) were occasionally encountered on the samples from the sites.

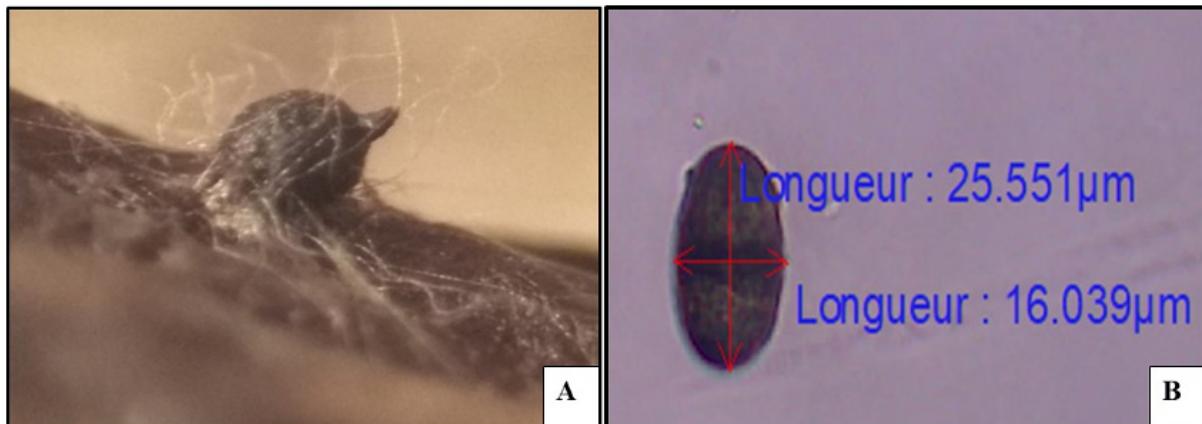


### 3.6 Frequencies of fungal species isolated

The highest frequencies were found among *Lasiodiplodia* sp. (39%), *Pestalotiopsis* sp. (27%) and *Colletotrichum* sp. (12%). Six fungal species were occasionally encountered and these were *Fusarium* sp. (8%); *Aspergilus* sp. (5%); *Curvularia* sp (5%); *Botrytis* sp. (2%); and *Alternaria* sp. (1%). Characterization was carried out on isolates of *Lasiodiplodia* sp. These were selected on the basis of their frequency and the pathogenicity of certain species, such as *L. theobromae*, which has already been reported on fruit tree decline (cashew, mango citrus, etc.) in certain countries.

### 3.7 Morphological identification of *Lasiodiplodia theobromae* associated with cashew dieback

Under a magnifying glass, blackish, round pycnidia with slightly pointed, pear-shaped tips were observed (Figure 7A). Fungal conidia observed were ovoid to ellipsoid under the microscope. Some are thick-walled with granular cytoplasm. They are hyaline and devoid of septa. Others were dark or light brown with irregular septa and longitudinal striations (Figure 7B).



**Figure 7 : Microscopic observations of isolates of *Lasiodiplodia* sp.**

(A): Round, greyish pycnidia with pointed tips observed with a X50; (B): Conidia dark brown or light brown in color with a partition and longitudinal striations X40.

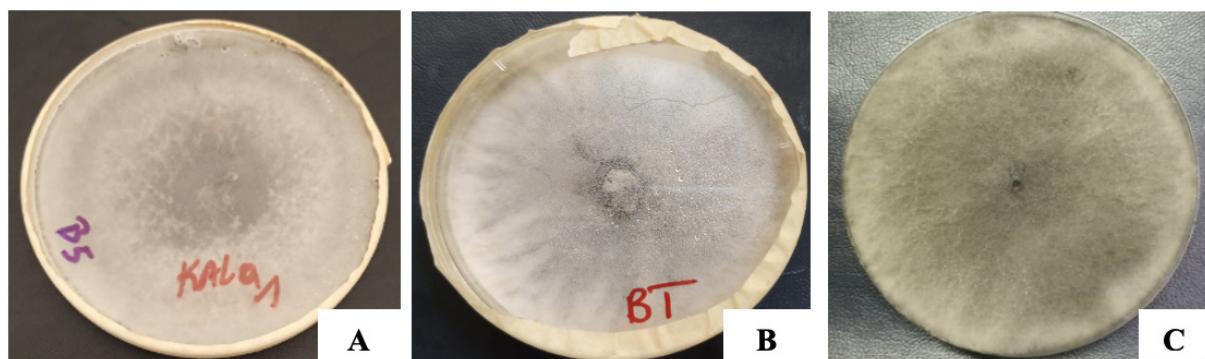
Mean conidial lengths ranged from  $24.42 \pm 1.97$  to  $27.72 \pm 2.08$  (micrometers). Statistical analysis showed significant differences between mean conidial lengths at the 5% threshold, using the Newman Keuls test. Statistical tests revealed 4 groups. These were: group 1 (CALa18); group 2 (CALa6, CALa26, KALa4, KALa5, CALa10 and KALa1); group 3 (KALa3); and group 4 (CALa17 and KALa2) (Table 2). Average conidial widths ranged from  $14.33 \pm 0.76$  to  $15.54 \pm 1.17$  (micrometers). Statistical analysis also revealed significant differences between the mean conidial widths of the isolates. Six groups emerged: group 1 (CALa6); group 2 (CALa18, CALa26, KALa4, KALa5 and KALa3); group 3 (CALa17); group 4 (CALa10); group 5 (KALa1); and group 6 (KALa2) (Table1).

**Table 1 :** Comparison of average conidial lengths and widths of isolates

<b>Isolates</b>	<b>widths</b>	<b>Lengths</b>
CALa6	15.54 ± 1.17 a	26.74 ± 1.62 ab
CALa18	15.40 ± 1.10 ab	27.72 ± 2.08 a
CALa26	15.39 ± 1.32 ab	26.71 ± 1.7 ab
KALa4	15.29 ± 0.85 ab	26.53 ± 2.37 ab
KALa5	15.28 ± 0.92 ab	26.85 ± 2.48 ab
KALa3	15.25 ± 1.18 ab	26.39 ± 2.42 b
CALa17	14.96 ± 1.18 abc	24.42 ± 1.97 c
CALa10	14.82 ± 1.13 bcd	27.54 ± 2.1ab
KALa1	14.49 ± 1.00 cd	27.42 ± 1.74 ab
KALa2	14.33 ± 0.76 d	24.79 ± 2.01 c
Moyenne	15.07 ± 1.14	26.51 ± 2.31
Pr > F	0.001	0.001
Signification	HS	HS

Values followed by the same alphabetical letter are not significantly different at the 5% threshold according to the Newman-Keuls test. HS: Highly Significant.

**Macroscopic aspects:** initially, isolates are characterized by white mycelium on the front of the Petri dish (Figure 8 A). Over time, the mycelial suspension increases to reach the lid of the Petri dish, and the initial coloration gradually changes to greyish with a cottony appearance (Figure 8 B) or blackish, with a downy structure (Figure 8 C).

**Figure 8: Mycelium of *Lasiodiplodia theobromae* on PDA culture medium :**

(A): White mycelium, (B): Greyish color with cottony appearance, (C): Blackish color with downy structure.

Mycelial growth was rapid. Indeed, at 1 Day After Incubation (DAI), average growth diameters ranged from  $2.67 \pm 0.29$  to  $4.26 \pm 0.19$  cm. Statistical analysis revealed significant differences between isolate mycelial growths (Table 2). However, there were no significant differences between isolates at 2DAI. Maximum values for mean diameters (8.5cm) were recorded for all isolates at 3DAI.

**Table 2 :** Morphological characteristics of *Lasiodiplodia* sp. isolates on PDA culture medium.

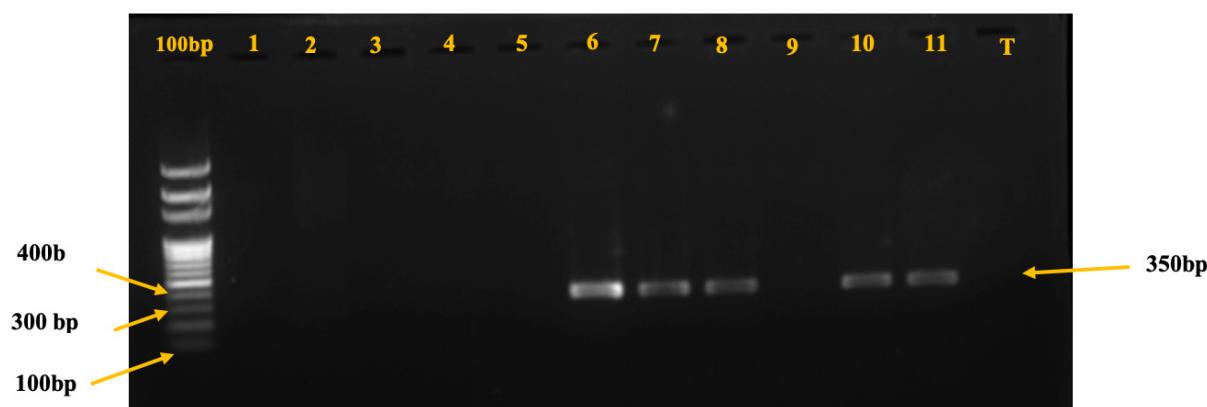
Isolates	1 DAI	2 DAI
CALa10	4.26 ± 0.19 a	8.50 ± 0
CALa6	3.77 ± 0.25 ab	8.30 ± 0.4
CALa17	3.63 ± 0.27 b	8.50 ± 0
CALa26	3.28 ± 0.47 bc	8.50 ± 0
KALa5	3.24 ± 0.13 bc	8.50 ± 0
KALa1	3.16 ± 0.41 bc	8.50 ± 0
CALa18	3.12 ± 0.42 bc	8.50 ± 0
KALa3	3.07 ± 0.2 bc	8.50 ± 0
KALa4	2.83 ± 0.46 c	7.98 ± 0.68
KALa2	2.67 ± 0.29 c	8.23 ± 0.54
Moyenne	3.30 ± 0.55	8.4 ± 0.34
Pr > F	0.0001	0.2311
Signification	THS	NS

Values followed by the same alphabetical letter are not significantly different at the 5% threshold according to the Newman-Keuls test. **THS** : Very Highly Significant ; **NS** : Not Significant.

Microscopic and macroscopic characteristics described above are similar to those of *Lasiodiplodia theobromae*. Nevertheless, overlaps were noted within the isolates. In order to confirm the identity of this species of pathogenic fungus, PCRS tests with specific primers were carried out.

### 3.8 Molecular characteristics of *Lasiodiplodia* sp. isolates

Classical PCR amplification tests with primers specific to *L. theobromae* revealed the presence of amplicons with 14 strains (amplicon size approx. 350 bp). Figure 9 shows the electrophoregram from 11 strains and one control compared with the size marker.

**Figure 9:** Electrophoregram of 11 strains

### 3.9 In vitro pathogenesis on inoculated detached leaves

All 10 isolates tested were pathogenic in vitro on these organs. In the control boxes, no symptoms were observed (Figure 10A). Initially, symptoms were brick-red (Figure 10 B). They generally progress along the main vein and may turn blackish (Figure 10C).

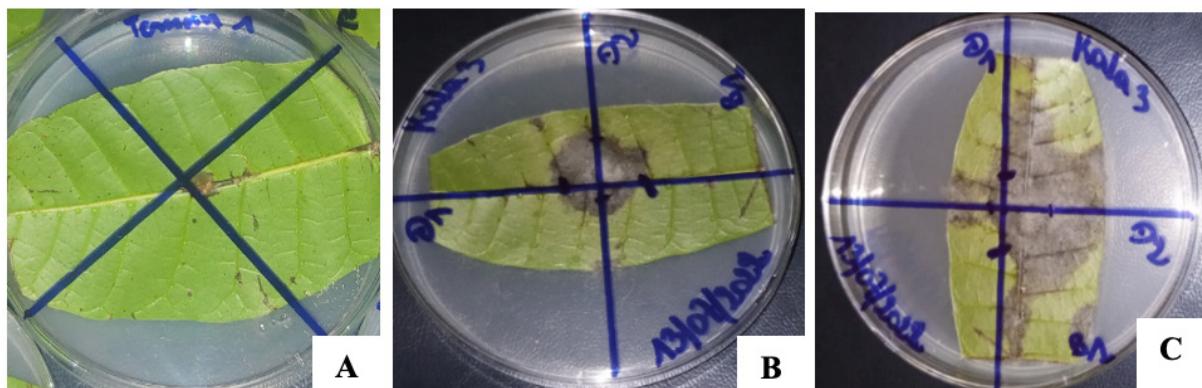


Figure 10 : Observations of lesions on leaves

A: No symptoms in the control box; B: brick-red symptoms; C: evolution of necrotic lesions along the main vein

### 3.10 Isolate aggressiveness on leaves

From 3 DAI, necrosis appeared. These induced lesions evolved over the incubation period, with variable growth rates, reflecting differences in aggressiveness. In fact, analysis of variance using the Newman Keuls test at the 5% threshold showed significant differences between treatments at 3 DAI and 7 DAI (Table 3). The isolates (H17BT and C24BT) were considered the most aggressive during both evaluation periods. Indeed, H17BT, which recorded the highest lesions at 3 DAI ( $3.08 \pm 0.26$  cm) and 7 DAI ( $8.5 \pm 0.14$  cm), showed no significant difference from C24BT.

## 4. Discussion

### 4.1 Variability in the incidence and severity of cashew dieback

The symptoms observed during the various surveys in the four provinces are characteristic of cashew dieback (Ngoh et al., 2020). These findings confirm the presence of this disease on fruit trees in Burkina Faso (Dianda et al., 2018). Additionally, the variability in disease incidence and severity across different localities has been previously reported in the country's mango production areas. In cashew orchards in Cameroon, disease prevalence ranges from 73% to 90% (Ngoh et al., 2020) while rates of 80% have been recorded in citrus orchards in Italy (Riolo et al., 2021). The high prevalence of the disease reflects the threat it poses to the cashew nut industry in Burkina Faso.

Cashew dieback is also considered a significant threat in Nigeria, where it can cause up to a 70% reduction in cashew yield and over 50% tree mortality rates (Adeniyi et al., 2020).

### 4.5 Complex of fungal species associated with cashew dieback

Eight species of fungi were identified from incubated cashew dieback samples. Fruit tree dieback is considered a complex and serious disease in many countries where it has already been encountered. A variety of fungal species have already been reported worldwide to cause the disease. Indeed, two species of fungi, *Colletotrichum* spp. and *Lasiodiplodia* spp. have been characterized

for cashew dieback in Cameroon (Ngoh et al., 2020). A complex of seven species were inventoried on mango dieback in Burkina Faso (Dianda et al., 2018). Three (03) species including *Fusarium solani*, *Phoma glomerata*, and *Lasiodiplodia theobromae* were isolated from citrus trees in Togo (Tediou et al., 2017). In Iran, two species namely *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. boninense*, and several isolates of species of the genus *Phoma*, *Pestalotiopsis*, *Fusarium Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* and *Alternaria* were obtained from diseased Citrus trees (Espargham et al., 2020).

Four species namely *Lasiodiplodia* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp. and *Pestalotiopsis* sp. were inventoried on cocoa dieback in Indonesia (Hendra et al., 2019). Among all the fungal species inventoried, *L. theobromae* has been reported as the main pathogen of cashew dieback and many fruit tree species (mango, citrus, guava, etc.) worldwide.

**4.6 Formal identification of *Lasiodiplodia theobromae* on diseased cashew trees in Burkina Faso**  
The mycelia of the various isolates observed on culture medium, as well as the shape and color of the conidia of the 10 *Lasiodiplodia* sp. isolates, are close to those of *L. theobromae*. Indeed, Dianda et al.(2020) also observed that mycelial growth of *L. theobromae* was rapid on PDA culture medium. Moreover, they reported that mycelia developed and completely covered the surface of the medium after 3 to 5 days of incubation. Colony color gradually changed from light gray after 4 to 7 days of incubation to black after two weeks of incubation. According to Punithalingam, (1980), *L. theobromae* conidia are initially hyaline, unicellular, ellipsoidal to oblong, thick-walled and granular in content. At maturity, they become bicellular, dark brown, with sizes generally between 20-30 x 10-15 µm, with differentially pigmented longitudinal bands. According to (Phillips et al., 2013), discrimination of *L. theobromae* based solely on morphological characteristics is considered unreliable, as they overlap with those of other species in the genus.

The amplicons observed following PCR tests with the specific primers confirm the presence of *L. theobromae* on cashew dieback. Similar studies have contributed to the characterization of this fungal species as the main pathogen responsible for blueberry stem blight in China (Xu et al., 2015) and mango dieback in Ghana, the United Arab Emirates and Burkina Faso (Ablormeti, 2016 ; Saeed et al., 2017 ; Dianda et al., 2020). Nevertheless, some of these fungi isolated on the basis of morphological characteristics of *L. theobromae* did not present amplicons following the same PCRs tests with the specific primers. This suggests the presence of other species of the *Lasiodiplodia* genus present on the disease in Burkina Faso.

Sequences of the ITS region and genes (beta-tubulin and elongation factor) enabled us to identify, in addition to *L. theobromae*, other species (*L. pseudotheobromae*, *L. caatinguensis* *Lasiodiplodia brasiliense*, *Lasiodiplodia subglobosa*, *Lasiodiplodia citricola*, and *Lasiodiplodia iraniensis*), pathogens of gum blight and cashew dieback in Brazil and Guinea Bissau (Coutinho et al., 2017 ; Monteiro et al., 2020) and citrus in Mexico (Bautista-Cruz et al., 2019).

**4.7 Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* on cashew trees in Burkina Faso**  
The necroses observed on leaves following inoculation with strains testify to the pathogenicity of *L. theobromae* on cashew. Indeed, this species of fungus has already been reported as pathogenic on leaves and detached fruit of mango trees in Burkina Faso (Dianda et al., 2020), the United Arab Emirates (Saeed et al., 2017) and cocoa trees in Malaysia (Rahim et al., 2022). Usually found in tropical zones, global warming has led to an expansion of *L. theobromae*, a polyphagous fungus (500 host plants) endangering better-known and unknown hosts (Salvatore et al., 2020). The pathogen attacks various parts of the plant: flowers, branches, panicles, twigs, pedicels and fruits. It produces various types of symptoms such as dieback, root and fruit rots, gum disease, internal

necrosis of stems and trunks, leaf necrosis and cankers (de Oliveira Costa et al., 2010; Sakalidis et al., 2011; Ismail et al., 2012) an investigation of mango plantations in Egypt resulted in the isolation of 26 *Lasiodiplodia* isolates that, based on previous reports from literature, were tentatively identified as *L. theobromae*. The aim of this study was to clarify the taxonomy of these isolates based on morphology and DNA sequence data (ITS and TEF1-alpha). Incidentally, the species *L. theobromae* has been reported as a pathogen of cashew nut desiccation in Brazil (Monteiro et al., 2022) and Togo (Banito et al., 2021).

## Conclusion

This study established the presence of *L. theobromae* on cashew tree in Burkina Faso.

The development of necrotic lesions on detached leaves following in vitro inoculation confirms the pathogenic nature of this fungus on cashew trees.

The consistent observation of *Lasiodiplodia* sp. on cashew tree organs exhibiting characteristic desiccation symptoms, indicates its capacity to cause disease in Burkina Faso. Further investigations are currently in progress to identify the diversity of *Lasiodiplodia* species using gene sequencing techniques and assess their pathogenicity in vivo on cashew seedlings.

## Acknowledgements

This work was funded by the Burkina National Research Fund for Development (FONRID [FONRID/AAP8/NCP/PC/2021], and the Feed the Future Innovation Lab for Current and Emerging Threats to crops' provided by the United States Agency for International Development (USAID) [cooperative agreement No: 7200AA21LE00005].

## References

- Abolormeti, F., 2016. Aetiology, Economic Importance and Control of Mango (*Mangifera indica L.*) Tree decline disease in Northern region of Ghana. University Of Ghana.
- ACA, 2017. La filière Anacarde au Burkina Faso. Cashew Week,. [www.cashewinfo.com](http://www.cashewinfo.com). 18, 85.
- Adeniyi, D.O., Animasaun, D.A., Abdulrahman, A.A., Olorunmaiye, K.S., Adeji, Ganiyu Shittu Olahan, Ganiyu Shittu Adeji, O.A., 2020. Integrated System for Cashew Disease Management and Yield Cameroon Journal of Experimental Biology Integrated System for Cashew Disease Management and Yield. Cameroon J. Exp. Biol. 13, 40–48. <https://doi.org/10.4314/cajeb.vol13i1.6>
- Al Adawi, A.O., Deadman, M.L., Al Rawahi, A.K., Al Maqbali, Y.M., Al Jahwari, A.A., Al Saadi, B.A., Al Amri, S.I., and, Wingfield, M.J., 2006. Etiology and causal agents of mango sudden decline disease in the Sultanate of Oman. Eur. J. Plant Pathol. 116, 247– 254.
- Banito, A., Kpemoua, E.K., Dayiwo, R.K., Tedihou, E., Sikirou, R., 2021. Inventaire des maladies de l' anacardier ( *Anacardium occidentale L.* ) dans la préfecture de Tchamba au Togo. IJBCS 15, 2–12. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v15i6.21>
- Bautista-Cruz, M.A., Almaguer-Vargas, G., Leyva-Mir, S.G., Colinas-León, M.T., Correia, K.C., Camacho-Tapia, M., Robles-Yerena, L., Michereff, S.J., Tovar-Pedraza, J.M., 2019. Phylogeny, Distribution, and Pathogenicity of *Lasiodiplodia* Species Associated With Cankers and Dieback Symptoms of Persian Lime in Mexico. Plant Dis. 103, 1156–1165.

Bonfigliol, A., 2010. Developpement Local, Institution et Changement Climatique au Burkina Faso : Analyse de la situation et recommandations opérationnelles. <https://doi.org/10.1684/sec.2010.0268>

CAIB, 2018. Opportunités d'Investissement dans le secteur agricole au Burkina Faso : Cas de la filière anacarde. Comité Interprofessionnel de l'Anacarde du Burkina.

Cooke, B.M., 2006. Disease assessment and yield loss : 43-80. In: Cooke, B.M., Jones, D.G., Kaye, B. (eds). Epidemiol. plant Dis. Springer, Netherlands.

Correia, K.C., Silva, M.A., Jr, M.A.D.M., Armengol, J., Phillips, A.J.L., Camara, M.P.S., And, Michereff, S.J., 2016. Phylogeny , distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. Plant Pathol. 65, 92–103. <https://doi.org/10.1111/ppa.12388>

Coutinho, I., Freire, F., Lima, C., Lima, J., Gonçalves, F., Machado, A., Silva, A., Cardoso, 2017. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. Plant Pathol 66, 90–104.

Coutinho, I.B.L., Freire, F.C.O., Lima, C.S., Lima, J.S., Gonçalves, F.J.T., Machado, A.R., Silva, A.M.S., Cardoso, J.E., 2017. Diversity of genus *Lasiodiplodia* associated with perennial tropical fruit plants in northeastern Brazil. Plant Pathol. 90–104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ppa.12565>

de Oliveira Costa, V.S., Michereff, S.J., Martins, R.B., Gava, C.A.T., Mizubuti, E.S.G., Câmara, M.P.S., 2010. Species of *Botryosphaeriaceae* associated on mango in Brazil. Eur. J. Plant Pathol. 127, 509–519.

DGPER, 2015. Brève présentation de la filière anacarde. Ouagadougou – DGPER, septembre 2015. Ouagadougou, Burkina Faso.

Dianda, Z.O., Wonni, I., Fernandez, D., Cyrille, Z.T., Ouédraogo, S.L., Sankara, P., 2020. Caractérisation de *Lasiodiplodia theobromae* ( Pat.) Griffon & Maubl . agent pathogène associé au dessèchement du manquier au Burkina Faso. REV. RAMRES 8, 50–58.

Dianda, Z.O., Wonni, I., Zombré, C., Traoré, O., Sérémé, D., Boro, F., Ouédraogo, I., Ouédraogo, S.L., Sankara, P., 2018. Prévalence du dessèchement du manquier et evaluation de la fréquence des champignons associés à la maladie au Burkina Faso. J. Appl. Biosci. 126, 12686. <https://doi.org/10.4314/jab.v126i1.6>

Espargham, N., Mohammadi, H., Gramaje, D., 2020. A Survey of Trunk Disease Pathogens within Citrus. Plants 9, 20. <https://doi.org/10.3390/plants9060754>

Freitas, G.R., 2016. Diversidade genética e agressividade de isolados de *Calonectria pteridis* no Brasil. Viçosa au Brésil.

Hendra, Wibowo, Ar., Suryanti, 2019. Fungal Pathogens Associated with Vascular Streak Dieback ( VSD ) Disease on Cacao in Special Region of Yogyakarta Province. J. Perlindungan Tanam. Indones. 23, 133–141. <https://doi.org/10.22146/jpti.41512>

Ismail, A.M., 2011. Studies on the fungal diseases of mango with particular reference to diseases

caused by botrosphaeria species. University of catania.

Ismail, A.M., Cirvilleri, G., Polizzi, G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Lombard, L., 2012. Lasiodiplodia species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. Australas. Plant Pathol. 41, 649–660. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0163-1>

Kabore, A., 1988. Migration et gestion de l'espace rural dans la province du Kénédougou, Burkina Faso. Mémoire de maîtrise, Département de Géographie, Option : Démographie. Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

Komy, M.H. El, Ibrahim, Y.E., Al-Saleh, M.A., 2022. First report of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Dieback, a Destructive Disease on Mango trees in Saudi Arabia. Plant Dis. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0812-PDN>

Larignon, B.&, Dubos, P., 1997. Fungi associated with Esca disease in grapevine. Eur. J. Phytopathol. 103, 147–157.

Lautié, E., Dornier, M., de Souza Filho, M.R., 2001. Les produits de l'anacardier: caractéristiques, voies de valorisation et marchés. Fruits. 56 235–248.

Malik, M.T., Dasti, A.A., And, Khan, S.M., 2005. Mango decline disorders prevailing in Pakistan. Proceedings of International Conference on Mango and Date palm: Culture and Export. Pakistan.

Marques, W.M., Lima, B.N., Morais Jr, A. de M., Barbosa, G.A.M., Souza, O.B., Michereff, J.S., Phillips, J.L.A., Câmara, P.S.M., 2013. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. Fungal Divers. 1947, 181–193. <https://doi.org/10.1007/s13225-013-0231-z>

Marthur, S.B., Kongsdal, O., 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. First edition; Danish Government Institute of Seed Pathology for developing Countries, Copenhagen, Danmark, 814p 814.

Monteiro, F., Diniz, I., Pena, A.R., Baldé, A., Catarino, L., Batista, D., 2020. First Report of Three *Lasiodiplodia* Species (*L. theobromae*, *L. pseudotheobromae*, and *L. caatinguensis*) Causing Cashew Gummosis in Guinea-Bissau (West Africa). Am. Phytopathol. Soc.

Monteiro, F., Romeiras, M.M., Catarino, S., Batista, D., Sebastiana, M., 2022. Disease-Causing Agents in Cashew : A Review in a Tropical Cash Crop. Agronomy 2553, 15.

Muntala, A., Gyasi, S.K., Norshie, P.M., Larbi-Koranteng, S., Ackah, F.K., Ntiamoah, D.A., Mohamed, M.A., 2021. Diseases and Insect Pests associated with Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Orchards in Ghana. Eur. J. Agric. Food Sci. 3, 1–10. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.24018/ej-food.2021.3.5.357>

Mvondo, N.D.A., Manga, E.F., Moutock, F., Kone, A.N., Abdou, a N.P., 2018. Investigation about dieback in cocoa orchards in the bimodal humid forest zone of Cameroon. Am. J. Innov. Res. Appl. Sci. 6, 107–116.

Ngoh, D. P., Alain, H., Nourou, K.N.A., Bertrand, M.S., Christine, A.D.B., Brice, T.T.D.A.Z., 2020. Die-

back of cashew (*Anacardium occidentale*) in Cameroon. *Pakistan J. Phytopathol.* 32, 231–239. <https://doi.org/10.33866/phytopathol.030.02.0605>

Phillips, A., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Al., E., 2013. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Stud. Mycol.* 76, . 51–167.

PNDES, 2016. Plan National de Développement Economique et Social 2016-2020. Burkina Faso.

Punithalingam, 1980. Plant desaeses attributed of *Botryodiplodia theobromae* . Pat. Pat .In Bibl. Mycol. Ser. no 71.j. Cramer, Vaduz, Liecht enstein no 71. J.

Rahim, A., Shakirah, H., Mohd, N., Mohamed, I., Zakaria, L., 2022. Lasiodiplodia theobromae as a causal pathogen of leaf blight , stem canker , and pod rot of *Theobroma cacao* in Malaysia. *Sci. Rep.* 12, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13057-9>

Ramos, L.J., Davenport, T.L., McMillan Jr., R.T., Lara, S.P., 1997. The resistance of mango (*Mangifera indica*) cultivars to tip dieback disease in Florida. *Plant Dis.* 81, 509–514. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.5.509>

Riolo, M., Aloia, F., Pane, A., Cara, M., 2021. Twig and Shoot Dieback of Citrus , a New Disease Caused by *Colletotrichum* Species. *Cells* 10, 1–23. <https://doi.org/10.3390/cells10020449>

Saeed, E.E., Sham, A., AbuZarqa, A., Khawla, A.A.S., Tahra, S.A.N., Rabah, I., Khaled, E.-T., AbuQamar, S.F., 2017. Detection and Management of Mango Dieback Disease in the United Arab Emirates. *Int. J. Mol. Sci.* 18, 2086. <https://doi.org/10.3390/ijms18102086>

Sakalidis, M.L., Ray, J.D., Lanoiselet, V., Hardy, G.E.S., Burgess, T.I., 2011. Pathogenic Botryosphaeriaceae associated with *Mangifera indica* in the Kimberley Region of Western Australia. *Eur. J. Plant Pathol.* 130, 379–391. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9760-z>.

Salvatore, M.M., Andolfi, A., Nicoletti, R., 2020. The Thin Line between Pathogenicity and Endophytism: The Case of *Lasiodiplodia theobromae*. *Agriculture* 10, 488. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100488>

Tedihou, E., Kpemoua, K., And, Tounou, A., 2017. Dépérississement des manguiers et citrus dans la région centrale du Togo et méthodes de lutte par des fongicides. *J. Appl. Biosci.* 119, 11829–11838. <https://doi.org/10.4314/jab.v119i1.1>

Xu, C., Zhang, H., Chi, F., Ji, Z., Dong, Q., Cao, K., And, Zhou, Z., 2015. Species-specific PCR- based assays for identification and detection of Botryosphaeriaceae species causing stem blight on blueberry in China. *J. Integr. Agric.* 15, 61177–7. <https://doi.org/10.1016/S2095-3119>.



# THEME 4: Post-harvest

## Vulnerability of Kponan yam from Côte d'Ivoire during conservation based on harvesting and field storage practices

**Kouakou Nestor KOUASSI<sup>1,2\*</sup>, Yapo Hypolithe KOUADIO<sup>1</sup>, Kouadio Benal KOUASSI<sup>1</sup> and N'Gues-san Georges AMANI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratory of Food Biochemistry and Technology of Tropical Products, Department of Foods Science and Technologies, NANGUI ABROGOUA University, BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire.

<sup>2</sup>Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, 03 BP 1303 Abidjan 03, Côte d'Ivoire.

E-mail: [nestorkksi@yahoo.fr](mailto:nestorkksi@yahoo.fr); Tel: 0707714250

### Abstract

Kponan yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) is the most popular variety in Côte d'Ivoire. The losses due to rotting of yam during storage and harvesting do not ensure a regular supply of the markets. The objective of the study was to identify the impact of harvesting and field storage practices on the vulnerability of Kponan yam. Thus, yams grown in the areas of Bondoukou, Bouna and Kouassi-Kouassikro were harvested and stored in pits, under straw huts and in the open air, to assess the evolution of physical deterioration and culinary parameter (browning) during one month of conservation. The results showed that injury (9.74%) was the main damage recorded at harvest, while rot was the main damage observed during pit storage (3.67%), under straw hut (19.05%) and in the open air (58.09%). The weight loss was the second deterioration after rot and it was 2.86% for yams stored in pit, 6.67% for those stored under straw huts and 13.34% for those stored in the open air. The loss rates during the storage were 7.62%, 35.25% and 100% of the yams stored respectively in pits, under straw huts, and in the open air. The browning indices of Kponan yams dropped ( $P < 0.05$ ) during storage, with high effect for yams grown in Bouna and stored in pits (23.43 to 21.51) and those of Bondoukou and kept under straw huts (24.73 to 22.37). The Kponan yam grown in Bouna and stored in a pit had the best browning indices during the storage. The physical characteristics and browning index of Kponan yam during storage are linked to the growing area and storage conditions.

**Keywords:** Kponan yam, production, conservation, post-harvest loss, vulnerability, food safety

### Introduction

In tropical regions, root and tuber crops are important food crops. Their total production volume was around 866 million metric tons in 2017, and the aggregate value of these root and tuber crops exceeds that of all other food crops in tropical Africa, and is therefore far greater than the total value of cereal crops (**FAOSTAT, 2019**). Among these root and tuber plants, yams, belonging to *Dioscorea* genus, are worldwide cultivated. There are around 600 species of yam, in which 90 of them are edible (**Shekhar et al., 2015; Doussou et al., 2016**). Yam is a staple food for over 500

million people in the tropical countries of Africa, the Caribbean, Oceania, the Pacific and Latin America (**Onyeka et al., 2006; FAOSTAT, 2021**). Yam is one of the most important food sources of energy, composed mainly of starch and dietary fiber, with some protein, lipids, vitamins and essential minerals (**Polycarp et al., 2012; IITA, 2020**).

Yam production is concentrated mainly in West Africa, where it plays a very important role in food security of at least 60 million people (**Adeniji et al., 2012; Cornet, 2015; Sanginga and Mbabu, 2015; FAOSTAT, 2021**). It is grown for household consumption and also generates income by marketing the surplus (**Maliki et al., 2012**). Thus, yam has become a cash crop that supplies urban markets (**Adifon et al., 2019; Kouakou and Anoh, 2019**). Nigeria is by far the world's leading yam-producing country, with over 50 million metric tons, or more than 66.89% of global production, estimated at 74.83 million metric tons in 2020 (**FAOSTAT, 2021**).

In Côte d'Ivoire, yam ranks first among non-cereal food crops, with production of 7.65 million metric tons in 2020, which is 10% of world production. Côte d'Ivoire is ranked third among yam-producing countries after Nigeria (67%) and Ghana (11%) (**FAOSTAT, 2021**). Yam consumption in Côte d'Ivoire is 331 kcal per capita per day and is next to Benin (395 kcal) (**Laly et al., 2019**) in West Africa.

*Dioscorea cayenensis-rotundata* is the most produced yam varieties complex in Côte d'Ivoire and it is highly prone to rot (**Girardin and Nindjin, 2015**). Unfortunately, the Kponan variety, which is the most valued by the consumers (**Bagal and Vittori, 2010, Kouakou et al., 2019; Kouadio et al., 2022a**), is also the most prone to rot during conservation and storage (**Kouadio et al. 2022a**). Kponan yams sold on Abidjan wholesale markets comes from six geographical origins, the main ones being Bondoukou (60%), Bouna (33.3%) and Kouassi-Kouassikro (6.7%) (**Kouakou et al., 2019**).

Despite the importance of yams in Côte d'Ivoire's food system, annual production is still insufficient to meet food needs, due to tuber storage, which causes weight losses ranging from 65 to 85% (**Corneille et al., 2012**) and losses of up to 50% of the harvest caused by dehydration, harvest wounds, pests, rats and the use of chemicals (**Gérardin and Nindjin, 2015, Kouadio et al., 2022a; Kouadio et al., 2022b**). As a result, these losses greatly reduce yields and, consequently, the quantity of tuber seeds, sometimes leading to the disappearance of certain varieties. According to several authors (**Kouakou and Anoh, 2019; Kouadio et al. 2022c**), growing, harvesting and storing techniques of Kponan yam in the field have an impact on its shelf life. Our previous studies showed physical damage of Kponan yam during conservation according to storage practices in field (**Kouadio et al., 2022a, Kouadio et al., 2022b and Kouadio et al., 2022c**). This study was undertaken to show the impacts of harvesting and field storage practices on cooking and physical characteristics of Kponan yam during conservation.

## 2. Methodology

### 2.1. Biological Material

The biological material consists of Kponan yams variety (*D. cayenensis-rotundata*), that is grown and harvested in the main production zones of Bondoukou, Bouna and Kouassi-Kouassikro. Yam cuttings or seeds from the other two zones were also grown based on the experimental set-up and cultivation method (**Kouadio et al., 2022b**).

## 2.2. Storage conditions for yams

Harvested yams were processed as previously described (**Kouadio et al., 2022b**) before being stored in pit (Bouna), under straw hut (Bondoukou), and in the open air (Kouassi-Kouassikro) for one month.

## 2.3. Determination of the physical characteristics of Kponan yams

Internal damage and cracking rates, damage types and weight loss were determined using our previously described methodologies (**Kouadio et al., 2022b**).

## 2.4. Browning index of yam

The yams were cooked in boiling water over medium heat for 10 min at a ratio of 1/1 (kg/L) to water in peeled slices 2 cm thick and 5 cm long, as described by **Kouassi et al. (2009)**.

The colour of the previously cooked yam was measured with a colorimeter portable (3nh, NH310; Beijing, China) using the L\* a\* b\* colour system (luminance, red-green balance, yellow-blue balance) defined by the Commission Internationale de l'Eclairage's (CIE). The device's cell placed on the surface of the boiled yam slices from each sample was used to record the CIE L\*a\*b\* parameters of the yam. The values of the L\* coordinate and the colour functions derived from C\* (chroma) and H\* (angle hue) were also recorded. Thus, the browning index (BI) was determined using the equation described by **Pathare et al. (2013)**.

$$BI = 100 * \frac{X - 0,31}{0,17}$$

With

$$X = \frac{(a + 1,75L)}{(5,645L + a - 3,012b)}$$

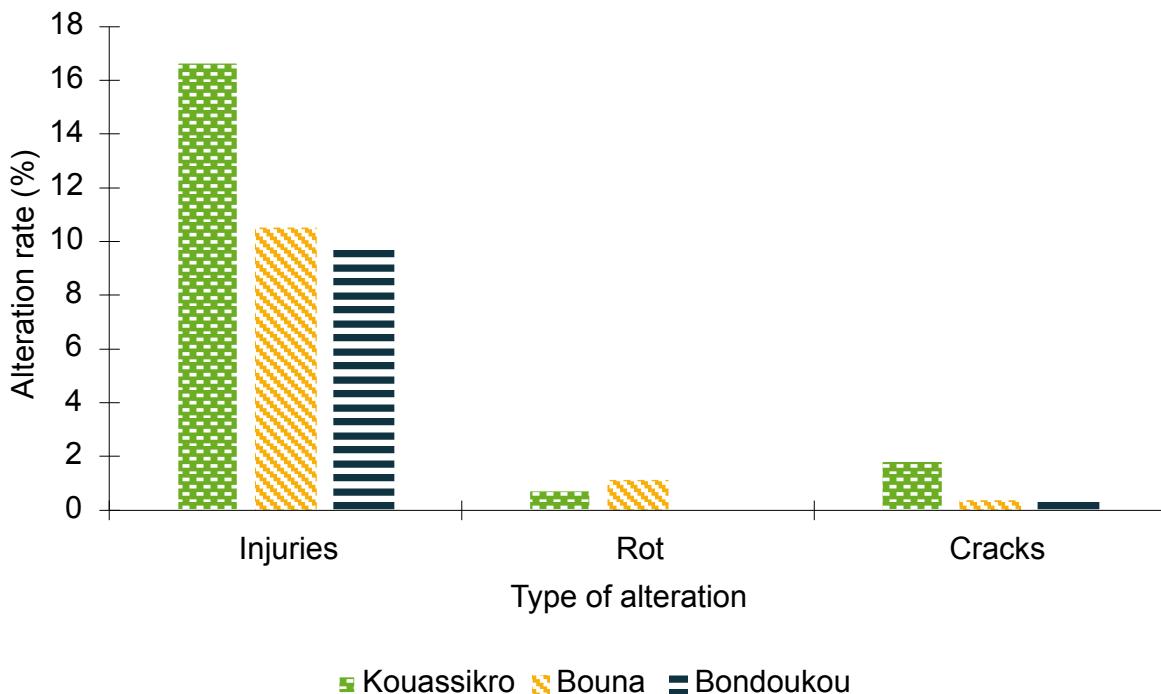
## 2.6. Data analysis

Per production zone, data were shown as the mean of the 3 different zones. Analyses of variance (ANOVA) were performed with Stastica 7.1 1 software to compare means within the same production zone during conservation. Differences were highlighted using Tukey's test at the 5% significance level.

## 3. Results

### 3.1. Alterations observed during Harvesting

Figure 1 showed that the most significant damage in Kponan yam tubers during harvest is injury. In Kouassi-Kouassikro, harvesting Kponan yam with a machete caused a high rate of injury (16.67%), compared to those caused by hoe in Bouna (10.52%) and Bondoukou (9.74%). After injury, rotting and cracking of yam tubers were the least significant alterations observed during harvesting. The rate of cracked tubers was 1.85% (Kouassi-Kouassikro), 0.37% (Bouna) and 0.38% (Bondoukou). Rot was only observed in Kouassi-Kouassikro (0.74%) and Bouna (1.12%) yams.



**Figure 1:** Modes of deterioration of yam tubers at harvest

### 3.2. Impact of storage practices in field on yams physical characteristics during conservation

The rates and types of damage of yams during storage in pits, under straw huts and in the open air are presented in Table 1. The data showed that rotting was the most common damage in storage during conservation. After one month of storage, yams grown in Kouassi-Kouassikro and stored in the open air showed higher rates of decay (58.09%) than those of Bondoukou and stored in straw huts (19.05%) and those of Bouna and stored in pits (3.76%). After one month of storage, the rate of weight loss was greater for yams grown in Kouassi-Kouassikro and stored in the open air (28.57%) than for those grown in Bondoukou and stored under straw huts (9.53%) and Bouna (1%) respectively.

After one month of storage in the open air, yams grown in Kouassi-Kouassikro recorded the highest rate of internal cracks in tubers (13.34%), followed by yams grown in Bondoukou and stored in straw huts (6.67%) and those grown in Bouna and stored in pits (2.86%).

**Table 1:** Evolution of Kponan yam deterioration during one month of storage in the field

	<b>Rot (%)</b>	<b>Cracks (%)</b>	<b>Weight loss (%)</b>	<b>Total losses (%)</b>
Bouna_F	3.76	1	2.86	<b>7,62</b>
Bondoukou_P	19.05	9.53	6.67	<b>35,25</b>
Kouassikro_O	58.09	28.57	13.34	<b>100</b>

Bouna\_F: Yams grown in Bouna and stored in pits; Bondoukou\_P: Yams grown in Bondoukou and stored under a straw hut; Kouassi-Kouassikro\_O: Yams grown in Kouassi-Kouassikro and stored in the open air

### 3.3. Impact on browning index of boiled yams

Table 2 shows that yams grown in Bondoukou and stored under straw hut had a browning index (BI) of  $24.73 \pm 0.60$  (0 months), which fell ( $P < 0.05$ ) to  $22.37 \pm 1.18$  after one month of storage under straw huts. Yams grown in Bouna recorded a significant drop ( $P < 0.05$ ) in IB from  $23.43 \pm 0.37$  (0 months) to  $21.51 \pm 1.39$  after one month of pit storage. For yams grown in Kouassi-Kouassikro, the browning index was  $26.09 \pm 0.92$  before open-air storage in the field (0 months).

**Table 2:** Effect of storage method on browning index of Kponan tubers

	<b>Browning index</b>	
	<b>0 month</b>	<b>1 month</b>
Bouna_F	$23.43 \pm 0.37^a$	$21.51 \pm 1.39^{ab}$
Bondoukou_P	$24.73 \pm 0.60^a$	$22.37 \pm 1.18^b$
Kouassi-Kouassikro_O	$26.09 \pm 0.92^a$	-

Mean  $\pm$  standard deviation. Mean values of the same line with different alphabetical letters are significantly different at the 5% level according to Tukey's ANOVA test. Bouna\_F: Yams grown in Bouna and stored in pits; Bondoukou\_P: Yams grown in Bondoukou and stored under a straw hut; Kouassi-Kouassikro\_O: Yams grown in Kouassi-Kouassikro and stored in the open air - Shelf-life limit

## 4. Discussion

Results showed that the main damage at harvest is injury (9.74% to 16.76%), which is most often responsible for the rapid rotting of Kponan yam tubers during storage. This evidence is corroborated by **Kouakou et al. (2019)**, who showed that for a long shelf life of yams, they must not be injured during harvest. When tubers are injured, they are no longer suitable for burial and must be consumed within a short period of time otherwise, they are at the risk of post-harvest losses (**Kouakou et al., 2019**). According to **Mahyao (2008)**, the high-water content of fresh tubers, combined with injuries sustained during or after harvest, exposes them to microorganisms.

The study showed that rot (3.76 to 58.09%) and weight loss (1.00 to 28.57%) were the main deteriorations in yams, regardless of storage method. These results are in line with those of **Kouadio et al. (2022c)** who indicated that rotting and weight loss were the main damage recorded during storage of Kponan yams. According to **Kouadio et al. (2022a,b)**, insects, rats and chemicals are also responsible for yam storage damage. For **Assiri et al. (2010, 2017)**, rots are caused by fungal agents (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Botryodiplodia* sp., *Mucor* sp., *Colletotrichum* sp.) that penetrate tuber tissues injured by insects, nematodes and mechanical actions during and after harvesting. Yams grown in Kouassi-Kouassikro and stored in the open air (58.09%) had the highest rates of rotting. These high rates of alteration of up to 100% after one month in the open air in Kouassi-Kouassikro zone could be due to the use of herbicides for clearing and weeding the field. Our previous studies have also shown that the use of herbicides and pesticides during yam cultivation in Kouassi-Kouassikro area is linked to root alterations (**Kouadio et al., 2022c**). According to **N'goran (2007)**, fertilization tends to increase losses when stored over a long period, and has an unfavorable influence on physiological losses, mainly for yams of the species *Dioscorea cayenensis rotundata*. In addition, respiration, transpiration and germination are the factors responsible for weight loss (**Maalekuu et al., 2014**). The use of chemical fertilizers and pesticides is inversely correlated with the shelf life of Kponan yam (**Kouakou and Anoh, 2019**). This is why a better knowledge of the soil's chemical composition is needed before any use of mineral fertilizers (phosphorus or potassium, and nitrogen), as yam needs balanced fertilization (**Ngue et al., 2007**).

Analysis of the cooking parameters for Kponan yams showed that the highest browning index was found in Kouassi-Kouassikro fresh yams before storage in the open air. This difference in browning could also be due to the use of herbicides during field clearing and weeding. This hypothesis was corroborated by **Etejere et al (1990)**, who showed that *D. rotundata* tubers that had received 30 kg/ha of NPK fertilizer during their vegetative cycle showed a greater capacity for browning than tubers grown without fertilizer. However, browning index decreased with storage time, with a less marked decrease for yams grown and stored in pits in Bouna. This decline in browning index during storage was also observed by **Coulibaly et al. (2019)** during Kponan storage in freezer. According to **Ortiz et al. (2016)**, the variation in enzymatic browning rate which depends on several factors such as the concentration and specific activity of polyphenoloxidase, but also on the nature and quantity of phenolic compounds.

## 5. Conclusions

Kponan yams sold on Abidjan wholesale markets in Côte d'Ivoire comes from six geographical origins. Yam harvesting and storage practices in Bouna reduce the vulnerability of Kponan yams during storage in the field. For a better yam food security in Côte d'Ivoire, producers should use fewer chemical pesticides and practice storing yams in pits. The findings of this study should be tested in other key yam production areas and should include longer storage time, involving several producers.

## Acknowledgement

The authors would like to thank the producers for their invaluable assistance and CORAF for the visibility of our findings.

## References

- Adeniji O, Adebayo C, Ajayi, O. (2012). Analysis of marketing margin of yam in selected rural areas of Niger State, Nigeria. Basic Research Journal of Agricultural Science and Review 1(3): 58–62. Available Online at <http://www.basicresearchjournals.org>.
- Adifon F. H., Yabi I., Vissoh P., Balogoun I., Dossou J., Saïdou A. (2019). Écologie, systèmes de culture et utilisations alimentaires des ignames en Afrique tropicale : synthèse bibliographique. Cahier Agriculture, 28-22. DOI : <https://doi.org/10.1051/cagri/2019022>
- Assiri K. P., Diallo A. H., Aké S. (2010). Evaluation du potentiel antifongique du vin de palme contre les champignons responsables de pourritures des tubercules d'igname (*Dioscorea spp.*) pendant le stockage au champ. Journal of Applied Biosciences, 29: 1753-1765.
- Assiri K. P., Koutoua S., Assi S. T. (2017). Champignons responsables de pourritures de l'igname *Dioscorea cayenensis-rotundata* variété Kponan en post-récolte. Journal of Applied Biosciences, 111: 10957-10968. <http://dx.doi.org/104314/jab.v11i1.12>
- Bagal M., Vittori M. (2010). Les indications géographiques en Côte d'Ivoire, produits Potentiels et cadre juridique pertinent. oriGIn. Paper commissioned by the ACPEU TradeCom Facility in the context of the ACP regional workshops on Geographical Indications. 43 p.
- Corneille A., Agbidinoukoun A., Agbangla C., Adjanohoun A., Kumulungui B., Ondo P., Nzang R., Souza P. (2012). Capacité morphogénétique in vitro de quelques accessions d'ignames du Complexe *Dioscorea cayenensis* / *D. Rotundata* cultivées au Bénin et évaluation de la Quantité d'ADN Matériel régénéré. Revue Ivoirienne de Science et Technologie, 20: 68-86. Disponible sur [https://revist.net/REVIST\\_20/REVIST\\_20\\_4.pdf](https://revist.net/REVIST_20/REVIST_20_4.pdf)
- Cornet D. (2015). Influence des premiers stades de croissance sur la variabilité du rendement parcellaire de deux espèces d'igname (*Dioscorea spp.*) cultivées en Afrique de l'Ouest. Thèse de Doctorat unique ès Sciences agronomiques et écologiques, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), 174 p.
- Coulibaly A., Degbeu K. C., Bekoin A. P. M., Kouakoua Y. E., Pereko K. K. A., Soumaïla Dabonné S. Amani N. G. (2019). Browning Prevention and Sensory Evaluation of Frozen Yam Slices (*Dioscorea cayenensis-rotundata* Cv Kponan) of Côte D'Ivoire. Asian Food Science Journal, 9(4): 1-10.
- Doussouh A. M, Dangou J. S., Houedjissin S. S., Assogba A. K., Ahanhanzo C. (2016). Analyse des connaissances endogènes et des déterminants de la production de la patate douce [*Ipomoea batatas* (L.)], une culture à haute valeur socioculturelle et économique au Bénin. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10(6): 2596-2616. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i6.16>
- Etejere E. O., Ajibade C. A., Fawole M. O. (1990). Influence of fertilizer application on browning and polyphenol oxidase activity in eut tubers of yam. Turrialba, 40(4): 449-502.
- FAOSTAT. 2019. Disponible sur <http://www.fao.org/faostat/fr/#data>.
- FAOSTAT. (2021). Disponible sur <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- International Institute of Tropical Agriculture (IITA). (2020). Yam. IITA. Available Online at <http://www.iita.org/cropsnew/dioscoria/>

Girardin O., Nindjin C. (2015). Amélioration de la conservation de l'igname en milieu villageois. *Sempervira*, 5: 1025-8167. DOI: <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3912.0723>

Kouadio Y. H., Kouassi K. N., Konan Y., N'Dri Y. D., Amani N. G. (2022a). Practices and damages encountered by wholesale traders during 'Kponan' yams (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) storage in Abidjan, Côte d'Ivoire, *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 16(4): 1570-1579. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v16i4.17>

Kouadio Y. H., Kouassi K. N., Nimaga D., N'Dri Y. D., Amani N. G. (2022b). "Impact of cultural and storage practices on the shelf life of the Yam of Kponan variety (*Dioscorea cayenensis-rotundata*), *Asian Journal of Science and Technology*, 13, (05), 12094-12099. Available Online at <http://www.journalajst.com>

Kouadio Y. H., Kouassi K. N., Konan Y., N'Dri Y. D., Amani N. G. (2022c). Impacts of Field Harvesting and Conservation Practices on the Physical Quality of Yam "Kponan" (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) of Côte D'Ivoire, *Open Journal of Applied Sciences*, 12, 1979-1994. DOI : <https://doi.org/10.4236/ojapps.2022.1212138>

Kouakou, P. K., Anoh K. (2019). Geotraçabilité de l'igname Kponan de Bondoukou. *Revue trimestrielle des sciences sociales RSS-PASRES*, 23 : 2311-5890. Disponible sur <https://www.researchgate.net/publication/345743736>

Kouakou, K. P., Kouassi C. A., Anoh K. P. (2019). Le Marché De Gros De L'igname Kponan A Abidjan (Côte D'Ivoire). *European Scientific Journal September* 15 : 1857- 7431. DOI: <https://doi.org/10.19044/esj.2019.v15n26p218>

Kouassi A. C. A. J. (2009). Etude comparative des caractéristiques galéniques et biopharmaceutiques des comprimés de paracétamol à base de l'amidon d'igname Krenglé et Kponan, de taro rouge et blanc et des comprimés de paracétamol spécialité et son générique. Thèse de doctorat de l'Université de Bamako, 190 p.

Laly D. S., Gbemavo D. S. J. C, Gbaguidi A. A., Dossou-Aminon I., Dansi A. (2019). *Dioscorea dumetorum* (Kunth) Pax, a neglected and underutilized yam species in Benin: folk classification and post-harvest conservation. *Genetic Resources Crop Evolution*, 66: 965-979. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00762-0>

Maalekuu B. K., Saajah J. K., Addae A. K. (2014). Effect of Three Storage Methods on the Quality and Shelf-Life of White Yam (*Dioscorea rotundata*) cultivar Pona and Tela. *Journal of Agricultural Science*, 6(7): 1916-9752. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v6n7p221>

Mahyao A G., (2008). Etude de l'efficacité du système d'approvisionnement et de distribution des ignames précoces Kponan à travers le circuit Bouna-Bondoukou-Abidjan en Côte D'Ivoire. Thèse de l'université de Cocody-Abidjan et du Centre National de Recherche Agronomique. 184 p.

Maliki R., Sinsin B., Floquet A. (2012). Evaluating yam-based cropping systems using herbaceous legumes in the savannah transitional agro-ecological zone of Benin. *Journal of Sustainable Agriculture* 36: 1-21. DOI: <https://doi.org/10.1080/10440046.2011.646352>.

N'goran K. E., Zohouri P. G., Yoro R. G., Kouakou M. A., ASSA A., Asiedu R. (2007). Revue bibli-

graphique sur la gestion de la fertilité des sols cultives en igname en côte d'ivoire. Agronomie Africaine, 19(3): 281 – 288.

Ngue B. T., Mbairanodji A., Njualem D. (2007). Guide des techniques de production et de conservation d'ignames (*Dioscorea* spp). République du Cameroun. Ministère de l'Agriculture et du Développement rural. Programme National de Développement des Racines et Tubercules PNDRT 31 p.

Onyeka T, Petro D, Ano G, Etienne S, Rubens S. (2006). Resistance in water yam (*Dioscorea alata*) cultivars in the French West Indies to anthracnose disease based on tissue culture-derived whole-plant assay. *Plant Pathology*, 55(5): 671–678. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01436.x>

Ortiz A., Dufrechou M., Le Meurlay D., Mehinagic E. (2016). Effet du traitement au 1-MCP sur l'évolution de la qualité des poires durant l'entreposage et l'affinage. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 48(4): 256-262.

Pathare P.-B., Linus Opara U. and Al-Julanda Al-Said F. (2013). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food Bioprocess of Technology*, 6: 36-60. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>

Polycarp D., Afoakwa E. O., Budu A. S., Otoo E. (2012). Characterization of chemical composition and anti-nutritional factors in seven species within the Ghanaian yam (*Dioscorea*) germplasm. *International Food Research Journal*, 19(3): 985-992.

Sanginga N., Mbabu A. (2015). Racines et tubercules (manioc, igname, pomme de terre et patate douce). Document de référence. Banque africaine de développement, 35 p.

Shekhar S., Mishra D., Buragohain A. K., Chakraborty S., Chakraborty N. (2015). Comparative analysis of phytochemicals and nutrient availability in two contrasting cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Food Chemical*, 173: 957–965. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.172>.

# Review of WAAPP Developed Fish Smoking KILN Technology on Fish Product Quality, Distribution and Adoption in Nigeria and The ECOWAS Sub-Region

**<sup>1</sup>Philip .I. IFEJIKA, <sup>2</sup>Lilian.I. IFEJIKA**

**Ifejika, P.I., Ifejika, L.I., Ayuba, A.B., Omeje, J.E., and Nwabeze, G.O.**

<sup>1</sup>Socio-Economics and Extension Department

National Institute for Freshwater Fisheries Research

P.M.B. 6006, New Bussa, Niger State, Nigeria.

Email: [ifejikaphilip@gmail.com](mailto:ifejikaphilip@gmail.com)

Mobile: +2347089523717 | +2348054565773

<sup>2</sup>Department of Home and Rural Economics

Federal College of Freshwater Fisheries Technology

New Bussa, Niger State, Nigeria.

Email: [lilianifejika@gmail.com](mailto:lilianifejika@gmail.com)

Mobile: +2348051488226 & +2347069798291

## Abstract

The West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP) funded the collaborative project on development of hybrid fish smoking kiln by three Nigeria research institutions namely NSPRI, NIOMR, and NIFFR under the aquaculture value chain, to address the issues of post-harvest loss, replacement of traditional smoking methods, and poor fish quality products. This paper provides update on the developed WAAPP kiln smoked fish product quality, distribution and adoption in Nigeria and the ECOWAS sub-region. Secondary data were sourced from journals, proceedings, newspapers, websites, and other publications. Evidence shows that WAAPP-NIFFR-NIOMR-NSPRI smoking kiln made of stainless steel was developed in 2015 using multiple energy sources (gas, electricity, charcoal, solar, briquette). The fish smoking kiln met standards set for the safe and wholesome production of quality smoked fish for local consumption and export market. Sensory evaluation showed that electric kiln followed by gas and charcoal has the best fish product appearance, colour, texture, taste and flavour. Field evidence confirmed that the fish smoking kiln had wide distribution and adoption across the six geo-political zones in Nigeria and six countries in the ECOWAS sub-region. The smoking kiln is used by fish processors, aquaculture farmers, and government to smoke and package fish, thus creating jobs, income and revenue for youths, women and men that are engaged in the enterprise. Neat smoked fish product, training of youths on kiln fabrication, establishment of fish processing center, promotion through digital media, and empowerment more broadly, are some of the drivers of adoption of the kiln fish smoking product in Nigeria.

**Key words:** WAAPP, fish, processing, smoking, kiln

## 1. INTRODUCTION

According to Global Panel on Agriculture and Food Systems on Nutrition report(2022), Nigeria aquaculture fish production was 316,727 metric tonnes representing 30% of total fish supply in the country in 2021. Nigeria has two dedicated fisheries research institutions for freshwater and marine. Under aquaculture, catfish is the leading fish candidate followed by tilapia which is widely grown in captivity. However, technologies of induce breeding, feed formulation, water quality

parameters, processing and value addition in the fisheries research institutes do exist. During the West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAPP) project, National Institute for Freshwater Fisheries Research (NIFFR) transformed Monai Village to "Aquaculture Hub which was named "WAAPP Victory Village" (Ifejika et al, 2021).

Fish processing is one of the value chain activities in aquaculture that needs modernization to meet standard on fish food safety and health in fish value addition enterprises. Fish processing is a preservative method of ensuring quality product and includes freshness, shelf-life of the product and absence of pathogens, nutrient content, palatability, and safety. Eyo, (2006) viewed fish processing as the processes associated with fish and fish products between the time in which fish are harvested and the time in which the final product is delivered to the customer. The characteristics of a processed fish to be stored should ensure full health safety of the product, proper sanitary conditions as well as rendering it impossible for the development of harmful micro-organisms (Ihuahia et al, 2013). It entails replacement of old traditional methods of fish processing that are not in compliance with standards to ensure quality smoke or dry fish product. However, as a result of the hazard and time consuming involved in traditional smoking of fish, the need for modern and mechanized fish smoking kiln is encouraged.

Modern fish processing technology is embraced due to mechanized procedure, capacity to process large quantity of cultured fish by fish processors, wholesome and quality product. This informed the research project on fabrication of modern fish processing kiln under the West Africa Agricultural Productivity Programme (WAAP) between 2012 and 2015 to produce hybrid fish smoking kiln. The new fish smoking kiln is expected to accomplish the following; improve quality of fish product (storage and test), be climate-smart and reduce fuel wood, reduce post-harvest loss, ensure safety and healthy fish food product, reduce period of fish processing, and promote entrepreneurship in fish processing aquaculture value chain. The three Nigeria research institutions that were involved in the hybrid fish smoking kiln project fabrication were:

1. National Institute for Freshwater Fisheries Research (NIFFR), New Bussa, Niger State, Nigeria
2. Nigerian Institute for Oceanography and Marine Research (NIOMR), Lagos, Nigeria
3. National Stored Product Research Institute (NSPRI), Ilorin, Kwara State, Nigeria.

The new developed kiln aim to: dry fish within 24 hours; safe and wholesome fish product; multiple energy sources; and job creation. To promote entrepreneurship in fish processing, some institutions disseminated the certified stainless WAAPP smoking kiln for adoption across Nigeria and the ECOWAS sub-region. The hybrid fish smoking kiln is adding value to quality smoke fish product in conformity with local and international standards for local consumption and export to other countries in sub-region, Europe and the USA. In Nigeria, hybrid smoking kiln is generating job for private companies, welders, and fish farmers and processors (Adegbola et. al., 2020; [www.nspri.gov.ng](http://www.nspri.gov.ng)). Observation has shown that the drivers of modern smoking kiln adoption are elites in urban cities that engaged in aquaculture fish farming, and fish processors and entrepreneurs in various states. Also, study by Ayuba et al. (2020) showed that hybrid smoking kiln is more efficient and cost effective than traditional kiln in fish smoking. Therefore, this paper seeks to analyze the smoking kiln distribution and smoked fish product quality. Specific objectives were to;

1. Examine kiln smoked fish product compared to old product quality.
2. Ascertain the distribution and adoption of hybrid smoking kiln.



**Inside view of 500-750kg  
Electric/Gas/Charcoal Energy Sources  
HYBRID FISH SMOKING KILN OF  
NIFFR-WAAPP**



**Front view of 250-350 kg  
Electric/Gas/Charcoal Energy Sources  
HYBRID FISH SMOKING KILN USING  
GAS**

**Figure 1:** samples the developed stainless WAAPP smoking kiln

## 2.METHODOLOGY

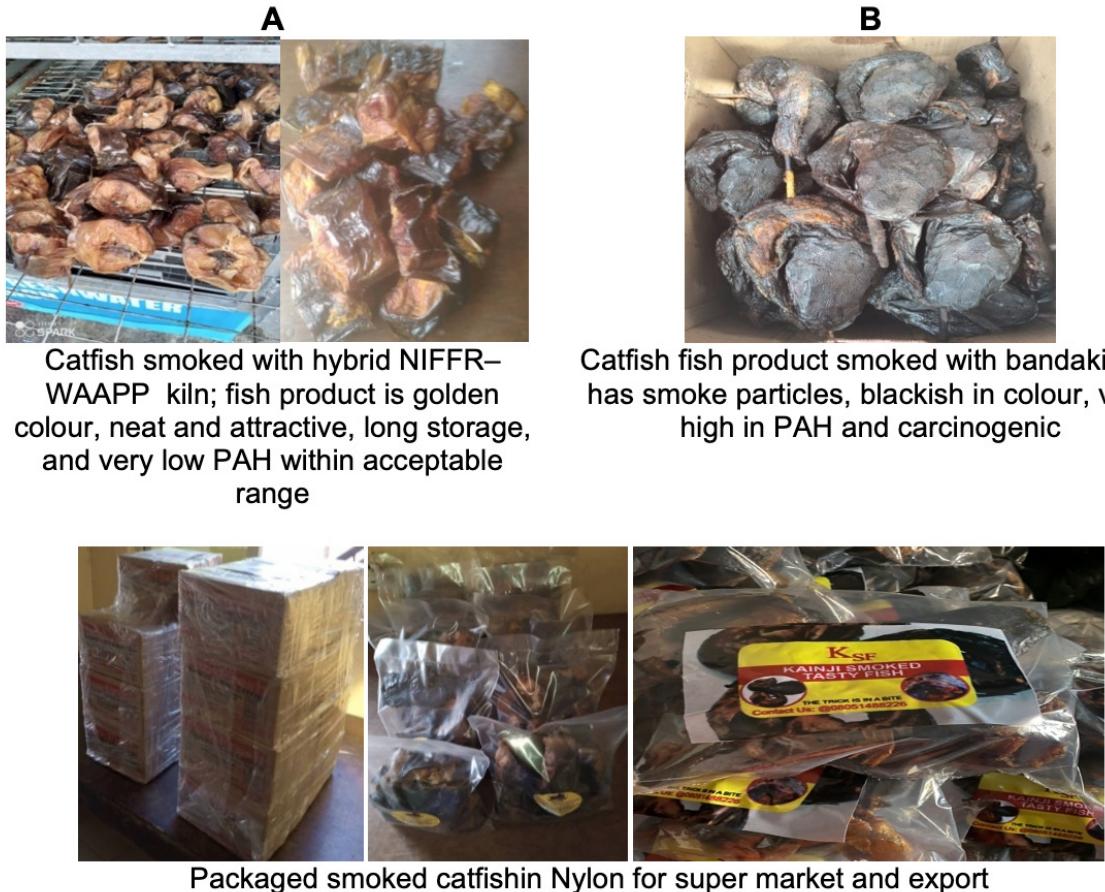
The study was carried out in Nigeria which is one of the 13 countries in the ECOWAS sub-region that participated in the WAAPP project. Under the WAAPP project, Nigeria is the lead country on aquaculture research for fish commodity due to its competitive advantage as a leading aquaculture fish producer in the sub-region. The review study used secondary data sourced from journals, reports and other publications on websites as well as interview. Relevant information used in this study were those related to smoked fish product quality, adoption and distribution of the kiln, as well as training and promotion through the media.

## 3.RESULTS

### 3.1 Smoked Fish Product Quality with Hybrid Kiln

The review confirmed that smoked fish products with WAAPP-NIFFR smoking kiln meets export quality standards set by food regulatory agencies in Nigeria (National Agency for Food and Drug Administration Control – NAFDAC and Standard Organizations of Nigeria – SON, as well as the European Union and United States of America (USA) agencies.

Figure 2 shows sample of the smoked catfish with NIFFR-WAAPP hybrid smoking kiln (A) compared with local banda (B). As seen in the samples, there's great difference in colour and quality of the fish product smoked with hybrid kiln. Hybrid kiln (A) smoked fish is more attractive and has golden brown colour, neat, tasty and free of smoke particles and very low Polycyclic in Aromatic Hydrocarbons (PAH), and no carcinogens within acceptable range. The B fish product smoked with traditional banda is black in colour with smoke particles, unattractive and very high in PAH and carcinogenic. Total PAH content in the smoked dry catfish with hybrid kiln was  $1.70 \mu\text{g}/\text{kg}$  which is below the safe limit of  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ .



**Figure 2:** Safe and Healthy Smoked Fish Product with WAAPP-NIFFR Smoking Kiln

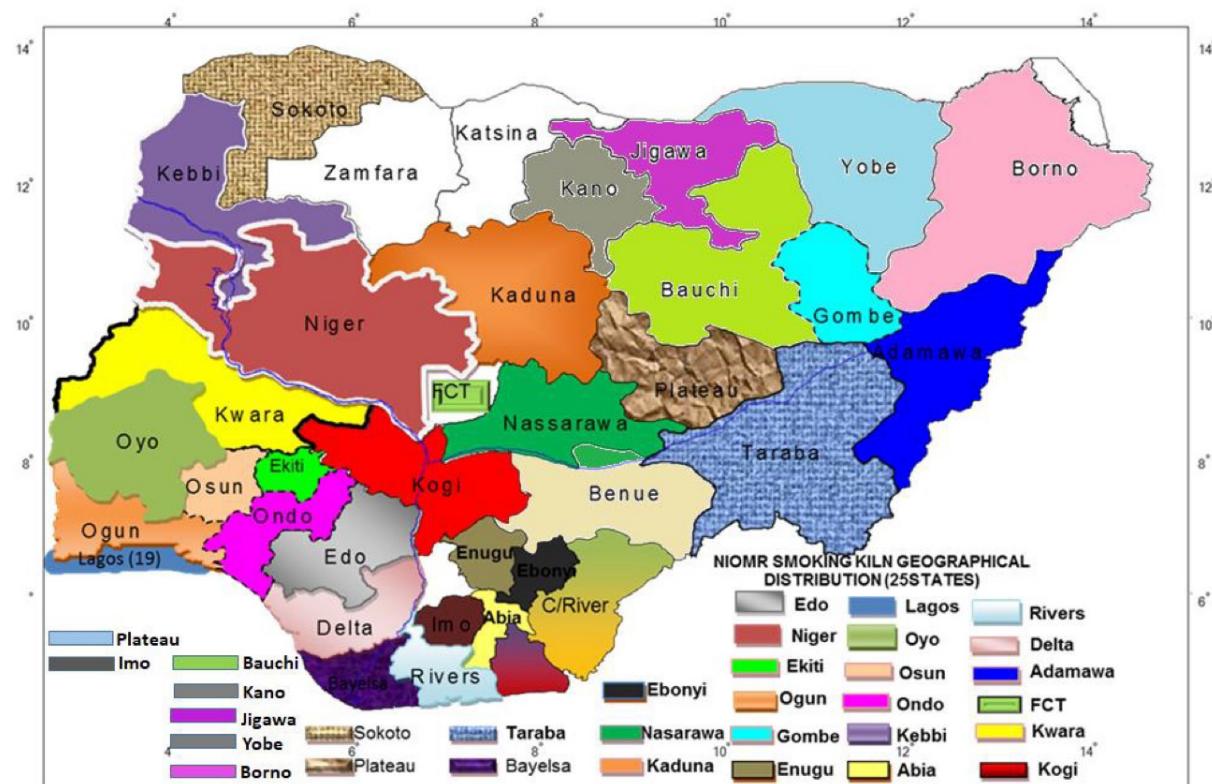
### 3.2 Hybrid WAAPP Smoking Kiln Distribution and Adoption.

Outcome of the collaborative research was fabrication of stainless hybrid fish smoking kiln that is using multiple energy sources namely electricity, charcoal, briquette, gas and solar energy. It's important to note that steel metal is the recommended fabrication material for the fish smoking kiln production to avoid rusting and metal particles contamination of the fish product. Evidence from various publications by NIOMR, NSPRI and NIFFR attest to wide distribution of thousands of the new fish smoking kilns in various states in Nigeria and the ECOWAS sub-region.

Mass fabrication and distribution ensure availability and access of the technology to prospective users in Nigeria. Among the three institutions, NIOMR and NSPRI have the widest coverage on distribution compared to NIFFR on WAAPP fish smoking kiln distribution in Nigeria and the ECOWAS sub-region. According to WAAPP (2018), NIOMR had distributed the fish smoking kiln to five countries in West Africa namely Benin, Cote d'Ivoire, Gambia, Nigeria, and Senegal. Also, within Nigeria, NIOMR had distributed the hybrid fish smoking kiln in 25 states across the six geo-political zones (Figure 2).

NSPRI had made great efforts on distribution of their WAAPP-NSPRI smoking kiln to different states in Nigeria. Newspapers reports and website information have it that NSPRI had distributed the hybrid smoking kiln to nine states namely Kwara, Oyo, Niger, Edo, Kogi, FCT Abuja, Osun, Lagos, and Delta (Tribune Newspaper, 2021; Guardian Newspaper, 2021; [www.nspri.gov.ng](http://www.nspri.gov.ng)). Information on NSPRI website accessed from ([www.nspri.gov.ng](http://www.nspri.gov.ng)) stated that 200 fish smoking kiln were fabricated by the institute and distributed in 2017 to fish processors in Osun and Lagos States under 2016 constituency project as empowerment intervention project for federal house members. Constituency empowerment projects by the National Assembly members (Senate and House of Representatives) for youths and women empowerment for job creation is supporting the mass fabrication of the hybrid kiln for distribution by NSPRI. In addition, NSPRI had installed the hybrid fish smoking kiln in Tatabu for women fish processors in Mokwa local government area and Malale community in Borgu local Government Area in Niger state.

As for NIFFR, the distribution of the smoking kiln cut across five states namely Niger, Akwalbom, Anambra, Kwara, and Gombe to private fish farms for cultured fish processing. Also, NIFFR distributed the smoking kiln in two WAAPP adopted villages (Monai and Musawa) for women fish processors as group project. In addition, three persons in New Bussa town had acquired the hybrid kiln for fish processing enterprise.



**Figure 2:** Distribution of WAAPP-NIOMR Fish Smoking kiln in Nigeria. NIOMR online (undated)

## 4. Discussion

Both physical and laboratory results confirm the superiority of fish product smoked with WAAPP hybrid kiln in appearance, taste, safety, and health. With hybrid smoking kiln, the fish is smoked within 18-24 hours compared to 3-days for traditional banda. Evidence from laboratory test carried out on WAAPP-NSPRI kiln smoke fish product established that it's free of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and not carcinogens. Total PAH content in the smoked dry catfish with hybrid kiln was 1.70 µg/kg which is below the safe limit of 5µg/kg recommended by the European Union and USEPA for smoked fish (Pessu et al, 2016). Sensory evaluation result showed that electric kiln followed by gas and charcoal has the best fish product appearance, colour, texture, taste and flavor (Ayuba et. al., 2020). In addition, catfish or fish smoked with WAAPP-NIFFR smoking kiln mixed with spices like ginger, garlic, onions and salt, had a longer shelf life of 3-4 months in storage. As a testimony, the author recently sent spiced smoked catfish with NIFFR-WAAPP kiln to a family in Lagos state and there was high demand for it for sell in super market due to its taste, stable quality and duration in storage. In view of these outstanding qualities of the smoking kiln, educated and well- to-do fish processors and aquaculture farmers are gradually acquiring the fish smoking kiln. Fish marketers and consumers bring their fish for smoking at NIFFR fish processing center for smoking at fees, thus generating income, revenue and jobs.

Gradually, the WAAPP-NIFFR-NSPRI-NIOMR kiln is widely being distributed and gaining popularity as ideal fish processing kiln technology particularly among enlighten and well-to-do processors. Mass production is bridging the gap on availability and access of the technology to prospective users for enterprise in cultured fish value chain. Among the 118 users of NSPRI smoking kiln in Osun state, 84.2% adoption rate was recorded over a two year period (Adegbola et. al., 2020) and this suggests that the technology has considerable advantage over the traditional fish smoking.

NIFFR experience with rural community women in adopted villages (Monai and Musawa) on the usage of the modern kiln was not palatable as the women folk failed to make use of the WAAPP kiln installed for them. They women group failure to adopt it for fish processing was traceable to communal ownership, location outside household, stealing of fish in the kiln, religious rules, and conservative attitude to new technology. Also, within the kainji lake basin particularly New Bussa environ, most of the fish processors had refused the adoption of the hybrid kiln over improved banda to improve quality of processed fish they send to Onitsha market in Anambra state. Ifejika (2021) confirmed non adoption of modern fish smoking kiln by fish processors in the kainji lake basin. To change the narrative, NIFFR opened a fish processing center using the hybrid kiln with capacity for 750kg to smoke fish for people at service charge, thus generating revenue, income and job. In addition, NIFFR supported a project to package and disseminate radio message on fish processing with hybrid smoking kiln which was aired on digital Radio Power FM 100.5 Bida and shared in other social media platforms like WhatsApp groups (Ifejika et.al., 2022). Another snag to the WAAPP smoking kiln adoption is the high cost of acquiring the stainless kiln by individuals and fish processing households.

## 5. Conclusion

So far, the hybrid smoking kiln has acceptance among actors in aquaculture value addition due to its qualities and standardization on final smoke fish product. Also, NIFFR, NSPRI and NIOMR had made efforts on the mass production and distribution of the fish smoking kiln technology to facilitate availability and access, and to increase adoption through training, project intervention, fish processing demonstration center, and promotion in digital media. So, the technology is creating

wealth as envisaged by WAAPP through supporting table size culture, value addition, and enterprise development in processing for men, youths and women.

Further actions needed are targeted marketing, promotion in digital platforms like social media platforms and training of fish processors on the hybrid kiln as well as establishment of processing centers in strategic fish markets across the political zones. CORAF should scale the WAAPP kiln fish smoking technology in the ECOWAS region to increase adoption in fish processing and value addition. This will contribute to job and wealth creation in the aquaculture value chain and the rural and urban economy. WAAPP should carryout impact assessment and support cross border training in the sub-region.

## Acknowledgement

The authors are thankful to the WAAPP project and in particular, the Late Abdoulaye Touré of the World Bank and the WAAPP Task Manager for their immense support in the development and scaling of the kiln fish smoking technology and innovation.

## References

- Adegbola, J.A., Aina, O.B., Owojaiye, O.B., Olaitan, T.R., Olatilewa, M.O. (2020) Socio-Economic Factors Influencing Utilization of Nigerian Stored Products Research Institute (NsPRI) Fish Smoking Kiln Among Fish Processors in Osun State, Nigeria, *Applied Tropical Agriculture*, Vol. 25: 1: 16- 22.
- Ayuba, A.B., Olufemi, O.A., Lawal, S.S., Aminat, I.M., and Ayuba, E.J. (2020). Comparison of NIFFR Improved Smoking Kiln with the Traditional Smoking Kiln. *Proceedings of the Mechanical Engineering Proceedings, 5<sup>th</sup> International Virtual Conference.* 127-131.
- Eyo, A.A. (2006). *Fish processing technology in the Tropics*. University of Ilorin press. 1p
- Guardian Newspaper (2021). NSPRI Distributed 190 Storage Facilities to Farmers in Oyo, November 15<sup>th</sup>, 2021.
- Ifejika, P.I. (2022). Packaging, Dissemination and Demonstration of Aquaculture Technologies in Digital Platforms and Adopted Villages. NIFFR Research Proposal Paper for 2022.
- Ifejika, P.I., Nwabeze, G.O., Ibeun, B. A., Faleke, S.A., Abdullahi, J.Z., and Umar, K. (2021). Fish Processing and Value Addition Activities: In Aquaculture Value Chain in Kainji Lake Basin. Editors; Sule, A.M., Olowosegun, T., Nwabeze, G.O., Ifejika, P.I., and sanni, O.A. Hanijam Publication LTD, Kaduna.67-89.
- Ifejika1, P.I., Ibenu1, B.A., Omeje1, J.I., Garba, A. U., and Umar, J.K. (2021). Survey of Fish Feed Entrepreneurship and Impact in New Bussa and Surrounding Communities. *Proceedings of the 36th Annual National Conference of Fisheries Society Of Nigeria (FISON)*, 24th -29th October, 2021 on "Fisheries and Aquaculture In Nigeria: Veritable Tools For Wealth Creation and Food Security". Edited by O. A. Akinrotimi (PhD). Publication of FISON, [www.fison.ng.org](http://www.fison.ng.org)

Ihuahi, J.A., Libata, I., Ibiyo, B., Mohammed, A., and Adelowo, E. (2013). Nutritional Status of Value -Added Food Products Using Tilapia Fish. NIFFR Annual Report 2012/2013. 51-53.

NIOMR Fish Strategy Brief (undated). Accessed from [info@niomr.gov.ng](mailto:info@niomr.gov.ng) July 26<sup>th</sup> 2023.

NSPRI Postharvest Engineering Research. Accessed from [www.nspri.gov.ng](http://www.nspri.gov.ng) July 26<sup>th</sup>, 2023.

Pessu, P.O., Atanda S.A., Ihionu,G.C. and Nwanade, C.F. (2016). Levels of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in smoked dry catfish (*Clariasgariepinus*) using GC-MS. *Society for Experimental Biology of Nigeria* , Vol. 16, No. 2, 1595-6938.

Global Panel on Agriculture and Food Systems in Nutrition (2022). *Policy on the Transformation and Future of Aquatic Food Systems in Nigeria*. 1-23

Tribune Newspaper (2021). NSPRI Distributes Improved Post-Harvest Storage Facilities to 5 States, October 14, 2021.

WAAPP Report (2018). Smoking Fish Reduces Waste and Improves Income. November 5<sup>th</sup>, 2018. WAAPP website:<http://www.waapp-ppaao.org/en/actualities/smoking-fish-reduces-waste-and-improves-incomes> Accessed July 2023.

# Improved process and reduction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) contamination of kilichi, a grilled meat produced in Niger

Ramatou Boubacar Seydou<sup>1,2</sup>, Yénoukounmè Euloge Kpoclo<sup>2</sup>, Rabiou Labo Sanda<sup>1</sup>, Iko Afé Herbert<sup>2</sup>, Caroline Douny<sup>3</sup>, Jacques Mahillon<sup>4</sup>, Victor Bienvenu Anihouvi<sup>2</sup>, Marie-Louise Scippo<sup>3</sup>, Djidjoho Joseph Hounhouigan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut National de la Recherche Agronomique du Niger (INRAN), BP 429 Niamey, Niger

<sup>2</sup>Laboratory of Food Sciences, School of Nutrition, Food Sciences & Technology; Faculty of Agro-nomic Sciences, University of Abomey-Calavi, 03 BP 2819 Jericho-Cotonou, Benin

<sup>3</sup>Department of Food Sciences, Laboratory of Food Analysis, Faculty of Veterinary Medicine, Fundamental and Applied Research for Animals & Health (FARAH), Veterinary Public Health, University of Liège, bât. B43bis, 10 Avenue de Cureghem, Sart-Tilman, B-4000 Liège, Belgium

<sup>4</sup>Laboratory of Food and Environmental Microbiology, Earth and Life Institute, Faculty of Bioscience Engineering, Croix du Sud, 2 - L7.05.12, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

## Abstract

*Kilichi* is a Sahelian traditional dried-grilled meat product made from empirical techniques with very little control of processing conditions, leading to high contamination of PAHs. This study aimed to improve *kilichi* quality through the development, the assessment of the technological performance of an innovative process using new drying-grilling equipment (SFQ). Response surface methodology (RSM) and central composite plan design for k=2 was used to assess the combined effect of salt concentration and drying-grilling time on production yield, water activity ( $a_w$ ), benzo(a)pyrene (BaP) and PAH4 (benzo(a)antracene, benzo(b)fluorenthene, benzo(a) pyrene and chrysene) during *kilichi* production. Regression model were developed to predict the effects of the processing parameters on the studied responses. Physicochemical characteristic assessments were performed using standard methods. Determination and quantification of PAHs were performed by HPLC-FLD. Significant interaction was observed between salt concentration and drying-grilling time on the production yield. For  $a_w$ , BaP and PAH4, the model showed that whatever the variability of the drying-grilling time and salt concentration, the quality of the product is stable. All the samples of *kilichi* produced in the operating conditions of this study were safe for consumers in terms of PAHs concentration with regard to European Commission Regulation (BaP≤2 g/kg and PAH4≤12 g/kg). The optimal conditions to obtain a good quality *kilichi* are a salt concentration (NaCl) of 0.85% and drying-grilling at 70°C for 5H54min. Use of SFQ in combination with application of salting can improve *kilichi* safety.

**Keywords:** *kilichi*, drying-grilling equipment, salting, response surface methodology.

## 1. Introduction

*Kilichi*, a traditionally processed meat product, is widely consumed as snack food in urban and rural area in Niger and other Sahelian countries. The process is resulted from ancestral know-know passed onto the new generations. It is made from thin flakes of meat, coated or not with sauce, dried then briefly grilled or not. Two main categories are manufactured in Niger: coated *kilichi* (*kilichi ja* and *kilichi fari*) and uncoated *kilichi* (*rumuzu*) (Kalilou, 1997, Yacouba, 2009, Boubacar et al., 2019a).

Field study, conducted by Boubacar et al. (2019a), showed that meat processing to *kilichi* is still produced by traditional empirical techniques with the use of rudimentary equipment and very little control of the processing conditions. Processing yield is low and the sanitary quality of the end products is generally unsatisfactory. Recent studies showed that the grilling or smoking process of meat products in traditional conditions (with wood fire, and traditional kiln), leads to a high contamination in polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), thus causing a high sanitary risk to consumers (Martin, 2015; Babić, 2018; Rozenthale, 2018; Oyekunde, 2019; Puljic, 2019; Ratsimba, 2019; Assogba, 2020; Mastanjevic, 2020).

Boubacar et al. (2019b) showed that 56.3% of coated *kilichi* samples collected from five regions in Niger exceeded the European Commission maximal limit of 2 g/kg for benzo(a)pyrene (BaP), and 75% did not meet the standard of 12 g/kg for PAH4 (benzo(a)antracene, benzo(b)fluorenthene, benzo(a)pyrene and chrysene).

To tackle this issue, it is important to develop an adequate processing method of meat that can minimize risks of contamination of *kilichi* by PAHs. It is therefore necessary to define the optimal treatment conditions for the innovative process with efficient drying and grilling methods, allowing to obtain good quality products, similar to the traditional products in terms of specificity and originality.

Traditionally, several meat products processing combine a salting step with complementary treatments such as drying in order to ensure a good microbial stability and specific organoleptic characteristics to extend the shelf life (Kalilou, 1997; Deunier, 2000). Salting reduces the growth of microorganisms at the surface of the product during drying by absorbing its water content and also by preventing contact with insects and parasites. Therefore, it reduces the degradation of the product. Salt gives a more stable end-product with a long shelf life (Kalilou, 1997; Tom, 2015). Experimentation methodology plan is often used in food processing because it is more convenient in the optimization of products formulation. It gives advantages such as the reduction of the number of trials, increment in the number of factors to study, detection of interactions between parameters, a better precision and results modeling (Hélène, 2007; Deunier, 2000). Several experimental designs can be used, the choice of the best experiment plan suited to a given research on a process, is closely linked to the factors influencing the experiment and the responses measured. However the response surface methodology (RSM) has important application in the design development and formulation of new products, as well as in the improvement of existing product design. It represents the evolution of the response as a function of two process factors. According to Goupy (2006), the surface designs are quadratic plans that allow the establishment of quadratic mathematical models. Several plans can be used for response surface plans including the central composite plan which consists of three parts: (i) a factorial plan which factors have two levels; (ii) at least one experimental point located in the center of the study area and (iii) axial points which are experimental points located on axes of each of the factors.

In Niger, little studies have been conducted on improving the manufacturing process of *kilichi* in order to minimize the contamination by PAHs. This study aimed to develop an innovative process to improve *kilichi* quality. More specifically, the objective was to assess the effect of two process variables, concentration of salt and the drying-grilling time of a new improved Dryer-oven, on the production yield, physicochemical characteristics and chemical safety of *kilichi*.

## 2. Materials and methods

Improvement of the *kilichi* manufacturing process involved the design of a Drier-oven and salting of the fresh strips of meat before drying. This required the design of prototype equipment that allow drying and grilling simultaneously and the choice of the experiment design.

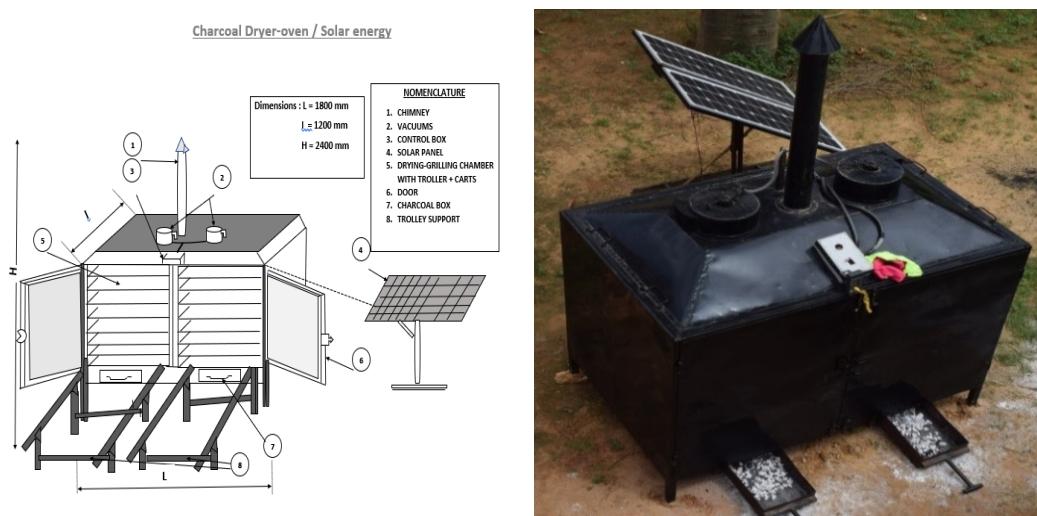
## 2.1 Description and operation of designed and manufactured dryer oven

Based on the needs, expressed by processors during the surveys relative to the improvement of the equipment used (Boubacar et al., 2019a) on the one hand, the data recorded and the observations made during the production monitoring activity on the other hand, the drying and grilling operations have been identified as key stages influencing the quality of *kilichi*. Thus, for the improvement of the process and the quality of *kilichi*, a prototype Dryer-oven was designed and manufactured (figure 1) by the Center for the Development of Rural Craft and Agricultural Machinery (C/DERMA) in collaboration with food technologists from the National Institute of Agronomic Research of Niger (INRAN). The Dryer-oven called QualiSani dryer oven (SFQ) is a mix of the ICARO and TUNNEL dryers. The design approach was mainly based on the reduction of PAHs contamination of *kilichi* in order to avoid sanitary risk for consumers.

The frame of the SFQ (figure 1) is in 8/10 square tube covered with black metal sheet made up of 2 trolley compartments of 9 trays each. It is equipped with two charcoal boxes for thermal heat supply, separated from the combustion chamber by perforated metal plates in order to prevent pyrolysis from fat dropping onto the incandescent charcoal. It is surmounted by two vacuums powered by two solar panels which create a current of hot air for drying and grilling the product. A chimney allows the warm air laden with humidity to be exhausted and a thermostat regulates the temperature in the combustion chamber. The capacity is 20 kg of meat. The operating conditions of the SFQ can be monitored using the rheostat, to regulate the temperature so as not to exceed 80°C. The strips first undergo 1 hour of drying before bringing the thermal heat from the two charcoal combustion boxes for simultaneous drying and grilling. The two fire boxes are continuously supplied with 250 g coal.

## 2.2 Preparation of *kilichi*

The *kilichi* for the experimental design is produced by trimming boneless meat, cutting into pieces of parallelepiped shape before slicing into flat thin straps. The straps are seasoned with a mixture of salt, oil and spices such as garlic (*Allium sativum*), pepper (*Capsicum frutescens*), cloves (*Eugenia caryophyllata*), white pepper (*Pimpinella anisum*), black pepper (*Piper guineense*), ginger (*Zingiber officinalis*) and false nutmeg (*Monodora myristica*), before simultaneous drying-grilling into a dryer oven.



**Figure 1.** Flow of Dryer-oven

### **2.3 Formulation of salting of meat strips**

The meat strips have been salted with an oily solution (salt + spices + oil) of different concentrations of salt with seasoning ingredients of fixed concentrations (g/100g of meat): garlic (1.35%), clove (0.04%), false nutmeg (0.2%), ginger (0.6%), oil (9.5%), pepper (0.4%), white pepper (0.6%) and black pepper (0.8%). The spices concentrations have been calculated from the means obtained during the production monitoring and the adjustments made following the observations of producers during the preliminary tests of SFQ performances. The salt concentrations have been calculated on the basis of minimal concentrations of 0.33% and maximal concentrations of 1.24% registered during the production monitoring.

### **2.4 Assessment of the technological parameters used during processing**

Technological parameters (time, temperature, relative humidity) were recorded during the drying-grilling processing. Samples of end-products were taken to determine their physicochemical characteristics (moisture, aw) and PAHs contamination.

### **2.5 Experimental Design**

A Central Composite Design (CCD) with two factors ( $k=2$ ) has been used to evaluate the effect of independent variables (factors) on the dependent variables (responses). Two principal quantitative factors (salt concentration and drying-grilling time) have been combined for the realization of drying-grilling experimentations in order to identify the best combination which maximizes the yield, improve the physicochemical quality ( $a_w$ ) and which reduces the most contamination in PAHs (BaP and PAH4) of the product. In total, 13 production trials have been conducted following 5 levels of variations for each factor. The experimental matrix generated by the MINITAB 17 software is presented in Table 1: salt concentration factor (0.33%; 0.46%; 0.79%; 1.11%; 1.24%) and time factor (4h; 4h59'; 6h; 7h41'; 8h). Five replicates at the center of the design were used to allow for estimation of the pure error at sum of the square. For the drying-grilling time, the calculations were made on the basis of minimal and maximal times recorded during the preliminary operating test of SFQ.

**Table 1.** Matrix of the model and variables combinations

<b>Treatment code</b>	<b>Level codes</b>		<b>Level of the variables</b>	
	<b>Salt</b>	<b>Time</b>	<b>Salt (%)</b>	<b>Time(h)</b>
1	0	0	0.79	6h
2	1	-1	1.11	4h59'
3	0	0	0.79	6h
4	1	1	1.11	7h41'
5	-1	1	0.46	7h41'
6	0	0	0.79	6h
7	0	0	0.79	6h
8	1.414	0	1.24	6h
9	0	-1.414	0.79	4h
10	0	0	0.79	6h
11	-1.414	0	0.33	6h
12	0	1.414	0.79	8h
13	-1	-1	0.46	4h59'

## 2.6 Analytical methods

### 2.6.1 Physicochemical analyses

Moisture and water activity were the physicochemical characteristics analysed. The sample moisture was determined using the ISO 144:1997 standard. The moisture content was used to calculate the production yield on dry basis. The water activity (*aw*) was measured according to the method described by Anihouvi et al. (2006) using *aw* sprint (SWISS made NOVASINA TH-500) water activity equipment.

### 2.6.2 Polycyclic Aromatic hydrocarbons analyses

The 15 PAHs (Dibenzo[a,e]pyrene (DeP), Dibenzo[a,l]pyrene (DlP), Dibenz[a,h]anthracene (DhA), Benzo[a]Pyrene (BaP), Benz[a]anthracene (BaA), Benzo[j]fluoranthene (BjF), Benzo[k]fluoranthene (BkF), Benzo[ghi]perylene (BgP), Chrysene (CHR), Dibenzo[a,h]pyrene (DhP), Benzo [b]fluoranthene (BbF), Indeno[1,2,3-cd]pyrene (Icp), Dibenzo[a,i]pyrene (DiP), 5-Methylchrysene (5MC), Benzo[c]fluorene (BcL)) were assessed according to the method described by Brasseur et al. (2007) and Veyrand et al. (2007).

#### 2.6.2.1 Samples preparation for analysis

The samples were ground in meat mincer (Kenwood, Pro 1600, Model MG510, UK) and then transferred in a freezer for 24h to 48H. Afterwards, samples were frozen in liquid nitrogen and lyophilized within 36-48 hours before PAHs determination which includes four steps: extraction, purification, separation and quantification.

#### 2.6.2.2 Extraction and purification

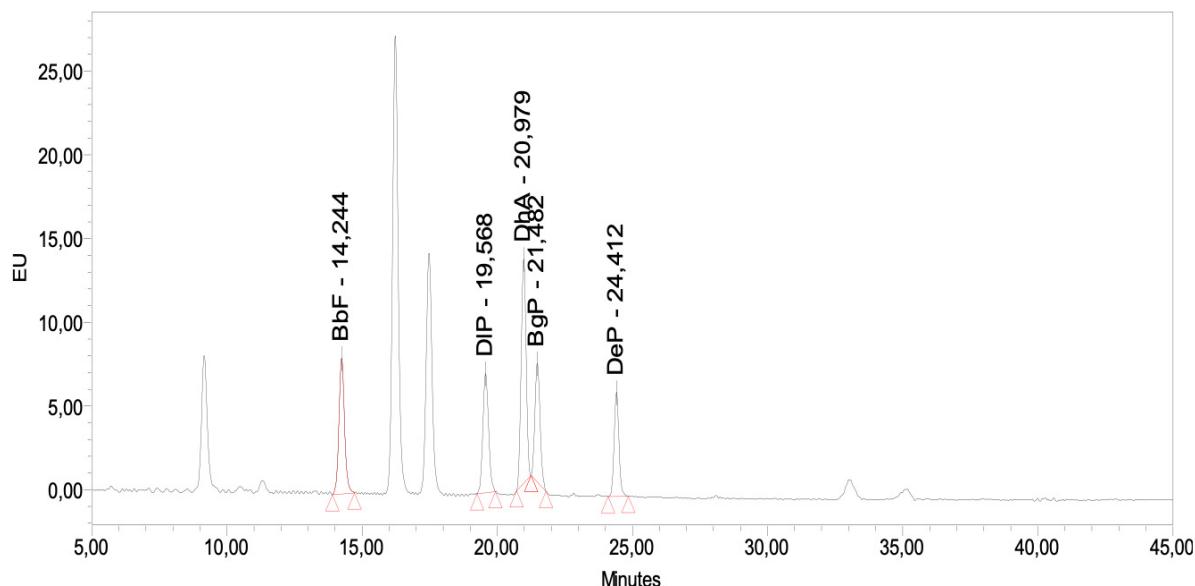
The extraction of PAHs from the samples was performed using the method described by Veyrand et al. (2007) with an accelerated solvent extraction system (ASE 200, Dionex, Sunnyvale, California, USA). The ASE cells previously filled with two cellulose filters, 0.5g of celite (Celite Filter cel, Fluka, Sigma-Aldrich, USA) and 7.5g of florisil (Promochem, Germany), were washed with dichloromethane to remove the impurities. One gram of lyophilized sample was added to pre-washed ASE cell and then extracted with hexane / acetone (50/50, v/v). The solvent was then evaporated until 1ml in a TurboVap system (Zymark, Germany), and the extract was reconstituted with 5ml of cyclohexane, before to be purified. Purification was performed using a chromatographic Column (Cartridges, Marchery-Magel Chromabond) previously conditioned with 15 ml of ethyl acetate and 10 ml of cyclohexane. The extracts were passed through the column and then rinsed with 6 ml of cyclohexane/ethanol (70/30, v/v). The PAHs were then eluted with 12 ml cyclohexane/ethyl acetate (40/60, v/v). After evaporation to dryness, the residue was dissolved in 90  $\mu$ l of acetonitrile and 10  $\mu$ l of the deuterated DiP-D14, used as internal standard injection (LGC Promochem, France).

#### 2.6.2.3 Separation and quantification

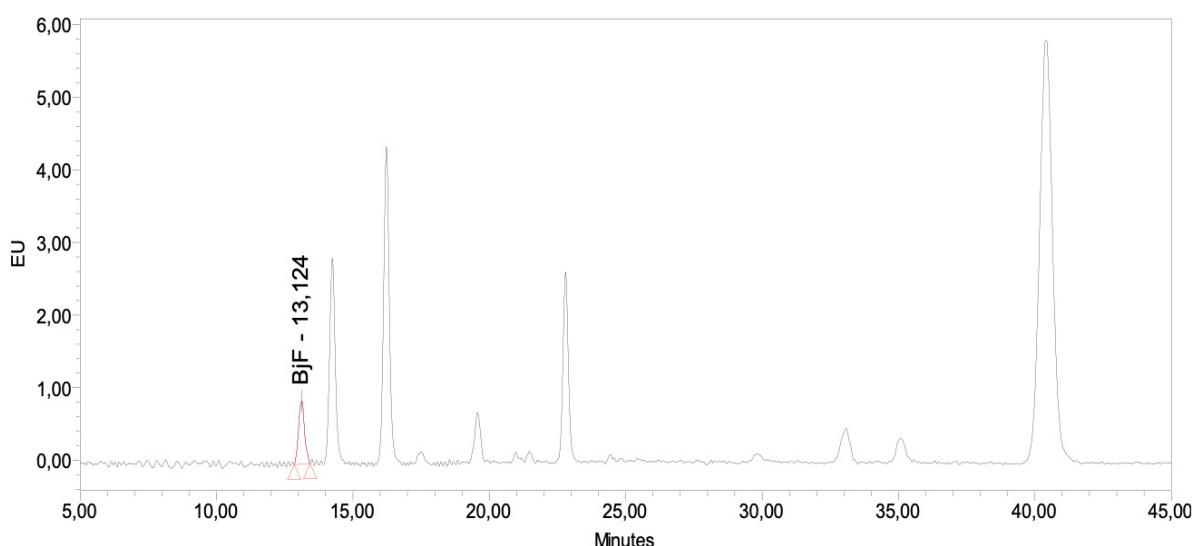
The separation and identification of the PAHs were carried out using a High-Performance Liquid Chromatograph coupled with a fluorescence detector (HPLC/FLD) according to the method described earlier (Brasseur et al., 2007). A Model 600 E solvent delivery system, equipped with a Model 717 automatic injector, a Mistral TM oven and a 2475 Fluorescence detector (Waters Corporation, Milford, MA, USA) were used. The column was a C18 Pursuit 3 PAH (100  $\times$  4.6 mm, 3  $\mu$ m) equipped with a ChromGuard (10  $\times$  3 mm) pre-column, both from Varian (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The temperature of the column during chromatographic separation of PAHs was set at 36°C. The excitation and emission wavelengths of the PAHs analyzed were between 200 and 400 nm and between 300 and 600 nm, respectively. Five microliters of extract were injected on the HPLC column. Separation and fluorescence detection were performed according to the method described by Brasseur et al. (2007). Seven calibration solutions containing the 15 EU

priority PAHs in increasing concentrations from 2.5 to 400 pg/µL, except for BjF and IcP (from 10 to 1,600 pg/µL), were injected with each series of sample extracts. The deuterated internal standard DiP was spiked at a constant concentration (i.e. 250 pg/µL in acetonitrile) in each calibration and reference level. The response (ratio between both native and internal standard PAHs peak areas) was plotted against standard concentrations. Quadratic regression was used for curve fitting and the calculation of native PAHs. The first point of the calibration curve for each PAH was considered as the limit of quantification (LOQ). It was 0.92 µg/kg of fresh mater for Benzo (j)fluoranthene (BjF) et Indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcP) and 0.23 µg/kg of fresh mater for the rest of PAHs. The sum of benzo[a]pyrène, chrysène, benzo[a]anthracène and benzo[b]fluoranthène (PAH4), were calculated. BaP and PAH4 were adopted as a suitable indicator for the occurrence and toxicity of PAHs in foods (EFSA, 2008). Chromatograms obtained for the 15 PAHs in a reference solution acquired with the different channels of the fluorescence detector are shown in Figure 2.

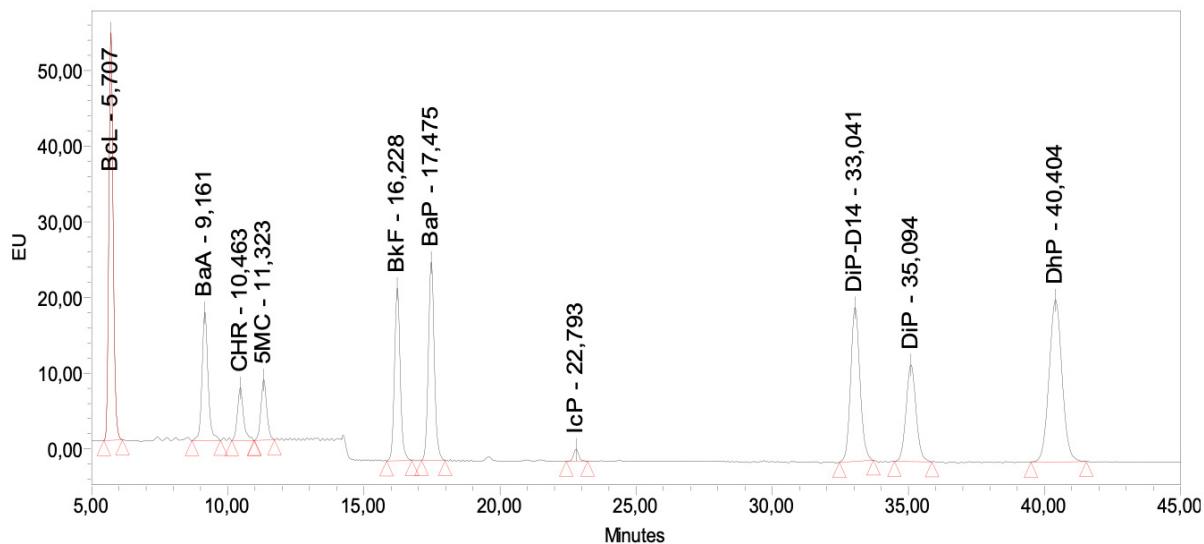
Channel A



Channel B



Channel C



**Figure 2.** Chromatograms obtained for the 15 PAHs in a reference solution acquired with the A, B and C channels of the fluorescence detector,

### 2.7 Optimization and modelization

All the modeling and optimization process have been done in R software (R Core Team, 2020).

The different formulations generated were evaluated using the response. The canonical model was fitted to the experimental data and the linear, quadratic and interaction models were tested for their respective regression coefficients. In general for the response surface plane, the polynomial model of the following form is considered:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i * X_i + \sum_{i=1}^k \sum_{j=i}^k \beta_{ij} * X_i * X_j + \varepsilon$$

Where  $y$  is the response:  $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_i$  the regression coefficient;  $x_1, x_2, \dots, x_i$  the experiment factors.

The goodness of fit of the experimental model was checked by analysis of variance (ANOVA) and by the coefficient of determination ( $R^2$ ).

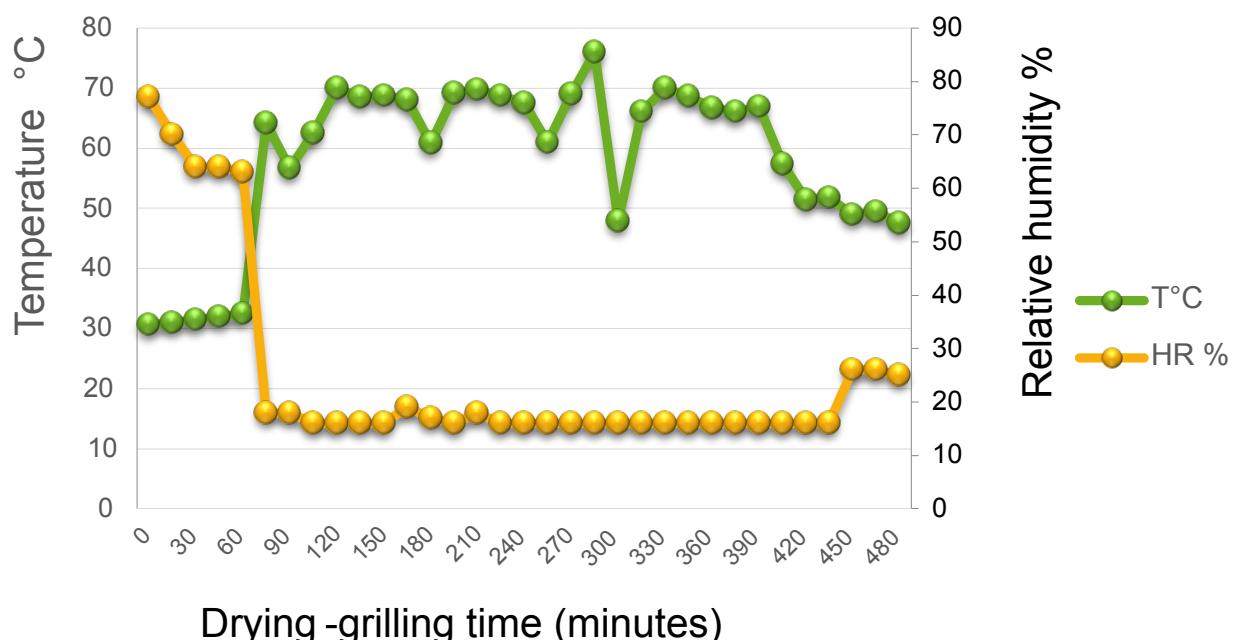
The significance level of the coefficient is determined using the student test. The overall value of the model value was determined using the Fischer test. The regression coefficient or coefficient  $R^2$  explains the adequacy of the model to the experimental values. The model is represented by diagrams of response surface. This represents the response evolution in function of the two factors studied in a tridimensional space. The best chosen model is used in the optimum function by specifying the objective (minimization or maximization) to find the optimal combination and the level of the corresponding response variable to this combination. The

chosen criteria for the optimization of the process are: a good yield dry basis ( $\geq 88\%$ ), a low water activity ( $\leq 0.65$ ), a minimum concentration in BaP ( $\leq 2\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) and PAH4 ( $\leq 12\mu\text{g}/\text{Kg}$ ). The prediction power or the coefficient of determination of the model is considered good if it is at a minimum of 50% (0.5). The significance level used was 5%.

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Thermal performance of SFQ

Figure 3 shows the evolution of temperature and relative humidity at the center of the drying-grilling chamber. The mean temperature during the drying-grilling operation was  $58.07 \pm 13.64^\circ\text{C}$ . At the beginning (0 to 60 minutes) of the process, the temperature in the drying-grilling chamber was  $31.52 \pm 0.76^\circ\text{C}$ . It gradually increased to  $66.68 \pm 4.80^\circ\text{C}$  after 225 minutes due to charcoal combustion intensity, and then fall to  $47.5^\circ\text{C}$  at 300 minutes when opening the dryer oven to remove carts. After 390 minutes of drying-grilling, the peak temperature recorded was  $67.17 \pm 1.60^\circ\text{C}$ . From 405 minutes to the end of drying-grilling, the temperature gradually declined in the chamber to a final temperature of  $51.07 \pm 3.48^\circ\text{C}$ . The mean relative humidity during the drying-grilling operation was  $25 \pm 18.61\%$ . From the first 60 minutes to 435 minutes of drying-grilling, the relative humidity results decreased from  $67.6 \pm 5.94\%$  to a minimum of  $16 \pm 00\%$ . This decrease occurred concomitantly with a temperature rise in the smoking chamber after 60 minutes of drying-grilling because charcoal combustion was added. From 450 minutes to the end of drying-grilling, the relative humidity curve rose again and peaked at  $25.67 \pm 0.58\%$  probably due to sunset.



**Figure 3.** 2 Changes of temperature and relative humidity in drying-grilling chamber

### **3.2 Evaluation of the effect of salting and drying-grilling conditions on the physicochemical characteristics and PAHs**

The responses (yield, water activity, BaP and PAH4) obtained by varying the concentrations of salt and the time of drying-grilling for the improvement of the quality of *kilichi* are shown in Table 2. The production yield varies from 83% to 92% and all the samples had moisture content less than 12% (data not shown) and water activity less than 0.7. This low  $a_w$  values obtained shows a potential microbial stability (Prescott, 2002). All samples were conform to the standards established by the European Commission (Reglement CE 835-2011), fixing the maximum contents of BaP and PAH4 respectively at 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$  and 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$  in meat products (EFSA, 2008). The low concentrations of PAHs (BaP: 0.7 to 1.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and PAH4: 4 to 8.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) obtained are probably due to the use of charcoal as fuel instead of firewood. In fact, charcoal is made by carbonization of wood, a process during which there is a high release of PAHs. Also, placing perforated metal plates between the drying-grilling chamber and the two combustion heaters reduces the formation of PAHs due to the pyrolysis of the fats that drip on the glowing charcoal (CAC, 2009). Babic (2018) and Bomfeh (2019) obtained similar results with improved kiln design.

Table 2. Model Responses for Yield,  $a_w$ , BaP and PAH4 of the kilichi

Treatment code	Salt (%)	Time	Yield DWB (%)	$a_w$	BaP ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	PAH4 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	0.79	6h	88.09	0.640	0,7	4
2	1.11	4h59'	89.00	0.600	1	5.1
3	0.79	6h	84.85	0.630	0.9	8.3
4	1.11	7h41'	89.51	0.527	1.4	8.4
5	0.46	7h41'	83.40	0.583	1.5	7.9
6	0.79	6h	87.83	0.570	0.8	5.7
7	0.79	6h	88.47	0.550	1.1	6.1
8	1.24	6h	89.24	0.550	1.5	8.3
9	0.79	4h	88.68	0.667	0.9	4.7
10	0.79	6h	87.95	0.577	0.8	4.6
11	0.33	6h	82.86	0.640	0.7	4.4
12	0.79	8h	82.85	0.530	1.2	8.3
13	0.46	4h59'	91.46	0.567	1.8	8.7

DWB= dry weight basis

The analyses of variance were performed to determine the significance of the linear, quadratic and the interaction effects of the concentration of salt and drying-grilling time on the responses (Table 2). The lack of fit test is used to measure the failure of a model to represent data in the experimental domain at which points were not included in the regression. The results showed that the models for Yield,  $a_w$ , PAH4 were highly influenced by salt concentration and drying-grilling ( $P<0.05$ ). However these factors did not have a significant effect on BaP. The surface responses of these parameters are represented in figures 5, 6, 7, 8.

**Table 3.** Regression coefficients of the variable in the model and their corresponding R<sup>2</sup>

Factors	Coefficients			
	Yield DWB	a <sub>w</sub>	BaP	PAH4
Constant	109.614	0.421	6.835	26.842
<b>Linear effect</b>				
X <sub>1</sub>	-22.306	0.336	-5.385	-21.477
X <sub>2</sub>	-3.711	0.043	-1.344	-5.013
<b>Quadratic effect</b>				
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.543	-0.061	2.0185	5.671
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0.114	-0.0022	0.0907	0.326
<b>Interactions</b>				
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	4.671*	-0.0497	0.383	2.247
R <sup>2</sup>	74.09	53.41	42.46	41.82

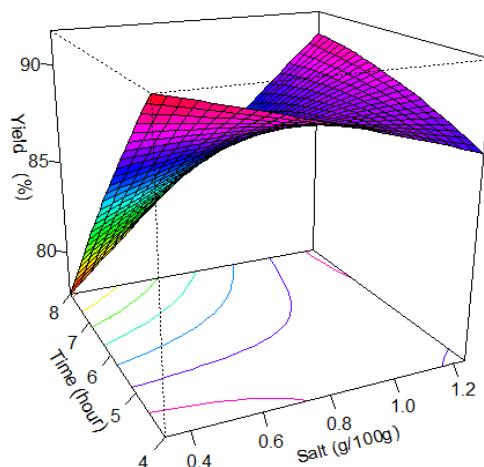
X<sub>1</sub>= salt concentration; X<sub>2</sub>= drying/grilling time; \* Significant at p= 0.05; DWB= dry weight basis

### 3.2.1 Effect of the salt concentration and the level of drying-grilling on yield

The relationship between salt and drying-grilling and yield is mentioned by the equation below and the surface response (figure 4).

$$Y_{Yield} = 109,61 - 22,31x_1 - 3,71x_2 - 0,54x_1^2 + 0,114x_2^2 + 4,67x_1x_2$$

The ANOVA results showed that the model was highly adequate because it could explain 74% of the variation in the yield. Only the interaction of salt concentration and time of drying-grilling have a significant influence on the production yield (Prob<0.05). The statistical analysis shows that the linear and quadratic effects are not significant (Prob>0.05). The response surface shows that for a salt concentration greater than 1%, an increment in the drying-grilling time leads to a good production yield. The production yields are low for small concentrations in salt (<0.4%) regardless of the drying-grilling time. The combination of 1.04% salt and a drying-grilling time of 5 hours give an optimum yield of 88.7%.



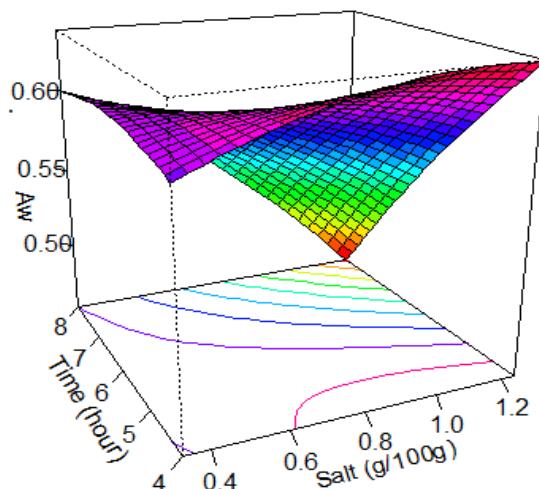
**Figure 4.** Response surface plot showing the effect of salt concentration and drying-grilling time on the production yield of kilichi

### 3.2.2 Effect of salt concentration and the drying-grilling time on the water activity (aw)

The quadratic model obtained for water activity in the kilichi samples is:

$$Y_{aw} = 0,421 + 0,336x_1 + 0,043x_2 - 0,0614x_1^2 - 0,0022x_2^2 - 0,0497x_1x_2$$

The results showed that water activity is weakly explained by the models (linear, quadratic and interaction). The model explains 53% of the water activity variations. Thus 47% of the variation was attributed to factors not included in the model. The response surface plot (figure 5) shows the changes in water activity as a function of the process variables. The lowest water activity ( $a_w < 0.5$ ) is observed when the drying-grilling time exceed 7 hours and with a salt concentration greater than 1%. Also from a drying-grilling time of 4 hours and with a salt concentration greater than 0.6%, the water activity never exceeds 0.62. An optimum water activity of 0.607 is obtained for a salt concentration of 0.35% and a drying-grilling time of 6 hours and 31 minutes.



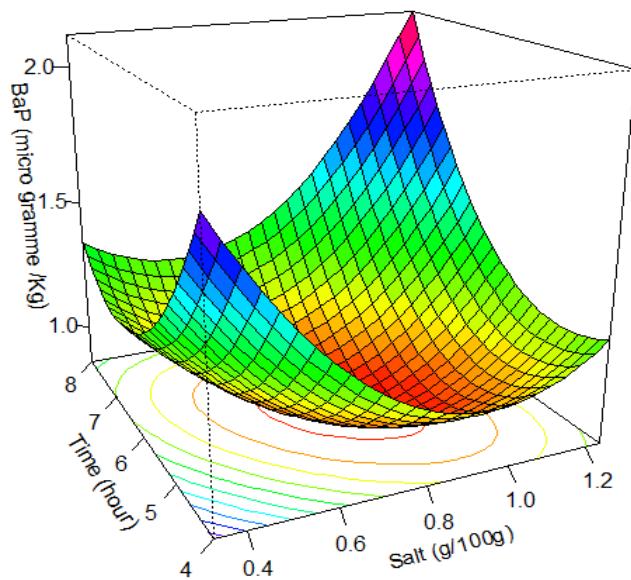
**Figure 5.** Response surface plot showing the effect of salt concentration and drying-grilling time on the water activity of kilichi

### 3.2.3 Effect of the salt concentration and the drying-grilling time on the BaP

The regression equation of BaP as a function of salt concentration and the drying-grilling time is expressed as follows:

$$Y_{BaP} = 6,835 - 5,385x_1 - 1,344x_2 + 2,0185x_1^2 + 0,0907x_2^2 + 0,383x_1x_2$$

The results obtained from the calculation of the coefficient of regression and the response surface plots for BaP are presented in table 3 and figure 6, respectively. The combination of the salt concentration and the drying-grilling time has no significant effect on the adsorption of BaP at the surface of meat strips (Prob >0.05). The model explains only 42.6% of the variation of the BaP concentration. From this study, the optimal conditions to obtain an optimal concentration of 0.85 µg/kg in BaP are a salt concentration of 0.79% and a drying-grilling time of 6h and 14 minutes. Figure 6 shows the variation in BaP concentrations of kilichi during processing. The operating conditions associated with the SFQ helps to obtain a kilichi with minimal contamination in BaP.



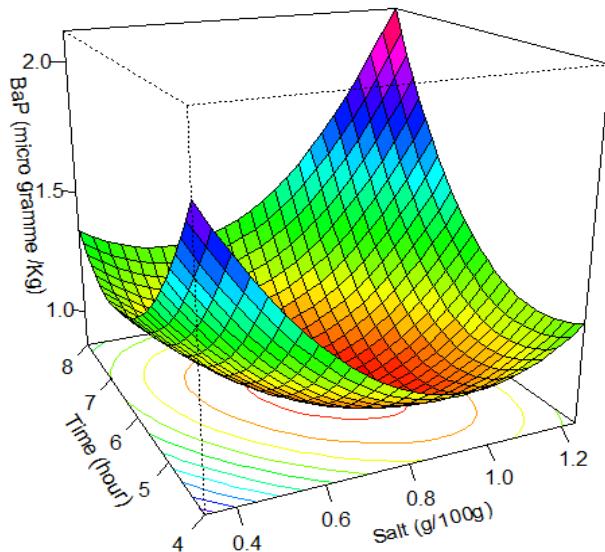
**Figure 6.** Response surface plot showing the effect of salt concentration and drying-grilling time on BaP of kilichi

### 3.2.4 Effect of the salt concentration and the drying-grilling time on the PAH4

The regression equation of PAH4 as a function of salt concentration and the drying-grilling time is expressed as follow with an R<sup>2</sup> of 41.82%,

$$Y_{PAH4} = 26,842 - 21,477x_1 - 5,013x_2 + 5,671x_1^2 + 0,326x_2^2 + 2,247x_1x_2$$

No significant influences of linear effects and quadratic effects and interaction of independent variables of the process were observed (Prob >0.05). The model explains 41.82% of the PAH4 variations. Observation of the surface response diagram (figure 7) shows that for small salt concentrations, regardless of the drying-grilling time, the PAH4 concentration is minimal. The optimal salt concentration conditions of 1.17% and a drying-grilling time of 4h and 5 minutes helps to minimize contamination by PAH4 (5.13 µg/kg).



**Figure 7.** Response surface plot showing the effect of salt concentration and drying-grilling time on PAH4 of kilichi

The model explained 42, 60% and 41, 82 for the variation of BaP and PAH4, respectively. Thus about 58% of the variation of the PAHs was attributed to factors not included in the model. Indeed, adsorption of PAHs depends on several parameters like type of kiln, product treatment, temperature, time, distance, biomass, relative humidity, and characteristics of the products (EFSA, 2008; CAC, 2009; Akpambang et al., 2009; Santos, 2011; Roseiro, 2012; Bonfeh, 2019). The design of a dryer oven with the use of charcoal and temperature control, have effect on the absorption and penetration of PAHs in product, and therefore, on its quality and stability.

#### 4. Conclusion

The results of the present study show that it is possible, under controlled processing conditions, to improve the quality of traditional *kilichi*. Producing *kilichi* with SFQ combined with salting of the fresh strips as innovative process, gives the best quality product with acceptable characteristics mainly in terms of PAHs contamination, water activity and good production yield. The optimal processing conditions required to obtain good quality *kilichi* were drying-grilling time of 5h54' at 70°C and salt concentration of 0.85%. The maximum concentration of HAPs obtained during the tests is 1.8 g kg<sup>-1</sup> and 8.7 g kg<sup>-1</sup> for BaP and PAH4, respectively. This corresponds to a decrease of 11 and 17 times respectively the concentrations recorded for BaP and PAH4 when the producer uses fuel wood and the traditional oven. The adoption of this new equipment and application of the proposed process might reduce substantially the sanitary risk of consumers and producers of *kilichi*. However, this re-engineering of the manufacturing process must be validated by an assessment of the acceptability of the product by consumers through sensory evaluation.

#### Acknowledgements

Authors are grateful to the Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES) from Belgium for providing financial support through QualiSani Project (PRD-ARES-CCD).

#### References

- Akpambang, V.O.E., Purcaro, G., Lajide, L., Amoo, I.A., Conte, L.S. and Moret, S. (2009). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in commonly consumed Nigerian smoked/grilled fish and meat. *Food Additives and Contaminants*, 26(7): 1096–1103.
- Anihouvi, V.B., Ayerno, S.G., Hounhouigan, D.J., Sakyi-Dawson, E. (2006). Quality characteristics of Lanhouin: A traditional processed fermented fish product in the Republic of Benin. *AJFAND*, 6(1):1-5.
- Assogba, M. F., Kpocloou, Y. E., Ahouansou, R. H., Dalode, A., Sanya, E., Mahillon, J., Scippo, M-L., Hounhouigan, D. J., & Anihouvi, V. B. (2020). Thermal and technological performances of traditional grills used in cottage industry and effects on physico-chemical characteristics of grilled pork. *Journal of Food Processing and Preservation*, 00:e14562. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14562>.
- Babić, J. M., Kartalovic', B. D., Škaljac, S., Vidakovic', S., Ljubojevic', D., Petrovic', J. M., Ćirkovic', M. A., Teodorović, V. (2018). Reduction of polycyclic aromatic hydrocarbons in common carp meat smoked in traditional conditions. *Food Additives & Contaminants: Part B*.
- Bonfeh, K., Jacxsens, L., Amoa-Awua, W. K., Tandoh, I., Afoakwa, E. O., Gamarro, E. G., Ouadid, Y. D., Meulenaer, B. D. (2019). Reducing polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contamination in smoked fish in the Global South: a case study of an improved kiln in Ghana. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 99: 5417–5423.

Boubacar Seydou R., AbdoulKader Harouna, Yénoukounmè Euloge Kpoclo, C. Douny, F. Brose, Marichatou Hamani, Jacques Mahillon, Victor Bienvenu Anihouvi, Marie-Louise Scippo, Djidjoho Joseph Hounhouigan. (2019). Assessment of the physicochemical characteristics, chemical and microbiological safety of two types of kilichi, a grilled meat produced in Niger. *Food Sciences & Nutrition*, 00: 1-9.

Boubacar, R.S., Anihouvi, V., Mamadou. A., Marichatou, H., Scippo, M-L., Hounhouigan, D.J. (2019). Indigenous practices and quality perception in the production of kilichi, a grilled dried meat in Niger. *Food Chain*, 8(1): 1-17.

Brasseur, C., Brose, F., Pirlot, A., Douny, C., Eppe, G., Maghuin-Rogister G., Scippo, M-L. (2007). Validation of the analytical procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke flavourings using high performance liquid. *Accred Qual. Assur.*, 12: 535-542.

Codex Alimentarius Commission. (2009). Code d'usages pour la réduction de la contamination des aliments par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) issus des processus de fumage et de séchage direct. CAC/RCP 68-2009, *World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United*. Available at: [http://www.fao.org/input/download/standards/11257/CX-P\\_068f.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/11257/CX-P_068f.pdf).

Deumier, F. (2000). *Formulation et déshydratation de viande de volaille par immersion. Etude des transferts de matière à pression atmosphérique et sous vide.* Thèse de doctorat, p. 191. (ENSA, Massy, France).

EFSA (2008). "Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in Food." *EFSA Journal*, 724: 1-114.

European Commission. (2011). Regulation (EC) N.835/2011 amending Regulation (EC) N. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official Journal, L215, 20/08/2011, 4-8.» 2011.

Goupy, J. (2006). Les plans d'expériences . *Revue MODULAD*, 34:74-116.

Hélène, C. E. (2007). *Carnobactérium malaromaticum. Caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère.* Thèse de doctorat INPL, p.226. (Nancy, France).

ISO 1442. (1997). Meat and meats products. Determination of moisture content (Reference method).

Kalilou, S. (1997). *Transformation traditionnelle de la viande en kilishi au Niger : optimisation du procédé.* Thèse de doctorat en génie des procédés, p117. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires. (Massy, Essone, France).

Martin, R., Joe, H., Alan, D., Steve, R.G.P., Shaun, W., Alwyn, F. and David, M. (2015). Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. *Food and Chemical Toxicology*, 78:1-9.

Mastanjevic, K. M., Katalovic, B. D., Vranesovic, J. M., Navakov, N. J. & Habschiied, K. J. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked Slavonska Kobasica. *Food Additives and Contaminants, Part B*.

Nakajima D, Nagame S. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbon generation behavior in the process of carbonization of wood. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(2): 221-225.

Oyekunle, J. A. O., Yussuf, N. A., Durodola, S. S., Adekunle, A. S., Adenuga, A. A., Ayinuola, O., Ogunfowokan, A. O. (2019). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and potentially toxic metals in commonly consumed beef sausage roll products in Nigeri. *Heliyon* 5: e02345.

Prescott, L.M., Harley, J.P. and Klein, D.A. (2002). *Microbiology* (5th Edition pp. 963-9710). London: McGraw-Hill.

Puljić, L., Mastanjević, K., Kartalović, B., Kovačević, D., Vranešević, J. and Mastanjević, K. (2019). The Influence of Different Smoking Procedures on the Content of 16 PAHs in Traditional Dry Cured Smoked Meat "Hercegovačka Pečenica". *Foods*, 8: 690. doi:10.3390/foods8120690.

R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

Ratsimba, A., Rakoto, D., Jeannoda, V., Andriamampiamina, H., Talon, R., Leroy, S., Grabulos, J. (2019). Physicochemical and microbiological characteristics of Kitoza, a traditional salted/dried/smoked meat product of Madagascar. *Food Science & Nutrition*, 7: 2666-2673.

Roseiro, L.C., Gomes, A., Patarata, L., Santos, C. (2012). Comparative survey of PAHs incidence in Portuguese traditional meat and blood sausages. *Food and Chemical Toxicology*, 50:1891-1896.

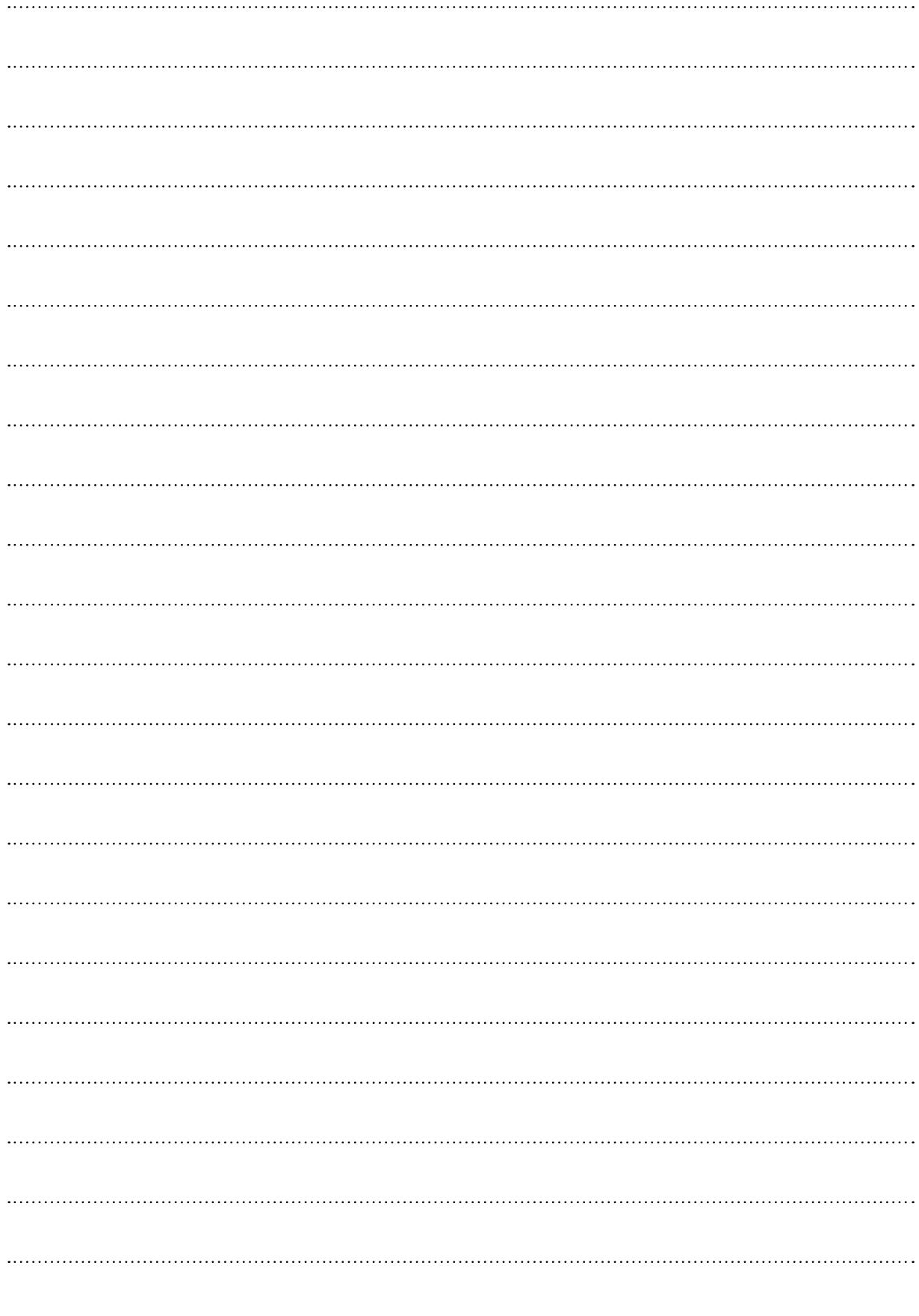
Rozenthale, I., Zacs, D., Bartkienė, E. & Bartkevičs, V. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbon in traditionally smoked meat products from the Baltic States. *Food Additives & Contaminants, Part B*.

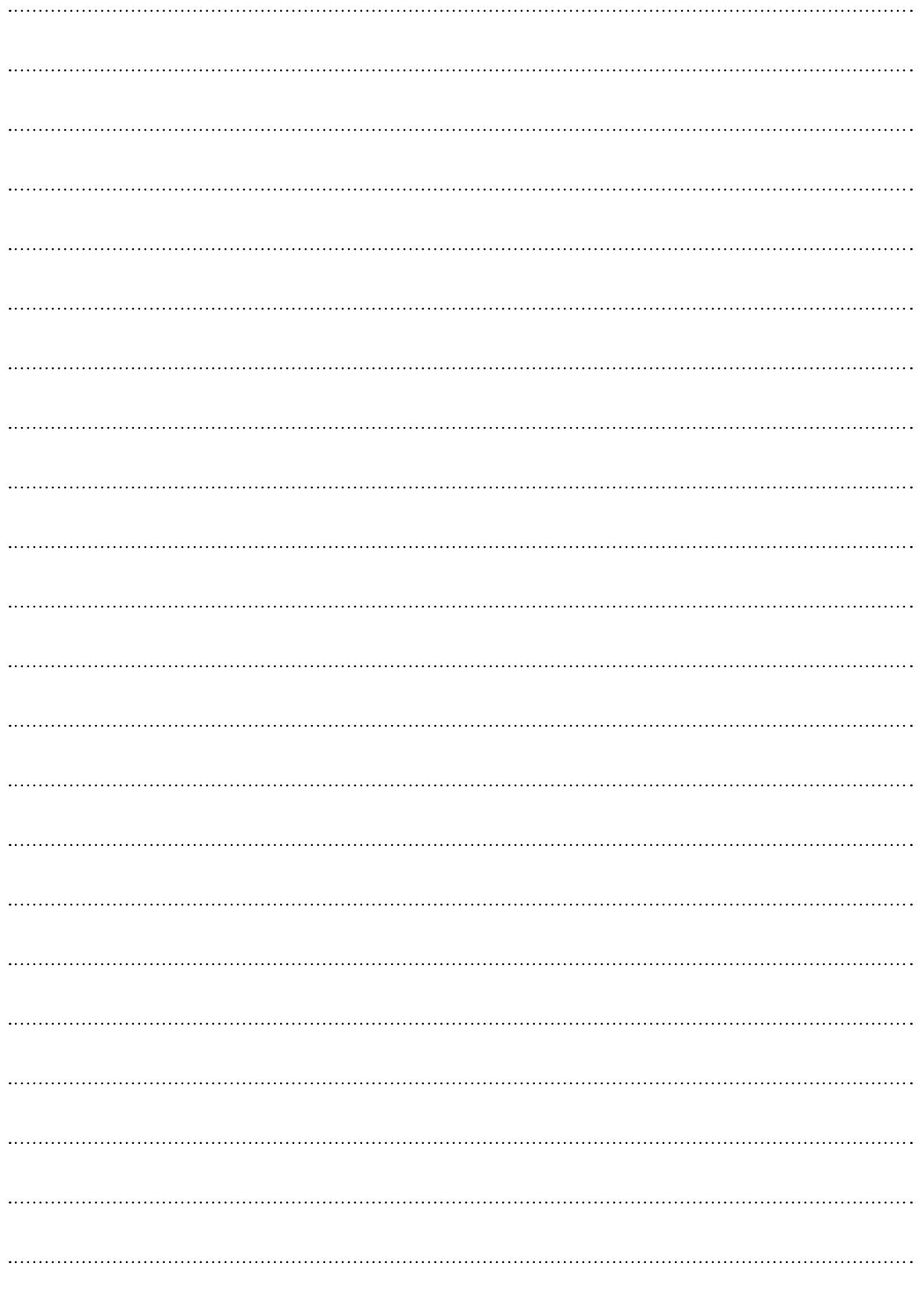
Santos, C., Gomes, A., Roseiro, L.C. ( 2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons incidence in Portuguese traditional smoked meat products. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 2343-2347.

Tom, A. (2015). *Contribution au séchage solaire des produits carnés: Modélisation Solaire des produits carnés: Modélisation et réalisation d'un séchoir adapté aux pays tropicaux. Thèse de doctorat en Chemical and Process Engineering*, p. 245. Ecole Nationale Supérieure d'Arts et Métiers - ENSAM

Veyrand B., Brosseaud A., Sarcher L., Varlet V., Monteau F., Marchand P., Andre F., Le Bizec B. (2007). Innovative method for determination of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons in food and oil samples using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry based on an isotope dilution approach. *J. Chromatogr. A.*, 1149: 333-344.

Yacouba, I. (2009). *Analyse des techniques traditionnelles de transformation de la viande en Kilichi dans la commune urbaine de Madaoua (Rép. du Niger. Mémoire d'Ingénieur p.45. Institut Polytechnique Rural de Formation et de Recherche Appliquée (IPR/IFRA).*





© CORAF 2023

7 Avenue Bourguiba  
B.P. 48, CP 18523, Dakar, RP Senegal  
Tel: +221-33 869 96 18



[infos@coraf.org](mailto:infos@coraf.org)  
[www.coraf.org](http://www.coraf.org)



9 782493 094025