



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par *l'Institut National Polytechnique de Toulouse*
Discipline ou spécialité : *Sciences des Agroressources*

Présentée et soutenue par **Gbénonchi MAWUSSI**

Le 17 décembre 2008

Titre :

Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (*Hypothenemus hampei* Ferrari).

JURY

Mme Françoise SILVESTRE,	Professeur	Présidente
M. Guy LEMPERIERE,	Professeur	Rapporteur
M. Farid CHEMAT,	Professeur	Rapporteur
M. Eric PINELLI,	Professeur	Membre
M. Kossi H. KOUMAGLO,	Professeur	Membre
M. Gérard VILAREM,	Ingénieur de Recherche HDR	Membre
M. Georges MERLINA,	Ingénieur d'Etudes HDR	Membre
M. Komla SANDA,	Professeur	Membre

Ecole doctorale : *Sciences de la Matière*
Unité de recherche : *EcoLab UMR 5245 - LCA*
Directeur(s) de Thèse : *Georges MERLINA, Komla SANDA*

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche de cette thèse ont été co-dirigés par Professeur Komla SANDA et Dr Georges MERLINA, Ingénieur-d'Etudes, Habilité à Diriger des Recherches (HDR) en périodes alternatives de 8 mois par an au Togo et les 4 autres mois en France dans le cadre d'une convention de cotutelle de thèse signée entre l'Université de Lomé (UL) et l'Institut National Polytechnique de Toulouse (INPT) dont je tiens à remercier les autorités administratives respectives sans lesquelles ce travail n'aurait pu se réaliser.

Mes séjours successifs et mes travaux de recherche en France n'auraient pu aboutir sans l'appui financier du Gouvernement Français. J'ai bénéficié de la bourse d'alternance du Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) de Lomé dont la gestion a été assurée par l'Egide. Je remercie chaleureusement toute l'équipe du SCAC et de l'Egide pour les nombreux services rendus. Je pense tout particulièrement à Mesdames Bernadette GALY et Gisèle BETOU de la Délégation Régionale Egide Midi-Pyrénées/Aquitaine pour m'avoir toujours bien accueilli à Toulouse.

J'exprime toute ma reconnaissance au Professeur Komla SANDA, Enseignant Chercheur, Responsable de l'Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale et Directeur de l'Ecole Supérieure d'Agronomie - Université de Lomé, pour m'avoir proposé le sujet de thèse, avoir su constamment orienter mes recherches et m'accorder une grande confiance et liberté de travail, sans omettre surtout ses compétences scientifiques qui m'ont aidé à mener à bien cette étude.

Mes plus vifs remerciements vont au Dr Georges MERLINA, Ingénieur d'Etudes, Habilité à Diriger des Recherches, Enseignant Chercheur, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, EcoLab, UMR 5245 CNRS-UPS-INPT, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et co-dirigé cette thèse ; pour tout son dynamisme, ses approches scientifiques très élaborées ; pour l'aide précieuse et la patience dont il a fait preuve malgré les connaissances plutôt légères que j'avais sur les manipulations en chromatographie.

Cette thèse a bénéficié d'une collaboration multiforme du Dr Gérard VILAREM, Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET). Il a consacré son temps à relire attentivement tout ce manuscrit. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour son appui scientifique, ses précieux conseils et son aide financière qui m'a permis de renouveler mes deux dernières inscriptions en thèse à l'INPT. Je suis très heureux qu'il ait accepté de faire partie du jury d'examen de cette thèse.

J'adresse mes vifs remerciements à SYLVESTRE Françoise, Professeur, Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET) pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'évaluer mon travail de thèse et de présider le jury d'examen.

Je tiens à remercier tout particulièrement Eric PINELLI, Professeur, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, EcoLab, UMR 5245 CNRS-UPS-INPT pour ses précieux conseils qui m'ont été d'un grand profit et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de participer à ce jury et de juger ce travail.

Je remercie vivement Guy LEMPERIERE et Farid CHEMAT qui ont accepté de juger ce travail et d'en être les rapporteurs. Leurs remarques et suggestions contribueront à améliorer la qualité de ce document, je leur en suis très reconnaissant.

Je suis très sensible à la présence dans ce jury du Professeur Honoré Kossi KOUMAGLO, Enseignant Chercheur à la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé marquant ainsi l'intérêt de ce travail au sein de la communauté scientifique du Togo.

J'ai acquis la technique de conduite des tests biologiques dans le laboratoire de Phytopharmacie et Médiateurs chimiques de l'INRA-Versailles sous la responsabilité du Dr Robert DELORME à qui j'exprime toute ma gratitude pour son appui matériel et son approche scientifique très élaborée, je pense à tout le personnel du Laboratoire particulièrement à Catherine Teinturier, Pierre et Sophie.

J'exprime ma reconnaissance au Prof. Jean-Claude REVEL pour son appui technique et scientifique dans les travaux d'analyse minéralogique des sols.

Il va sans dire que rien n'aurait été possible sans les fructueux échanges de courriers entre Professeur Komla SANDA et Dr Luc RIGAL, Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET) qui ont abouti à mon acceptation dans les divers laboratoires en France. Ma profonde reconnaissance va au Dr Luc RIGAL qui a su me re-motiver et me soutenir dans les moments difficiles à l'INP-Toulouse.

Je tiens à remercier Professeur Koffi AKPAGANA, 2^{ème} Vice Président de l'Université de Lomé, Enseignant Chercheur à la Faculté des Sciences pour son soutien sans faille et permanent des années de thèse ; ses conseils m'ont été d'un grand profit.

Dr Kofi AGBEKO, Enseignant Chercheur, ex-Directeur de l'Ecole Supérieure d'Agronomie – Université de Lomé, a guidé mes premiers pas dans la communauté scientifique, je tiens à lui exprimer mes remerciements pour ses précieux conseils.

Je remercie Dr Christine Renaud, Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET) pour son appui technique et scientifique.

Je tiens à remercier les Professeurs Antoine GASET et Elisabeth BORREDON qui ont autorisé mes manipulations dans le Laboratoire de Chimie Agro-industrielle.

Je pense à Messieurs J.R. BAILLY et Jérôme SILVESTRE pour leur amitié et appui scientifique.

Mes plus vifs remerciements vont aux amis et collègues pour leur accueil et leur disponibilité dont j'ai parfois peut-être abusé. Je pense à Michel LEGAL, Didier, Antoine, Jérôme, Eric, Marie-Christine TALOU, Virginie, Cathy, Anne, Géraldine, Muriel, Florina, Céline, Philippe, Patrick et Thierry à LCA – ENSIACET.

Toute mon amitié à Damien DEVAULT avec qui j'ai partagé le laboratoire à l'ENSAT, échangé tant de discussions fructueuses et à qui j'ai pu me confier à des moments difficiles. Il m'a plusieurs fois apporté son assistance technique. Je garde de bons souvenirs de son épouse Marie-Josèphe et de ses bons petits plats.

Mes sincères remerciements vont à Carole CASTAING pour son aide inestimable puis à Victor NDIRA, Annik et Geoffrey pour leur franche collaboration dans les laboratoires de l'ENSAT.

J'exprime ma reconnaissance à Amen Y. NENONENE qui a su apporter sa contribution à la réalisation de ce travail à Toulouse et avec qui j'ai partagé mes séjours en France et à Sophie SAMBOU pour sa sincère collaboration.

Koffi Koba et Agnassim BANITO ont consacré leur temps à relire attentivement tout ou partie de ce manuscrit et redonner rigueur à ma rédaction. Je leur exprime toute ma reconnaissance pour l'intérêt scientifique qu'ils ont accordé à ce travail.

C'est ici l'occasion de témoigner toute ma reconnaissance à mon épouse Victorine, à mes enfants Sénagnon, Elie et Edem, à mon petit frère Pierre Yaho MAWUSSI et à mon beau frère Bonoukpoè Mawuko SOKAME qui ont supporté mes humeurs dépressives des années de thèse.

La réalisation de cette thèse n'aurait jamais été possible sans la contribution de toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont supporté, encouragé et aidé d'une manière ou d'une autre. Merci à toutes et à tous.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Les travaux de recherche de cette thèse ont fait l'objet de publication d'articles dans des revues scientifiques à comité de lecture et de présentations à des colloques et journées scientifiques internationaux.

Articles publiés:

1- G. Mawussi, K. Sanda, G. Merlina, E. Pinelli. 2009. Assessment of average exposure to organochlorine pesticides in southern Togo from water, maize (*Zea mays*) and cowpea (*Vigna unguiculata*). *Food Additives and Contaminants* 26 (3): 348-354

2- Gbénonchi Mawussi, Gérard Vilarem, Christine Raynaud, Georges Merlina Agbéklodji K. Gbongli, Komlan Wegbe, Komla Sanda. 2009. Chemical composition and insecticidal activity of *Aeollanthus pubescens* essential oil against coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* Ferrari) (*Coleoptera: Scolytidae*). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 12 (3): 327 - 332

Article en cours

Gbénonchi MAWUSSI, Jean Claude REVEL, Komla SANDA, Georges MERLINA, Eric PINELLI, Damien DEVAULT: "Persistent pesticides residues in coffee and cocoa growing soils in Togo".

Presentations aux colloques et journées scientifiques internationaux

1. G. Mawussi, A.K. Gbongli, K. Sanda, G. Vilarem, C. Raynaud, K. Wegbe, G. Merlina. "Les huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo : composition chimique et effet insecticide sur le scolyte des fruits du caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari)" 1^{er} Colloque des Sciences, Cultures et Technologies Université d'Abomey-Calavi (Cotonou/Bénin, 25 - 29 juin 2007).

2. Gbénonchi MAWUSSI, Komla SANDA, Georges MERLINA : "Evaluation du niveau de contamination des sols agricoles par les pesticides organochlorés au Togo" 10^{ème} Journées Scientifiques de la Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM (Cotonou/Bénin, 07 - 11 août 2007).
3. Gbénonchi MAWUSSI, Komla SANDA, Georges MERLINA, Eric PINELLI : "Evaluation du risque d'exposition des populations aux pesticides organochlorés par voie alimentaire au Togo". 11^{ème} Journées Scientifiques de la Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM (Lomé/Togo, 11 - 16 août 2008).
4. Gbénonchi MAWUSSI, Georges MERLINA, Komla SANDA, Eric PINELLI "Niveau de contamination des sédiments de la lagune de Lomé par certains pesticides organochlorés" 13^{ème} Journées Scientifiques Internationales de Lomé (Lomé/Togo, 20 - 24 octobre 2008).

Poster aux journées scientifiques internationales

1. Gbénonchi MAWUSSI, Komla SANDA, Jean-Claude REVEL et Georges MERLINA. "Propriétés physico-chimiques et minéralogiques des sols des stations de Kolo-copé, Notsé et Tové (Togo)" 12^{ème} Journées Scientifiques Internationales de Lomé (Lomé/Togo, 23 - 27 octobre 2006).

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
PREMIERE PARTIE : CONTEXTE DE L'ETUDE	
PREMIER CHAPITRE	
INSECTICIDES ORGANOCHLORES UTILISES DANS LES CULTURES DE CAFE, DE CACAO ET DE COTON AU TOGO ET ETAT DE CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE	
INTRODUCTION	5
1.1- APERÇU SUR LE TOGO	5
1.1.1- <i>Les ressources humaines et naturelles du Togo</i>	7
1.1.2 – <i>Les cultures de rente et vivrières du Togo</i>	12
1.1.3 - <i>La filière des pesticides au Togo</i>	12
1.2- CARACTERISTIQUES SUCCINCTES DES INSECTICIDES RETENUS.....	15
1.2.1- <i>Choix des insecticides organochlorés étudiés</i>	15
1.2.2 - <i>Le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane)</i>	16
1.2.3 - <i>L'aldrine</i>	17
1.2.4 - <i>La dieldrine</i>	17
1.2.5 - <i>L'endrine</i>	17
1.2.6- <i>L'endosulfan</i>	18
1.2.7– <i>L'heptachlore</i>	18
1.2.8 – <i>Le lindane</i>	18
1.3–CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE ...	18
1.3.1- <i>Contamination des sols</i>	18
1.3.2- <i>Contamination des eaux intérieures de l'Afrique</i>	19
1.3.3- <i>Contamination des sédiments</i>	21
1.3.4- <i>Contamination de l'air</i>	22
1.4–CONTAMINATION DES DENRES AGRICOLES ET ALIMENTAIRES EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE	22
1.4.1- <i>Contamination des denrées agricoles</i>	22
1.4.2- <i>Contamination des poissons</i>	25
1.4.3- <i>Contamination des plantes aquatiques</i>	25
1.4.4- <i>Contamination du lait maternel</i>	25
CONCLUSION	26

DEUXIEME CHAPITRE

PRINCIPES D'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES DANS LES MATRICES ENVIRONNEMENTALES, RISQUES LIES À L'EXPOSITION À CES TOXIQUES ET REGLEMENTATION

INTRODUCTION	27
2.1 - GENERALITES SUR LES METHODES D'ANALYSE DES PESTICIDES	27
2.1.1- <i>Le pré-traitement des échantillons</i>	28
2.1.2- <i>L'extraction des pesticides</i>	28
2.1.3- <i>La purification des extraits</i>	29
2.1.4- <i>L'identification et le dosage des pesticides</i>	29
2.2- QUELQUES RISQUES LIES À L'EXPOSITION AUX PESTICIDES	30
2.2.1- <i>Problèmes de santé liés aux pesticides en général</i>	30
2.2.2- <i>Les risques de santé liés à l'exposition aux pesticides organochlorés</i>	30
2.3 - LA REGLEMENTATION DES RESIDUS DE PESTICIDES	31
2.3.1- <i>Normes de Codex Alimentarius pour certains pesticides organochlorés</i>	31
2.3.2- <i>Normes de potabilité de l'eau</i>	33
2.3.3- <i>Dose Journalière Admissible</i>	34
2.3.4- <i>La législation dans le secteur des pesticides au Togo</i>	34
CONCLUSION.....	35

TROISIEME CHAPITRE

LES PLANTES AROMATIQUES ET LE NEEM, LA CAFEICULTURE, LE SCOLYTE DU CAFE (*Hypothenemus hampei* FERRARI) ET SES PARASITOÏDES *Cephalonomia stephanoderis* BETREM ET *Phymastichus coffea* LASALLE

INTRODUCTION	36
3.1- CARACTERISTIQUES BOTANIQUES ET UTILISATIONS DES PLANTES ETUDIEES	37
3.1.1- <i>Aeollanthus pubescens</i> Benth.....	37
3.1.2- <i>Ocimum basilicum</i> L.	37
3.1.3- <i>Ocimum canum</i> Sims.....	38
3.1.4- <i>Ocimum gratissimum</i> L.	39
3.1.5- <i>Cymbopogon schoenanthus</i> L. Treng.....	39
3.1.6- <i>Le neem (Azadirachta indica</i> A. Juss).....	40
3.2- FRACTIONS DES PLANTES A PROPRIETES INSECTICIDES	41
3.2.1- <i>Les huiles essentielles</i>	41
3.2.2- <i>L'huile de graines de neem</i>	42
3.3- CAFEIER (<i>Coffea</i> sp.), SCOLYTE (<i>Hypothenemus hampei</i>) ET PARASITOÏDES <i>Cephalonomia stephanoderis</i> ET <i>Phymastichus coffea</i>	43
3.3.1- <i>La culture du café dans le monde</i>	43

3.3.1.1 - Les chiffres mondiaux	44
3.3.1.2 - Produits du café	44
3.3.1.3 - Dégâts et pertes causés par le scolyte du café	45
3.3.2- La biologie/physiologie de la plante, de son principal prédateur et des auxiliaires de culture associés.....	45
3.3.2.1- Le caféier (<i>Coffea sp.</i>).....	45
3.3.2.2 - Le scolyte des fruits du caféier (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari 1867).....	46
3.3.2.3 - Les deux principaux parasitoïdes du scolyte.....	47
3.3.2.3.1- Le parasitoïde <i>Cephalonomia stephanoderis</i> (Betrem, 1961)	47
3.3.2.3.2- Le parasitoïde <i>Phymastichus coffea</i> (LaSalle, 1990).....	48
3.3.3- les stratégies de protection du caféier	49
3.3.3.1- La lutte chimique.....	49
3.3.3.2- La lutte culturale, agronomique ou mécanique	49
3.3.3.3- La lutte biologique	49
3.3.3.4- La lutte intégrée	50
CONCLUSION.....	50

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

PREMIER CHAPITRE

NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SOLS, DES SEDIMENTS ET DES EAUX PAR LES INSECTICIDES ORGANOCHLORES UTILISES DANS LES CULTURES DE COTON, DE CAFE ET DE CACAO AU TOGO

INTRODUCTION	52
1.1- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SOLS AGRICOLES PAR LES PESTICIDES ETUDIES	53
1.1.1- MATERIEL ET METHODES	53
1.1.1.1 Sites de prélèvement	53
1.1.1.2 - Description de fosses pédologiques	54
1.1.1.3 - Analyses physico-chimiques et minéralogiques des sols.....	55
1.1.1.4- Analyse et quantification des résidus de pesticides	56
1.1.2- RESULTATS ET DISCUSSION	58
1.1.2.1- Caractéristiques des sols.....	58
1.1.2.2- Résidus de pesticides dans les sols étudiés	61
1.2- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SEDIMENTS PAR LES PESTICIDES	69
1.2.1- MATERIEL ET METHODE	69
1.2.1.1 - Sites de prélèvement de sédiments	69
1.2.1.2 – Conditionnement des sédiments	69
1.2.1.3- Mesure de carbone organique et d'azote total.....	71
1.2.1.4- Analyse et quantification des résidus de pesticides	71
1.2.2- RESULTATS ET DISCUSSION	72
1.2.2.1- Caractéristiques des sédiments.....	72
1.2.2.2- Résidus de pesticides dans les sédiments	73

1.3- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES EAUX DE PUITTS ET DE RIVIERES PAR LES PESTICIDES ETUDIES	80
1.3.1- MATERIEL ET METHODES	80
1.3.1.1- Sites d'échantillonnage	80
1.3.1.2- Analyse et quantification des résidus de pesticide	80
1.3.2- RESULTATS ET DISCUSSION	83
1.4- APPROCHE DE LA REPARTITION DES PESTICIDES ORGANOCLORES ETUDIES DANS LES SOLS, LES EAUX ET LES SEDIMENTS	86
1.4.1- Relation Sol/Eau.....	86
1.4.2 Relation Sol/Sédiment	88
CONCLUSION.....	89

DEUXIEME CHAPITRE

NIVEAUX DE CONTAMINATION DES DENREES AGRICOLES CAFE, CACAO, MAÏS ET NIEBE PAR LES PESTICIDES ETUDIES

INTRODUCTION	90
2.1- MATERIEL ET METHODES.....	90
2.1.1- Site d'étude et échantillonnage	90
2.1.2- Analyse et quantification des pesticides dans le maïs et le niébé.....	92
2.1.3- Analyse et quantification des pesticides dans le café et le cacao.....	93
2.2- RESULTATS ET DISCUSSION	93
2.2.1- Résidus de pesticides organochlorés dans les grains de maïs	93
2.2.2- Résidus de pesticides organochlorés dans les graines de niébé.....	95
2.2.3- Résidus de pesticides organochlorés dans le café et le cacao.....	96
2.2.4 –Approche présence de pesticides organochlorés dans la chaîne alimentaire	97
2.3- QUANTITE DE RESIDUS DE PESTICIDE ESTIMEE INGERABLE PAR JOUR PAR PERSONNE : EDI (Estimated Daily Intake).....	97
2.3.1- Le risque	98
2.3.1.1 - Bases du calcul du risque.....	98
2.3.1.2 - Apport quotidien en résidu de pesticide par les aliments étudiés	100
2.3.2- Calcul du pourcentage du DDT, dieldrine, heptachlore apporté par aliment	102
CONCLUSION.....	104

TROISIEME CHAPITRE

ETUDE CHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DES HUILES ESSENTIELLES DE CINQ PLANTES AROMATIQUES LOCALES ET DE L'ACTION DE L'HUILE DE NEEM SUR LE SCOLYTE (*Hypothenemus hampei*) ET SES PARASITOÏDES *Cephalonomia stephanoderis*, *Phymastichus coffea*

INTRODUCTION	105
3.1- ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE CINQ PLANTES AROMATIQUES LOCALES A EFFET INSECTICIDE	106
3.1.1- MATERIEL ET METHODES	106
3.1.1.1- Récolte des plantes	106
3.1.1.2- Extraction des huiles essentielles	107
3.1.1.3- Analyse chimique des huiles essentielles	107
3.1.2- RESULTATS ET DISCUSSION	108
3.2- POTENTIEL INSECTICIDE DES HUILES ESSENTIELLES ETUDIEES ET DE L'HUILE DE GRAINE DE NEEM SUR LE SCOLYTE DES FRUITS DU CAFEIER (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferrari 1867).....	113
3.2.1- MATERIEL ET METHODE	113
3.2.1.1- Cadre expérimental et matériel utilisé	113
3.2.1.2- Préparation de l'huile de graine de neem	113
3.2.1.3- Collecte des insectes	114
3.2.1.4- Préparation des doses de matières actives	114
3.2.1.5- Conduite des essais biologiques en laboratoire	115
3.2.1.6- Analyse statistique des données	116
3.2.2- Effet de dose sur la mortalité d' <i>Hypothenemus hampei</i>	118
3.2.2.1- Dose – réponse (comparaison verticale)	119
3.2.2.1.2- Produit et dose – réponse (comparaison linéaire)	120
3.2.2.2- Effet des produits et doses sur les parasitoïdes.....	121
3.2.2.2.1- Mortalité du parasitoïde <i>Phymastichus coffea</i>	121
3.2.2.2.2- Mortalité du parasitoïde <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	122
3.2.2.3 - La dose létale causant 50 % de mortalité des populations d' <i>Hypothenemus hampei</i> et du parasitoïde <i>Cephalonomia stephanoderis</i> soumises aux tests	123
3.2.2.3.1 - La dose létale causant 50 % de mortalité dans la population de scolyte ... (<i>Hypothenemus hampei</i>)	123
3.2.2.3.2 - La dose létale tuant 50 % de la population de <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	124
3.2.2.3.3- Effet produit-dose comparé sur <i>Hypothenemus hampei</i> et son parasitoïde <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	124
CONCLUSION.....	126
CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES.....	128
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	133

- ANNEXE 1-	155
LISTE DE QUELQUES METHODES D'ANALYSE NORMALISEES	155
1.1- Prélèvement ou échantillonnage d'eau.....	155
1.2- Prélèvement ou échantillonnage de sol	156
1.3- Pré-traitement des échantillons de sol.....	156
1.4- Dosage de pesticides organochlorés et de polychlorobiphényles	157
1.4.1- AFNOR – Norme NF ISO 6468 (1997)	157
1.4.2- AFNOR – Norme NF ISO 10382 (mars 2003)	158
1.4.3- AFNOR - XP X 33-012 (2000).....	159
1.4.4- MA. 403 – P. Ocl 4.0 (CEAEQ, 2002).....	160
1.4.5- EPA METHOD 8080A (1994).....	161
1.4.6- EPA METHOD 8081 (1994)	162
1.4.7- EPA METHOD 8082 (1996)	163
1.4.8- EPA METHOD 8270D (1998).....	164
1.4.9- EPA METHOD 8250 (1998)	165
- ANNEXE 2 -	166
ANALYSE MINERALOGIQUE DES ARGILES PAR DIFFRACTOMETRIE X	166
2.1- Première étape.....	166
2.2- Deuxième étape.....	166
2.3- Troisième étape.....	166
- ANNEXE 3 -	170
CARACTERISTIQUES DE L'HUILE DE GRAINE DE NEEM	170
3.1- Données de la littérature	170
3.1.1- Caractéristiques chimiques	170
3.1.2- Caractéristiques physiques.....	170
3.2- Caractéristiques chimiques de l'huile de graine de neem étudiée.....	170
- ANNEXE 4 -	172
PRINCIPALES ETAPES DU PROGRAMME DE CALCULS LOG-PROBIT	172

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1- Altimétrie et découpage administratif du Togo.....	6
FIGURE 2- Carte des précipitations et températures moyennes du Togo	9
FIGURE 3- Cartes des sols du Togo.....	11
FIGURE 4- Evolution pondérale des importations de pesticides au Togo 2000 - 2005	14
FIGURE 5- Evolution en valeur F cfa des importations de pesticides 2000 - 2005	14
FIGURE 6- Plant d' <i>A. pubescens</i> BENTH.....	37
FIGURE 7- Plants de basilic (<i>O. basilicum</i> L.).....	38
FIGURE 8- Plant de basilic blanc (<i>O. canum</i> SIMS)	38
FIGURE 9- Plant de basilic salulaire (<i>O. gratissimum</i> L.)	39
FIGURE 10- Plants de verveine des indes (<i>C. schoenanthus</i> L. SPRENG.)	40
FIGURE 11- Plant et fruits du neem ou margousier (<i>Azadirachta indica</i> A. JUSS).....	41
FIGURE 12- Aire de dispersion des plantations caféières dans le monde.....	44
FIGURE 13- Plant et fruits du caféier.....	46
FIGURE 14- Scolytes adultes du café : femelle et mâle	46
FIGURE 15- Adulte du parasitoïde <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	48
FIGURE 16- Adulte du parasitoïde <i>Phymastichus coffea</i>	48
FIGURE 17- Carte des zones agro-écologiques : points d'échantillonnage de sol.....	54
FIGURE 18- Profils pédologiques examinés sous les cultures de coton, café et cacao.....	59
FIGURE 19- Carte de la ville de kpalimé illustrant les points de prélèvement de sédiments	70
FIGURE 20- Carte des zones agro-écologiques : points d'échantillonnage d'eau	82
FIGURE 21- Carte des zones agro-écologiques illustrant les points d'échantillonnage de denrées agricoles	91
FIGURE 22- Pourcentage de résidus de DDT, de dieldrine et d'heptachlore époxyde apporté par le maïs, le niébé et l'eau de boisson	103
FIGURE 23- Schéma du dispositif d'extraction d'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau.....	107
FIGURE 24- Formules développées et le n° CAS des principaux constituants majoritaires des huiles essentielles étudiées	112
FIGURE 25- Matériel utilisé en tests biologiques : ① boîte d'élevage contenant des cerises, ② caisse d'émergence et ③ trois aspirateurs à bouche pour la récupération des insectes émergeant	115
FIGURE 26- Courbe sigmoïde dose – réponse.....	117
FIGURE 27- Mortalité en % d' <i>Hypothenemus hampei</i> en fonction des doses et produits testés	119
FIGURE 28- Mortalité de <i>Cephalonomia stephanoderis</i> en fonction des produits et doses	123
FIGURE 29- Graphiques issus de l'analyse minéralogique des argiles de sols étudiés	167

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1- Structure, formule et numéro d'enregistrement CAS des pesticides étudiés	16
TABLEAU 2- Quelques données sur la contamination des sols en Afrique	19
TABLEAU 3- Quelques données sur la contamination des eaux de robinet, de puits et de la lagune à Lomé	20
TABLEAU 4- Quelques données sur la contamination par lindane, DDT et ses métabolites des eaux intérieures de l'Afrique	21
TABLEAU 5- Quelques données sur la contamination par aldrine, dieldrine, heptachlore et endosulfan des eaux intérieures de l'Afrique	21
TABLEAU 6- Contamination de sédiments des eaux intérieures de l'Afrique	22
TABLEAU 7- Contamination par le DDT de sédiments des eaux intérieures de l'Afrique	22
TABLEAU 8- Quelques données sur la contamination de légumes et céréales à Lomé	23
TABLEAU 9- Quelques données sur la contamination des produits vivriers au Togo	24
TABLEAU 10- Contamination des tubercules, fruits et légumes en Afrique de l'Ouest	24

TABLEAU 11- Contamination des poissons des eaux intérieures de l’Afrique	25
TABLEAU 12- Quelques données de contamination du lait maternel	26
TABLEAU 13- LMRE pour le DDT dans les aliments végétaux du Codex Alimentarius	31
TABLEAU 14- LMRE d’aldrine/dieldrine	32
TABLEAU 15- LMR d’endosulfan	32
TABLEAU 16- LMRE d’endrine	32
TABLEAU 17- LMR du lindane	32
TABLEAU 18- LMRE d’heptachlore et de son époxyde	33
TABLEAU 19- Limites Maximales du Référentiel Français	33
TABLEAU 20- Normes de qualité de l'eau de consommation	33
TABLEAU 21- D.J.A. recommandés par la commission mixte FAO/WHO	34
TABLEAU 22- Quelques propriétés physico-chimiques des sols de la zone cotonnière	60
TABLEAU 23- Quelques propriétés physico-chimiques des sols de la zone de café/cacao	60
TABLEAU 24- Teneurs moyennes des sols en résidus de pesticide dans la zone de coton	63
TABLEAU 25- Teneurs moyennes des sols en résidus de pesticide dans la zone de café et de cacao	64
TABLEAU 26- Données comparatives des teneurs en résidus de pesticides dans la littérature	66
TABLEAU 27- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols de coton	66
TABLEAU 28- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols de la zone café/cacao Sud	67
TABLEAU 29- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols de la zone café/cacao Nord	67
TABLEAU 30- Quantité relative des fractions de sédiment	72
TABLEAU 31- Teneur en carbone organique et azote total de fractions sableuse ($\varnothing > 63 \mu\text{m}$) et argilo-limoneuse ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$)	73
TABLEAU 32- Teneurs moyennes des sédiments en résidus de pesticides	74
TABLEAU 33- Quantité relative des fractions de sédiment et leur teneur en carbone organique total et en azote total	76
TABLEAU 34- Teneurs moyennes en résidus de pesticides par fraction de sédiment	77
TABLEAU 35- Rapport de la répartition d’un pesticide organochloré dans la fraction fine ou grossière d’un sédiment	79
TABLEAU 36- Teneurs moyennes en pesticides organochlorés des eaux de rivière Anié, fleuve Mono et des puits à Adéta	83
TABLEAU 37- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols indicatifs de relation sol-eau	87
TABLEAU 38- Ratios molécules mères / métabolites dans les eaux indicatifs de relation sol-eau	88
TABLEAU 39- Ratios molécules mères / métabolites dans les sédiments	89
TABLEAU 40- Teneurs moyennes des grains de maïs et niébé en résidus de pesticides	94
TABLEAU 41- Comparaison des données de contamination du maïs (<i>Zea mays</i>) au Togo	94
TABLEAU 42- Comparaison des données de contamination du niébé (<i>Vigna unguiculata</i>) au Togo	95
TABLEAU 43- Teneurs moyennes de graines de café et de fèves de cacao en résidus de pesticides	96
TABLEAU 44- Apport quotidien en résidu de pesticides par chaque aliment	100
TABLEAU 45- Apport quotidien en résidu de pesticides par l’ensemble des aliments compare a la d.j.a. de la FAO et de l’OMS	101
TABLEAU 46- Principaux constituants d’huiles essentielles de <i>Aeollanthus pubescens</i> et de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	110
TABLEAU 47- Principaux constituants d’huiles essentielles d’ <i>Ocimum basilicum</i> , d’ <i>Ocimum canum</i> et d’ <i>Ocimum gratissimum</i>	111
TABLEAU 48- Effet des différentes doses d’huiles essentielles, d’huile de neem et de l’endosulfan sur la mortalité d’ <i>H. hampei</i>	118

TABLEAU 49- Effet des différentes doses d'huiles essentielles, d'huile de neem et de l'endosulfan sur la mortalité de <i>P. coffea</i>	121
TABLEAU 50- Effet dose de cinq huiles essentielles, de l'huile de graine de neem et de l'endosulfan sur la mortalité de <i>Cephalonomia stephanoderis</i>	122
TABLEAU 51- DL ₅₀ d'huiles essentielles, de l'huile de graine de neem et de l'endosulfan ..	125
TABLEAU 52- Composition chimique d'huile de neem (données de littérature).....	170
TABLEAU 53- Composition en acides gras et glycérides d'huile de neem (données du présent travail)	171
TABLEAU 54- Composition des acides gras d'huile de neem (données du présent travail) ...	171
TABLEAU 55- Composition des triglycérides d'huile de neem (données du présent travail).	171

ABREVIATIONS

ADI: Acceptable Daily Intakes

AFNOR : Association de Normes Françaises

ANOVA : Test statistique de comparaison de variances multiples

ASE : Extraction accélérée par solvant (Accelerated Solvent Extraction)

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

CAS: Chemical Abstracts Service

CCE : capacité d'échange cationique

C/N : rapport carbone organique azote total

CPCS : Commission Pédologique de Cartographie des Sols

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

DJA : Dose Journalière Admissible

DL₅₀ : Dose létale, qui administrée à des animaux de laboratoire en tue 50 % dans un délai déterminé

DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane

DDD : 1,1-dichloro-2,2-bis-(4-chlorophényl)éthane

DDE : 1,1-bis-(chlorophényl)-2,2-dichloroéthane

ECD : Electron Capture Detector (Détecteur par capture d'électron)

EDI : Estimated Daily Intake (quantité de résidu estimée ingérable par jour)

ENSAT : Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse

EPA : *Environmental Protection Agency of the United-States* (Agence de Protection de l'Environnement, USA)

EU: European Union

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture)

FID : Flame Ionization Detector (Détecteur par ionisation de flamme)

GC : Gas Chromatography

GTZ : Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (Coopération Technique Allemande)

HPLC : chromatographie en phase liquide haute performance

INPT : Institut National Polytechnique de Toulouse

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

LCA – ENSIACET : Laboratoire de Chimie Agro-industrielle de l'École Nationale Supérieure des Ingénieurs en Arts Chimiques et Technologiques de Toulouse

LMR : limites maximales de résidus de pesticides pour les pesticides homologués

LMRE : limites maximales de résidus de pesticides d'origine étrangère pour les pesticides non homologués et les pesticides polluants organiques persistants

MS : Mass spectrometer (**SM** Spectromètre de masse)

OC : Organochlorés

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCB: PolyChloroByphényls

POP: Polluants Organiques Persistants

PNUE : Programme des Nations Unies pour l'Environnement

SIM : Specific Ion Mode (Mode ion spécifique)

SM : Spectrométrie de masse

UL : Université de Lomé

UNEP: United Nations Environmental Program

WHO: World Health Organisation

RESUME / ABSTRACT

Le bilan environnemental de l'utilisation des insecticides organochlorés dans la culture de coton, café et cacao au Togo par CPG/SM révèle la présence de DDT, aldrine, dieldrine, endrine, heptachlore, lindane et endosulfan dans les sols, les sédiments, le maïs, le niébé, le café et le cacao à des concentrations de 0,18 à 160 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et dans l'eau de rivières et de puits à des teneurs de 0,02 à 0,40 $\mu\text{g.L}^{-1}$ excédant les limites maximales tolérables recommandées par la FAO, l'OMS et l'Union Européenne. Des tests biologiques en laboratoire indiquent que les huiles essentielles de cinq plantes aromatiques locales et l'huile de graine de neem ont une activité insecticide sur le scolyte des fruits du caféier (*Hypothenemus hampei* F.) comparable à celle de l'endosulfan, l'insecticide chimique. La sensibilité du scolyte à ces extraits végétaux dépasse de loin celle du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* Betrem exprimant ainsi leur sélectivité. L'huile de graine de neem s'est révélée la plus intéressante. Ces résultats sont prometteurs pour que la recherche entamée dans ce domaine se poursuive.

Environmental assessment of organochlorinated insecticides used in cotton, coffee and cocoa culture growing in Togo by GC/MS analyses revealed the presence of organochlorinated pesticides such as DDT, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlor, lindane and endosulfan in soils, sediments, maize, cowpea, coffee and cocoa (0.18 - 160 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) and in water of rivers and well used as drinking water (0.02 - 0.40 $\mu\text{g.L}^{-1}$) exceeding the maximum residue set by limit of FAO, WHO and the European Union. Bioassays in laboratory indicated insecticidal activities of five local aromatic plant essential oils and neem seed oil against coffee berry borer (*Hypothenemus hampei* F.) comparable to that of endosulfan, a commercial chemical insecticide. The sensibility of *H. hampei* towards plant extracts was higher than that of the parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* Betrem indicating their selectivity. Neem seed oil was the most interesting. These results on the effectiveness of local plants extracts to fight coffee berry borer were promising and the research started in this field should be continued.

Mots-clés / Key words

Bilan environnemental, pesticides organochlorés, plantes aromatiques locales, huiles essentielles, huile de graine de neem, activité insecticide, scolyte du café, parasitoïdes.

Environmental assessment, organochlorinated pesticides, local aromatic plants, essential oils, neem seed oil, insecticidal activity, coffee berry borer, parasitoids

INTRODUCTION GENERALE

L'essor prodigieux de l'industrie chimique au 20^{ème} siècle a profondément et irréversiblement modifié les modes de production et de consommation tant dans les régions technologiquement et économiquement avancées que dans les régions moins nanties de la planète. Plus particulièrement, la production massive et l'usage généralisé des produits chimiques en agriculture notamment les engrais minéraux et les produits phytosanitaires ont rendu possible l'intensification de l'agriculture avec un accroissement spectaculaire des rendements des cultures.

Au Togo, comme ailleurs en Afrique, les produits phytosanitaires ont été introduits, à partir de l'époque coloniale, principalement pour la protection des cultures de rente destinées à la métropole. Ainsi, des insecticides organochlorés dits « de première génération » comme aldrine, endrine, DDT, dieldrine, heptachlore, lindane, entre autres ont été massivement utilisés dans la lutte chimique contre les ravageurs du caféier, du cacaoyer et du cotonnier (Oloude *et al.*, 1995 ; Kolani *et al.*, 2003).

Parallèlement à leurs effets bénéfiques dans la défense des cultures et la protection des récoltes, ces pesticides organochlorés expriment en sourdine leurs effets néfastes sur la santé humaine et environnementale, effets nuisibles rapidement établis avec des preuves certaines par les scientifiques (Hickey *et al.*, 1966 ; Saiyed *et al.*, 2003 ; Lemaire *et al.*, 2004). En effet, outre leur toxicité intrinsèque, la plupart de ces pesticides sont persistants (résistance aux dégradations chimique, photochimique et biologique) et s'accumulent dans l'environnement et chez l'Homme à travers la chaîne alimentaire, provoquant ainsi des pathologies diverses et autres désordres physiologiques souvent très sévères (Fisk *et al.*, 2001 ; Oliva *et al.*, 2001 ; Baldi, 2003). Ceci a conduit à des réglementations plus ou moins dures visant la restriction de leur utilisation ou leur interdiction totale pure. Ainsi, ils ont été progressivement remplacés pour la plupart par des matières actives de type organophosphorés, carbamates, pyrèthrinoïdes de synthèse, régulateurs de croissance hormonaux, antiappétants etc.

Depuis les années 1970, le Togo a ainsi arrêté l'homologation de la plupart des pesticides organochlorés pour se conformer notamment aux recommandations de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Toutefois, l'endosulfan, classé aujourd'hui au plan international parmi les substances toxiques

persistantes, reste autorisé d'utilisation au Togo pour la lutte contre des ravageurs majeurs du caféier et du cotonnier devenus résistants aux pyréthrinoides de synthèse.

La conscience environnementale relativement à la question de la nocivité des substances chimiques qui s'est progressivement développée durant les toutes dernières décennies du siècle écoulé pose aujourd'hui avec une certaine gravité la question de la sécurité chimique qui commande une approche de lutte intégrée associant différentes techniques et méthodes comme dans le domaine de la gestion des ravageurs des cultures et des vecteurs de maladies. Dans un même temps, le souci de contrôler la qualité des différents compartiments environnementaux par rapport à leur niveau de contamination par des substances chimiques toxiques tels que les pesticides, les engrais et les autres polluants est devenu une préoccupation internationale majeure notamment depuis la Conférence de Rio en 1992 sur le développement et l'environnement.

Nous inscrivant dans ces préoccupations internationales et ayant en vue leurs implications dans le contexte spécifiquement togolais, il nous est apparu pertinent de nous interroger sur le bilan environnemental de l'utilisation passée et actuelle de certains pesticides organochlorés dans les cultures d'exportation et sur la faisabilité du recours à une méthode basée sur des molécules naturelles d'origine végétale qui soit efficace dans le contexte local pour lutter contre le scolyte du fruit de caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari 1867) devenu résistant à l'endosulfan, molécule encore utilisée aujourd'hui contre ce ravageur au Togo bien qu'obsolète au plan international.

Cette double interrogation nous a amené à entreprendre dans le cadre de ce travail une recherche sur le bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, de café et de cacao au Togo en termes d'évaluation des risques d'exposition des populations aux pesticides polluants organiques persistants (POPs) d'une part et sur le pouvoir insecticide du neem (*Azadirachta indica* A. Juss) et de cinq plantes aromatiques à huiles essentielles issues de la flore locale comme recherche d'alternatives de lutte contre le scolyte du fruit de caféier d'autre part. Pour atteindre ce double objectif, les objectifs spécifiques suivants ont été envisagés :

- rechercher dans les sols sous cultures de cotonnier, de caféier et de cacaoyer, dans les eaux de puits et de rivières et les sédiments, dans les grains de maïs, les

graines de niébé et de café puis dans les fèves de cacao les résidus d'insecticides organochlorés d'utilisation connue ainsi que leur concentration,

- extraire les huiles essentielles des parties aériennes d'*Aeollanthus pubescens* Benth, d'*Ocimum basilicum* L., d'*Ocimum canum* Sims, d'*Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) et de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae) et déterminer leurs compositions chimiques,
- évaluer en laboratoire les effets insecticides de ces huiles essentielles et de l'huile de graine de neem sur le scolyte du fruit de caféier *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867).

La première partie de ce document est consacrée au contexte de l'étude. Après une brève présentation de données générales sur le Togo, une justification du choix des pesticides organochlorés et quelques caractéristiques succinctes de chaque pesticide, sont exposés tour à tour une analyse des données existantes sur l'état de contamination de l'environnement par les pesticides ciblés, les généralités sur les méthodes d'analyse des pesticides, les risques liés à l'exposition aux pesticides, la réglementation des résidus de pesticides, une description botanique des plantes retenues pour l'étude, l'importance de la culture du café, la biologie du ravageur (*Hypothenemus hampei* Ferrari 1867) et de ses deux principaux parasitoïdes *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (1961) et *Phymasthichus coffea* Lasalle (1990) et les méthodes actuelles de lutte pour combattre le ravageur.

La deuxième partie expose les travaux du bilan environnemental axés sur le dosage des pesticides organochlorés dans les sols, les sédiments, les denrées agricoles et les eaux de rivières et de puits avant d'aborder l'étude d'évaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles extraites de cinq plantes aromatiques locales et celle de l'huile de graine de neem sur le scolyte des fruits du caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari). Cette deuxième partie décrit les méthodologies adoptées pour les différents objectifs de recherche et présente les observations expérimentales effectuées et leur analyse.

PREMIERE PARTIE :
CONTEXTE DE L'ETUDE

PREMIER CHAPITRE :

INSECTICIDES ORGANOCHLORES UTILISES DANS LES CULTURES DE CAFE, DE CACAO ET DE COTON AU TOGO ET ETAT DE CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE

INTRODUCTION

L'introduction de variétés sélectionnées de coton « Allen » et de nouveaux clones de café et de cacao a entraîné une utilisation généralisée des insecticides dans le secteur agricole au Togo. Plusieurs produits phytosanitaires ont été utilisés entre autres les insecticides organochlorés comme le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, le lindane et l'endosulfan (Oloude *et al.*, 1995 ; Kolani *et al.*, 2003).

Nous présenterons dans ce chapitre un aperçu sur le Togo, quelques caractéristiques des insecticides organochlorés faisant l'objet de cette étude et un état des lieux sur la contamination de l'environnement en Afrique subsaharienne.

1.1- APERÇU SUR LE TOGO

Situé sur la côte ouest de l'Afrique, le Togo a des frontières communes avec le Bénin à l'Est, le Burkina Faso au Nord et le Ghana à l'Ouest. Sa façade Sud s'ouvre sur 50 km sur le golfe de Guinée. Il s'étire sur environ 600 km suivant une direction nord-sud de la mer sur le continent entre les parallèles 6° et 11° de latitude Nord. Sa superficie est estimée à 56 600 km² (Gù-Konu *et al.*, 1981). Sur le plan administratif, le pays est découpé en cinq régions économiques du Sud au Nord : Région Maritime, Région des Plateaux, Région Centrale, Région de la Kara et Région des Savanes (Fig. 1).

La chaîne de l'Atakora qui s'étend sur 850 km depuis le littoral au Sud-Ouest d'Accra jusqu'au fleuve Niger traversant le Ghana, le Togo et le Bénin forme la chaîne des montagnes du Togo. Celle-ci prend le pays en écharpe sur environ 360 km séparant deux plaines, l'une dite orientale et l'autre occidentale. Les altitudes les plus élevées se situent entre Kpalimé (6°57' N) et Atakpamé (7°50' N). Elles atteignent en moyenne 800 m avec des sommets allant de 940 à 986 m (Gù-Konu *et al.*, 1981).

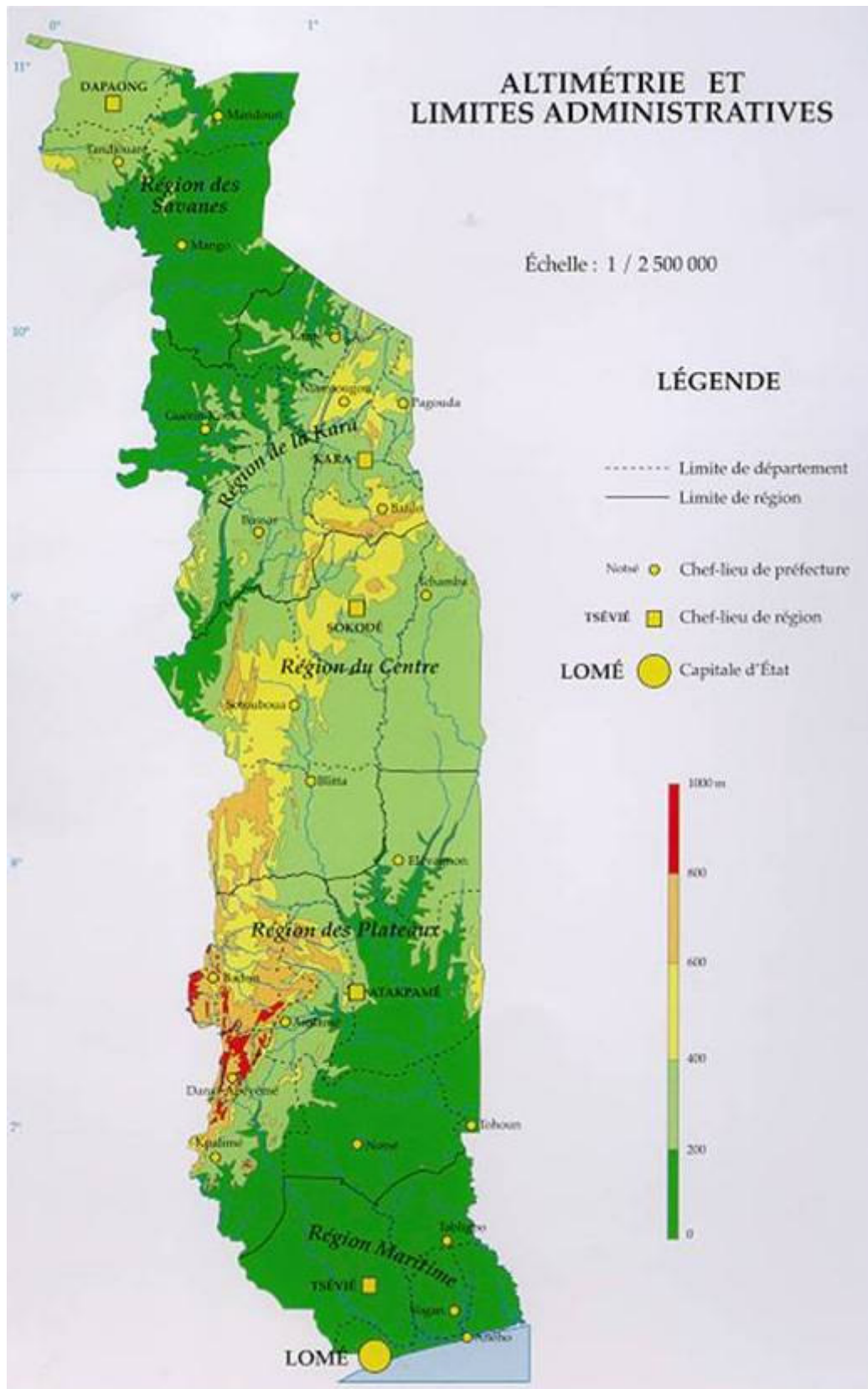


Figure 1- Altimétrie et découpage administratif du Togo (Gù-Konu *et al.*, 1981)

La plaine occidentale au Nord-Ouest de la chaîne se situe entre 8°50' N et 11° N. Elle correspond à la pénéplaine de l'extrême Nord-Ouest au relief de Cuesta et au bassin de la Volta assimilé à la plaine de l'Oti. Les pentes y sont naturellement très faibles.

La plaine orientale au Sud-Est de la chaîne s'étend entre 6°30' N et 9°20' N. Elle correspond au bassin du Mono qui présente quelques massifs isolés sur sa limite Ouest avec la chaîne de l'Atakora (Gù-Konu *et al.*, 1981). Elle se relève progressivement du Sud vers le Nord avec une pente moyenne de 1 %.

1.1.1- Les ressources humaines et naturelles du Togo

La population totale du Togo est estimée à environ 5 millions d'habitants en 2002 (Banque Mondiale, 2003).

L'hydrographie

Du point de vue hydrographique, trois bassins se partagent le pays :

- le bassin de la Volta au Nord que drainent le fleuve Oti et les rivières Koumongou, Kara et Mô,
- le bassin du Mono au Centre, entre les Monts Togo et le bassin sédimentaire côtier, irrigué par le fleuve Mono et les rivières Anié, Ogou, Amou, Amoutchou,
- le bassin sédimentaire côtier comprenant la lagune de Lomé et le Lac Togo dans lequel se jettent les rivières Zio et Haho.

A l'exception du fleuve Oti et des rivières du Nord, tous les cours d'eau relativement importants prennent leur source dans la dorsale de la chaîne de l'Atakora. Cette dorsale constitue un véritable château d'eau grâce à l'humidité de son climat et à l'imperméabilité de son substratum schisto-quartzitique. La densité du réseau hydrographique contribue à limiter le problème de l'alimentation en eau des populations (Gù-Konu *et al.*, 1981).

Le climat

Il existe deux types de climat au Togo : le climat soudano-sahélien au Nord caractérisé par l'alternance d'une saison des pluies et d'une saison sèche et le climat subéquatorial guinéen au Sud caractérisé par deux saisons de pluies en alternance avec deux saisons sèches d'inégales durées. Les températures moyennes annuelles varient de 26° C sur la chaîne des montagnes à 27° C au sud du pays et à 28° C dans l'extrême Nord. En fonction de la pluviométrie, les deux climats du Togo peuvent être subdivisés en cinq sous-climats (Fig. 2):

- le sous-climat subéquatorial côtier du type guinéen influencé par des courants marins froids, de 900 à 1000 mm de précipitations,
- le sous-climat subéquatorial guinéen de transition, entre les Monts Togo et le bassin sédimentaire côtier, aux précipitations comprises entre 1000 et 1200 mm,
- le sous-climat guinéen des montagnes, au sud de la chaîne, caractérisé par une pluviométrie de 1500 à 1600 mm et plus,
- le sous-climat tropical soudano-sahélien des montagnes, au nord de la chaîne, caractérisé par une pluviométrie moins élevée de 1300 à 1400 mm,
- le sous-climat tropical sahélien de plaine qui intéresse toute la partie nord du pays au-delà de la barrière montagneuse aux précipitations annuelles de 1100 à 1200 mm.

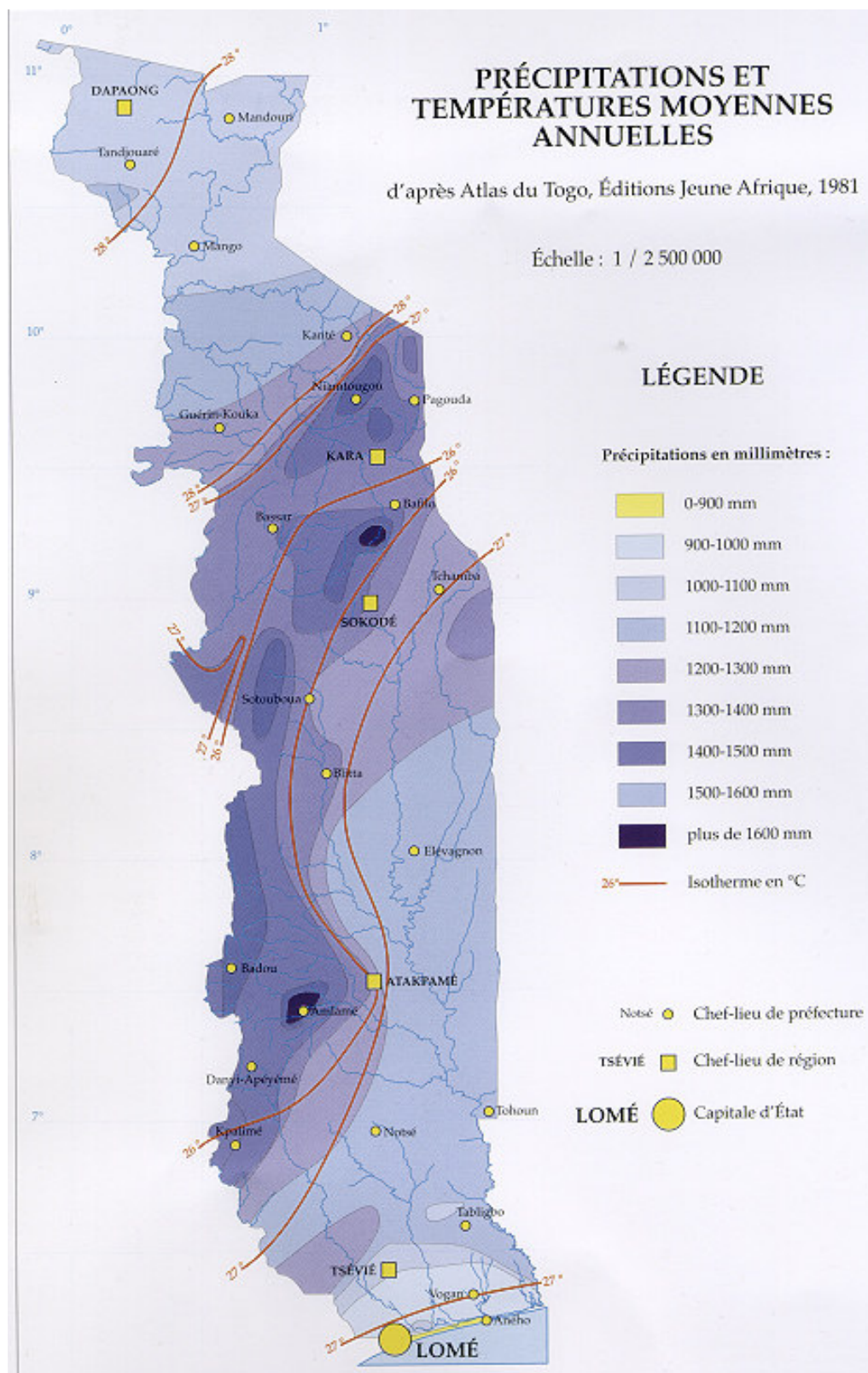


Figure 2- Carte des précipitations et températures moyennes du Togo (Gù-Konu *et al.*, 1981)

La pédologie

Au point de vue pédologique (Fig. 3), le Togo présente une diversité de sols liée à sa constitution géologique, à sa variabilité climatique et aux phénomènes d'érosion. Les sols ferrugineux tropicaux environ 50 % de l'étendue du territoire et les sols ferrallitiques 20 % (Lamouroux, 1969 ; Levêque, 1979) sont les plus représentés.

Les sols ferrugineux tropicaux sont localisés dans la zone cotonnière dans l'Est de la Région des Plateaux et dans les Régions Centrale, de la Kara et des Savanes. Leur valeur agronomique dépend de l'importance du concrétionnement, de l'induration et de la profondeur à laquelle se manifestent ces processus. Ils sont sableux et ont une faible capacité de rétention en eau et une susceptibilité à l'érosion hydrique. Généralement très exploités, leur teneur en matière organique est assez faible 0,8 à 1,5 % en surface. Le complexe argilo-humique est également faible 2 à 7 méq. Le pH est d'environ 5,8 à 6,0 en surface et 5,3 à 5,6 en profondeur. Les minéraux argileux sont soit à dominance de kaolinite, soit d'illite et rarement formés de montmorillonite (Lamouroux, 1969).

Les sols ferrallitiques sont représentés dans la zone de café et de cacao dans l'Ouest de la Région des Plateaux et dans la Région Maritime. Ils ont un profil relativement profond, uniforme et bien drainé, de couleur rouge. Ils possèdent des propriétés physiques favorables aux cultures mais sont relativement pauvres en éléments fertilisants. Les pH varient de 6 en surface à 5 en profondeur. Le taux de matière organique varie en fonction du couvert végétal jusqu'à 5 % sous forêt et 0,5 à 1 % sous culture. Les bases échangeables sont généralement assez faibles 2 à 5 méq, avec des taux de saturation de 25 à 40 % pouvant aller jusqu'à 60 et même 80 % quelques fois. Lamouroux (1969) rapporte que les types d'argiles minéralogiques sont la kaolinite associée à la goethite, l'illite et parfois des traces de gibbsite.

La végétation

La végétation est caractérisée par un paysage de forêt et un paysage de savane dont la répartition s'explique par les particularités géologiques, pédologiques et climatiques auxquelles s'ajoute l'influence humaine (défrichage, culture, feux de brousse et élevage).

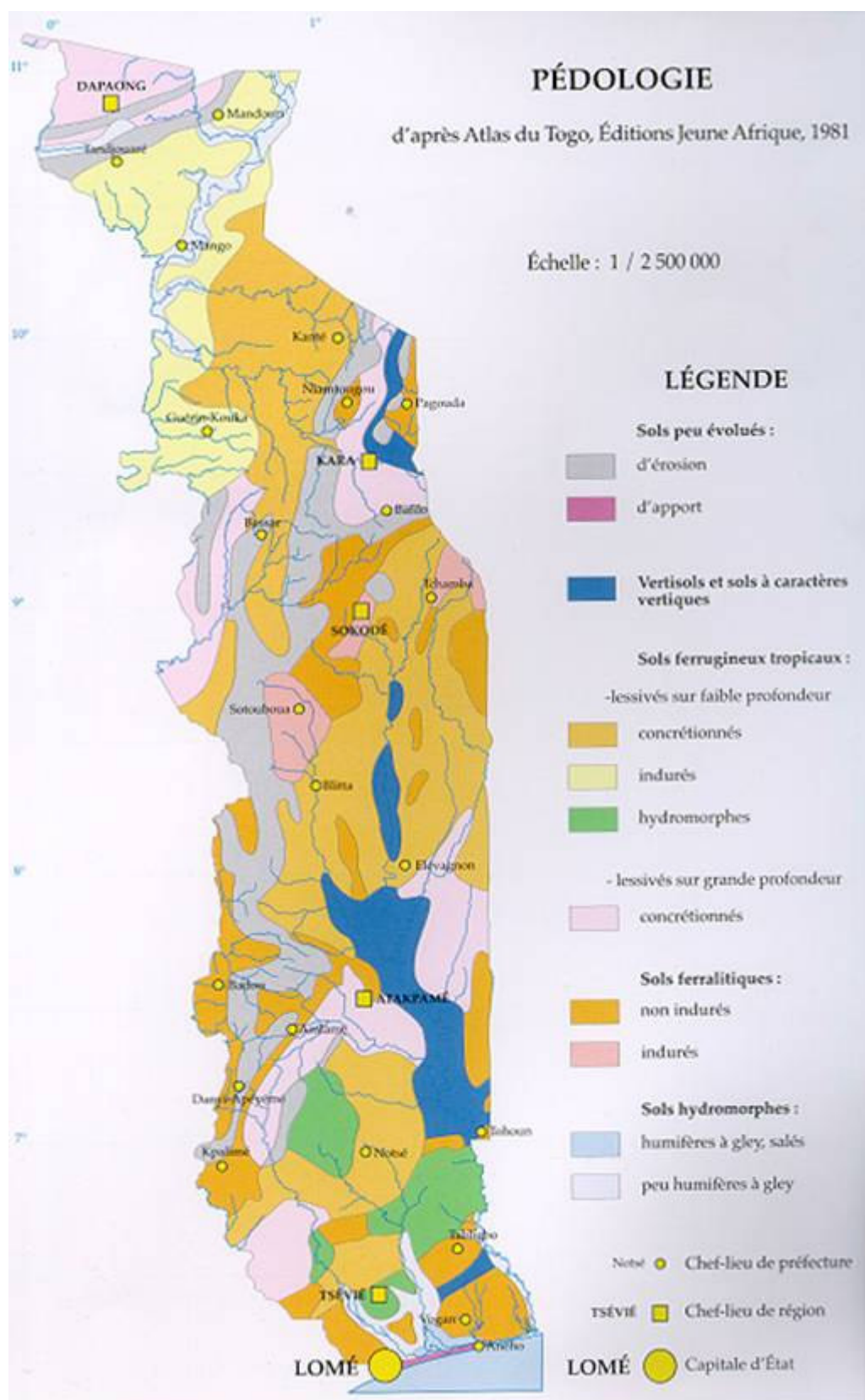


Figure 3- Cartes des sols du Togo (Gù-Konu *et al.*, 1981)

1.1.2 – Les cultures de rente et vivrières du Togo

Le secteur agricole occupe près de 75 % de la population active du Togo et contribue pour environ 38 % au Produit Intérieur Brut (PIB). Les principales cultures d'exportation sont le café, le cacao et le coton. Le café et le cacao sont des cultures pérennes pratiquées dans la zone forestière : Kloto (Kpalimé) et Litimé (Akposso) où elles couvrent environ 85 000 ha (ITRA, 2003). Quant au coton, sa culture connaît une expansion spectaculaire dans les zones de savane. La superficie de la culture cotonnière est évaluée à environ 190 000 ha par an (ITRA, 2003). Les principales cultures vivrières au Togo sont le maïs, le sorgho, le mil, le manioc, l'igname, la patate douce, le haricot, le voandzou et le pois d'angole. Les céréales prédominent largement et le maïs, cultivé en association avec presque toutes les autres cultures vient en tête. Les produits agricoles ont représenté 50 % des exportations totales en l'an 2000, soit 72,3 milliards de FCFA, soit 110 204 247 d'Euros (taux de change : 1 Euro = 656,05457 F CFA), dont 70 % pour le coton, 20 % pour le café et le cacao et 10 % pour l'ensemble karité, graines de coton, poissons et crustacés.

1.1.3 - La filière des pesticides au Togo

Les pesticides vendus et utilisés au Togo sont très variés. Les sociétés et les établissements privés importateurs de la place les livrent en gros aux structures d'encadrement des paysans et aux petits commerçants de détail qui en assurent la distribution (Oloudé *et al.*, 1995). Les petits commerçants de détail s'approvisionnent également au Nigeria, au Bénin et Ghana voisins. Certains sont ambulants et vont proposer leurs produits aux paysans à domicile ou sur les exploitations agricoles avec tous les problèmes de reconditionnement dans des flacons et sachets en plastique. A cela, s'ajoute le problème des produits obsolètes mal stockés, soumis au risque de vente frauduleuse et à tous les trafics transfrontaliers en dehors de tout contrôle. Il est pratiquement impossible de disposer de données fiables sur la nature réelle des pesticides en usage en milieu paysan à cause de la complexité des circuits de commercialisation.

Les principaux produits utilisés de 1960 à 1978 dans les cultures d'exportation (café, cacao et coton) au Togo étaient le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, le lindane et l'endosulfan (organochlorés) et le parathion-méthyl (organophosphoré). La

deltaméthrine, le cyperméthrine, le fenvalerate, etc. (pyréthrinoïdes), le triazophos, le profénofos, le chlorpyriphos-éthyl et le diméthoate (organophosphorés) étaient utilisés entre 1979 et 1995. A partir de 1995, débutat un nouveau programme de traitement contre *Helicoverpa armigera* (ravageur des capsules du cotonnier) et *Hypothenemus hampei* (ravageur des fruits du caféier) devenus résistants aux pyréthrinoïdes de synthèse. Cette option de lutte comprend les chloronicotiniles (acétamipride, imidaclopride), l'indoxocarbe, une oxadiazine et l'endosulfan, un organochloré.

L'évolution des importations de produits phytosanitaires au Togo dans la période de 2000 – 2005 (Figures 4 et 5) indique les quantités de différentes catégories de pesticides récemment utilisés. La plupart des produits phytosanitaires importés sont les insecticides qui comptent pour plus de 70 % du volume total et 27 % de la valeur totale du marché. Ensuite viennent les herbicides qui comptent pour 25 % du volume des importations et 63 % de la valeur totale du marché. Les fongicides représentent moins de 5 % du volume total et 10 % de la valeur du marché. L'importation des matières actives insecticides est en diminution de 2000 à 2002 puis augmente à partir de 2003 jusqu'en 2005 où on observe une nette hausse. La tendance pour les herbicides en 2002 est à la hausse. Toutefois, l'aspect général de la courbe montre une décroissance de leur importation au cours des dernières années. Les fongicides sont relativement les moins importés. La tendance pour la période 2001 - 2005 est à la baisse. Les pesticides les plus consommés au Togo sont les insecticides suivis d'herbicides. On retiendra dans l'ensemble que la consommation des pesticides dans le pays est en augmentation tendancielle.

Prenant en compte l'évolution tendancielle des importations sur les 15 dernières années, Kolani *et al.* (2003) ont proposé un modèle simplifié pour l'estimation des besoins futurs en pesticides pour le Togo (exprimés en kilogrammes) :

$$U_n = U_{2000} + 87866 \times n$$

où $U_{2000} = 1\,546\,580$ kg (valeur moyenne obtenue sur 15 ans entre 1986 et 2001)

n = nombre d'années.

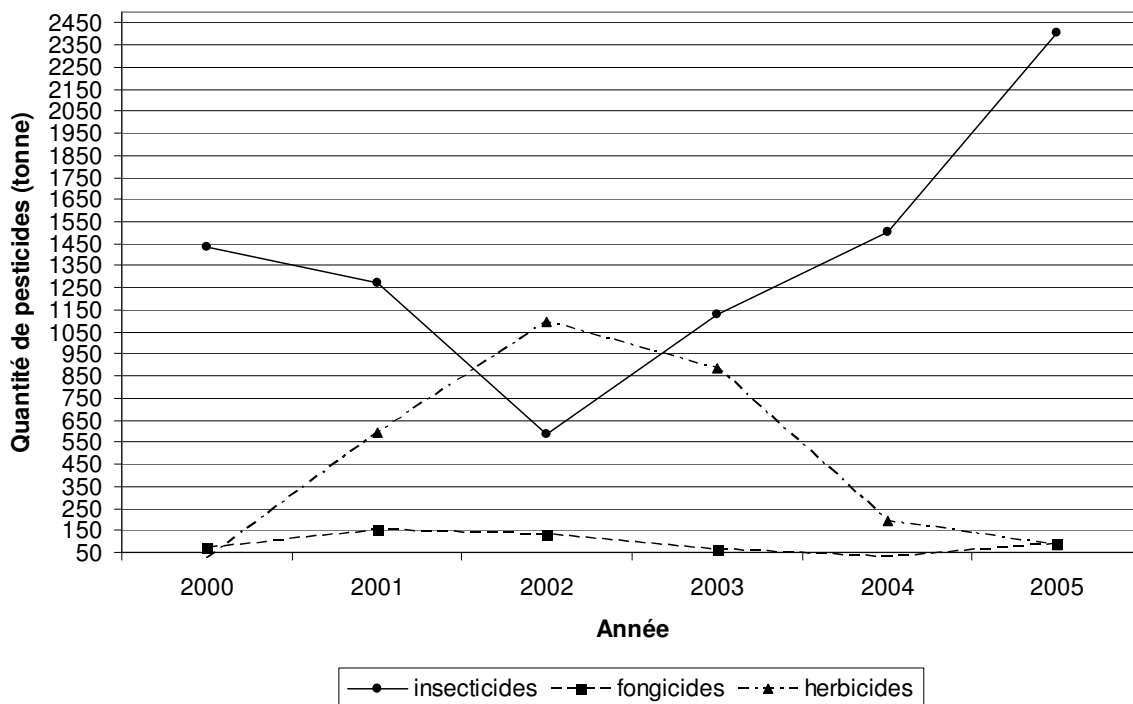


Figure 4- Evolution pondérale des importations de pesticides au Togo 2000 - 2005
 Source des données : DGSN (2006)

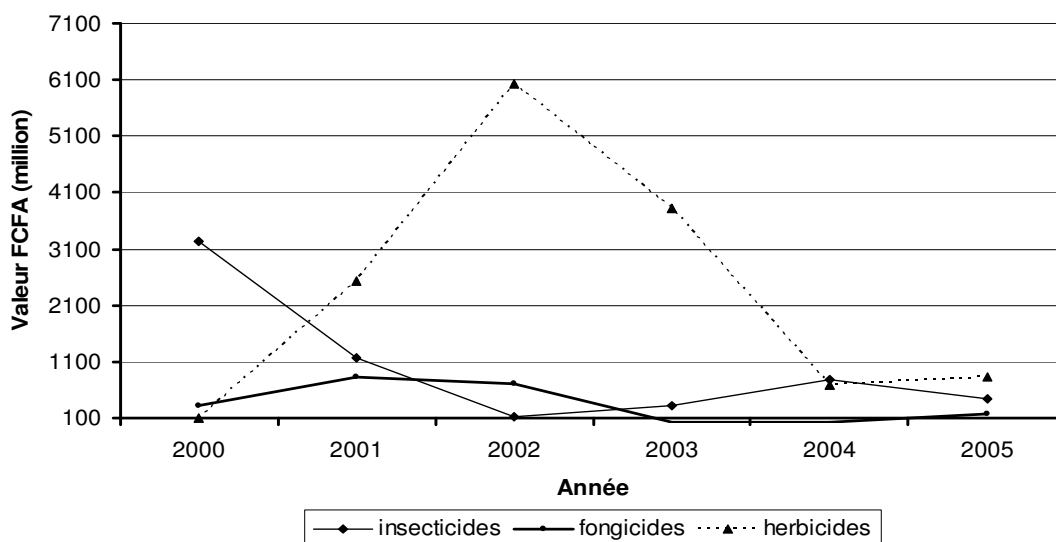


Figure 5- Evolution en valeur F CFA des importations de pesticides 2000 - 2005
 Source des données : DGSN (2006)

1.2- CARACTERISTIQUES SUCCINCTES DES INSECTICIDES RETENUS

1.2.1- Choix des insecticides organochlorés étudiés

L'objectif premier de notre travail est de faire un bilan environnemental de l'utilisation des pesticides dans les cultures de café, de cacao et de coton au Togo. Bien que plusieurs sortes de molécules soient utilisées dans ces trois cultures, il est impossible, dans le cadre d'une telle étude, d'effectuer un bilan sur l'ensemble des produits. Les connaissances actuelles du devenir environnemental de ces produits et les possibilités analytiques nous imposent des limites. Un premier criblage de l'ensemble des produits utilisés dans les trois cultures a été effectué à partir des bilans d'utilisation et ce, afin de choisir des produits qui répondent aux critères suivants :

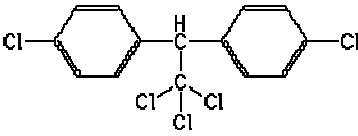
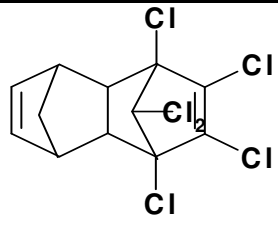
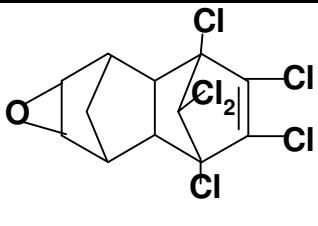
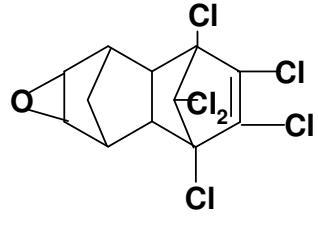
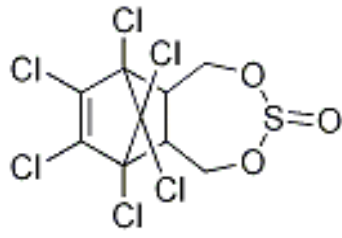
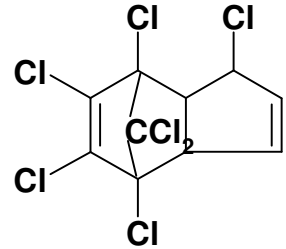
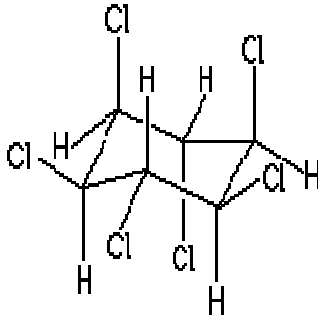
- utilisation connue dans les trois cultures d'exportation du Togo,
- toxicité et persistance élevées,
- potentiel de risques élevé pour la santé humaine et l'environnement.

Les insecticides organochlorés comme le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine et l'heptachlore, inscrits sur la liste des polluants organiques persistants (POPs) qui sont devenus une préoccupation internationale majeure depuis le Protocole d'Aarhus 1979 et la Convention de Stockholm 2001, répondaient à tous ces critères. Par ailleurs, nous avons également retenu le lindane et l'endosulfan, deux organochlorés en raison de leur utilisation récente ou continue sur ces mêmes cultures, leur toxicité et leur persistance dans l'environnement.

Les insecticides organochlorés, les plus anciens pesticides de synthèse, sont des molécules qui contiennent au moins une liaison carbone - chlore. Le DDT a été le premier insecticide développé au début de la seconde guerre mondiale. Le brevet du DDT pour son usage insecticide a été accordé en 1942 mais sa production n'a débuté qu'en 1944. Les autres insecticides organochlorés ont progressivement suivi, le lindane en 1946, l'aldrine et la dieldrine en 1949, l'endrine et l'heptachlore en 1952 et l'endosulfan en 1960. Le tableau 1 présente la structure, la formule moléculaire et le numéro d'enregistrement CAS (Chemical Abstracts Service) de la banque de données de

"American Chemical Society " de chaque pesticide étudié et de certains de leurs métabolites.

Tableau 1- Structure, formule et numéro d'enregistrement CAS des pesticides étudiés

Insecticides organochlorés étudiés		
 <p>DDT : $C_{14}H_9Cl_5$ n° CAS 50-29-3</p>	 <p>Aldrine : $C_{12}H_8Cl_6$ n° CAS 309-00-2</p>	 <p>Dieldrine : $C_{12}H_8Cl_6O$ n° CAS 60-57-1</p>
 <p>Endrine $C_{12}H_8Cl_6O$ n° CAS 72-20-8</p>	 <p>Endosulfan $C_9H_6Cl_6O_3S$ n° CAS 115-29-7</p>	 <p>Heptachlore $C_{10}H_5Cl_7$ n° CAS 76-44-8</p>
 <p>Lindane $C_6H_6Cl_6$ n° CAS 58-89-9</p>		

1.2.2 - Le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane)

Le 4,4-dichlorodiphényltrichloroéthane dont les propriétés insecticides ont été découvertes en 1939 par Paul Hermann Müller a une persistance de plus de 30 ans dans le sol (Crowe *et al.*, 2002).

Ses principaux métabolites sont le DDE (1,1-bis 4-(chlorophényl)-2,2-dichloroéthane) et le DDD (1,1-dichloro-2,2-bis 4-(chlorophényl)éthane). Le DDT est métabolisé en DDE par des micro-organismes en aérobie tandis qu'il est transformé en DDD dans les conditions d'anaérobie (Heberer et Dünnebier 1999). Le DDE paraît aussi toxique que le DDT et plus stable dans le milieu naturel.

1.2.3 - L'aldrine

L'aldrine est un insecticide non systémique de la famille chimique des hydrocarbures chlorés utilisés contre les insectes et les acariens du coton (<http://www2.gtz.de/uvp/>, août 2007). Des lésions du système nerveux central et du foie et des effets cancérogènes sont attribuées à l'aldrine sur différentes espèces animales. L'aldrine tend à s'accumuler dans le sol (Thompson *et al.*, 1970) où elle se transforme en dieldrine par époxydation. Des résidus d'aldrine sont encore décelables dans le sol à des taux compris entre 0 et 25 % de la quantité appliquée au bout de 1 à 6 ans (<http://www2.gtz.de/uvp/>, août 2007).

1.2.4 - La dieldrine

La dieldrine est également un insecticide non systémique de la famille chimique des hydrocarbures chlorés. C'est un stéréoisomère de l'endrine. Elle a été utilisée surtout dans la culture cotonnière. La dieldrine est très toxique et peut entraîner par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée des risques extrêmement graves aigus et chroniques chez l'homme et même la mort (Brignon et Gouzy, 2007a). La dieldrine présente un potentiel élevé de bioaccumulation (Briggs, 1981). Certains auteurs considèrent que la dieldrine est décelable dans le sol après 30 ans d'application (Crowe *et al.*, 2002).

1.2.5 - L'endrine

L'endrine est également un insecticide non systémique de la famille chimique des hydrocarbures chlorés et agit par contact et ingestion (Brignon et Gouzy, 2007b). L'endrine est appliqué dans les cultures cotonnières et céréalières. Sa demi-vie dans le sol peut atteindre 12 ans suivant les conditions locales (www.pops.int, octobre 2006).

1.2.6- L'endosulfan

L'endosulfan est un insecticide/acaricide actif par ingestion et par contact. Cette substance et ses produits de dégradation sont persistants dans l'environnement avec une demi-vie allant de 9 mois à 6 ans (Jayashree *et al.*, 2006). L'endosulfan est composé des stéréo-isomères alpha et bêta dans les proportions $\alpha/\beta = 70/30$ (WHO, 1984). Il peut entraîner des risques graves de mauvaise santé chez l'homme et même la mort par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée. Il est relativement immobile dans les sols (ATSDR, 2000).

1.2.7- L'heptachlore

L'heptachlore est un insecticide actif par ingestion et par contact contre un grand nombre d'insectes dont les termites et les ravageurs du coton. Cette substance et son produit de dégradation (époxyde d'heptachlore) sont persistants dans les sols. L'heptachlore est pratiquement insoluble dans l'eau et détecté à l'état de traces dans les sols après 14 - 16 ans d'application (www.pops.int, octobre 2006).

1.2.8 - Le lindane

Le lindane est l'un des isomères de l'hexachlorocyclohexane synthétisé à partir du benzène et du chlore. La présence du lindane dans l'environnement est uniquement d'origine anthropique (Pichard *et al.*, 2005). C'est un insecticide utilisé dans de nombreuses applications agricoles contre plusieurs espèces d'insectes terrestres et phytophages. Le lindane est fortement adsorbés par les sols riches en matière organique (Pichard *et al.*, 2005).

1.3-CONTAMINATION DE L'ENVIRONNEMENT EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE

1.3.1- Contamination des sols

Selon les études conduites au Nigéria par Babatunde (1985), les sols de cultures agricoles présentent des niveaux résiduels moyens de $18 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de lindane, $58 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de l'aldrine, $3 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de l'heptachlore, $31,9 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de la dieldrine et $155 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT. Au Bénin, l'aldrine, le 4-4 DDT, l'endosulfan, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore et le lindane ont été détectés dans les sols de périmètres maraîchers de

Cotonou à des concentrations respectives de 0,496 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 4,800 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 7,975 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 2,150 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 3,568 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 0,725 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et 2,457 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Assogba-KomLa *et al.*, 2007). Les teneurs moyennes de quelques pesticides organochlorés dans les sols de la Zone des Niayes de Dakar au Sénégal sont de 30,31 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de lindane, 4,74 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'alachlore, 3,79 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'heptachlore, 1,6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'aldrine, 0,77 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de dieldrine, 2,67 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de β -endosulfan, 7,93 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDT et 2,68 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de mirex (Cissé *et al.*, 2003). L'analyse des sols des régions productrices de coton au Mali a révélé la présence de DDE (20 - 121 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), DDD (6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), DDT (6 - 11 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), d' α -endosulfan (6 - 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et de β -endosulfan (26,4 - 37 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (Dem *et al.*, 2007). Des concentrations de DDT total (20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et de HCHs (59 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) ont été mesurées dans les sols en Tanzanie (Henry et Kishimba, 2003). Le Tableau 2 présente quelques données chiffrées de la contamination des sols africains.

Tableau 2- Quelques données sur la contamination des sols en Afrique ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Provenance	aldrine	dieldrine	Hepta chlore	lindane	HCHs	DDT	Références
Bénin	0,50	2,15	0,73	2,46		4,80	Assogba-KomLa <i>et al.</i> , 2007
Nigeria	58,00	31,90	3,00	18,00		155	Babatunde, 1985 <i>in</i> PNUE, 2002
Zone Niayes Dakar	1,60	0,77	3,79	30,31		7,93	Cissé <i>et al.</i> , 2003
Tanzanie					59,00	20,00	Henry et Kishimba, 2003

1.3.2- Contamination des eaux intérieures de l'Afrique

Au Togo, une étude menée dans la ville de Lomé, la capitale, (Edoh, 1991) fait apparaître que les eaux de robinet et de puits servant d'eau de boisson et/ou d'arrosage des cultures maraîchères présentent des niveaux de résidus d'aldrine, de dieldrine et d'heptachlore 43 fois supérieurs à ceux admis par les normes de l'Union Européenne et de l'OMS (EU, 1998 ; WHO, 1998). Les valeurs résiduelles des organochlorés dosés dans les eaux de la lagune de Lomé et dans celles de puits et de robinets sont mentionnées dans le tableau 3.

Tableau 3- Quelques données sur la contamination des eaux de robinet, de puits et de la lagune à Lomé ($\mu\text{g.L}^{-1}$) (Edoh, 1991)

Echantillons	heptachlore	aldrine	dieldrine	endrine	DDE	DDT
eau de robinet	1,39	3,20	80 - 117			140
eau de puits		1,30 – 20,00	705,00		1,60	2,60
eau de lagune	108,00	1,42	751,00	1,57		
WHO (1998)	0,03	0,03	0,03	0,10		2,00
EU (1998)	0,03	0,03	0,03	0,10		0,10

Source : Edoh (1991)

Au Nigeria, Nwankwoala et Osibanjo (1992) ont décelé des résidus de pesticides organochlorés dans les eaux superficielles d'Ibadan à des concentrations variées : dieldrine ($0,018 - 0,657 \mu\text{g.L}^{-1}$), lindane ($0,007- 0,297 \mu\text{g.L}^{-1}$), heptachlore ($0,004 - 0,202 \mu\text{g.L}^{-1}$), aldrine ($0,04 \mu\text{g.L}^{-1}$), endosulfan ($0,43 \mu\text{g.L}^{-1}$) et DDT total ($1,266 \mu\text{g.L}^{-1}$). Des résidus de lindane ($0,22 \mu\text{g.L}^{-1}$), de l' α -endosulfan ($1,26 \mu\text{g.L}^{-1}$) et de β -endosulfan ($1,84 \mu\text{g.L}^{-1}$) ont été détectés dans les eaux de nappe phréatique au Sénégal dans la zone des Niayes à Dakar (Cissé *et al.*, 2003). Les niveaux résiduels ne dépassent guère $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans les eaux de surface au Mali, (Dem *et al.*, 2007).

Au Kenya, les concentrations moyennes résiduelles de DDT, DDD, DDE, lindane, heptachlore et aldrine dans les eaux du lac Nakuru sont respectivement de $1,09 \mu\text{g.L}^{-1}$, $6,89 \mu\text{g.L}^{-1}$, $0,90 \mu\text{g.L}^{-1}$, $1,33 \mu\text{g.L}^{-1}$, $3,85 \mu\text{g.L}^{-1}$ et de $4,54 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Mavura et Wangila, 2004). En Tanzanie, les niveaux de résidus de pesticides dans les eaux du domaine de la canne à sucre de la compagnie «Tanganyika Planting Company» (TPC) et de ses environs varient en fonction de la saison : aldrine ($0,001 - 0,0002 \mu\text{g.L}^{-1}$), dieldrine ($0,0004 - 0,004 \mu\text{g.L}^{-1}$), heptachlore époxyde ($0,0005 - 0,0016 \mu\text{g.L}^{-1}$), DDTs ($0,0165 - 0,1086 \mu\text{g.L}^{-1}$) et endosulfan ($0,005 - 0,0005 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Hellar et Kishimba, 2004). Les concentrations en résidus de pesticides organochlorés oscillent entre $0,1$ et $0,39 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le DDT, $0,08$ et $0,45 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le DDE, $0,21$ et $2,49 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la dieldrine et $0,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le lindane dans les eaux de la zone côtière de Dar es Salaam en Tanzanie, (Mwevura *et al.*, 2002). D'une manière générale, les eaux intérieures de l'Afrique au sud du Sahara sont évidemment contaminées (Tableaux 4 et 5).

Tableau 4- Quelques données sur la contamination par lindane, DDT et ses métabolites des eaux intérieures de l'Afrique ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Provenance	DDE	DDD	DDT	DDT total	lindane	Références
Lac Nakuru (Kenya)	0,90	6,89	1,09		1,33	Mavura et Wangila, 2004
Tanzanie, Dar es Salaam	0,45		0,39		0,2	Mwevura <i>et al.</i> , 2002
zone cotonnière (Mali)	< 0,1	< 0,1			< 0,1	Dem <i>et al.</i> , 2007
Rivière Ibadan (Nigeria)				1,266	0,297	Nwankwoala et Osibanjo, 1992

Tableau 5- Quelques données sur la contamination par aldrine, dieldrine, heptachlore et endosulfan des eaux intérieures de l'Afrique ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

Provenance	aldrine	Dieldrine	Heptachlore	Hepta-époxyde	α -endo sulfan	β -endo sulfan	Références
Puits et rivières zone cotonnière (Mali)		< 0,1		< 0,1	< 0,1	< 0,1	Dem <i>et al.</i> , 2007
Rivière Ibadan (Nigeria)	0,04	0,657	0,202		0,43		Nwankwoala et Osibanjo, 1992
Puits de Dakar (Sénégal)					1,26	1,84	Cissé <i>et al.</i> , 2003
Lac Nakuru (Kenya)	4,54		3,85				Mavura et Wangila, 2004
Kilimanjaro (Tanzanie)	0,001	0,004		0,0016			Hellar et Kishimba, 2004

1.3.3- Contamination des sédiments

En Côte d'Ivoire, le 4-4 DDE, le 4-4 DDD, le 4-4 DDT et le DDT total sont dosés dans les sédiments de la lagune Ebrié à des concentrations variables de $0,1 - 149 \mu\text{g.kg}^{-1}$, $0,2 - 803 \mu\text{g.kg}^{-1}$, $0,2 - 354 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et $1,1 - 997 \mu\text{g.kg}^{-1}$ respectivement (Marchand et Martin, 1985). Les valeurs indiquées pour les sédiments de la lagune de Lekki au Nigeria sont $190 - 8480 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de dieldrine, $0,11 - 4,9 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de lindane, $1845 \mu\text{g.kg}^{-1}$ d'heptachlore, $347 \mu\text{g.kg}^{-1}$ d'aldrine et $7 - 1155 \mu\text{g.kg}^{-1}$ d'endosulfan (Ojo, 1991). Mavura et Wangila (2004) ont détecté dans les sédiments du Lac Nakuru au Kenya de

pesticides, 0,43 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT, 123 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDD, 4,47 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDE, 316 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'heptachlore et 8,26 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'aldrine (Tableaux 6 et 7).

Tableau 6- Contamination de sédiments des eaux intérieures de l'Afrique ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Provenance	aldrine	Diel drine	Hepta chlore	lindane	endosulfan	Références
Lac Nakuru, Kenya	8,26		316			Mavura et Wangila, 2004
Lagune Lekki Nigeria	347	< 8480	1845	4,9	7 - 1155	Ojo, 1991

Tableau 7- Contamination par le DDT de sédiments des eaux intérieures de l'Afrique ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Provenance	DDE	DDD	DDT	DDT total	Références
Lac Nakuru (Kenya)	4,47	123	0,43		Mavura et Wangila, 2004
Lagune Ebrié en Côte d'Ivoire	149	803	354	997	Marchand et Martin, 1985

1.34- Contamination de l'air

Les données disponibles sur la pollution de l'air en Afrique subsaharienne sont très limitées. Les mesures de pesticides organochlorés dans des échantillons d'air ambiant prélevés à Senga Bay au Malawi (Karlsson *et al.*, 2000) ont donné des niveaux variables et infimes de DDT (26 pg.cm^{-3}), d'heptachlore (44 pg.cm^{-3}), de lindane (25 pg.cm^{-3}), d'endrine (1 pg.cm^{-3}), de dieldrine (80 pg.cm^{-3}) et d'aldrine (257 pg.cm^{-3}).

1.4–CONTAMINATION DES DENRES AGRICOLES ET ALIMENTAIRES EN AFRIQUE SUBSAHARIENNE

1.4.1- Contamination des denrées agricoles

Djaneye-Boundjou *et al.* (2000) ont détecté des résidus de pesticides organochlorés à des concentrations variables dans des échantillons de légumes cultivés dans le périmètre maraîcher de Lomé et dans des échantillons de céréales prélevés sur les différents marchés de Lomé (Tableau 8).

Tableau 8- Quelques données sur la contamination de légumes et céréales à Lomé ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Légumes et graines comestibles	lindane	Hepta-chlore	aldrine	dieldrine	endrine	DDT total
aubergine (<i>Solanum melongena</i>)		4	142	43		106
adémè (légume feuille local) <i>Corchorus olitorius</i>		237	228	107	95	136
laitue (<i>Lactuca sativa</i>)		6	261	102		76
gboma (légume feuille local) <i>Solanum macrocarpum</i>	20	8	159	388		121
haricot vert (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	30	54	420	58	12	
poivron (<i>Capsicum annum</i>)		6	10	210		
<i>Daucus carota</i> (carotte)		42	13	302	502	1
oignon (<i>Allium cepa</i>)	33	163	8	64		
tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	52	15	161	13	7	
niébé (<i>Vigna unguiculata</i>)	710	421	155	60		
maïs (<i>Zea mays</i>)	2	492	38	63		
millet (<i>Pennisetum americanum</i>)	15		21	10	7	2
sorgho (<i>Sorghum bicolor</i>)	34	49	34			

Source : Djaneyé-Boundjou *et al.* (2000)

La recherche des résidus de pesticides dans les céréales, les légumes et les légumineuses au Togo par le Service de Protection des Végétaux en collaboration avec la Coopération Technique Allemande entre 1976 et 1978 (Essobiyou, 1990) a révélé une contamination de ces produits vivriers par les composés organochlorés. Les résultats obtenus de l'étude sont récapitulés dans le tableau 9.

Tableau 9- Quelques données sur la contamination des produits vivriers au Togo ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Graines comestibles et légumes	lindane	Hepta- chlore	dieldrine	endrine	DDT
maïs (<i>Zea mays</i>)	1 - 350		25 - 36		74
riz (<i>Oryza sativa</i>)	3				
sorgho (<i>Sorghum bicolor</i>)	3 - 20				
niébé (<i>Vigna unguiculata</i>)	3 – 12 100	5 - 17	55	110	2 -1020
tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	1 - 4			10	2 - 140
laitue (<i>Lactuca sativa</i>)	1 - 5		20		3 - 29
carotte (<i>Daucus carota</i>)	3			120	110
aubergine (<i>Solanum melongena</i>)	1		7		5
poivron (<i>Capsicum annuum</i>)	5			8	67
concombre (<i>Curcumis sativus</i>)	72		6		
poireau (<i>Allium porrum</i>)	16				10 - 19
persil (<i>Petroselinum crispum</i>)	10				82

Source : Essobiyou (1990)

Des études réalisées au Nigeria (Adeyeye et Osibanjo, 1999), au Ghana (Ntow, 2001), au Sénégal et en Gambie (Manirakiza *et al.*, 2003) ont révélé des contaminations de tubercules, fruits et légumes par divers résidus de pesticides (Tableau 10).

Tableau 10- Contamination des tubercules, fruits et légumes en Afrique de l'ouest ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Espèces	lindane	aldrin	DDE	Hepta. époxyde	endo sulfan	Diel drine	Références
<i>Dioscorea rotundata</i> (igname)		5	13			24	Adeyeye et Osibanjo, 1999
<i>Manihot esculentus</i> (manioc)		6	21			31	Adeyeye et Osibanjo, 1999
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomate)	< 2,5			1,65	< 0,05	< 0,1	Ntow, 2001
<i>Solanum melongena</i> (aubergine)		0,8		3,48	1,2	2,19	Manirakiza <i>et al.</i> , 2003
<i>Allium cepa</i> (oignon)		0,13		1,48	2,68	1,67	Manirakiza <i>et al.</i> , 2003

1.4.2- Contamination des poissons

Les poissons présentent des concentrations de 0,2 – 6,6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDD, 23 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDT et 0,5 – 36 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT total dans les eaux superficielles d'Ibadan au Nigeria (Osibanjo et Jensen, 1980). Les résidus d'organochlorés décelés dans les poissons des milieux lagunaire et marin de la Côte d'Ivoire sont la dieldrine (0,46 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), le lindane (0,03 - 0,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$), l'heptachlore (0,6 - 0,23 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et l'aldrine (0,03 - 0,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (Kaba, 1992) (Tableau 11). Au Zimbabwe, les poissons du Lac McIlwaine présentent respectivement des niveaux moyens de 4-4 DDE, 4-4 DDD, 4-4 DDT et de DDT total de 27 – 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 33 – 60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, 3 – 47 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et de 60 – 150 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Greichus *et al.*, 1978). Des valeurs de 3,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDD, 34,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDE, 3,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de lindane et 2,5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ d'heptachlore ont été mesurées dans les poissons du lac Nakuru au Kenya (Mavura et Wangila, 2004) (Tableau 11).

Tableau 11- Contamination des poissons des eaux intérieures de l'Afrique ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Provenance	DDE	DDD	DDT	DDT total	lindane	Références
Lac Nakuru, Kenya	34,9	3,2			8,3	Mavura et Wangila, 2004
Lac McIlwaine Zimbabwe	27 - 80	33 - 60	3 - 47	60 - 150		Greichus <i>et al.</i> , 1977
Rivière Ibadan Nigeria		0,2 – 6,6	23	0,5 - 36		Osibanjo et Jensen, 1980

1.4.3- Contamination des plantes aquatiques

Dans le lac Nakuru au Kenya, des concentrations de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDE, 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDD, 130 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDT et 230 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT total dosées dans la Jacinthe d'eau et de 60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDE, 200 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDD, 280 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de 4-4 DDT et 540 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT total observées dans les algues du lac (Greichus *et al.*, 1977).

1.4.4- Contamination du lait maternel

La contamination généralisée de l'environnement et des aliments par les pesticides entraîne inévitablement la contamination de l'être humain par ces derniers. Les

pesticides les plus persistants et lipophiles possédant des propriétés de bioaccumulation sont souvent retrouvés dans les organismes humains. Le lait maternel, premier aliment de l'homme, est un indicateur en terme d'accumulation de résidus de pesticides dans le corps humain (Somogyi et Beck, 1993).

Des études ont révélé la présence de résidus de composés organochlorés dans le lait maternel au Kenya (Kanja *et al.*, 1986 ; Kinyamu *et al.*, 1998), en Uganda (Ejobi *et al.*, 1996a), au Zimbabwe (Chikuni *et al.*, 1991 ; Chikuni *et al.*, 1997), au Ghana (Ntow, 2001) et en Afrique du sud (Bouwman *et al.*, 1990). Des résidus d'organochlorés ont été également retrouvés dans le lait de vaches en Ouganda (Ejobi *et al.*, 1996b). Le Tableau 12 présente les concentrations en résidus de pesticides organochlorés dans le lait maternel au Kenya, Zimbabwe, Ghana et en Afrique du sud.

Tableau 12- Quelques données de contamination du lait maternel ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Provenance du lait maternel	DDE	DDT	Σ DDT	dieldrine	Références
Turkana (Kenya)	2170	7380	7790	687	Kanja <i>et al.</i> , 1986
Meru (Kenya)	1410	650	2200	465	Kanja <i>et al.</i> , 1986
Nairobi (Kenya)	310	150		22	Kinyamu <i>et al.</i> , 1998
Région de Harare (Zimbabwe)	-	-	6000	-	Chikuni <i>et al.</i> , 1991
District d'Offinso (Ghana)	490	-	-	-	Ntow, 2001
Kwa-Zulu (Afrique du sud)	-	-	18340	-	Bouwman <i>et al.</i> , 1990

CONCLUSION

Les nombreux travaux visant à comprendre les multiples phénomènes physico-chimiques qui régissent la présence généralisée des pesticides dans les différents milieux ont permis de disposer de certaines informations sur le profil caractéristique des insecticides faisant l'objet de cette étude. La collection des données de quelques études précédemment réalisées montre que les différents compartiments de l'environnement et de l'alimentation de l'Homme sont contaminés par les pesticides organochlorés en Afrique Subsaharienne.

DEUXIEME CHAPITRE:

PRINCIPES D'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES DANS LES MATRICES ENVIRONNEMENTALES, RISQUES LIES À L'EXPOSITION À CES TOXIQUES ET REGLEMENTATION

INTRODUCTION

Les pesticides sont présents dans les différents milieux terrestres et aquatiques à des concentrations très faibles de l'ordre de quelques nano grammes ou micro grammes par kilogramme (ng.kg^{-1} ou $\mu\text{g.kg}^{-1}$) ou par litre (ng.L^{-1} ou $\mu\text{g.L}^{-1}$) (Ntow, 2001 ; Kishimba *et al.*, 2004). Diverses méthodes permettent de les doser dans les sols, les eaux, les sédiments et les denrées alimentaires.

Les risques d'exposition aux résidus de pesticides par voie orale (aliments et eau de boisson) ont amené des organisations internationales comme l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ainsi que certains pays à définir des limites maximales de résidus (LMR) pour les pesticides homologués et des limites maximales de résidus d'origine étrangère (LMRE) pour les pesticides qui ne sont plus homologués en particulier les pesticides polluants organiques persistants, types organochlorés.

Ce chapitre présente le schéma général de toute technique d'analyse de résidus de pesticides, quelques risques liés à l'exposition aux produits phytosanitaires et la réglementation des résidus de pesticides au plan international et au Togo. Une liste non exhaustive de méthodes normalisées recommandées pour l'analyse des résidus de pesticides organochlorés et de polychlorobiphényles (PCB) dans les différents compartiments environnementaux est présentée en annexe 1.

2.1 - GENERALITES SUR LES METHODES D'ANALYSE DES PESTICIDES

L'analyse des résidus de pesticides dans les matrices environnementales (sol, eau, air etc.) et les denrées alimentaires, nécessite des méthodes hautement spécifiques, sensibles et fiables comme la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) selon leur volatilité, leur polarité et leur susceptibilité à la dégradation thermique. La problématique de détection des pesticides est fonction de la matrice et du pesticide recherché.

Le schéma général de toute technique d'analyse de résidus de pesticides comprend :

- les opérations de prélèvement et d'échantillonnage de la matrice ;
- le pré-traitement des échantillons ;
- l'extraction des substances actives de la matrice par des solvants organiques appropriés ;
- la purification qui permet de séparer les molécules recherchées des impuretés issues de la matrice, susceptibles d'interférer lors du dosage ;
- l'analyse instrumentale par chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou en phase liquide haute performance (HPLC) couplée à des détecteurs spécifiques et sensibles comme la spectrométrie de masse qui est un mode de détection hautement sélectif.

2.1.1- Le pré-traitement des échantillons

Dans tous les cas, une étape de pré-traitement de l'échantillon à analyser est nécessaire. Le pré-traitement permet d'obtenir une petite fraction de l'échantillon contenant la plus grande quantité de pesticides recherchés et le moins possible d'autres composés non ciblés de la matrice. Il consiste à extraire les traces de pesticides, à les concentrer et à éliminer les autres composés co-extraits.

2.1.2- L'extraction des pesticides

L'extraction nécessite l'usage d'un solvant approprié (polaire ou apolaire selon la molécule recherchée) et une technique d'extraction adaptée (extraction par solvants organiques, extraction liquide/liquide, extraction super critique, extraction au soxhlet, extraction "ASE : Accelerated Solvent Extraction", etc.). La technique d'extraction doit être aussi spécifique que possible pour permettre d'isoler le plus sélectivement possible les pesticides sans altérer leur structure. Les solvants simples comme l'hexane, le dichlorométhane ou des mélanges binaires de solvants non polaires et polaires (par exemple hexane + acétone) sont utilisés pour extraire les pesticides organochlorés des échantillons de sol, d'eau, de sédiment, d'aliments végétaux (Hatrik et Tekel', 1996 ; Kishimba *et al.*, 2004).

2.1.3- La purification des extraits

Les extraits contiennent les pesticides recherchés et d'autres composés qui doivent être éliminés avant l'analyse. L'élimination des interférents, qui est une étape plus ou moins critique selon la nature de l'échantillon et le niveau de concentration recherché, est appelée purification ou simplification de la matrice, lavage de l'échantillon, "clean-up", etc. Les méthodes de purification des extraits les plus répandues sont basées sur l'extraction liquide-solide avec des adsorbants polaires (silice, alumine, silice greffée, florisil). Les interférents sont éliminés par élution de la colonne avec des mélanges de solvants de force éluante croissante.

2.1.4- L'identification et le dosage des pesticides

Les extraits une fois purifiés sont le plus souvent analysés par chromatographie pour l'identification des pesticides et la quantification des teneurs. La chromatographie en phase gazeuse couplée au détecteur à capture d'électrons était la technique principalement utilisée dans les années 1980 – 1990 pour doser les composés de types organochlorés dans les matrices environnementales (UNEP/FAO/IOC/IAEA, 1986 ; Alford-Stevens, 1986). Actuellement, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse (CPG-MS), spécialement dans le mode de suivi sélectif des ions (SIM), s'est révélé être le détecteur le plus sélectif et le plus sensible pour le dosage et la confirmation simultanés de ces composés organochlorés (Mukherjee et Gopal, 1996 ; Singh *et al.*, 1998).

En définitive, la littérature révèle que les pesticides organochlorés sont des composés non polaires et qu'il faudrait des solvants simples comme l'hexane, le dichlorométhane ou des mélanges binaires de solvants non polaires et polaires (par exemple hexane + acétone) pour les extraire des échantillons de sol, d'eau, de sédiment, d'aliments végétaux etc. Aussi, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS) en mode SIM paraît le détecteur le plus sélectif et le plus sensible pour le dosage et la confirmation simultanés de ces derniers.

2.2- QUELQUES RISQUES LIÉS À L'EXPOSITION AUX PESTICIDES

2.2.1- Problèmes de santé liés aux pesticides en général

Les manipulateurs des pesticides sont les premières victimes des cas d'intoxications aiguës. Selon un communiqué conjoint de presse FAO/OMS/PNUE du 05/10/2004, le nombre des intoxications par les pesticides se situe annuellement entre 1 et 5 millions avec des milliers de cas mortels (www.fne.asso.fr/, septembre 2007). Les pays en développement où les mesures de protection personnelle sont souvent inadéquates ou absentes sont les plus touchés soit 99 % des décès dus aux intoxications. Des études épidémiologiques réalisées dans les familles d'agriculteurs ou celles résidant à proximité des cultures traitées ont pu établir le lien entre l'exposition aux pesticides et l'élévation constante de l'incidence de certaines pathologies comme la diminution de l'immunité, les troubles de la reproduction, les dysfonctionnements dans le développement neurocognitif, les anomalies congénitales, les leucémies, les tumeurs cérébrales et les autres cancers infantiles ainsi que les troubles neurologiques (Dewailly *et al.*, 2000 ; Greenlee *et al.*, 2003 ; Menegaux *et al.*, 2006). La majorité des hommes exposés aux pesticides ont une concentration spermatique bien au-dessous de la limite considérée normale pour les hommes fertiles (Oliva *et al.*, 2001 ; Velez *et al.*, 2001). Les troubles neurologiques se traduisant par des maladies neuro-dégénératives comme les maladies de Parkinson et d'Alzheimer sont attribués à l'exposition aux pesticides (Baldi, 2003).

2.2.2- Les risques de santé liés à l'exposition aux pesticides organochlorés

Des études conclurent que l'exposition à l'endrine et au DDT favoriserait le développement de tumeurs mammaires (Reuber, 1978 ; Scribner et Mottet ; 1981, Robison *et al.*, 1985). Une étude menée en Inde auprès de 1016 couples dont les époux utilisaient les pesticides organochlorés (DDT, lindane) dans les champs de coton indiquait une augmentation d'avortements chez les épouses, des mort-nés, des anomalies congénitales et une diminution significative de la fertilité masculine (Rupa *et al.*, 1991). Les pesticides organochlorés comme DDT, chlordane, dieldrine, endosulfan heptachlore, dicofol, hexachlorobenzène, lindane, methoxychlor ont des effets perturbants sur les fonctions reproductrices et le système endocrinien (Colborn *et al.*, 1993). Les organochlorés possédant des propriétés œstrogéniques induisent la prolifération cellulaire et augmentent de ce fait le risque de cancer du sein

(Pike *et al.*, 1993). Les pesticides chimiques comme le méthoxychlore et le DDT dont l'action est similaire à celle des hormones œstrogène et androgène peuvent conduire à des malformations urogénitales ou à un pseudohermaphrodisme morphologique (Hodgson et Levi, 1996). Norström *et al.* (2000) suggèrent en Suède une corrélation entre la leucémie et l'exposition à des pesticides immunotoxiques de la famille des organochlorés. Dans le Nord de la Caroline aux USA, les personnes habitant à côté d'un site contaminé par les pesticides organochlorés présentaient des déficiences du système immunitaire (Vine *et al.*, 2001).

2.3 - LA REGLEMENTATION DES RESIDUS DE PESTICIDES

Dans le but d'assurer de bonnes pratiques dans le commerce des denrées alimentaires et protéger la santé des consommateurs, des normes de qualité et d'innocuité applicables aux aliments ont été définies au plan international par la FAO et l'OMS et au niveau national par plusieurs pays.

2.3.1- Normes de Codex Alimentarius pour certains pesticides organochlorés

Les normes de la Commission du Codex Alimentarius fixent des seuils de résidus de pesticides (exprimées en mg.kg^{-1}) dans les denrées alimentaires, au-delà desquels les denrées contaminées sont officiellement interdites à la consommation humaine et animale. Il s'agit de limites maximales de résidus de pesticides (LMR) pour les pesticides homologués et de limites maximales de résidus de pesticides d'origine étrangère (LMRE) pour les pesticides non homologués et les pesticides polluants organiques persistants. Les valeurs réglementaires définies au niveau international par la FAO et l'OMS (Codex Alimentarius) et au niveau national par certains pays sont présentées dans les tableaux 13 à 19.

Tableau 13- LMRE pour le DDT dans les aliments végétaux du Codex Alimentarius (mg.kg^{-1}) (FAO/OMS, 1998)

Aliments	Fruits (sauf raisins)	Graines céréalières	Légumes	Carotte
Normes FAO/OMS	1	0,1	1	0,2

Tableau 14- LMRE d'aldrine/dieldrine (mg.kg⁻¹) (FAO/OMS, 1998)

Produits alimentaires	FAO/ OMS	Israël	Pays-Bas	Hongrie	Nvelle Zélande	Afrique du Sud
Céréales grains	0,02	0,02	0,02	0,1	0,02	0,02
Légumes secs	0,05					
carottes		0,2	0,05	0,1	0,1	0,1

Tableau 15- LMR d'endosulfan (mg.kg⁻¹) (www.fao.org/docrep/meeting/)

Produits alimentaires	FAO/OMS	Israël	Hongrie	Nvelle Zélande	Afrique du Sud
Fruits	2	2	0,05	2	1
Fèves de cacao	0,1				
Grains de café	0,1				
Maïs	0,1				

Tableau 16- LMRE d'endrine (mg.kg⁻¹) (FAO/OMS, 1998)

Produits alimentaires	FAO/OMS	Israël	USA	Hongrie
Pommes de terre	0,02	0,02	0,05	0,01
Maïs doux	0,02	0,02	0,05	0,01
Orge	0,02	0,02		0,01
Sorgho	0,02	0,02		0,01

Tableau 17- LMR du lindane (FAO/OMS, 1998) (valeur en mg.kg⁻¹ de produit)

Produits alimentaires	FAO/OMS	Israël	Pays-bas	USA	Hongrie
Céréales en grains	0,5	0,5	0,5	0,1	1
Haricots secs	1				1
Cerises	3	3	2	0,5	0,5
Fraises	3	3	2	1	0,5

Tableau 18- LMRE d'heptachlore et de son époxyde, (mg.kg⁻¹) (FAO/OMS, 1998)

Produits alimentaires	FAO/OMS	Israël	USA	Hongrie
Agrumes	0,01	0,01	0,05	
Carottes	0,2	0,2	0	0,05
Céréales brutes (en grains)	0,02	0,02	0	0,02
Légumes	0,05	0,05		0,05

Tableau 19- Limites maximales du référentiel français (mg.kg⁻¹) (<http://e-phy.agriculture>)

Produits alimentaires	aldrine	dieldrine	DDT	endosulfan	endrine	lindane
céréales	0,01	0,01	0,05	0,05	0,01	0,01
fruits frais ou séchés	0,01	0,01	0,05	0,01	0,01	0,01
légumineuses fraîches ou séchées	0,01	0,01	0,05	0,05	0,01	0,01

2.3.2- Normes de potabilité de l'eau

Les normes de potabilité de l'eau (Tableau 20) varient en fonction des organismes et des pays. Dans la réglementation de l'Union Européenne (UE), la limite de résidus de pesticides à ne pas dépasser dans l'eau destinée à l'alimentation humaine est de 0,1 µg.L⁻¹ par substance (molécule et métabolites de dégradation) à l'exception de l'aldrine, de la dieldrine, de l'heptachlore et de l'heptachlore époxyde pour lesquels le seuil est fixé à 0,03 µg.L⁻¹ et la concentration totale des résidus ne doit pas dépasser 0,5 µg.L⁻¹ (EU, 1998). Les normes de potabilité de l'eau de l'OMS sont les mêmes que celles de l'UE pour l'aldrine, la dieldrine, l'heptachlore et l'heptachlore époxyde (0,03 µg.L⁻¹) mais atteignent 2 µg.L⁻¹ pour le DDT (WHO, 1998).

Tableau 20- Normes de qualité de l'eau de consommation (µg.L⁻¹) (WHO, 1998 et EU, 1998)

Normes	aldrine	dieldrine	DDT	endosul fan	endrine	hepta chlore	lindane
WHO (1998)	0,03	0,03	2	0,1	0,1	0,03	0,1
EU (1998)	0,03	0,03	0,1	0,1	0,1	0,03	0,1

2.3.3- Dose Journalière Admissible

On entend par Dose Journalière Admissible (DJA) d'un produit chimique, la consommation par jour qui, au cours d'une vie entière, apparaît comme comportant le moins de risques pour la santé du consommateur. La DJA est fondée sur tous les faits connus au moment de l'évaluation du produit par la réunion conjointe FAO/OMS sur les résidus de pesticides. Elle est exprimée en milligrammes par kilogramme de poids corporel. C'est la quantité de contaminant pouvant être ingérée quotidiennement par personne durant toute sa vie sans causer d'effets néfastes sur sa santé. Le Tableau 21 montre la DJA de sept pesticides organochlorés.

Tableau 21- D.J.A. recommandés par la commission mixte FAO/WHO (1998)

Pesticides	mg.kg ⁻¹ de poids corporel
DDT	0,02
aldrine	0,0001
dieldrine	0,0001
endosulfan	0,006
endrine	0,0002
heptachlore	0,0001
lindane	0,008

D.J.A : Dose Journalière Admissible

2.3.4- La législation dans le secteur des pesticides au Togo

Le Togo adhère aux accords internationaux sur les pesticides notamment le Code de Conduite de la FAO. Ainsi, les recommandations de la FAO et de l'OMS en matière d'utilisation de produits phytosanitaires peuvent être considérées comme étant davantage observées au Togo. L'utilisation des pesticides est juridiquement régie par la loi n°96-007/PR du 3 juillet 1996 qui a abrogé l'ordonnance n°17 du 7 septembre 1972 qui réglementait la protection des végétaux au Togo. La loi n° 96-007/PR du 03 juillet 1996, relative à la protection des végétaux, compte 5 grands chapitres et 50 articles. Au sens de cette loi, il est interdit d'importer, de fabriquer, de conditionner ou de reconditionner, de stocker, d'expérimenter, d'utiliser ou de mettre sur le marché tout produit phytopharmaceutique non autorisé ou non homologué (Kolani *et al.*, 2003).

CONCLUSION

Ce chapitre indique que les pesticides sont présents dans l'environnement et les denrées alimentaires à des concentrations très faibles que l'analyse instrumentale par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée aux détecteurs spécifiques et sensibles permet de doser. Leurs incidences sur la santé humaine vont de différentes atteintes aux systèmes nerveux et immunitaires à l'infertilité. Dans le but de protéger la santé des consommateurs, des normes de qualité et d'innocuité applicables aux aliments ont été définies. Les résidus de pesticides peuvent poser des problèmes de sécurité alimentaire et ainsi de commercialisation de produits agricoles aussi bien au niveau des marchés locaux que pour les exportations où l'absence totale de résidu de substances toxiques peut être exigée. Les normes de contrôle de qualité disponibles pour la plupart des denrées alimentaires en Afrique subsaharienne relèvent de la commission mixte FAO/OMS.

TROISIEME CHAPITRE :

LES PLANTES AROMATIQUES ET LE NEEM, LA CAFEICULTURE, LE SCOLYTE DU CAFE (*Hypothenemus hampei* Ferrari) ET SES PARASITOÏDES *Cephalonomia stephanoderis* Betrem ET *Phymastichus coffea* LaSalle

INTRODUCTION

Des espèces aromatiques poussent spontanément au Togo. Elles sont utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires ou encore dans des pratiques rituelles (Lewinsohn *et al.*, 2000). En médecine traditionnelle africaine, les feuilles des plantes aromatiques sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, la diarrhée, les coliques (Adjanooun *et al.*, 1986) ou traiter le paludisme (Raponda-Walker et Sillans, 1961).

Sur la base des travaux antérieurs effectués au sein de notre équipe à l'Université de Lomé, nous avons retenu comme plantes aromatiques pour cette étude : le basilic (*Ocimum basilicum* L.), le basilic blanc (*Ocimum canum* Sims), le basilic salulaire (*Ocimum gratissimum* L.) et *Aoellanthus pubescens* (Lamiaceae) et la verveine des Indes (*Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng.) (Poaceae). Les huiles essentielles de ces plantes ont été étudiées par Koba *et al.* (2003 ; 2004) pour des applications antibactériennes et anti-fongiques d'intérêt médical et vétérinaire. Nous nous proposons ici d'étendre les investigations à l'étude de leur propriété insecticide vis-à-vis du scolyte du fruit de caféier (*Hypothenemus hampei* Ferrari), un coléoptère de la famille des scolytidae. Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss) a retenu également notre attention pour ses utilisations en agriculture traditionnelle. Les observations émanant du savoir-faire local montrent que les paysans africains au sud du Sahara utilisent les feuilles et l'huile de pressage de graines de neem pour protéger les cultures et les greniers.

Ce chapitre expose les caractéristiques botaniques, les utilisations et les fractions insecticides des plantes étudiées, l'importance de la culture du café, la biologie du principal ravageur *Hypothenemus hampei* Ferrari et de ses parasitoïdes *Cephalonomia stephanoderis* Betrem et *Phymastichus coffea* LaSalle ainsi que les méthodes actuelles de contrôle de la population du ravageur.

3.1- CARACTERISTIQUES BOTANIQUES ET UTILISATIONS DES PLANTES ETUDIÉES

3.1.1- *Aeollanthus pubescens* Benth.

Localement appelé "*Aroumaba-oké*", *A. pubescens* appartient à l'ordre des Lamiales et à la famille des Lamiacées. C'est une plante herbacée annuelle, dressée et fortement odorante, très peu étudiée (Fig. 6). L'espèce existe à l'état naturel dans les savanes et les zones de montagnes du Togo (Koba, 2003). Du point de vue utilisation, les feuilles d'*A. pubescens* sont des légumes très appréciés. La décoction des feuilles a des propriétés fébrifuge et anti-diarrhéique (Raponda-Walker et Sillans, 1961). Par ailleurs, des propriétés antimicrobiennes de son huile essentielle ont été démontrées sur *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylosus*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *Micrococcus luteus*, *M. sedentarius*, *Corynebacterium xerosis* (Chaumont *et al.*, 2001).



Figure 6- Plant d'*A. pubescens* Benth

3.1.2- *Ocimum basilicum* L.

Le basilic (*O. basilicum* L.), localement appelé "*Koklodamè*" est une plante semi vivace de 25 à 50 cm de haut, parfumée, très ramifiée et à feuilles opposées (Fig. 7). L'espèce est originaire d'Asie et actuellement très cultivée en Afrique et en Europe. Les feuilles fraîches entrent dans les préparations culinaires et médicinales (Lewinsohn *et al.*, 2000).



Figure 7- Plants de basilic (*O. basilicum* L.)

3.1.3- *Ocimum canum* Sims.

Le basilic blanc (*O. canum* Sims) localement appelé "Ahamè" (Fig. 8) est une plante herbacée, annuelle odoriférante, originaire des zones tropicales d'Asie et d'Afrique (Koba, 2003). C'est une espèce localement médicinale et rituelle. Le décocté aqueux des parties aériennes est un remède pour calmer les vomissements, les coliques et la diarrhée (Adjanooun *et al.*, 1986). Le suc des feuilles fraîches est instillé dans les yeux contre les affections oculaires. L'odeur dégagée par les feuilles brûlées a un effet répulsif sur les moustiques vecteurs du paludisme (Palson et Jaenson, 1999).



Figure 8- Plant de basilic blanc (*O. canum* Sims)

3.1.4- *Ocimum gratissimum* L.

Originnaire d'Asie, le basilic salulaire (*Ocimum gratissimum* L.) appelé "Essrou" ou "Zogbèti" en vernaculaire (Fig. 9) est actuellement répandu en Afrique tropicale et en Océanie. L'espèce *O. gratissimum* a une hauteur variable de 0,5 à 1 m et plus. Elle devient plante arbustive et pluriannuelle si les bonnes conditions pluviométriques s'y prêtent. La plante est très utilisée en pharmacopée pour calmer la fièvre, le rhumatisme, les oedèmes localisés, les vaginites et les urétrites (Koba, 2003).



Figure 9- Plant de basilic salulaire (*Ocimum gratissimum* L.)

3.1.5- *Cymbopogon schoenanthus* L. Treng.

La verveine des Indes (*C. schoenanthus* L. Spreng.) localement appelée "Egbé Nya Kokloyè" (Fig.10) est originaire des Indes. C'est une plante pérenne de la famille des Poaceae. Les feuilles de *C. schoenanthus* sont traditionnellement utilisées à des fins sanitaires dans les poulaillers. Elles sont également utilisées au Nigeria pour lutter contre les termites dans les champs (Malaka, 1978). Le test anti-termite in vitro a révélé une activité insecticide très marquée de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* contre l'espèce de termite *Trinervitermes geminatus* (Wasmann) (Koba *et al.*, 2007).



Figure 10- Plants de verveine des indes (*C. schoenanthus* L. Spreng.)

3.1.6- Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss)

Le neem ou le margousier (*Azadirachta indica* A. Juss) (Fig. 11) est un arbre à feuillage caduque originaire du sud de l'Himalaya. Il appartient à la famille des Méliacées et pousse dans les pays subtropicaux de l'Asie et de l'Afrique. Le neem, baptisé arbre aux merveilles ou arbre-pharmacie du village, est utilisé en Inde et en Afrique pour ses propriétés médicinales et ses effets répulsifs ou létaux sur les insectes parasites (Schmutterer, 1990). La plante se reproduit essentiellement par graine. L'arbre du neem atteint 5 à 25 m de hauteur suivant les régions. L'écorce crevassée est d'un gris brun foncé avec une tranche rouge brune. Les feuilles sont alternes imparipennées de 20 à 40 cm, lancéolées dissymétriques à la base, falciforme dentées, glabres et de couleur vert-foncé. Les fleurs blanches, jaunâtres ou crème, ordonnées en panicules axillaires. Le fruit est une drupe ellipsoïde de couleur jaune-vert, à épiderme mince et pulpe juteuse à maturité. Infusées dans l'eau, les feuilles du neem sont un remède traditionnel contre le paludisme en Afrique.

L'huile de neem tirée de ses fruits est un produit naturel dont les extraits ont une action extrêmement toxique et non mutagène sur les insectes, mais reste inoffensive pour l'homme et les animaux à sang chaud (<http://www.afrik.com/article>, septembre 2007). La protection des légumineuses sèches avec l'huile de neem a donné de très bons résultats au Togo, au Bénin et au Niger (DPV/GTZ, 1994 ; SPV/GTZ, 1995).



Figure 11- Plant et fruits du neem ou margousier (*Azadirachta indica* A. Juss)

3.2- FRACTIONS DES PLANTES A PROPRIETES INSECTICIDES

Certains organismes végétaux élaborent des sécrétions naturelles comme les terpènes, les alcaloïdes, les composés soufrés etc. qui font parties intégrantes de leurs systèmes de défense contre les phytophages selon l'hypothèse co-évolutive de Ehrlich et Raven (1964). Ce sont des principes actifs constitués de molécules contenues dans des cellules spécialisées. Suivant le végétal et son stade de développement, les molécules actives de la plante peuvent être extraites en fonction des effets recherchés.

3.2.1- Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites des plantes par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (Martel, 1977 ; Esseric, 1980) et la pression mécanique à froid (Naves, 1974 ; Paris et Aurabielle, 1981 ; Perut, 1986). Le choix de la méthode d'extraction dépend de la qualité recherchée et de la nature du matériel végétal à extraire.

L'activité insecticide des huiles essentielles sur les arthropodes des stocks de denrées alimentaires a été largement démontrée (Keïta *et al.*, 2000 ; Kouninki *et al.*, 2007). Regnault-Roger et Hamraoui (1995) ont rapporté que l'huile essentielle de *O. basilicum* présente une toxicité létale pour le coléoptère *Acanthoscelides obtectus* (Say), la bruche du haricot. L'activité insecticide des huiles essentielles d'*O. canum* et d'*O. basilicum*

sur *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) a été démontrée par Keïta *et al.* (2000). L'activité insecticide de l'huile essentielle d'*O. gratissimum* sur *Tribolium castaneum* est caractérisée principalement par l'inhibition de la nymphose des larves âgées (Kouninki *et al.*, 2007). L'huile essentielle de *C. schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae) inhibe les stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) (Ketoh *et al.*, 2005).

3.2.2- L'huile de graines de neem

L'huile de neem est extraite des graines. Elle est obtenue par pression à froid des graines moulues sans ajout de solvant (GTZ, 1995). Les graines sont décortiquées et vannées pour éliminer les débris des enveloppes. Les amandes sont broyées et transformées en une pâte qu'on malaxe à la main pour en extraire l'huile de couleur marron presque opaque et d'une odeur épicée bien spécifique. Il est nécessaire d'ajouter un peu d'eau à la pâte afin de pouvoir la pétrir plus facilement. La teneur en huile est d'environ 40 à 50 %. La méthode permet d'extraire environ 150 mL d'huile à partir de 1 kg de poudre de graines. L'huile de graines de neem peut être également extraite par solvant organique mais elle sera de qualité inférieure par rapport à celle pressée à froid. Les propriétés anti-appétantes de l'huile de neem ont été rapportées pour la première fois sur les sauterelles par Pradhan *et al.* (1962). Les effets répulsifs et sub-létaux de l'huile de neem sur le tribolium brun de la farine (*Tribolium confusum* Jacquelin du Val, 1863) et le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855) étaient déjà démontrés au Togo par des tests de laboratoire où la mortalité des larves était enregistrée dans les grains de maïs traités dans des jarres (Akou-Edi, 1983). De nombreuses études indiquent que l'huile de neem a, sur les arthropodes, des effets anti-appétants (Islam *et al.*, 2007), répulsifs, larvicides (Awad et Shimaila, 2003 ; Okumu *et al.*, 2007), régulateurs et/ou inhibiteurs de croissance pouvant affecter la ponte chez les femelles (Ahmed *et al.*, 2001 ; Bruce *et al.*, 2004 ; Agbodzavu, 2005) ainsi que la mue et le développement des larves (da Silva et Martinez, 2004 ; Islam *et al.*, 2007).

3.3- CAFEIER (*Coffea sp.*), SCOLYTE (*Hypothenemus hampei*) ET PARASITOÏDES *Cephalonomia stephanoderis* ET *Phymastichus coffea*

La culture du caféier est faite pour son fruit le café. Deux espèces originaires d'Afrique sont cultivées dans le monde : le café robusta et le café arabica. Le caféier robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehne, 1897) est d'origine Ougandaise à la Guinéenne. Le caféier arabica (*Coffea arabica* L. 1753), originaire de l'Afrique de l'Est (Ethiopie, Soudan et Kenya), est le plus anciennement connu et le plus répandu dans le monde. L'introduction de la culture du caféier au Togo remonte aux années 1930 - 1940 lorsque la variété Niaouli, originaire de Dahomey actuelle République du Bénin, était cultivée de façon extensive sous ombrage forestier. Le scolyte des fruits du caféier (*H. hampei* Ferrari) est le ravageur le plus important du café au monde. C'est un Coléoptère de la famille des Scolytidae. Toutes les plantations de caféier de la planète sont menacées par ce coléoptère depuis l'Afrique jusqu'en Amérique du Sud et en Asie. La population du ravageur est régulée par un important cortège d'ennemis naturels parmi lesquels les hyménoptères *C. stephanoderis* et *P. coffea*. La proposition d'une méthode de lutte efficace passe nécessairement par une meilleure connaissance de la biologie du ravageur et de celle de ses parasitoïdes.

3.3.1- La culture du café dans le monde

L'espèce *Coffea canephora* (Pierre ex A. Froehne, 1897) est la plus cultivée en Indonésie et en Afrique (Wegbe, 2004). Le caféier arabica (*Coffea arabica* L. 1753) est surtout cultivé en Amérique latine et en Afrique (Coste, 1989). La culture du caféier couvre les zones tropicales où les risques de gel sont peu probables à basse et moyenne altitude et où les pluies sont abondantes (Coste, 1989). L'aire de dispersion de la culture du caféier (Fig. 12) s'étend depuis l'Amérique du sud jusqu'en Asie en passant par le continent africain au sud du Sahara.



Figure 12- Aire de dispersion des plantations caféières dans le monde (Wegbe, 2004)

3.3.1.1 - Les chiffres mondiaux

La production annuelle mondiale du café se chiffre à environ 7,2 millions de tonnes. Elle est fournie par environ 70 pays de l’Afrique, Asie, Amérique du Sud et Centrale et Océanie (Charlery, 2002). Dans la production et la commercialisation du café, l’Amérique Centrale et du Sud fournit 53,4 % du café *arabica* contre 35,4 % du café *robusta* fourni par les pays d’Afrique, d’Asie et le Brésil (Wegbe, 2004). Plus de 25 millions de personnes à travers le monde vivent directement de la culture du café, de son transport, de son conditionnement et de sa commercialisation. La valeur moyenne des exportations au cours de ces dernières années est estimée à 11,214 milliards de dollars US (Wegbe, 2004). Le café est un produit stratégique pour les pays producteurs et importateurs qui annuellement déboursent plus de 50 milliards de dollars US pour le transport et la distribution (Wegbe, 2004).

3.3.1.2 - Produits du café

Les graines après torréfaction permettent d’obtenir des cafés en poudre solubles qui servent à préparer des boissons instantanées. Celles-ci possèdent des propriétés stimulantes dues à la présence de la caféine. A l’exception de la préparation d’extraits

pour la pâtisserie et la confiserie, le café sert exclusivement à la confection des boissons chaudes ou froides. La caféine, sous-produit de l'industrie de décaféination, est utilisée en pharmacie (Coste, 1989). Les sous-produits de traitement post-récolte (pulpes issues du traitement par voie humide ou coques provenant du traitement par voie sèche) sont compostés après fermentation pour une excellente matière fertilisante ou pour servir d'aliment au bétail. Les tannins contenus dans les pulpes peuvent servir également à tanner les cuirs. Les pulpes sont également utilisées pour la préparation d'alcool éthylique et l'extraction des matières pectiques.

3.3.1.3 - Dégâts et pertes causés par le scolyte du café

Le scolyte cause des dégâts sur toutes les phases de la fructification du caféier. La chute des jeunes fruits infestés est parfois importante et peut atteindre 30 % des fruits apparus (Decazy, 1989). Les galeries d'entrée du scolyte dans les cerises favorisent l'infestation par les bactéries (*Erwinia*) et les champignons (*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp.) qui peuvent être nocifs pour la santé humaine, présence de mycotoxines en particulier (Taniwaki *et al.*, 1999). Les larves continuent d'évoluer dans les cerises de la récolte à l'usinage aussi longtemps que les conditions de vie leur sont favorables. La cassure des grains "scolytés" fragiles pendant le décorticage est source de perte de produit. Les pertes de production peuvent atteindre 93 kg/ha au Togo (Wegbe *et al.*, 2003).

3.3.2- La biologie/physiologie de la plante, de son principal prédateur et des auxiliaires de culture associés

3.3.2.1- Le caféier (*Coffea* sp.)

Le caféier est une plante sempervirente appartenant à la grande famille des Rubiacées et au genre *Coffea* qui compte plus de soixante-dix espèces (Coste, 1989) parmi lesquelles *Coffea arabica* (Linne 1753) et *Coffea canephora* (Pierre ex Froehner 1897) sont largement cultivées pour leurs fruits contenant un alcaloïde : la caféine. Le fruit du caféier est une drupe communément appelée cerise, de forme globuleuse ou subglobuleuse ou ovoïde à maturité. La graine est de couleur gris-jaunâtre à gris ardoisée selon la variété. Sa taille est en moyenne 10 mm de longueur, 6 à 7 mm de largeur et 3 à 4 mm d'épaisseur. La Figure 13 montre un plant de caféier portant des cerises mures et immatures.



Figure 13- Plant et fruits du caféier

3.3.2.2 - *Le scolyte des fruits du caféier (Hypothenemus hampei Ferrari 1867)*

Le scolyte des fruits du caféier (Fig. 14) est un petit coléoptère de la famille des Scolytidae. Il vit et accomplit tout son cycle de développement aux dépens des grains de café. Il est originaire d’Afrique (Ticheler, 1961 ; Koch, 1973). Son aire de dispersion ne cesse d’accroître depuis sa découverte.



Figure 14- Scolytes adultes du café : femelle et mâle (Borbon-Martinez cité par Wegbe, 2004)

Le scolyte attaque les fruits du caféier à tous les stades de développement. L'infestation des plantations commence très tôt au moment où les cerises, encore vertes apparaissent sur les rameaux. Les femelles attaquent les jeunes fruits au niveau de l'apex. A l'intérieur du fruit, elles creusent des galeries nutritionnelles peu profondes et commencent par pondre des œufs deux à trois par jour dès que les fèves deviennent consistantes. L'éclosion des œufs se produit 5 à 9 jours après la ponte. La durée du cycle de développement d'*H. hampei* varie entre 21 et 63 jours avec une moyenne de 28 jours (Bartra *et al.*, 1982). A l'instar des coléoptères, *H. hampei* est un holométabole dont le cycle de développement est caractérisé par quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (Wegbe, 2004). La femelle mesure en moyenne 1,4 à 1,9 mm de long et 0,43 à 0,8 mm de large (Bergamin, 1943 ; Corbett, 1933). La taille de la femelle est 1,4 fois plus grande que celle du mâle. Les mâles se reconnaissent par leur petite taille ainsi qu'une paire d'ailes postérieures atrophiées inaptées au vol. Les fruits de caféier non récoltés sur l'arbre ou tombés au sol communément appelés cerises d'inter-campagne sont des lieux de refuge du scolyte. Ces cerises «scolytées» constituent la principale source d'infestation ainsi que d'autres plantes hôtes de la famille de Rubiaceae, Capparidaceae, Rosaceae, Sterculiaceae, Euphorbiaceae, Malvaceae, Dioscoreaceae, Convolvulaceae et de Fabaceae (Damon, 2000).

3.3.2.3 - Les deux principaux parasitoïdes du scolyte

3.3.2.3.1- Le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem, 1961)

C. stephanoderis (Betrem) (Fig. 15) appartient à l'ordre des hyménoptères et à la famille des Bethyridae. Parasite du scolyte, il a été découvert en Côte d'Ivoire par Ticheler (1961). L'adulte est de couleur noir-marron et mesure 2 mm de long avec une tête en forme rectangulaire (Betrem, 1961). La femelle pond en moyenne deux à trois œufs par jour. Le cycle complet varie entre 20 et 26 jours (Borbon-Martinez, 1989 ; Wegbe, 1990). La durée de vie de l'insecte varie entre 52 et 46 jours (Wegbe, 1990) avec un taux de parasitisme de 50 % (Koch, 1973). C'est une petite guêpe noire qui recherche le scolyte en s'introduisant dans les cerises par les galeries creusées par ce dernier. La petite guêpe noire pond sur les larves et les nymphes du scolyte, dévore ses jeunes larves et tue ses adultes. De l'œuf, éclot une petite larve de guêpe qui, fixée sur sa nymphe hôte, en aspire l'hémolymphe jusqu'à la tuer. Elle se métamorphose dans un cocon en une nouvelle guêpe.



Figure 15- Adulte du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Dufour cité par Wegbe, 2004)

3.3.2.3.2- Le parasitoïde *Phymastichus coffea* (LaSalle, 1990)

P. coffea est très peu étudié (LaSalle, 1990). Il a été découvert au Togo en 1987 (Borbon-Martinez, 1989) et mis dans la sous-famille de Tétrastichinae. Appartenant à la famille des Eulophidae et à l'ordre des hyménoptères, cet insecte (Fig. 16) a fait preuve d'excellent parasitisme contre le scolyte dès sa découverte (Feldhege, 1992). La taille du mâle varie entre 0,45 et 0,55 mm alors que la femelle fait de 0,8 à 1,0 mm. Les travaux de Feldhege (1992) ont révélé que la durée du cycle est comprise entre 27 et 30 jours. La longévité des adultes est relativement courte, 3 jours pour les femelles et 2 jours pour les mâles (Feldhege, 1992 ; López-Vaamonde et Moore, 1998). L'insecte est une petite guêpe endoparasitoïde des stades adultes du scolyte. Il attaque les scolytes femelles au moment où ces dernières forent les cerises de caféier (Feldhege, 1992 ; Infante *et al.*, 1994). La petite guêpe pond dans l'abdomen ou sur le thorax du scolyte. Le développement larvaire et la nymphose se déroulent à l'intérieur de l'hôte.



Figure 16- Adulte du parasitoïde *Phymastichus coffea* (Dufour cité par Wegbe, 2004)

3.3.3- les stratégies de protection du caféier

3.3.3.1- La lutte chimique

Au début des années 1970 et à l'instar des autres pays au monde, le Togo interdit l'usage des pesticides polluants organiques persistants les uns après les autres. Les pesticides organochlorés ont été progressivement remplacés par les organophosphorés et les pyréthrinoïdes de synthèse. Cependant, l'apparition de la résistance d'*H. hampei* aux pyréthrinoïdes de synthèse a nécessité la diffusion de nouveaux programmes de traitement comprenant l'endosulfan et des insecticides de type organophosphorés.

3.3.3.2- La lutte culturale, agronomique ou mécanique

Elle regroupe l'ensemble des mesures créant des conditions défavorables au développement du ravageur. La récolte sanitaire qui consiste à ramasser les cerises d'inter-campagne restées sur les rameaux ou tombées par terre et à les détruire en est l'une des principales. Les pratiques culturales comme la taille des caféiers, les désherbages réguliers et la culture d'une même variété permettant d'avoir une maturation groupée sont des mesures appropriées pour réduire le risque d'attaques (Decazy et Castro, 1990). L'écorçage des grumes abattues permet d'éviter que des scolytes s'installent sous l'écorce pour y pondre. Les adultes sont en effet attirés par les odeurs des arbres en particulier ceux malades ou en déficience physiologique en cas de sécheresse. Ce phénomène permet de les attirer vers des pièges odorants reproduisant le spectre d'odeurs d'arbres malades (Dufour *et al.*, 2001).

3.3.3.3- La lutte biologique

La lutte biologique contre le scolyte des fruits du caféier consiste à utiliser ses propres ennemis naturels pour limiter sa population. Les principaux sont les parasitoïdes *C. stephanoderis* et *P. coffea* (hyménoptères) et l'entomopathogène *Beauveria bassiana*, un champignon cosmopolite qui attaque plus de 200 espèces d'insectes. Ces ennemis naturels du scolyte sont souvent utilisés comme moyen de lutte biologique pour contrôler sa population (Wegbe, 2004).

3.3.3.4- La lutte intégrée

La lutte intégrée vise à combiner toutes les méthodes de lutte possibles et utiles contre le ravageur. Elle comprend le piégeage, le meilleur produit de plantation, le contrôle biologique et l'utilisation rationnelle des pesticides.

CONCLUSION

La synthèse bibliographique indique que les huiles essentielles issues de plantes aromatiques de la flore locale et leurs constituants ainsi que l'huile de graine de neem possèdent vis-à-vis des arthropodes des actions létales et sub-létales (effets répulsifs, anti-appétants et inhibiteurs affectant la fécondité, la ponte, la mue, la croissance et le développement des insectes). Elle nous renseigne aussi que le scolyte *H. hampei* est le ravageur le plus important du café capable de causer des dégâts énormes et des pertes significatives. La lutte contre ce ravageur reste pour l'heure essentiellement chimique malgré les problèmes de résidus d'insecticide dans les récoltes et d'apparition d'insectes résistants aux produits. Cette synthèse bibliographique nous permet d'explorer les propriétés insecticides des plantes aromatiques en vue de leur utilisation possible pour le contrôle de la population du scolyte *H. hampei* dans la caféiculture.

DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE

PREMIER CHAPITRE :

NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SOLS, DES SEDIMENTS ET DES EAUX PAR LES INSECTICIDES ORGANOCHLORES UTILISES DANS LES CULTURES DE COTON, DE CAFE ET DE CACAO AU TOGO

INTRODUCTION

L'utilisation des pesticides dans l'agriculture a provoqué une contamination planétaire caractérisée par une présence généralisée de résidus de pesticides dans les différents milieux terrestres et aquatiques. Les sols agricoles sont suspectés d'être aujourd'hui une source importante de rejet des pesticides polluants organiques persistants (POPs) dans l'environnement (Leone *et al.*, 2001). La présence des organochlorés dans les sols paraît responsable de la pollution de l'air du fait de leur tension de vapeur ou par entraînement particulaire lié à l'érosion éolienne (Beyer et Matthies, 2001). Les résidus hydrophobes qui arrivent dans les milieux aquatiques sont adsorbés en grande partie par les sédiments (Karickhoff *et al.*, 1979 ; Kammann *et al.*, 1992).

Des études ont révélé la présence de résidus d'organochlorés dans les sols agricoles, les sédiments, les eaux de surface et souterraines dans certains pays de l'Afrique au sud du Sahara. Cette pollution est due probablement à l'utilisation des insecticides organochlorés dans l'agriculture et pour la santé (lutte anti-vectorielle). Cependant, aucun bilan environnemental des insecticides organochlorés utilisés dans les cultures de de coton, de café et de cacao au Togo n'est encore réalisé.

Ce chapitre a pour objectif de fournir les premières données pour une approche d'évaluation des risques d'exposition des populations aux pesticides organochlorés utilisés dans l'agriculture au Togo en s'appuyant sur les objectifs spécifiques suivants :

- Recherche et dosage des insecticides organochlorés dans les sols sous culture de cotonnier, de caféier et de cacaoyer,
- Recherche et dosage des insecticides organochlorés dans les sédiments du barrage de Tové et de la rivière Agbassiandi dans la zone de production de café et de cacao,
- Recherche et dosage des insecticides organochlorés dans les eaux de puits et de rivières dans la zone productrice du coton.

1.1- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SOLS AGRICOLES PAR LES PESTICIDES ETUDIÉS

Les sols des zones productrices de coton, de café et de cacao au Togo sont exposés aux traitements phytosanitaires depuis plus de 30 ans, mais ils n'ont jamais été surveillés relativement à leur contamination par les résidus de pesticides. L'aptitude d'un sol à retenir ou à relâcher les molécules insecticides dépend de plusieurs facteurs dont ses propriétés physico-chimiques et minéralogiques (Kanazawa, 1989 ; Pignatello, 1998). Cette section présente les sites de prélèvement de sol, les méthodes d'analyse spécifiques, les propriétés physico-chimiques et minéralogiques des sols étudiés et leurs teneurs en résidus de pesticides organochlorés recherchés.

1.1.1- MATERIEL ET METHODES

1.1.1.1 Sites de prélèvement

L'étude a été réalisée dans la Région des Plateaux au Togo, la seule région économique du pays où les trois cultures de rente (coton, café et cacao) sont pratiquées (Fig. 17). Les échantillons de sol ont été prélevés en station et en milieu paysan. Les stations de recherche agronomique de Tové et de Tomégbé, les champs des villages de Kpadapé, Agbocopé, Maflo et de Dikpéléwou ont servi de sites de prélèvement de sol dans la zone de production de café et de cacao. Il s'agit de la zone des forêts denses semi-caducifoliées aux sols ferrallitiques rouges bien drainés à texture argilo-sableuse (Lamouroux, 1969). Les champs des villages d'Adéta, Wahala et Morétan ainsi que les stations de recherche agronomique de Kolo-Kopé et de Notsé ont constitué les sites de prélèvement de sol dans la zone cotonnière. C'est la zone de savane arborée de type guinéen, aux sols ferrugineux tropicaux à texture sableuse (Lamouroux, 1969).

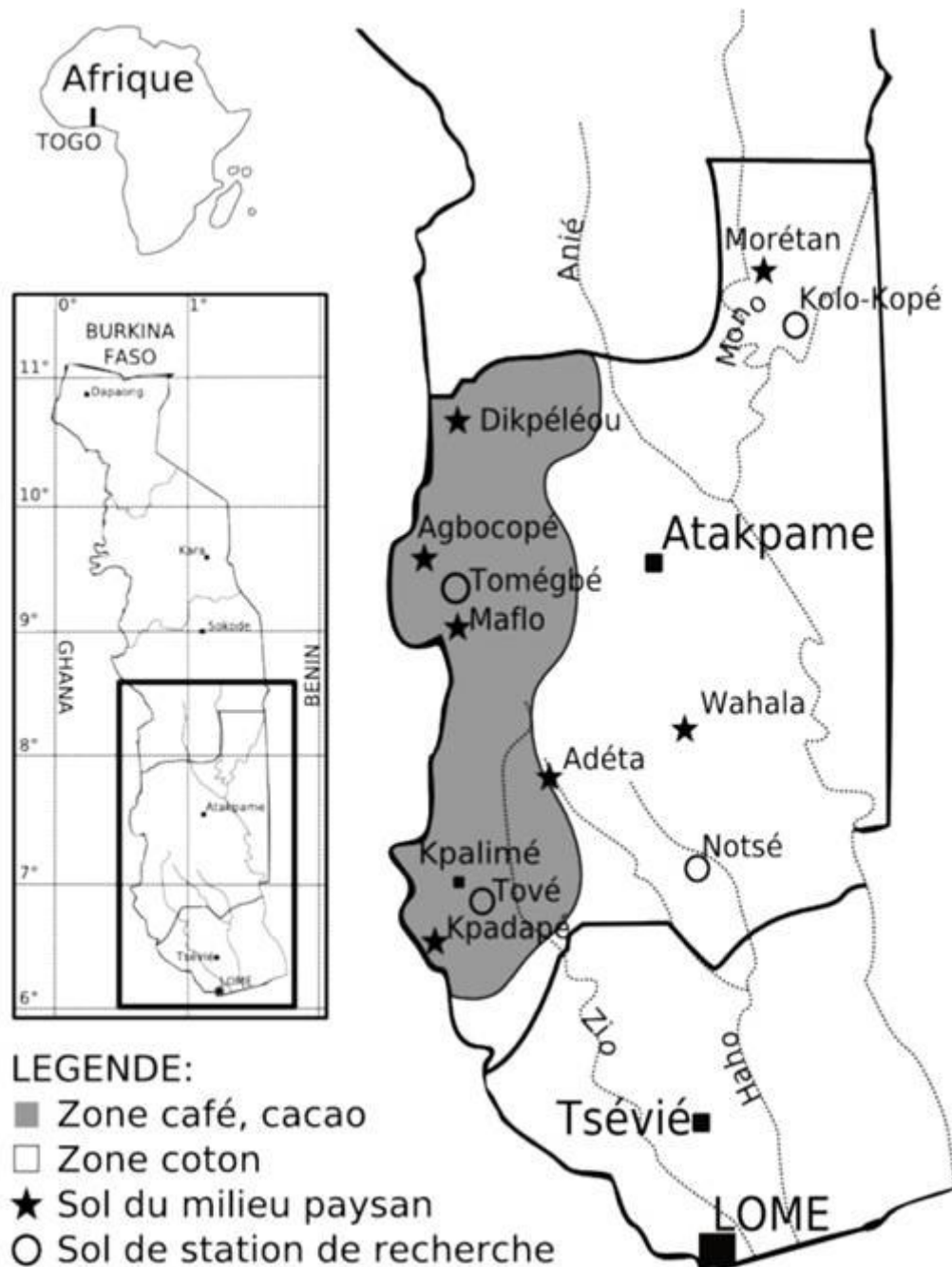


Figure 17- Carte des zones agro-écologiques : points d'échantillonnage de sol

1.1.1.2 - Description de fosses pédologiques

Une étude de caractérisation pédologique a été réalisée dans chaque zone et les sols ont été identifiés suivant les classifications française et américaine (CPCS, 1967 ; Soil Survey Staff, 1992). Des paramètres environnementaux comme le mode d'occupation du sol, les cultures pratiquées et les types de traitements phytosanitaires ont été pris en compte.

Des échantillons de sol ont été prélevés sur les parcelles qui ont reçu des traitements phytosanitaires passés ou actuels. Ils ont été ensuite analysés en laboratoire pour la détermination de leurs propriétés physico-chimiques et des teneurs en résidus d'insecticides organochlorés. Les prélèvements ont été effectués dans huit (08) champs de coton et neuf (09) champs de café et de cacao. Les champs individuels échantillonnés en milieu paysan ont été choisis sur la base des informations selon lesquelles ces champs ont souvent reçu des applications de produits phytosanitaires depuis au moins 20 – 30 ans. Les informations sur les précédents culturaux ont été recueillies auprès des collectivités locales et des structures d'encadrement technique des paysans. Les sols ont été prélevés par randomisation en cinq (05) points aléatoires sur 0,5 ha et mélangés pour constituer un échantillon composite de 1 kg par site (AFNOR, 1999). Les prélèvements de sol sont effectués dans les vingt (20) premiers centimètres supérieurs au moyen d'une tarière manuelle et d'un récipient en acier inoxydable.

Ces échantillons ont été séchés à la température ambiante de laboratoire (25 – 30° C) avant la séparation des éléments grossiers de la terre fine au moyen d'un tamis de 2 mm. La terre fine de chaque échantillon a été conservée à l'abri de la lumière jusqu'au dosage des résidus de pesticides et analyses physico-chimiques.

1.1.1.3 - Analyses physico-chimiques et minéralogiques des sols

Le pH et la capacité d'échange cationique (CCE) ont été déterminés par les méthodes AFNOR (1999). L'azote total et le carbone organique ont été dosés respectivement dans les sols par la méthode de Kjeldahl (AFNOR, 1999) et la méthode de Walkley-Black (Walkley, 1947). L'analyse physique en cinq fractions granulométriques (argile, limons fin et grossiers, sables fins et grossiers) a été réalisée par la méthode de pipette Robinson. Le triangle de texture de l'USDA (United State Department of Agriculture) (Soil Survey Division Staff, 1993) a été utilisé pour la classification de la texture des sols. La méthode de diffractométrie par rayons X (Sultanbayev *et al.*, 1983) a été utilisée pour l'analyse minéralogique des argiles des échantillons de sol. Les différentes étapes de la méthode d'analyse sont présentées à l'annexe 2.

1.1.1.4- Analyse et quantification des résidus de pesticides

L'essentiel du matériel utilisé est composé d'un broyeur type Rocking disks grinder AUREC (Brussels, Belgium), d'un extracteur ASE 200 Dionex (Salt Lake City, Utah Etats-Unis) et d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 5890 Series II couplé au spectromètre de masse HP MSD 5971 équipé d'un détecteur sélectif quadripolaire.

Les réactifs et les solvants utilisés sont de qualité analytique. Le dichlorométhane, l'hexane, l'acétone et le sulfate de sodium anhydre proviennent de SDS (Solvant documentation Synthèse, Peypin France). La solution étalon mère : Pesticides-Mix standard 20 (97,00 - 99,50 % de pureté) de Dr. Ehrenstorfer (Augsbourg, Allemagne) a été fournie par Cluzeau Info Labo Sainte-Foy-la-Grande, France. Les cartouches de Florisil[®] utilisées pour la purification des extraits étaient de Waters Cooperation (Milford, Massachusetts). La terre de diatomée (Hydromatrix[®]) utilisée provenait de Varian (Palo Alto, Californie).

L'extraction des résidus de pesticides des échantillons de sol a été réalisée par la méthode ASE (Accelerated Solvents Extraction) (Dionex 2004a ; 2004b ; Gan *et al.*, 1999, Devault *et al.*, 2007). Une quantité de 10 g de sol broyé à 100 µm est mélangée avec 5 g de terre de diatomée (Hydromatrix[®]) et mise dans une cellule d'extracteur en acier inoxydable de capacité 22 mL. Chaque échantillon est extrait pendant 5 minutes par un mélange acétone/dichlorométhane (3:1 v/v) à une température de 75° C et sous une pression de 100 bars avec un volume intermédiaire affleurant 60 % et en 2 cycles. Les extraits recueillis sont évaporés à sec sous vide à 30 - 40°C au moyen d'un évaporateur rotatif type Buchi. Les résidus secs sont repris dans 1,5 mL d'hexane et gardés dans de petits flacons en verre pour l'analyse par GC/MS.

Les extraits ont été analysés par un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC/MS) de détecteur d'ionisation à impact d'électrons, 70 eV opérant en mode SIM (Selected Ion Monitoring). Les ions moléculaires ou fragments (m/z) utilisés étaient : α et γ -hexachlorocyclohexane (HCH) (170, 181, 183, 219), heptachlore (100, 272, 135), aldrine (66, 79, 261, 263), heptachlore époxyde (81, 263, 353), 2-4DDE et 4-4DDE (246, 248) α -endosulfan (135, 197, 207, 241) ;

dieldrin (79, 81, 261, 263, 279) ; 2-4DDD et 4-4DDD (165, 235, 237), endrine (81), β -endosulfan (197, 241), 2-4DDT et 4-4DDT (165, 235, 237).

Les conditions chromatographiques étaient : Colonne capillaire HP-5MS (longueur : 30 m, diamètre intérieur : 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 μm), injection 1 μL en mode splitless. La température du four était programmée comme suit : température initiale 45°C pendant 1 min, suivie d'un premier gradient de température de 35°C/min jusqu' à 190°C, d'une deuxième rampe de 3° C/min jusqu' à 250°C pendant 3 min et d'une troisième rampe de 20°C/min jusqu' à 280°C pendant 15 min. L'injecteur et le détecteur étaient respectivement maintenus à 280°C et 300°C. Le gaz vecteur était hélium de haute pureté (Air Liquide Alpha2) avec un débit constant de 0,8 mL.min⁻¹.

L'identification des pesticides organochlorés a été faite par calibration avec la solution standard et la comparaison des indices de rétention des pics de la solution étalon avec ceux des échantillons de sol, confirmée par le rapport ionique entre fragments significatifs dans un même pic. Les concentrations des résidus de pesticides ont été déterminées par la méthode d'étalonnage externe par la comparaison de la surface du pic d'un composé avec la surface du pic du produit correspondant dans la solution étalon. Les concentrations des résidus de pesticides ont été déterminées par la formule suivante :

$$C(\mu\text{g} / \text{g}) = \frac{C_i.V_i.S_e.V_t}{V_e.S_i.P}$$

Où C_i = concentration de la gamme étalon ($\mu\text{g}/\text{mL}$),
 V_i = volume injecté de la gamme étalon (μl),
 S_e = surface du pic de l'extrait de sol (cm^2),
 V_t = volume total de l'extrait de sol (mL)
 V_e = volume injecté de l'extrait de sol (μl),
 S_i = surface du pic de la gamme étalon (cm^2)
 P = poids du sol (g)

1.1.2- RESULTATS ET DISCUSSION

1.1.2.1- *Caractéristiques des sols*

Les observations des fosses pédologiques (Fig. 18) révèlent une différence significative entre les caractéristiques morphologiques des sols sous culture cotonnière et plantations de caféiers et de cacaoyers. Elles sont identiques à celles rapportées par Lamouroux (1969) et Levêque (1979). Ce sont principalement des sols ferrugineux tropicaux lessivés selon la classification française (CPCS, 1967) correspondant aux Alfisols de la classification américaine (Soil Survey Staff, 1992). Cependant, le Référentiel Pédologique (AFES, 1995) n'a pas abordé les sols des régions tropicales. Ces sols sont bruns, sableux, parfois à concrétions et peu épais, limités à moins de 0,5 m en profondeur par une dalle de cuirasse ou de carapace dans la zone cotonnière. Ils portent la culture de coton en alternance avec les cultures de maïs et de niébé. Ils sont souvent associés aux sols peu évolués d'érosion, verticalement peu différenciés, avec une charge variable en éléments grossiers de 15 à 30 % et aux vertisols et/ou sols hydromorphes à caractères vertiques difficiles à travailler. La couverture pédologique dominante dans la zone café, cacao est identique à celle signalée par Lamouroux (1969). Il s'agit de sols ferrallitiques peu ou pas lessivés selon la classification française (CPCS, 1967) correspondant aux oxisols et ultisols de la classification américaine (Soil Survey Staff, 1992). Ils sont rouges, structurés et bien drainés sur une grande partie du profil, souvent tronqués sur pente et remaniés présentant parfois des cailloux de quartz dans l'horizon de surface.

Les résultats analytiques sont exprimés par rapport au poids sec de sol afin d'éliminer l'incidence des fluctuations de la teneur en eau. Les résultats d'analyses des propriétés physico-chimiques des sols (Tableaux 22 et 23) révèlent qu'ils présentent une texture sablo-limoneuse à limono-sableuse et sablo-argileuse à dominance de sable (55,3 % - 82,8 %) dans la zone cotonnière. En revanche les sols de la zone café, cacao ont une texture limono-sableuse à limono-argilo-sableuse et argilo-sableuse à dominance d'argile (19,25 % - 39,18 %) à l'exception des sols de Kpadapé qui ont 12 % d'argile. Du point de vue minéralogique, les sols étudiés contiennent de la kaolinite, de l'illite et de la smectite à des proportions variant de l'état de traces à plus de 50 % aussi bien dans les sols de la zone de coton que dans ceux de la zone de café et cacao

(Tableaux 22 et 23). Nos observations recourent celles de Lamouroux (1969) si l'on compare les types d'argiles identifiés à ceux signalés par l'auteur dans la même région.



Figure 18- Profils pédologiques examinés sous les cultures de coton, café et cacao

Tableau 22- Quelques propriétés physico-chimiques des sols de la zone cotonnière (0-20 cm)

Paramètres du sol étudiés	Station de Recherche ^a					Milieu paysan		
	Kol 1	Kol 2	Kol 3	Notsé 1	Notsé 2	Wahala	Morétan	Adéta
Argile (%)	7,01	28,25	21,01	11,03	15,51	8,25	7,03	13,35
Limon (%)	8,86	11,07	5,02	13,19	13,18	9,87	12,04	14,23
Sable (%)	82,80	55,30	60,41	73,57	67,65	79,45	80,11	77,56
Texture	LS	SCL	SCL	SL	SL	LS	LS	SL
kaolinite %	25	80	trace	25	25	-	-	-
illite %	50	20	trace	50	50	-	-	-
smectite %	25	trace	100	25	25	-	-	-
carbone org %	0,45	0,78	0,83	0,49	0,88	0,17	0,23	0,51
Azote total %	0,04	0,065	0,077	0,044	0,077	0,014	0,02	0,048
C/N ratio	11,25	12,00	10,77	11,13	11,42	12,14	11,5	10,62
CEC ^b	4,66	5,22	5,79	5,12	6,69	4,3	4,77	5,57
pH _{eau}	6,13	6,43	6,36	6,64	6,08	6,37	6,22	6,46

^a Station de Recherche Agronomique ; ^b Capacité d'Echange Cationique en méq/100g ; méq : milli équivalent ; Kol : Kolokopé

Tableau 23- Quelques propriétés physico-chimiques des sols de la zone de café/cacao (0-20 cm)

Paramètres du sol étudiés	Station de Recherche ^a					Milieu paysan			
	Tové café	Tové cacao	Tom cacao	Dik café	Dik cacao	Kpa café	Kpa cacao	Agbo cacao	Maflo cacao
Argile (%)	25,5	19,25	24,52	37,88	39,18	13,77	10,89	36,22	21,84
Limon (%)	17,65	22,57	16,79	10,36	12,15	19,44	21,07	8,18	12,13
Sable (%)	50,25	50,01	57,14	50,05	47,26	65,31	66,12	54,09	64,09
Texture	SCL	SCL	SCL	SC	SC	SL	SL	SC	SCL
kaolinite %	80	40	-	-	-	-	-	-	-
illite %	20	10	-	-	-	-	-	-	-
smectite %	-	50	-	-	-	-	-	-	-
C org %	4,45	4,24	3,56	3,42	3,13	2,59	2,25	3,05	2,09
Azote total %	0,39	0,27	0,21	0,32	0,19	0,22	0,14	0,18	0,12
C/N ratio	11,41	15,7	16,95	10,68	16,47	11,77	16,07	16,94	17,41
CEC ^b	9,12	8,55	8,69	10,89	11,2	7,34	8,93	10,9	9,87
pH _{eau}	6,93	6,89	6,12	6,66	6,88	6,23	6,75	6,09	6,98

^a Station de Recherche Agronomique ; ^b Capacité d'Echange Cationique en méq/100g ; méq : milli équivalent ; Agbo= Agbocopé, Dik = Dikpéléwou, Kpa = Kpadapé, Tom = Tomègbé

Le pH tend à être neutre aussi bien dans les sols de coton que dans ceux de café et de cacao. Cependant, la capacité d'échange cationique (CEC) et le taux de carbone organique y diffèrent. De fortes valeurs de CEC et de carbone organique sont observées dans la zone de cultures pérennes (café, cacao) sous forêt où l'on observe un dépôt impressionnant de feuilles couvrant le sol. Par contre, le coton est une culture

saisonnière qui laisse moins de biomasse dans le sol. Les plants de cotonnier sont arrachés et brûlés après récolte pour l'élimination des parasites. Les rapports C/N paraissent semblables dans les sols sous cotonnier et caféier malgré les grandes variations des teneurs en carbone organique. Les faibles rapports C/N (< 12) indiquent une minéralisation rapide de la matière organique et un taux d'azote élevé dans ces sols (Pourriot et Meybeck, 1995). Les fortes valeurs de C/N enregistrées dans les sols sous cacaoyers traduisent l'influence de leur couverture permanente par la biomasse.

La présence de l'illite, de la smectite et les taux de carbone organique prédisposent ces sols à une bonne adsorption des pesticides chimiques. La forte variation des paramètres du sol comme la température, l'humidité, le pH et le taux de matière organique influence la dégradation biotique ou abiotique de la plupart des pesticides dans le sol (Ghadiri et Rose, 2001). Ainsi, les faibles variations de pH et du rapport C/N observées ici peuvent faire penser à une moindre implication des processus biologiques dans la rémanence des pesticides à priori dominée par les processus physico-chimiques comme l'adsorption sur les argiles ou la matière organique.

1.1.2.2- Résidus de pesticides dans les sols étudiés

Les insecticides organochlorés détectés dans les sols analysés sont le DDT et ses métabolites (DDE et DDD), l'aldrine, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, l'heptachlore époxyde, le lindane, l' α et le β endosulfan (Tableaux 24 et 25). En l'absence de normes nationales ou provenant de pays à situation comparable, nous avons utilisé par défaut des normes en provenance du Canada et des Pays-Bas dans l'analyse de nos résultats. Le niveau résiduel des pesticides organochlorés détectés dans les sols étudiés est comparable à ceux rapportés pour le Bénin, le Mali, le Sénégal, la Gambie et la Tanzanie où les cultures pratiquées et les techniques culturales et les conditions naturelles sont assez proches de celles qui prévalent au Togo.

a) Approche par produit

- DDT et métabolites (DDE, DDD)

Les concentrations moyennes de DDT, DDE et DDD dans les sols de la zone cotonnière au Togo varient entre 0,31 et 11,55 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et vont de 0,21 à 78,60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols de la zone de café et cacao (Tableaux 24 et 25) contre 4,8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ décelés dans les sols

du site maraîcher de la vallée de l'Ouémé au Bénin (Assogba-KomLa *et al.*, 2007). Les valeurs de la présente étude sont nettement très inférieures au seuil de référence ($100 \mu\text{g.kg}^{-1}$) marquant la limite entre sol contaminé et sol non contaminé selon les directives de la protection des sols du Canada (Jauzein *et al.*, 1995). Elles sont comparables aux teneurs moyennes de 4-4 DDT ($11 \mu\text{g.kg}^{-1}$) et 4-4 DDD ($< 6 \mu\text{g.kg}^{-1}$) observées dans les sols agricoles des régions productrices du coton au Mali (Dem *et al.*, 2007). La littérature indique des concentrations résiduelles moyennes du DDT et de ses métabolites de 0,1 à $97 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols agricoles en Tanzanie (Kishimba *et al.*, 2004), de 1,79 à $7,93 \mu\text{g.kg}^{-1}$ au Sénégal (Cissé *et al.*, 2003), de 1 à $1,40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en Egypte (Ahmed *et al.*, 1998) et de 1,5 à $71,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les zones frontalières entre le Sénégal et la Gambie (Manirakiza *et al.*, 2003). La présence du DDE et du DDD dans les sols étudiés est indicatrice de l'activité métabolique de la microflore existante (Beyer et Krynitsky, 1989). Le DDT est métabolisé en DDE par des micro-organismes en conditions aérobies tandis qu'il est transformé en DDD dans les conditions anaérobies (Boul, 1995 ; Heberer et Dünnbier, 1999).

- Aldrine

Les niveaux résiduels détectés dans les sols étudiés vont de 0,32 à $2,45 \mu\text{g.kg}^{-1}$ comparables à $0,496 \mu\text{g.kg}^{-1}$ observé dans les sols du site maraîcher de la vallée de l'Ouémé au Bénin (Assogba-KomLa *et al.*, 2007). Ils sont assez proches de ceux rapportés au Sénégal $1,16 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols de la zone des Niayes (Cissé *et al.*, 2003) et de 0,2 - $1,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ détectés dans les sols de la frontière de la Gambie et du Sénégal (Manirakiza *et al.*, 2003).

- Dieldrine

Les valeurs résiduelles détectées dans les sols analysés dans ce travail s'échelonnent entre 0,48 et $13,40 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableaux 24 et 25). Elles sont assez proches des données de la littérature. La dieldrine a été détectée à une concentration de $2,15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols de la vallée de l'Ouémé au Bénin (Assogba-KomLa *et al.*, 2007). Kishimba *et al.* (2004) rapportent avoir décelé la dieldrine dans les sols en Tanzanie à des concentrations moyennes inférieures à $14 \mu\text{g.kg}^{-1}$. La dieldrine a été détectée à des concentrations moyennes de 0,2 - $0,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols agricoles des zones frontalières entre le Sénégal et la Gambie (Manirakiza *et al.*, 2003), de $0,77 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans

les sols de la zone des Niayes au Sénégal (Cissé *et al.*, 2003) et de 0,3 - 1,70 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols en Egypte (Ahmed *et al.*, 1998).

Tableau 24- Teneurs moyennes des sols en résidus de pesticide (0-20 cm) dans la zone de coton ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Pesticides détectés	Station de Recherche					Milieu paysan			Valeurs limites
	Kol 1	Kol 2	Kol 3	Notsé 1	Notsé 2	Wahala	Morétan	Adéta	
2-4 DDE	2,90	1,76	2,06	3,97	3,26	1,80	1,07	7,33	
2-4 DDD	-	-	-	-	1,55	1,44	2,03	2,24	
2-4 DDT	-	-	3,41	1,19	8,97	0,31	3,63	-	100 ^b
4-4 DDE	1,94	1,98	1,70	2,63	2,02	7,73	1,75	3,50	100 ^b
4-4 DDT	4,74	3,34	4,36	1,81	2,88	5,53	10,67	11,55	100 ^b
lindane	2,07	0,91	3,31	0,64	4,22	4,17	-	4,79	0,05 ^a
aldrine	0,32	-	-	-	-	-	-	-	2,5 ^a
dieldrine	1,47	2,54	0,67	3,52	-	6,50	1,11	0,48	0,5 ^a
endrine	-	-	-	1,68	1,48	4,96	2,14	-	1 ^a
heptachlore	-	-	-	-	-	0,85	-	3,11	100 ^b
hepta-époxyde	3,67	1,45	4,99	2,71	1,18	8,48	4,31	5,34	
α -endosulfan	3,04	7,45	2,23	8,76	8,17	6,78	11,51	8,21	50 ^a
β -endosulfan	1,64	-	1,34	-	1,62	1,05	0,92	-	50 ^a
Endosulfan total	4,68	7,45	3,57	8,76	9,79	7,83	12,43	-	50 ^a

^a: Seuil de contamination de sol ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) au Pays Bas (Department of Soil Protection, 1994)

^b: Valeur guide des sols contaminés en $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol sec au Canada (Jauzein *et al.* 1995)

Kol : Kolo-copé ; hepta-époxyde : heptachlore époxyde

- Heptachlore

Il n'est pas présent dans les sols de la zone de production de café et de cacao. Il a été seulement détecté dans les sols de la zone cotonnière (Tableau 24) à des valeurs de 0,85 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et 3,11 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ contre 0,725 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ rapporté dans la vallée de l'Ouémé au Bénin (Assogba-KomLa *et al.*, 2007). Manirakiza *et al.* (2003) ont décelé dans les sols agricoles des zones frontalières entre le Sénégal et la Gambie l'heptachlore à des concentrations moyennes de 0,2 - 1,5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. L'heptachlore a été mesuré à 2,70 - 2,90 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en moyenne dans les sols en Egypte (Ahmed *et al.*, 1998).

Tableau 25- Teneurs moyennes des sols en résidus de pesticide (0-20 cm) dans la zone de café et de cacao ($\mu\text{g.kg}^{-1}$ poids sec)

Pesticides détectés	Station de Recherche ^a			Milieu paysan						Valeurs limites
	Tové café	Tové cacao	Tom cacao	Dik café	Dik cacao	Kpa café	Kpa cacao	Agbo cacao	Maflou cacao	
2-4 DDE	3,24	-	3,21	4,65	3,27	0,81	-	4,75	8,96	
2-4 DDD	1,32	-	5,44	3,61	1,91	-	0,99	1,42	0,21	
2-4 DDT	0,75	-	-	0,94	11,08	-	1,10	-	-	100 ^b
4-4 DDE	3,94	9,35	12,04	28,72	4,14	0,78	3,39	9,41	3,96	100 ^b
4-4 DDT	2,78	5,67	18,55	74,26	25,84	8,82	14,88	11,36	78,60	100 ^b
lindane	2,99	1,61	-	2,69	13,76	7,62	2,26	9,15	5,16	0,05 ^a
aldrine	-	1,44	-	2,45	-	-	-	1,00	-	2,5 ^a
dieldrine	3,66	1,87	5,39	13,40	1,89		4,55	4,84	2,38	0,5 ^a
endrine	1,87	1,77	-	3,99	6,89	2,32	1,13	-	3,30	1 ^a
hepta-époxyde	3,51	1,31	9,76	8,64	8,57		14,68	-	-	
α -endosulfan	6,57	7,10	9,97	23,59	5,92	7,82	11,81	14,01	14,33	50 ^a
β -endosulfan	0,16	-	-	-	-	-	0,37	-	-	50 ^a
Endosulfan total	6,73	7,10	9,97	23,59	5,92	7,82	12,18	14,01	14,33	50 ^a

^a: Seuil de contamination de sol ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) au Pays Bas (Department of Soil Protection, 1994)

^b: Valeur guide des sols contaminés en $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de sol sec au Canada (Jauzein et al. 1995)

Agbo= Agbocopé, Dik = Dikpéléwou, Kpa = Kpadapé, Tom = Tomègbé

Hepta-époxyde : heptachlore époxyde

- Heptachlore époxyde

L'heptachlore époxyde a été décelé dans tous les sols étudiés à des concentrations variant entre $1,18 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et $14,68 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableaux 24 et 25). Ce qui suppose une l'utilisation de l'heptachlore dans l'agriculture au Togo et sa transformation en heptachlore époxyde par les systèmes biologiques des sols. L'heptachlore époxyde a été détecté en moyenne à $0,2 - 9,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols agricoles des zones frontalières entre le Sénégal et la Gambie Manirakiza *et al.* (2003) et à $1,17 - 1,80 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols en Egypte (Ahmed *et al.*, 1998).

- Endrine

Les valeurs résiduelles de l'endrine vont de 1,13 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ à 6,89 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sols étudiés (Tableaux 24 et 25). Elles sont supérieures à 1,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ qui est une valeur limite séparant un sol pollué d'un sol non pollué selon la directive de protection des sols au Pays-Bas (Department of soil Protection, 1994). Ces valeurs sont également supérieures à celles rapportées au Sénégal et en Gambie 0,2 - 1,0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Manirakiza *et al.*, 2003) et en Egypte 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ahmed *et al.*, 1998). Elles sont assez proches de 3,568 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ signalés dans les sols de la vallée de l'Ouémé au Bénin (Assogba-KomLa *et al.*, 2007).

- Lindane

Les teneurs en lindane des sols étudiés (Tableaux 24 et 25) variant de 0,64 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ à 13,76 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ sont supérieures à 0,05 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ fixé comme valeur de référence séparant un sol pollué d'un sol non pollué selon la directive de protection des sols au Pays-Bas (Department of soil Protection, 1994). Elles sont comparables à celles rapportée au Bénin 2,457 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Assogba-KomLa *et al.*, 2007) et en Egypte 1,20 - 2,30 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ahmed *et al.*, 1998).

- Endosulfan

Les concentration de α -endosulfan (2,23 – 23,59 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) et de β -endosulfan (0,16 - 1.64 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) dans les sols étudiés (Tableaux 24 et 25) sont en dessous de la valeur limite (50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) faisant la différence entre sol contaminé et sol non contaminé selon la directive Hollandaise de la protection des sols (Department of soil Protection, 1994). Cependant, elles sont comparables à celles observées dans les sols de la région productrice du coton au Mali où le pesticide fréquemment détecté est le β -endosulfan avec un maximum de concentration moyenne de 37 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et les autres pesticides, y compris l' α -endosulfan avec une valeur résiduelle de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Dem *et al.*, 2007). Nos résultats sont également comparables aux valeurs résiduelles de l'endosulfan observées au Bénin 7,975 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Assogba-KomLa *et al.*, 2007) et à 0,3 - 6,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ mesurées dans les sols de Sénégal et Gambie (Manirakiza *et al.*, 2003). Une présence significative de traitement à l'endosulfan n'a pas été mise en évidence dans ces sols en termes de concentration résiduelle.

Les principaux résultats de cette étude et leur comparaison avec les observations faites dans d'autres pays de l'Afrique subsaharienne sont récapitulés dans le tableau 26.

Tableau 26- Données comparatives des teneurs en résidus de pesticides dans la littérature

DDT et métabolites	aldrine	dieldrine	endrine	endosulfan	Source
0,21 – 78,60	0,32 - 2,45	0,48 - 13,40	1,87 – 3,30	6,57 – 14,33	Résultats du présent travail
4,8 11 - 121	0,496 -	2,15 -	3,568 -	7,975 26,4 - 47	Bénin (Assogba-Komla <i>et al.</i> 2007) Mali (Dem <i>et al.</i> , 2007)
0,1 – 97	-	< 14	-	-	Tanzanie (Kishimba <i>et al.</i> , 2004)
1,5 - 71,4	0,2 - 1,8	-	-	-	zones frontalières Sénégal -Gambie (Manirakiza <i>et al.</i> , 2003)
1,79 – 7,93	1,16	0,77	-	-	Sénégal (Cissé <i>et al.</i> , 2003)
1 – 1,40	-	0,3 – 1,70	< 1	-	Egypt (Ahmed <i>et al.</i> , 1998)

b) Le ratio DDT/métabolites

Dans la zone cotonnière, les résultats d'analyse font apparaître peu de différence dans la métabolisation globale et particulièrement en aérobiose du DDT dans les sols des parcelles de station (Kolokopé 1 et 2, Notsé 1) et les sols appartenant aux petits paysans individuels présentant des ratios $\Sigma\text{DDT}/\Sigma(\text{DDE}+\text{DDD}) < 1$ (Tableau 27). Les prélèvements de sol en station ont été effectués suivant l'altitude. Ce qui a conduit à une discrimination observée dans la métabolisation au niveau des parcelles de Kolokopé 3 et Notsé 2 qui sont des parcelles situées au bas du versant où la métabolisation paraît plus faible avec des ratios $\Sigma\text{DDT}/\Sigma\text{DDE}$ et $\Sigma\text{DDT}/\Sigma(\text{DDE}+\text{DDD})$ compris entre 1,73 et 2,24 (Tableau 27).

Tableau 27- Ratios Molécules mères / métabolites dans les sols de coton

Molécules	Station					Agriculteurs	
	Kol 1	Kol 2	Kol 3	Notsé 1	Notsé 2	Wahala	Adéta
SDDT/SDDE	0,98	0,89	2,07	0,45	2,24	0,61	1,06
SDDT/Smet	0,98	0,89	2,07	0,45	1,73	0,53	0,88
Ratio Ald/diel	0,22	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Ratio Hep/Epoxy	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,58

Dans les sols de la zone café/cacao, les ratios de métabolisation du DDT en aérobiose en milieu paysan sont supérieurs à ceux observés dans les stations de recherche agronomique (Tableaux 28 et 29).

Tableau 28- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols de la zone café/cacao Sud

Ratios	Station agronomique		Agriculteurs	
	Tové café	Tové cacao	Kpa café	Kpa cacao
SDDT/SDDE	0,49	0,61	5,54	4,72
SDDT/Smet	0,42	0,77	5,54	3,65
Ratio Ald/diel	0,00	0,77	-	0,00
Ratio Hep/Epoxyde	0,00	0,00	-	0,00

Tableau 29- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols de la zone café/cacao Nord

Ratios	Station		Ariculteurs		
	Tom cacao	Dik café	Dik cacao	Agbo cacao	Maf cacao
SDDT/SDDE	1,22	2,25	4,98	0,80	6,08
SDDT/Smet	0,89	2,03	3,96	0,73	5,98
Ratio Ald/diel	0,00	0,18	0,00	0,21	0,00
Ratio Hep/Epoxy	0,00	0,00	0,00	-	-

La meilleure métabolisation du DDT dans les sols de station que ce soit sous cotonnier, cacaoyer ou caféier peut s'expliquer par :

- un meilleur contrôle des doses apportées, en effet les stations d'expérimentation ont visiblement cessé l'utilisation du DDT conformément aux bonnes pratiques agricoles auxquelles la loi nationale s'est finalement conformée en 2004 à travers l'Arrêté 31/MAEP/SG/DA du 21 septembre 2004 portant interdiction d'importation et d'utilisation d'organochlorés au Togo,
- une meilleure qualité du travail du sol qui permet une bonne oxygénation de ce dernier et donc une bonne activité biologique dans ces sols,
- un bon drainage de ces sols ferrallitiques rouges qui favorise aussi leur aération.

c) Origine des niveaux de contamination observés

L'accumulation du DDT et de ses métabolites (DDE et DDD), du lindane, de l'aldrine, de la dieldrine, de l'endrine, de l'heptachlore et de l'heptachlore époxyde dans les sols

de culture du coton, du café et du cacao au Togo résulte vraisemblablement de leur utilisation dans le passé. Selon des informations non vérifiables recueillies auprès des structures techniques d'encadrement des paysans producteurs des trois cultures, l'emploi de la plupart des molécules organochlorées en agriculture est arrêté depuis les années 1980 mais c'est tout récemment que l'Arrêté 31/MAEP/SG/DA du 21 septembre 2004 portant interdiction d'importation et d'utilisation d'organochlorés au Togo est en application pour sanctionner les contrevenants conformément aux dispositions pénales en vigueur au Togo. La présence de ces insecticides organochlorés dans les sols après 20 ans de restriction ou d'arrêt de leur utilisation en agriculture est très certainement en rapport avec leur persistance due à leur résistance à la dégradation naturelle. Une fois dans le sol, on sait qu'ils vont alors s'adsorber fortement à ses particules colloïdales (argiles et matières organiques) (Gevao *et al.*, 2000).

Il est établi que la dégradation des pesticides organochlorés dans les sols dépend de plusieurs facteurs environnementaux dont la température, le type de sol, le pH, l'humidité et taux de carbone organique (Boul *et al.*, 1994), aussi bien que des paramètres liés à la substance. Ces paramètres affecteraient à la fois la concentration de résidus de pesticides dans le sol et leur adsorption sur les divers composants du sol. Ayant déterminé précédemment pour les sols étudiés dans ce travail le pH et le carbone organique, il est intéressant de rechercher alors une éventuelle relation de cause à effet entre ces deux paramètres et les teneurs en résidus de pesticides. A partir des teneurs en DDT, les coefficients de corrélation calculés d'une part pour le taux de carbone organique des sols sous cotonnier ($R^2 = 0,238$) et des sols sous caféier et cacaoyer ($R^2 = 0,166$) et d'autre part pour le pH des sols sous cotonnier ($R^2 = 0,006$) et des sols sous caféier et cacaoyer ($R^2 = 0,086$) indiquent qu'il n'y a relativement pas de corrélation entre les concentrations des pesticides décelés et les propriétés du sol (taux de carbone organique et valeurs de pH).

Harner *et al.* (1999) ont pu établir que, pour une utilisation ancienne, la dégradation des pesticides organochlorés et leur adsorption sur les colloïdes du sol sont avant tout déterminées par un équilibre du système sol-atmosphère. Ainsi, le manque de corrélation entre les teneurs en résidus de pesticides du sol et ses paramètres physico-chimiques permet de penser que c'est peut être cette voie de disparition des

organochlorés dans le milieu étudié qui est maintenant privilégiée en accord avec les apports anciens.

1.2- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES SEDIMENTS PAR LES PESTICIDES

Les sédiments sont des particules minérales et organiques issues de l'érosion des berges et des sols attenants se retrouvant en suspension dans l'eau et qui finissent par se déposer au fond des rivières, des étangs, des lacs, des barrages etc. Ils peuvent se présenter sous forme de vases et de boues permettant l'appréciation de l'accumulation de substances chimiques rejetées dans l'environnement. Sur la base de considérations hydrodynamiques, la recherche dans les sédiments de la rivière Agbassiandi (point amont) et du barrage de Tové (point aval) prend en compte la zone de culture de café et de cacao et les insecticides organochlorés utilisés dans ces cultures.

1.2.1- MATERIEL ET METHODE

1.2.1.1 - Sites de prélèvement de sédiments

Les sédiments ont été prélevés dans le lit de la rivière Agbassiandi en amont et dans le barrage de la station agronomique de Tové situé en aval représentés sur la carte jointe (Fig. 19).

1.2.1.2 – Conditionnement des sédiments

Les échantillons de sédiment ont été séchés à 20° C sous hotte dans des cristallisoirs pendant 30 jours. Les gros débris (feuilles, cailloux et coquilles de mollusques) ont été séparés par un tri manuel après séchage. Le sédiment sec a été concassé à l'aide d'un mortier agate et séparé en fractions sableuse et argilo-limoneuse par les tamis en acier inoxydable de 2 mm et de 63 µm.

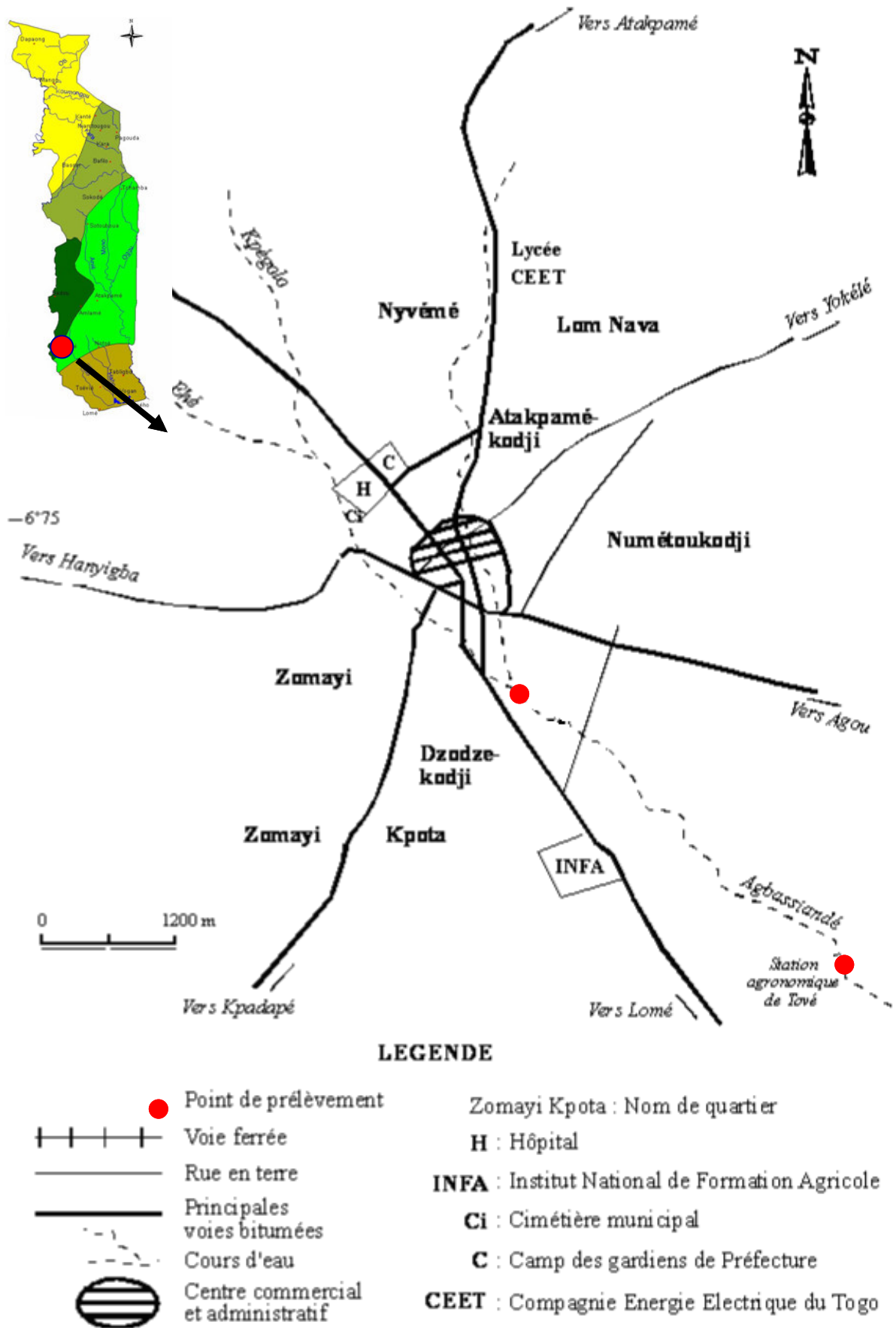


Figure 19- Carte de la ville de Kpalimé illustrant les points de prélèvement de sédiments

1.2.1.3- Mesure de carbone organique et d'azote total

Les dosages du carbone organique et de l'azote total ont été réalisés sur la fraction sableuse et la fraction argilo-limoneuse respectivement par méthode Walkley-Black (Walkley, 1947) et méthode de distillation de Kjeldhal (AFNOR, 1999).

1.2.1.4- Analyse et quantification des résidus de pesticides

L'extraction de résidus de pesticides organochlorés des sédiments a porté sur la fraction sableuse ($\text{Ø} > 63 \mu\text{m}$) et la fraction argilo-limoneuse ($\text{Ø} < 63 \mu\text{m}$) (Devault *et al.*, 2007). Elle a été réalisée sur des échantillons de 10 g par un mélange hexane/acétone (1 : 1, v/v) sous une pression de 1500 psi et à une température thermostat paramétrée en deux phases de 50° C et 100°C suivant la méthode ASE (Gan *et al.*, 1999). Les extraits sont successivement lavés par 3 x 20 mL d'eau ultra-pure, 3 x 20 mL de solution de méthanol/phosphate (4 : 1 v/v), 2 x 30 mL d'eau salée (NaCl) d'une concentration de 0,1g/mL et 2 x 30 mL d'eau ultra-pure. L'extrait lavé est filtré sur une couche de sulfate de sodium anhydre pour un dernier séchage. Les volumes des extraits ont été réduits à 2,5 mL par évaporation sous vide à 35° C au moyen d'un évaporateur rotatif.

Les extraits réduits à 2,5 mL passent à la purification par adsorption sur florisol pour éliminer les co-extraits (chlorophylle). Les 2,5 mL d'extrait concentré ont été élués successivement par des mélanges de solvants organiques de polarité croissante comme suit : 20 mL d'hexane/oxyde de diéthyle (94 : 6 v/v), 10 mL d'hexane/acétone (9 : 1, v/v) et 20 mL d'hexane/acétone (1 : 1 v/v) (Devault *et al.*, 2007). La vitesse d'éluion était de 0,5 mL/min environ. Les éluats obtenus séparément ont été évaporés individuellement à 35° C sous vide à l'aide de l'évaporateur rotatif jusqu'à des volumes de 1 à 1,5 mL prêts pour l'analyse en GC/MS. Les extraits de sédiment sont analysés sur le chromatographe en phase gazeuse couplé au spectromètre de masse (GC/MS) dans les conditions précédemment mentionnées (section 1.1.1.4).

1.2.2- RESULTATS ET DISCUSSION

1.2.2.1- Caractéristiques des sédiments

Les résultats analytiques sont présentés dans les tableaux 30 et 31. Les sédiments sont constitués de 11,77 % de gros débris (feuilles, cailloux et coquilles de mollusques) regroupés dans la fraction grossière ($\text{Ø} > 2 \text{ mm}$) (Rivière Agbassiandi), de 61,27 et 86,94 % de fraction sableuse ($\text{Ø} > 63 \text{ }\mu\text{m}$) et de 1,28 et 38,73 % de fraction fine ($\text{Ø} < 63 \text{ }\mu\text{m}$) dite fraction argilo-limoneuse (Tableau 30). Il s'agit de sédiments à dominance sableuse qui semble être en relation avec la constitution pétrographique des bassins versants. Le sédiment du barrage de Tové présente le pourcentage le plus élevé de fraction fine soit 38,73 % (Tableau 30). Le taux de carbone organique est de 0,46 et 1,16 % dans les fractions sableuses ($\text{Ø} > 63 \text{ }\mu\text{m}$) et de 0,04 et 0,36 % dans la fraction fine argilo-limoneuse (Tableau 31), laissant penser que la fraction $\text{Ø} > 63 \text{ }\mu\text{m}$ contient encore des débris organiques.

Tableau 30- Quantité relative des fractions de sédiment (en %)

Diamètre des fractions	Barrage de Tové	Rivière Agbassiandi
$\text{Ø} > 2 \text{ mm}$	-	11,77
$\text{Ø} > 63 \text{ }\mu\text{m}$	61,27	86,94
Total $\text{Ø} > 63 \text{ }\mu\text{m}$	61,27	98,71
$\text{Ø} < 63 \text{ }\mu\text{m}$	38,73	1,28

Le rapport C/N, compris entre 4 et 10 (Tableau 31), indique que la matière organique est rapidement biodégradable. Ce phénomène a été signalé par Pourriot et Meybeck (1995) et Soltner (1996) qui ont montré l'existence d'un lien entre le rapport C/N, le type de végétal et l'activité biologique du milieu. Selon ces auteurs, les matières organiques perdent davantage leur carbone sous forme de CO_2 au cours de leur décomposition que leur azote, minéralisé sous forme de nitrates non dosés par la méthode de Kjeldahl ou réincorporé dans l'humus formé sous la forme organique qui elle par contre est dosée. Il s'ensuit une diminution du rapport C/N conduisant à une valeur caractéristique du type d'humus formé. Un C/N supérieur à 12 est l'indice d'une activité biologique faible ou de la présence de débris végétaux à décomposition lente.

Tableau 31- Teneur en carbone organique et azote total de fractions sableuse ($\text{Ø}>63 \mu\text{m}$) et argilo-limoneuse ($\text{Ø}<63 \mu\text{m}$) (en %)

Paramètres	Barrage de Tové		Rivière Agbassiandi	
	fraction sableuse	fraction argilo-limoneuse	fraction sableuse	fraction argilo-limoneuse
Carbone organique total (COT)	1,16	0,36	0,46	0,04
Teneur en azote total (N)	0,12	0,05	0,10	0,01
Rapport C/N	9,66	7,200	4,6	4,00

C/N : rapport taux de carbone organique total sur taux d'azote total

1.2.2.2- Résidus de pesticides dans les sédiments

a) Approche sédiment total

Les résultats (Tableau 32) montrent que le sédiment du barrage de Tové présente les concentrations de résidus de pesticides organochlorés les plus élevées. Les fortes concentrations de résidus organochlorés observées dans le sédiment du barrage de Tové peuvent s'expliquer par l'importance de la fraction argilo-limoneuse ($\text{Ø}<63\mu\text{m}$) et de la teneur en carbone organique relativement élevée. L'adsorption des résidus hydrophobes sur les sédiments dépend de leur contenu en matière organique (Pavillon, 1990), de la taille des particules (Marchand et Martin, 1985) ainsi que du produit chimique concerné. La granulométrie influe énormément sur la contamination des sédiments en liaison avec la surface disponible pour l'adsorption des polluants hydrophobes (Marchand et Martin, 1985 ; Hickey *et al.*, 1995).

b) Approche par produit

- DDT et métabolites (DDE, DDD)

Les teneurs individuelles en DDT et métabolites (DDE, DDD) des sédiments étudiés dans ce travail se situent entre 9,32 et 58,78 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 32). Elles restent faibles devant les valeurs observées dans la lagune de Lekki au Nigeria 449 - 566 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ojo, 1991), dans le Lac Kariba au Zimbabwe 740 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Matthiessen, 1983) et dans la lagune Ebrié en Côte d'Ivoire soit 997 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT total (Marchand et Martin, 1985). En revanche, les teneurs des sédiments étudiés en 4-4 DDE de 15,85 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et 31,9 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ sont nettement supérieures à la valeur de 0,46 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ observée dans les

sédiments de rivières du secteur d'Akumadan dans la Région Ashanti au Ghana (Ntow, 2001).

Tableau 32- Teneurs moyennes des sédiments en résidus de pesticides ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

pesticides détectés	Barrage Tové	Rivière Agbassiandi	Rapport Sédiment barrage/rivière
α -HCH	73,64	16,37	4,50
lindane	61,66	11,22	5,50
2-4 DDE	47,31	30,66	1,54
2-4 DDD	25,94	9,32	2,78
2-4DDT	58,78	16,14	3,64
4-4 DDE	31,9	15,85	2,01
4-4 DDT	45,6	19,6	2,33
aldrine	54,27	-	-
dieldrine	58,13	28,19	2,06
endrine	52,11	43,34	1,20
heptachlore	14,03	8,09	1,73
heptachlore époxyde	128,58	29,97	4,29
α -endosulfan	125,19	40,99	3,05
β -endosulfan	39,12	3,41	11,47
Endosulfan total	164,31	44,4	3,70

- Aldrine

La concentration d'aldrine dans le sédiment du barrage de Tové est de $54,27 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 32). Elle est bien inférieure à celles observées dans les sédiments de la lagune de Lekki au Nigeria $347 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ojo, 1991), du Lac Nyumbaya Mungu en Tanzanie $131 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Paasivirta *et al.*, 1988) et de la lagune Ebrié en Côte d'Ivoire $62,1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Kaba, 1992).

- Dieldrine

La dieldrine a été détectée à des valeurs de 28,19 et $58,13 \mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les sédiments étudiés (Tableau 32). Ces valeurs sont inférieures à celles signalées au Nigeria $190 - 8460 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ojo, 1991) et en Côte d'Ivoire $125,8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Kaba, 1992). Cependant, elles sont supérieures à celles rapportées en Tanzanie dans le Lac Nyumbaya Mungu

3 à 6 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Paasivirta *et al.*, 1988) et comparables à celles des Lacs en Ouganda 2 à 39 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Sserunjoji, 1974 ; 1976).

- Heptachlore

Les concentrations d'heptachlore dans les sédiments étudiés dans ce travail sont de 8,09 et 14,03 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 32). Elles sont très inférieures à celles observées au Nigeria 1845 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ojo, 1991).

- Heptachlore époxyde

L'heptachlore époxyde a été décelé dans les sédiments (Tableau 32) à des valeurs moyennes de 29,97 et 128,58 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ nettement supérieures à 0,63 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ mesurée dans les sédiments de rivières du secteur d'Akumadan dans la Région Ashanti au Ghana (Ntow, 2001).

- α -HCH

Les concentrations de α -HCH (16,37 et 73,64 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) observées dans les sédiments (Tableau 32) sont inférieures à celles (116 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) rapportées au Nigeria dans la lagune de Lekki (Ojo, 1991). Elles sont comparables à la moyenne observée au Zimbabwe dans le Lac McIlwaine 16 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Mhlanga et Madziva, 1990) et en Côte d'Ivoire dans la lagune Ebrié 13,4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Marchand et Martin, 1985).

- Lindane

Très peu de données sont disponibles sur les valeurs normatives de pollution des sédiments. Les seules normes à notre connaissance concernent le lindane et vont de 0,1 à 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Pichard *et al.*, 2005). Les valeurs résiduelles du lindane dans les sédiments étudiés dans ce travail (11,22 et 61,66 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (Tableau 32) sont comparables à celles signalées dans la lagune Ebrié en Côte d'Ivoire 0,5 – 19 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Marchand et Martin, 1985) et supérieures au niveau résiduel (3,2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) observé dans les sédiments de rivières du secteur d'Akumadan dans la Région Ashanti au Ghana où le lindane a été utilisé pour le contrôle des mirides du cacaoyer (Ntow, 2001).

- Endosulfan

Les teneurs en α -endosulfan des sédiments étudiés sont 40,99 et 125,19 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 32) nettement supérieures aux teneurs en β -endosulfan 3,41 et 39,12 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en liaison avec le rapport isomérique du produit commercial (70/30 ou 80/20). Ces teneurs se situent entre les valeurs signalées au Nigeria variant de 7 à 1155 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Ojo, 1991). Des teneurs de 0,19 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en α -endosulfan, 0,13 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en β -endosulfan ont été observées dans les sédiments de rivières du secteur d'Akumadan dans la Région Ashanti au Ghana (Ntow, 2001) montrant que les deux isomères peuvent avoir des rémanences différentes.

Pour l'ensemble des produits suivis, la concentration observée dans le sédiment du barrage de Tové est supérieure à celle observée dans le sédiment de la rivière Agbassiandi de 1,2 à 11,47 fois (Tableau 32), montrant que le barrage crée une zone de sédimentation artificielle favorisant l'accumulation des organochlorés.

c) Approche par fraction de sédiment

La granulométrie et les caractéristiques physico-chimiques des fractions sédimentaires ont été déterminées pour les deux sites (Tableau 33).

Tableau 33- Quantité relative des fractions de sédiment et leur teneur en carbone organique total et en azote total (%)

Paramètres	Barrage de Tové		Rivière Agbassiandi	
	Fraction grossière	Fraction fine	Fraction grossière	Fraction fine
Quantité des fractions	61,27	38,73	98,71	1,28
Carbone organique total (COT)	1,16	0,36	0,46	0,04
Teneur en azote total (N)	0,12	0,05	0,10	0,01
Rapport C/N	9,66	7,200	4,6	4,00

C/N : rapport taux de carbone organique total sur taux d'azote total

Les contaminants dans les sédiments se fixent essentiellement sur la fraction argilo-limoneuse ($\emptyset < 63 \mu\text{m}$) en raison de son importance quantitative (pouvant atteindre 70 à 90 %) et qualitative (surface spécifique plus élevée) (Stone et Droppo, 1996). Dans ce travail, les résidus de pesticides organochlorés ont été mesurés dans la

fraction argilo-limoneuse et dans la fraction sableuse (Tableau 34) afin de caractériser leur répartition.

Tableau 34- Teneurs moyennes en résidus de pesticides par fraction de sédiment ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Pesticides détectés	Barrage Tové		Rivière Agbaaiandi	
	Fraction fine $\text{Ø}<63 \mu\text{m}$	Fraction grossière $\text{Ø}>63 \mu\text{m}$	Fraction fine $\text{Ø}<63 \mu\text{m}$	Fraction grossière $\text{Ø}>63 \mu\text{m}$
α -HCH	55,97	17,67	0,16	16,21
lindane	51,18	10,48	0,11	11,11
2-4 DDE	27,91	19,40	0,00	30,66
2-4 DDD	21,01	4,93	0,28	9,04
2-4 DDT	58,78	0,00	0,48	15,66
4-4 DDE	20,74	11,17	0,00	15,85
4-4 DDT	27,36	18,24	1,57	18,03
aldrine	53,73	0,54	-	-
dieldrine	58,13	0,00	1,13	27,06
endrine	52,11	0,00	0,87	42,47
heptachlore	14,03	0,00	0,57	7,52
heptachlore époxyde	96,44	32,15	0,60	29,37
α -endosulfan	82,63	42,56	0,00	40,99
β -endosulfan	36,77	2,35	0,00	3,41
Endosulfan total	154,45	9,86	0,00	44,40

Ces données ne permettent pas de retrouver directement l'origine du rapport de répartition de chaque produit entre le sédiment de lit de rivière et le sédiment de fond de barrage observé sur le sédiment total. Si la prépondérance de la fraction argilo-limoneuse dans le sédiment de barrage et des paramètres physico-chimiques associés justifient les teneurs observées dans le sédiment total, le rapport des concentrations entre les deux situations ne peut être approché directement.

Dans une étude sur le rôle de la granulométrie dans la teneur en résidus pesticides organochlorés dans le sédiment total (Karickhoff *et al.* (1979), il a été démontré que les particules les plus fines étaient responsables de l'adsorption de ces produits sur la base du rapport Quantité fixée sur les particules fines /Quantité fixée par le sédiment total.

Aussi pour ces dix sites, la répartition des différents produits entre les deux fractions renommées fine ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$) et grossière ($\varnothing > 63 \mu\text{m}$) a été évaluée par l'intermédiaire du rapport K suivant pour les particules fines:

$$K = \frac{1}{1 + RiFi}$$

où Ri est le rapport de la concentration de résidu de pesticide (i) mesurée dans la fraction grossière ($\varnothing > 63 \mu\text{m}$) à celle de la fraction fine ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$) et Fi la contribution pondérale de la fraction grossière ($\varnothing > 63 \mu\text{m}$) sur celle de la fraction fine ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$).

Un même rapport peut être défini pour la fraction $> 63 \mu\text{m}$. Le bilan de ces rapports par produit et par site constitue le tableau 35.

L'importance de la fraction argilo-limoneuse ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$) dans le piégeage des contaminants organiques a été observée dans le sédiment du barrage de Tové où le pourcentage de résidus fixés est supérieur à 60 % (Tableau 35). Ces observations correspondent à celles faites par Karickhoff *et al.* (1979) montrant que les contaminants organiques se fixent sur les particules les plus fines des sédiments en raison de leurs charges spécifiques et des surfaces développées plus importantes. Les dérivés les plus retenus sont le lindane et l'aldrine, l'endosulfan montrant une forte différence isomérique pouvant expliquer les teneurs trouvées ici dans les sédiments de Tové et celles de l'étude dans la Région Ashanti au Ghana (Ntow, 2001).

Par contre, la tendance est inversée au niveau du sédiment du lit de la rivière Agbassiandi située en amont où le pourcentage de résidus organochlorés fixés par la fraction $> 63 \mu\text{m}$ est quasiment de 100 % (Tableau 35), montrant que l'approche de Karickhoff *et al.* (1979) est à pondérer en fonction de l'adsorption sur la matière organique présente dans cette fraction qui n'est totalement pas toujours représentée que par des sables. Tenant compte des sites, on peut penser que le sédiment de la Rivière Agbassiandi est bien plus récent que le sédiment du barrage de la station de Tové, donc en liaison avec une exportation préférentiellement liée à la matière organique.

Tableau 35- Rapport de la répartition d'un pesticide organochloré dans la fraction fine ou grossière d'un sédiment (en %)

Résidus détectés	Fraction Fine ($\varnothing < 63 \mu\text{m}$)		Fraction grossière ($\varnothing > 63 \mu\text{m}$)	
	Barrage Tové	Rivière Agbassiandi	Barrage Tové	rivière Agbassiandi
α -HCH	0,76	0,01	0,24	0,99
lindane	0,83	0,01	0,17	0,99
2-4 DDE	0,59	0,00	0,41	1,00
2-4 DDD	0,81	0,03	0,19	0,97
2-4 DDT	1,00	0,03	0,00	0,97
4-4 DDE	0,65	0,00	0,35	1,00
4-4 DDT	0,60	0,08	0,40	0,92
aldrine	0,99	-	0,01	-
dieldrine	1,00	0,04	0,00	0,96
endrine	1,00	0,02	0,00	0,98
heptachlore	1,00	0,07	0,00	0,93
heptachlore époxyde	0,75	0,02	0,25	0,98
α -endosulfan	0,66	0,00	0,34	1,00
β -endosulfan	0,94	0,00	0,06	1,00
Endosulfan total	0,94	0,00	0,06	1,00

Les sédiments plus anciens retrouvés au pied du barrage sont donc plus à caractère minéral faisant ainsi jouer la capacité d'adsorption physique liée au diamètre des particules.

Ainsi, l'évaluation de la contamination du milieu aquatique par une approche sédimentaire s'avère plus complexe que son appréciation par les teneurs en contaminants dans le sédiment total. Une répartition granulométrique complémentaire et la mesure de paramètres physico-chimiques attenants sont nécessaires pour une meilleure compréhension de ce compartiment aquatique qui est aussi un élément de base du biotope comme un maillon initial de la chaîne nutritionnelle.

1.3- NIVEAUX DE CONTAMINATION DES EAUX DE PUIITS ET DE RIVIERES PAR LES PESTICIDES ETUDIES

Dans les milieux ruraux du Togo, l'approvisionnement en eau n'est pas organisé. L'eau de boisson est directement puisée des puits, rivières, fleuves, et des étangs. Peu de données sont disponibles sur la qualité de telles eaux et la préoccupation sur cette qualité prend une importance toute particulière dans les zones productrices du coton, café et cacao où se concentre l'essentiel de l'utilisation des pesticides. Le fleuve Mono et la rivière Anié sont les principales sources d'approvisionnement en eau de boisson des populations dans la zone cotonnière. L'eau de puits constitue la première eau de boisson des populations des localités d'Adéta entre la zone de café, cacao la et zone cotonnière.

Cette partie se focalise sur l'évaluation de la contamination de l'eau de boisson des populations dans les zones de cultures de coton, de café et cacao au Togo par les pesticides organochlorés étudiés dans ce travail. La description détaillée des matériels et méthodes d'analyse est suivie des observations expérimentales et de leur analyse.

1.3.1- MATERIEL ET METHODES

1.3.1.1- Sites d'échantillonnage

Deux séries d'échantillonnage ont été réalisées. Les premiers échantillons d'eau proviennent du fleuve Mono et de la rivière Anié dans la zone de production de coton dans l'Est de la région des plateaux du Togo (Fig.20); les seconds prélèvements sont effectués dans cinq puits à Adéta, zone limitrophe entre zone coton et zone café/cacao (Fig.20). Chaque échantillon d'eau (2,5 litres de volume) est un composite de cinq prélèvements de 0,5 L par point de prélèvement. Les échantillons d'eau ont été mis dans des bouteilles en verre et réfrigérés à +4°C jusqu' au dosage des pesticides recherchés (48 h).

1.3.1.2- Analyse et quantification des résidus de pesticide

Les résidus de pesticide ont été extraits des échantillons d'eau par la méthode d'extraction liquide-liquide avec du dichlorométhane (Hatrik et Tekel,' 1996). Chaque échantillon de 2,5 litres est fractionné en trois parties placées tour à tour dans une ampoule à décanter et mélangées à 100 mL de dichlorométhane. Le mélange est agité

manuellement pendant 30 minutes et laissé au repos pour la séparation des phases. La phase aqueuse est soutirée et extraite à nouveau deux fois avec 50 mL de dichlorométhane. Les extraits organiques recueillis sont d'abord filtrés deux fois sur un lit de sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'humidité. Ils sont ensuite évaporés à sec par un évaporateur rotatif de Buchi à 35 - 40° C. Les extraits secs sont enfin récupérés dans 1,5 mL d'hexane et conservés dans de petits flacons en verre jusqu'à l'analyse par GC/MS.

Les extraits d'eau sont analysés par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) dans des conditions décrites plus haut (section 1.1.1.4).

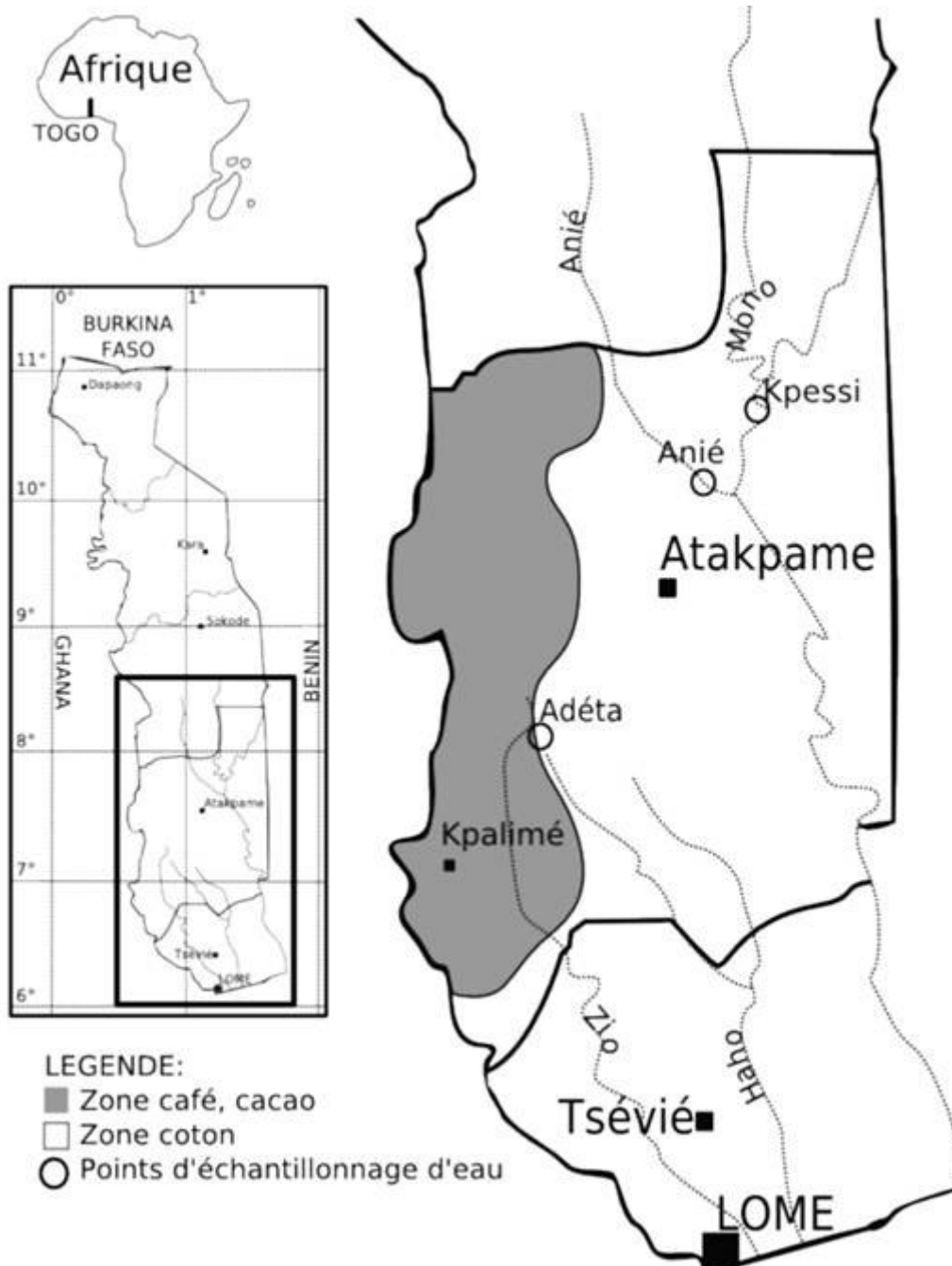


Figure 20- Carte des zones agro-écologiques : points d'échantillonnage d'eau

1.3.2- RESULTATS ET DISCUSSION

Les résidus de pesticides organochlorés dosés dans les eaux sont présentés dans le tableau 36.

Tableau 36- Teneurs moyennes en pesticides organochlorés ($\mu\text{g.L}^{-1}$) des eaux de rivière Anié, fleuve Mono et des puits à Adéta

Pesticides détectés	Rivière Anié	Fleuve Mono	Puits à Adéta	Valeurs guides de l'OMS	Union Européenne
2-4 DDE	0,03	0,05	0,02		
4-4 DDE	0,02	-	-		
4-4 DDT	0,11	0,15	0,03	2	0,1
aldrine	-	0,07	-	0,03	0,03
dieldrine	0,04	0,06	0,02	0,03	0,03
endrine	-	0,13	-		0,1
heptachlore	0,24	0,11	0,33	0,03	0,03
heptachlore époxyde	0,17	0,15	0,09	0,03	0,03
α -endosulfan	0,32	0,29	0,05		0,1
β -endosulfan	0,25	0,40	0,02		0,1
Endosulfan total	0,57	0,69	0,07		0,1

Approche par produit

- DDT

Les concentrations résiduelles de DDT dans les eaux de la rivière Anié ($0,11 \mu\text{g.L}^{-1}$) et du fleuve Mono ($0,15 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Tableau 36) dépassent respectivement de 110 % et 150 % la concentration acceptable de cette substance dans les eaux de boisson ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$) de la Directive du Conseil de l'Union Européenne (98/83/EC) (EU, 1998). Cependant, ces concentrations sont inférieures à la limite maximale de résidu d'origine étrangère (LMRE) ($2 \mu\text{g.L}^{-1}$) de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1998). La concentration du DDT ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$) dans les eaux de puits à Adéta est inférieure aux LMRE ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$) et ($2 \mu\text{g.L}^{-1}$) de la Directive du Conseil de l'Union Européenne et de l'OMS respectivement. La concentration du DDT mesurée dans les eaux de puits à Adéta en moyenne $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$ est nettement très inférieures aux valeurs de $9,72 \mu\text{g.L}^{-1}$ de 4-4 DDT et $5,58 \mu\text{g.L}^{-1}$ de 2-4 DDT rapportées au niveau de certains puits au Sénégal (Cissé *et al.*, 2003). La concentration de $9,00 \mu\text{g.L}^{-1}$ de DDT a été signalée dans

l'eau de puits en Tanzanie Kishimba *et al.* (2004). Des valeurs moyennes de $0,20 \mu\text{g.L}^{-1}$ (4-4 DDT), $0,23 \mu\text{g.L}^{-1}$ (4-4 DDE) et $0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$ (DDT total) en saison des pluies et de $0,20 \mu\text{g.L}^{-1}$ (4-4 DDT), $0,12 \mu\text{g.L}^{-1}$ (4-4 DDE) et $0,27 \mu\text{g.L}^{-1}$ (DDT total) en saison sèche ont été observées dans les eaux côtières de Dar es Salaam et les eaux des rivières Msimbazi et Kizinga en Tanzanie (Mwevura *et al.*, 2002). Au Ghana, Ntow (2005) a décelé le 4-4 DDE dans les rivières d'Akumadan, d'Afrensu, de Bosumpon et d'Anyinatase dans le district de Ofinso au Ghana à des valeurs résiduelles moyennes inférieures à $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$.

- Aldrine

Le niveau résiduel de l'aldrine ($0,07 \mu\text{g.L}^{-1}$) dans l'eau du fleuve Mono (Tableau 36) excède la valeur de la LMRE de l'Union Européenne ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$). L'aldrine a été détectée à une valeur moyenne de $1,70 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans l'eau de au Sénégal (Cissé *et al.*, 2003).

- Dieldrine

Les teneurs moyennes de la dieldrine $0,04$ et $0,06 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans les eaux de la rivière Anié et du fleuve Mono (Tableau 36) dépassent la LMRE ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$) de la Directive du Conseil de l'Union Européenne et de l'OMS. La concentration moyenne de la dieldrine ($0,02 \mu\text{g.L}^{-1}$) dans les eaux de puits à Adéta est légèrement inférieure à la norme de potabilité de l'OMS et de l'UE ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$). Mwevura *et al.* (2002) ont décelé la dieldrine à $0,65 \mu\text{g.L}^{-1}$ en moyenne dans les eaux côtières de Dar es Salaam et les eaux des rivières Msimbazi et Kizinga en Tanzanie.

- Endrine

La teneur en endrine ($0,13 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Tableau 36) de l'eau du fleuve Mono excède la valeur de la LMRE de l'Union Européenne ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$).

- Heptachlore et heptachlore époxyde

Les teneurs moyennes de l'heptachlore ($0,11 - 0,24 \mu\text{g.L}^{-1}$) et de l'heptachlore époxyde ($0,15 - 0,17 \mu\text{g.L}^{-1}$) dans les eaux de la rivière Anié et du fleuve Mono (Tableau 36) dépassent la LMRE ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$) de la Directive du Conseil de l'Union Européenne et de l'OMS. Les valeurs résiduelles de l'heptachlore ($0,33 \mu\text{g.L}^{-1}$) et de l'heptachlore

époxyde ($0,09 \mu\text{g.L}^{-1}$) dans les eaux de puits à Adéta excèdent également la LMRE ($0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$). Au Ghana, Ntow (2005) a décelé l'heptachlore époxyde dans les rivières d'Akumadan, d'Afrensu, de Bosumpon et d'Anyinatase dans le district de Ofinso au à des valeurs résiduelles moyennes inférieures à $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$. L'heptachlore a été détecté dans l'eau de puits au Sénégal à $3,43 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Cissé *et al.*, 2003).

- Endosulfan

Les concentrations de l' α -endosulfan ($0,29 - 0,32 \mu\text{g.L}^{-1}$) et de β -endosulfan ($0,25 - 0,40 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Tableau 36) sont supérieures à la valeur guide ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$) de l'Union Européenne. Les niveaux de résidus de l' α -endosulfan ($0,05 \mu\text{g.L}^{-1}$) et du β -endosulfan ($0,02 \mu\text{g.L}^{-1}$) n'excèdent guère la limite maximale de résidu (LMR) ($0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$) de l'Union Européenne. Au Sénégal, Cissé *et al.* (2003) ont obtenu des teneurs de $1,26 \mu\text{g.L}^{-1}$ en α -endosulfan et de $1,84 \mu\text{g.L}^{-1}$ en β -endosulfan dans les eaux de puits dans la zone des Niayes. Au Ghana, Ntow (2005) a décelé l'endosulfan à une concentration de $0,036 \text{ ng.L}^{-1}$ dans les eaux du lac Volta. Des valeurs résiduelles moyennes de $0,06 \mu\text{g.L}^{-1}$ de l' α -endosulfan et $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$ du β -endosulfan ont été mesurées dans les cours d'eau d'Akumadan, d'Afrensu, de Bosumpon et d'Anyinatase dans le district de Ofinso au Ghana (Ntow, 2001).

Les points d'eau échantillonnés pour la présente étude constituent les sources d'eau de boisson des populations rurales. La concentration totale des pesticides détectés et quantifiés (DDTs, aldrine, dieldrine, heptachlore, heptachlore époxyde, α -endosulfan et β -endosulfan) est de $1,19 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans la rivière Anié et $1,42 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans le fleuve Mono montrant une certaine homogénéité des eaux de surface en contact avec les mêmes pratiques agricoles. Elle est de $0,58 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans l'eau de puits à Adéta, montrant que cette contamination des eaux de surface dans un bassin agricole traité aux mêmes produits a commencé à se transmettre aux eaux de nappes en interaction. Les valeurs ainsi observées sont plus élevées que la valeur guide pour une consommation directe ($0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$) de l'UE (EU, 1998).

Ces niveaux de résidus suffisamment élevés peuvent susciter des inquiétudes quant aux impacts éventuels sur la santé des populations consommant les eaux ainsi contaminées si ces captages ne sont pas retraités.

1.4- APPROCHE DE LA REPARTITION DES PESTICIDES ORGANOCHLORES ETUDIES DANS LES SOLS, LES EAUX ET LES SEDIMENTS

Correspondant aux deux zones pédologiques (figure 17), deux types de cultures ont été développés, le coton d'une part et le café ou le cacao d'autre part ; toutes les cultures sont traitées par des pesticides organochlorés. Étant donné que la durée de vie de ces composés est suffisamment longue dans le biotope étudié et que les gisements associés aux traitements agricoles ou sanitaires constituent des stocks suffisants, l'hypothèse d'une phase stationnaire de l'exportation et de la métabolisation peut être envisagée pour ces composés dans les conditions pédo-biologiques et les apports d'eau de pluie (moyenne de 1200 mm dans la zone coton et de plus de 1600 mm dans la zone café/cacao). Même si le bilan n'est pas trop négatif en termes de teneurs, la perdurance de cette contamination peut conduire à une pollution avérée des ressources en eau et aliments de base.

L'empreinte de chaque famille d'organochlorés peut être identifiée par le rapport entre molécule –mère et les métabolites issus de l'aérobiose ou de l'anaérobiose. Ainsi, dans cette étude les différents groupes identifiés sont:

- Le groupe du DDT soit de ses isomères 2-4 DDT et 4-4 DDT ainsi que les métabolites afférents DDE correspondants à une dégradation en aérobiose et accessoirement DDD en anaérobiose,
- Le couple aldrine/dieldrine caractérisé par la réaction d'époxydation, un processus en aérobiose,
- Le couple heptachlore et son époxyde par la réaction d'époxydation,
- Le couple d'isomères bêta /alpha de l'endosulfan, avec le ratio du produit commercial de 20/80 soit 0,25.

1.4.1- Relation Sol/Eau

Ratio DDT

Les taux élevés du ratio DDT/métabolites au niveau des eaux de surface (2,20 pour la rivière Anié et 3,0 pour le fleuve Mono sont très proches de ceux des sols des parcelles des stations agronomiques (2,07 pour Kolokopé 3 et 2,4 pour Notsé 2) (Tableaux 37 et

38). Ce qui laisse penser que les parcelles de Kolokopé 3 et de Notsé 2 qui sont situées au bas du versant sont en liaison avec la nappe fluviale en raison de leur situation topographique basse.

L'eau de puits à Adéta est différente des eaux de rivière, ce qui est normal car c'est une eau dormante correspondant à une nappe phréatique alimentée par gravitation et non par entraînement et le ratio 1,5 pour DDT / DDE semble en accord avec ce qui est observé dans les sols sur la parcelle d'Adéta (1,06) (Tableaux 37 et 38). Le niveau de contamination de l'eau de puits serait assez proche de celui de l'eau du sol sous parcelles traitées aux organochlorés.

Tableau 37- Ratios molécules mères / métabolites dans les sols indicatifs de relation sol-eau

Molécules	Station agronomique					Agriculteurs	
	Kol 1	Kol 2	Kol 3	Notsé 1	Notsé 2	Wahala	Adéta
SDDT/SDDE	0,98	0,89	2,07	0,45	2,24	0,61	1,06
SDDT/Smet	0,98	0,89	2,07	0,45	1,73	0,53	0,88
Ratio Ald/diel	0,22	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Ratio Hep/Epoxy	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,58
Ratio Endo β/α	0,54	0,00	0,60	0,00	0,20	0,15	0,00

Kol : Kolo-copé

Tableau 37 (suite) : Ratios molécules mères / métabolites dans les sols indicatifs de relation sol-eau

Ratios	Station agronomique		Agriculteurs	
	Tové café	Tové cacao	Kpa café	Kpa cacao
SDDT/SDDE	0,49	0,61	5,54	4,72
SDDT/Smet	0,42	0,77	5,54	3,65
Ratio Ald/diel	0,00	0,77	-	0,00
Ratio Hep/Epoxyde	0,00	0,00	-	0,00
Ratio Endo β/α	0,02	0,00	0,00	0,03

Kpa : Kpadapé

Tableau 37 (suite) : Ratios molécules mères / métabolites dans les sols indicatifs de relation sol-eau

Ratios	Station		Agriculteurs		
	Tom cacao	Dik café	Dik cacao	Agbo cacao	Maf cacao
SDDT/SDDE	1,22	2,25	4,98	0,80	6,08
SDDT/Smet	0,89	2,03	3,96	0,73	5,98
Ratio Ald/diel	0,00	0,18	0,00	0,21	0,00
Ratio Hep/Epoxy	0,00	0,00	0,00	-	-
Ratio Endo β/α	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Dik : Dikpéléwou

Tableau 38- Ratios molécules mères / métabolites dans les eaux indicatifs de relation sol-eau

Ratios	Rivière Anié	Fleuve Mono	Puits à Adéta
SDDT/SDDE	2,20	3,00	1,50
SDDT/Smet	2,20	3,00	1,50
Ratio Ald/diel	0,00	1,16	0,00
Ratio Hep/Epoxy	1,41	0,73	3,67
Ratio Endo β/α	0,78	1,38	0,40

Dans la zone café/cacao, bien que les bassins versants soient différents et que le cacao soit prédominant dans le Nord, les résultats de la zone de Tové et ceux de la zone de Tomégbé concordent quelles que soient la culture et les pratiques agricoles aussi bien en station agronomique qu'en milieu paysan. Cependant, les ratios de métabolisation du DDT en conditions d'aérobies et d'anaérobies $\Sigma\text{DDT} / \Sigma(\text{DDE}, \text{DDD})$ dans les stations agronomiques sont faibles devant ceux du milieu paysan : 0,49 pour station de Tové café, 0,61 pour station de Tové cacao et 0,89 pour station de Tomegbé cacao contre 2,03 – 3,96 à Dikpéléwou, 3,65 – 5,54 à Kpadapé et 5,98 à Maflo en milieu paysan (Tableau 37).

Autres molécules

L'étude sur la zone coton ayant montré qu'une contamination potentielle de l'eau est dans un rapport isomérique supérieure à 0,25 pour l'endosulfan du fait de la ségrégation entre les deux isomères par l'eau, la présence d'endosulfan avec des ratios de 0,78 et 1,38 montre que cette contamination est récente et certainement du même type que celle de l'eau de puits d'Adéta de 0,40 (Tableaux 37 et 38).

1.4.2 Relation Sol/Sédiment

L'analyse faite suivant le modèle de Karitchoff démontre que le sédiment pris en amont de la rivière Agbassiandi est dominé par une adsorption récente sur la matière organique peu évoluée présente dans la fraction grossière (> 63 μ). Elle indique par contre que la présence d'organochlorés dans le sédiment du barrage de la station agronomique de Tové est régulée par une adsorption sur les particules fines (< 63 μ) d'origine minérale. Les ratios de dégradation de molécules de la famille du DDT, plus anciennes dans les deux sédiments (0,64 et 0,99) sont de l'ordre de ceux observés dans les sols de la station de Tové (0,49 et 0,61) quelque soit la culture (Tableaux et 37 et 39). L'origine des sédiments étudiés est donc bien en liaison avec une exportation des sols contigus en place dans ce bassin versant.

Tableau 39- Ratios molécules mères / métabolites dans les sédiments

Ratios	Rivière Agbassiandi	Barrage Tové
SDDT/SDDE	0,76	1,31
SDDT/Smet	0,64	0,99
Ratio Ald/diel	0,00	0,93
Ratio Hep/Epoxy	0,27	0,11
Ratio Endo β/α	0,08	0,31

La différence observée pour les autres molécules plus récentes (à l'exception de l'heptachlore) montre que la contamination sédimentaire s'élève du fait de la présence de la retenue d'eau, correspondant au fonctionnement d'un barrage dit « au fil de l'eau ». En raison du ralentissement du débit, les particules les plus lourdes (argiles) sédimentent et déplacent les molécules organiques persistantes associées à la matière organique digestible vers elles du fait de leur capacité d'adsorption. Les ratios aldrine /dieldrine 0,93 ou d'isomères de l'endosulfan 0,31 observés laissent à penser que l'eau a déjà pris en compte en amont des molécules plus récentes comme l'aldrine qui tend à s'accumuler dans le sol où elle se transforme en dieldrine par époxydation (Thompson *et al.*, 1970). Bien que les sols ne présentent pas de contamination effective, les sédiments révèlent des phénomènes de transfert dans un bassin versant permettant d'assister à la montée d'une deuxième vague de contamination.

CONCLUSION

Cette étude menée pour la première fois dans les zones de principales cultures d'exportation agricole (café, cacao et coton) au Togo révèle une contamination des eaux de surface et souterraines, des sédiments et des sols agricoles par les pesticides organochlorés d'utilisation ancienne (DDT, aldrine, dieldrine, endrine, heptachlore, lindane) ou actuelle (endosulfan). La contamination constatée est voisine voire en dessous de celle connue et répertoriée ailleurs en Afrique. Cette contamination des sols agricoles, des sédiments et des eaux par les pesticides organochlorés telle que observée dans ce travail présente des risques d'exposition des populations à ces toxiques par :

- la mise en contact direct des contaminants avec les occupants des sols (inhalation de poussière), les exploitants des milieux aquatiques (les pêcheurs),

- l'ingestion de produits de pêche et d'eau de boisson contaminés de résidus de pesticides organochlorés,
- la réintroduction des contaminants dans la chaîne alimentaire par les végétaux cultivés sur ces sols contaminés.

DEUXIEME CHAPITRE :

NIVEAUX DE CONTAMINATION DES DENREES AGRICOLES CAFE, CACAO, MAÏS ET NIEBE PAR LES PESTICIDES ETUDIES

INTRODUCTION

L'utilisation des pesticides pour la protection des cultures et des récoltes a engendré la problématique de résidus de pesticides dans les denrées agricoles. Des résidus de pesticides organochlorés ont été décelés dans les fruits et légumes, les céréales, les tubercules et le lait maternel (Amoah *et al.*, 2006 ; Ntow, 2001 ; Kaphalia *et al.*, 1990 ; Skaare, 1981). L'Homme est potentiellement exposé aux pesticides par voie alimentaire (Harris *et al.*, 2001 ; Chun et Kang, 2003). Le risque d'exposition des populations à ces toxiques serait à reconsidérer au Togo si les principaux aliments de base (maïs et niébé) sont contaminés soit pendant leur mise en culture soit au moment de leur stockage. Le café et le cacao sont des produits d'exportation de grande valeur économique pour le Togo. Leur production doit donc se faire conformément aux bonnes pratiques agricoles afin de leur garantir la valeur marchande attendue assurant ainsi une source de revenu au cultivateur et une part plus importante dans la balance commerciale du pays.

L'objectif de ce chapitre est de rechercher dans les grains de maïs, les graines de niébé et de café et les fèves de cacao les insecticides organochlorés utilisés dans les cultures de rente (café, cacao et coton) au Togo. Le chapitre expose les sites d'échantillonnage, les méthodes d'analyse et les niveaux de contamination des différentes denrées.

2.1- MATERIEL ET METHODES

2.1.1- Site d'étude et échantillonnage

Les échantillons de grains de maïs et de graines de niébé sont collectés dans dix importants marchés locaux de la Région des Plateaux au Togo (Fig. 21). C'est la principale zone productrice du café, cacao, coton, céréales et légumineuses à graines.

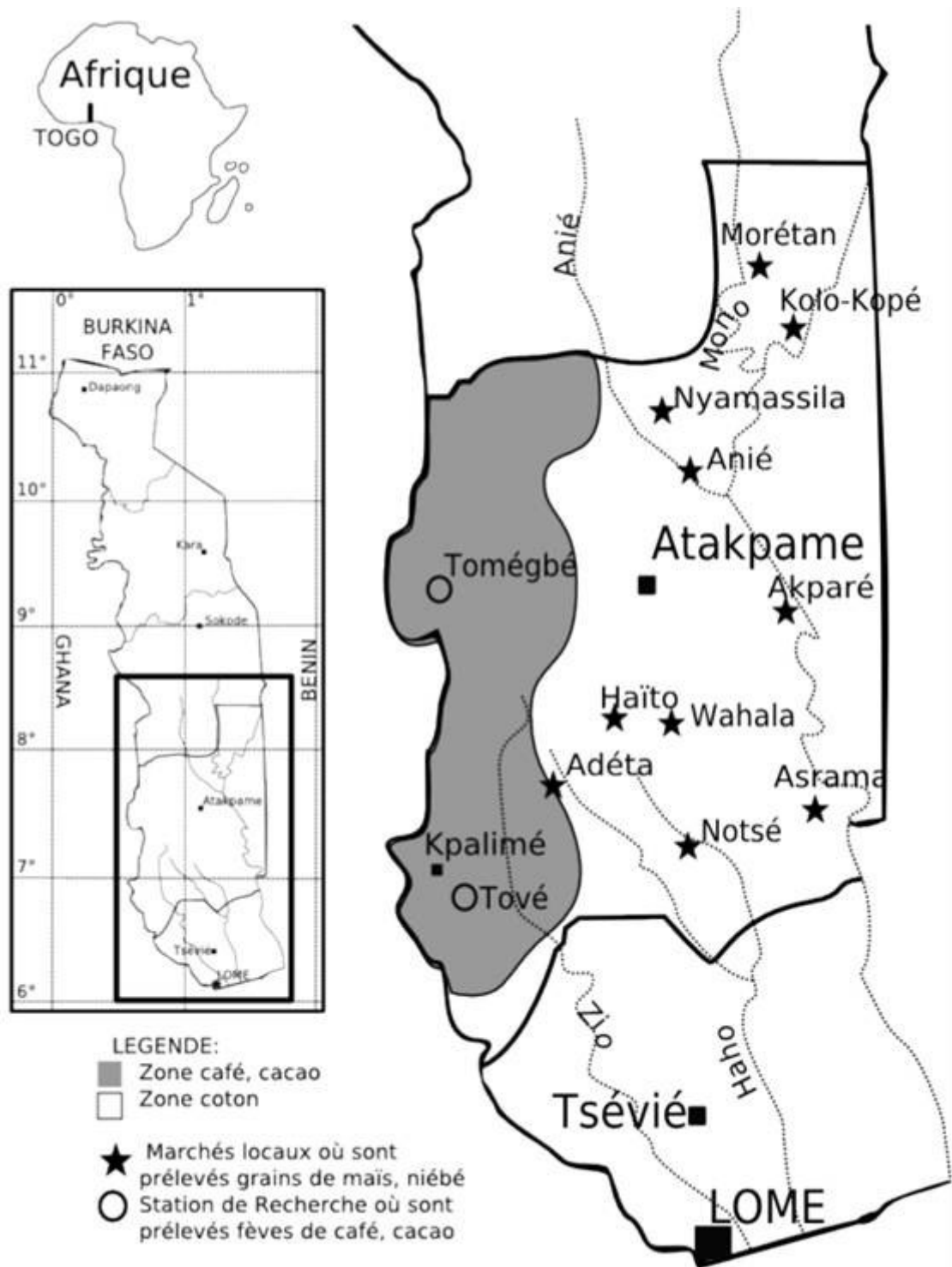


Figure 21- Carte des zones agro-écologiques illustrant les points d'échantillonnage de denrées agricoles

Les grains de maïs et les graines de niébé de la nouvelle récolte d'août 2004 ont été échantillonnés afin de s'assurer qu'ils sont exempts de tout traitement phytosanitaire post-récolte étant donné que les greniers de maïs et les stocks de niébé sont souvent

traités aux pesticides afin de les protéger contre des attaques parasitaires et ce, même en stockage de courte durée (3 mois). Dans chacun des dix marchés, cinq prélèvements de 100 g par échantillon et par produit ont été effectués directement auprès de cinq différents producteurs dès leur entrée sur le marché. Les prélèvements effectués dans les dix marchés sont regroupés par produit pour constituer des échantillons composites représentatifs de la région. Les graines de café et les fèves de cacao sont collectées dans les stations de recherche agronomique de Tové et de Tomégbé sur cinq parcelles différentes de façon aléatoire. Les échantillons sont également regroupés par denrée récoltée.

2.1.2- Analyse et quantification des pesticides dans le maïs et le niébé

Le matériel utilisé pour le broyage des échantillons de grains de maïs et de graines de niébé et l'extraction des résidus de pesticides est identique à celui employé précédemment dans le cas des sols. Les résidus de pesticides sont extraits de la farine de maïs et de haricot par la méthode Accelerated Solvent Extraction (Gan *et al.*, 1999). Une quantité de 5,36 g de grains finement broyés a été mélangés à 3,33 g de terre de diatomée (Hydromatrix®) et mise dans une cellule d'extracteur en acier inoxydable de capacité 22 mL. Chaque échantillon est extrait pendant cinq minutes par un mélange acétone/dichlorométhane (3 :1 v/v) à une température de 110° C et sous une pression de 100 bars avec un volume intermédiaire affleurant 60 % et en 2 cycles. Chaque extrait a été lavé à une solution aqueuse de NaCl (0,060 g.mL⁻¹), séché au sulfate de sodium anhydre et concentré à environ 2,5 mL par évaporation sous vide à 35 – 40°C au moyen d'un évaporateur rotatif avant d'être purifié sur cartouches de florisil Sep-Pack® selon la méthode EPA METHOD 3620 adaptée (US EPA, 1986, Devault *et al.*, 2007). Pendant la purification, l'élution a été effectuée successivement avec 20 mL d'hexane/ éther éthylique (94 : 6 v/v), 10 mL d'hexane/acétone (9 :1, v/v) et 20 mL d'hexane/acétone (1 : 1 v/v). La vitesse d'élution est d'environ 0,5 mL.min⁻¹. Les éluats recueillis sont individuellement concentrés à 1 ou 1,5 mL par évaporation sous vide à 35 – 40°C au moyen de l'évaporateur rotatif type Buchi pour l'analyse en GC/MS. Les extraits de grains de maïs et de graines de niébé sont analysés sur le chromatographe à gaz couplé à spectrométrie de masse (GC/MS) dans les mêmes conditions que celles décrites plus haut (section 1.1.1.4).

2.1.3- Analyse et quantification des pesticides dans le café et le cacao

Les résidus d'insecticides organochlorés ont été mesurés dans les graines de café et les fèves de cacao par Eurofins Scientific Analytics suivant la méthode DFG S19 Mini-Silica Gel-Eluate 1+2 telle que décrite par la fiche technique correspondant au test S0101 et la méthode de référence LMBG L00.00-34 sur les échantillons extraits à l'acétone. Avant l'extraction, de l'eau est ajoutée à chaque échantillon dans une quantité qui tient compte de la teneur naturelle de l'échantillon en eau de manière à ce que pendant l'extraction le ratio acétone/eau reste constant à 2/1 (v/v). Pour la séparation liquide/liquide, du chlorure de sodium et un mélange de cyclohexane et d'acétate d'éthyle sont ajoutés à la préparation, l'ensemble est mélangé avec soin puis laissé au repos pour que les différentes phases puissent se séparer. Un aliquote de la phase organique est séché avec du sulfate de sodium puis réduit en volume. Des volumes identiques d'acétate d'éthyle et de cyclohexane sont ajoutés successivement au résidu. L'eau restante est enlevée par un mélange de sulfate de sodium et de chlorure de sodium; la solution est ensuite filtrée. L'extrait est purifié par chromatographie à perméation de gel (GPC). L'éluat obtenu passe ensuite sur une petite colonne de gel de silice et est élué avec des solvants de polarité croissante. Cette étape est nécessaire aux fins d'analyse chromatographique en phase gazeuse utilisant un détecteur à capture d'électrons (ECD).

2.2- RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats (Tableau 40) indiquent la présence de résidus de pesticides organochlorés dans les grains de maïs et les graines de niébé. Les concentrations mesurées sont très variées.

2.2.1- Résidus de pesticides organochlorés dans les grains de maïs

Les grains de maïs analysés présentent des teneurs de 2,18 à 21,79 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en DDT et métabolites, 18,09 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en dieldrine, 0,52 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en aldrine, 1,72 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en heptachlore, 17,65 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en heptachlore époxyde, 6,35 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en lindane, 34,74 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en α -endosulfan et 65,71 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en β -endosulfan (Tableau 40). Toutes ces valeurs sont nettement en dessous des LMRE de la FAO et de l'OMS. Les valeurs observées sont de 6,35 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour le lindane, 34,74 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour l' α -endosulfan et

65,71 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour le β -endosulfan. Elles sont aussi bien inférieures aux LMR de la FAO et de l’OMS.

Tableau 40- Teneurs moyennes des grains de maïs et niébé en résidus de pesticides ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Pesticides détectés	niébé (<i>Vigna unguiculata</i>)	LMRE et LMR* de la Norme française	maïs (<i>Zea mays</i>)	LMRE et LMR** de la FAO et de l’OMS
lindane	4,9	10	6,3	500
2-4 DDE	14,6		2,2	
2-4 DDD	11,6		-	
2-4 DDT	4,7		-	
4-4 DDE	15,7		5,3	
4-4 DDT	12,5	50	21,8	100
aldrine	5,9	10	0,5	20
dieldrine	39,5	10	18,1	20
endrine	13,2	10	-	20
heptachlore	3,9	10	1,7	20
Hepta-époxyde	48,8	10	17,6	20
α -endosulfan	98,9	50	34,7	100
β -endosulfan	88,5	50	65,7	100
Endosulfan (total)	187,3	50	100,4	100

* LMRE : limite maximale de résidu d’origine étrangère pour DDT, aldrine, dieldrine, endrine et heptachlore (POPs) et limite maximale de résidu pour le lindane et l’endosulfan ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) appliquées en France

** LMRE : limite maximale de résidu d’origine étrangère concernant le DDT, l’aldrine, la dieldrine, l’endrine et l’heptachlore (POPs) et limite maximale de résidu concernant le lindane et l’endosulfan ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) conjointement prescrites par la FAO et l’OMS (1998)

Tableau 41- Comparaison des données de contamination du maïs (*Zea mays*) au Togo ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Sources des données	lindane	Hepta- chlore	dieldrine	aldrine	DDT
Essobiyou (1990)	1 - 350	-	25 - 36	-	74
Djaneye-Boundjou <i>et al.</i> (2000)	2	492	63	38	-
Résultats du présent travail	6,4	1,7	18,1	0,5	21,8

Une comparaison faite entre les valeurs résiduelles de pesticides organochlorés mesurées dans les grains de maïs dans ce travail et les résultats des études antérieures

réalisées au Togo par le Service de Protection des Végétaux en collaboration avec la Coopération Technique Allemande GTZ en 1976 - 1978 (Essobiyou, 1990) et la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé (Djaneyé-boundjou *et al.*, 2000) révèle une baisse tendancielle de la contamination du maïs par les composés organochlorés (Tableau 41). Osibanjo et Adeyeye (1995) avaient montré que 22 à 29 % des céréales mises sur le marché au Nigéria présente des teneurs en aldrine, dieldrine et DDT supérieures aux LMRE de la FAO et de l'OMS.

2.2.2- Résidus de pesticides organochlorés dans les graines de niébé

Les graines de niébé étudiées présentent des teneurs en aldrine de 5,99 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en dieldrine de 39,50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en endrine de 13,16 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en heptachlore de 3,92 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en heptachlore époxyde de 48,88 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en lindane de 4,96 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en α -endosulfan de 98,79 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, en β -endosulfan 88,51 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et en DDT et métabolites de 4,71 à 15,76 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 40). Les valeurs de la dieldrine, de l'endrine et de l'heptachlore époxyde dépassent la LMRE de la Norme Française (MAPF, 2002). Celles de l' α -endosulfan et de β -endosulfan excèdent également la LMR de la Norme Française (MAPF, 2002).

Les teneurs en résidus de pesticides organochlorés mesurées dans les graines de niébé dans ce travail sont nettement en dessous des valeurs antérieurement observées par le Service de Protection des Végétaux et la GTZ (Coopération Technique Allemande) en 1976 - 1978 (Essobiyou, 1990) et la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé (Djaneyé-boundjou *et al.*, 2000). Visiblement, il se dégage une diminution tendancielle du niveau de résidus de pesticides organochlorés dans le niébé (Tableau 42).

Tableau 42- Comparaison des données de contamination du niébé (*Vigna unguiculata*) au Togo ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Sources des données	lindane	Hepta-chlore	aldrine	dieldrine	endrine	DDT
Essobiyou (1990)	3 – 12100	5 - 17	-	55	110	2 -1020
Djaneye-Boundjou <i>et al.</i> (2000)	710	421	155	60	-	-
Résultats du présent travail	4,9	3,9	5,9	39,5	13,5	12,5

2.2.3- Résidus de pesticides organochlorés dans le café et le cacao

Les résultats (Tableau 43) indiquent la présence de résidus de pesticides organochlorés dans les graines de café et les fèves de cacao. Les concentrations du DDT et de ses métabolites varient entre 10 et 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans les graines de café. Elles atteignent 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour l'endrine, 60 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour la dieldrine et l' α -endosulfan et 160 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour le lindane. La concentration de β -endosulfan dans les mêmes graines de café est de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 43). Au regard des valeurs guides, les teneurs du café en dieldrine, endrine et lindane sont supérieures aux LMRE selon la réglementation Européenne en vigueur (<http://www.eurofin.com>, janvier 2007) (Tableau 43).

Contrairement aux grains de maïs, de niébé et de café où les pesticides recherchés se retrouvent presque tous, seul le DDT est décelé dans les fèves de cacao à une concentration de 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 43).

Les niveaux de contamination de denrées rapportés en Inde sont de 0,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT et 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de HCH du café soluble contre 24 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de DDT et 230 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de HCH du café moulu (Huq, 1995). Ces données de la littérature indiquent la contamination du café par les pesticides organochlorés comme observée dans ce travail.

Tableau 43- Teneurs moyennes de graines de café et de fèves de cacao en résidus de pesticides ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)

Pesticides détectés	Café	Cacao	LMRE * de la Directive Européenne	LMR** de la FAO et de l'OMS
lindane	160		<50	
4-4 DDE	10			
2-4 DDT	10			
4-4 DDT	20	5		
DDT (total)	40		<200	
dieldrine	60		<20	
endrine	50		<10	
α -endosulfan	60			100
β -endosulfan	20			100
Endosulfan (total)	80			100

* LMRE : limite maximale de résidu d'origine étrangère concernant le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine et l'heptachlore (POPs) et LMR : limite maximale de résidu concernant le lindane et l'endosulfan ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) de la Directives Européennes en vigueur (<http://www.eurofin.com>)

** LMR : limite maximale de résidu concernant le lindane et l'endosulfan ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) conjointement prescrites par la FAO et l'OMS (1998).

2.2.4 – Approche présence de pesticides organochlorés dans la chaîne alimentaire

L'exposition par voie alimentaire aux résidus toxiques est fonction du degré de contamination de la denrée, de sa préparation et de la quantité ingérée. Sur la base des résultats obtenus, on pourrait conclure que le cacao et le maïs ne représentent pas un danger immédiat pour le consommateur tandis que les graines de niébé et de café présenteraient un risque pour l'Homme. Au niveau du café, ce risque diminue du fait de la torréfaction, de l'extraction à l'eau ou des processus d'élimination de la caféine. Cependant, il est important de comprendre la présence de ces produits dans les graines étudiées alors que les traitements sont anciens. Les graines de café et les fèves de cacao sont des récoltes de cultures pérennes. La présence d'insecticides organochlorés dans ces denrées laisse supposer l'hypothèse selon laquelle les insecticides s'accumulent dans les sols et passent ensuite dans les plantes par la voie racinaire (Fismes *et al.* 2002, Otani *et al.* 2007).

Le maïs et le niébé sont des cultures saisonnières. La présence des insecticides recherchés dans les récoltes de ces cultures est très vraisemblablement imputable au passage de ces molécules du sol au végétal (Schroll *et al.*, 1994 ; Otani *et al.*, 2007). Le maïs est cultivé en alternance avec le coton très exigeant en traitements phytosanitaires et donc serait contaminé par la pratique d'assolement. Pour le niébé, la situation est différente. Il sert de cible secondaire à différents prédateurs de cultures de rente dont la chenille d'*Helicoverpa armigera*, parasite du cotonnier, ce qui fait qu'il est directement traité. Aussi, les produits phytosanitaires destinés au coton, fournis par les structures d'encadrement, sont souvent détournés par les petits cultivateurs pour le traitement de leurs parcelles de niébé (Oloude *et al.*, 1995). Ce qui expliquerait la très forte contamination des graines de niébé. Précisons que la pression des ravageurs sur la culture du niébé a atteint, dans le contexte national, un tel niveau que les traitements phytosanitaires sont devenus absolument indispensables.

2.3- QUANTITE DE RESIDUS DE PESTICIDE ESTIMEE INGERABLE PAR JOUR PAR PERSONNE : EDI (Estimated Daily Intake)

L'exposition aux pesticides par voie alimentaire peut causer à la fois des problèmes de santé sur le court terme (aiguë) ou le long terme (chronique) chez l'Animal et l'Homme (Scribner JD, Mottet NK. 1981 ; Robison *et al.*, 1985 ; Menegaux *et al.*, 2006 ;). Des études ont montré de fortes associations entre les pesticides chimiques et les problèmes

de santé, en incluant les problèmes de fertilité, les malformations congénitales, les défauts de naissance, les tumeurs cérébrales, les cancers du sein, de la prostate et les leucémies de l'enfant (Velez *et al.*, 2001 ; Oliva *et al.*, 2001).

2.3.1- Le risque

L'approche du risque d'exposition des populations aux pesticides par le biais des aliments ingérés doit tenir compte des habitudes alimentaires locales, de la teneur en résidus de pesticides de chacun des aliments vecteurs du risque conjuguées aux données sur la fréquence de la consommation de ces aliments et à l'importance significative accordée à l'aliment. La quantité maximale de résidus d'un pesticide pouvant être ingérée par jour et par personne est la somme des teneurs de chacun des aliments en résidus de ce pesticide y compris celle d'eau de boisson (WHO, 1997).

2.3.1.1 - Bases du calcul du risque

a) Approche de la consommation réelle

Les lipides sont les principaux vecteurs de la contamination de la chaîne alimentaire par les pesticides organochlorés et celle de l'Homme est principalement liée aux lipides issus des animaux. Pour l'OMS, la quantité maximale de résidus de pesticides ingérée par jour et par personne est principalement déterminée par la somme des valeurs de résidus obtenues pour les oeufs, le lait, la volaille, le bovin ou le poisson. Cependant au Togo, la consommation de la viande est très limitée dans les zones rurales étudiées. Le lait et les oeufs font à peine partie du régime alimentaire des populations. Ainsi, la contribution des vecteurs majeurs réels et quotidiens du risque d'exposition pour l'Homme comme l'eau, le maïs et le niébé est très intéressante pour déterminer les stratégies d'intervention les plus efficaces pouvant aider à la diminution de l'exposition de l'Homme à ces substances dans le contexte local.

Ne disposant pas de statistique officielle sur la consommation quotidienne moyenne d'aliments pour personne en milieu rural, une évaluation de la quantité d'aliments consommés par jour par personne a été effectuée sur la base des données d'une enquête menée auprès de 50 ménages dans 5 villages de la Région des Plateaux au Togo suivant la méthode décrite par Sawaya *et al.* (1999). La quantité moyenne de maïs et de niébé consommée par jour et pour un poids moyen adulte de 55 kg est évaluée respectivement à 350 g et 45 g. La consommation journalière d'eau de boisson par personne dépend de

l'activité physique (la durée et l'intensité des exercices), des conditions climatiques et du taux de transpiration (Montain, 1995). L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé à 2,2 L d'eau de boisson la consommation quotidienne d'une femme adulte et à 2,9 L celle d'un homme dans les conditions normales. Sous climat tropical, le travail manuel augmente chez l'homme et la femme la prise quotidienne d'eau de boisson atteignant 4,5 L (Howard et Bartran, 2003). Le Togo ne disposant pas de données officielles sur la consommation journalière d'eau de boisson par personne, nous avons considéré, dans cette étude, la valeur moyenne des données de la littérature ci-dessus mentionnées soit $3,52 \text{ L} = (2,2 \text{ L} + 2,9 \text{ L} + 4,5 \text{ L} + 4,5 \text{ L})/4$.

b) Approche quantitative d'exposition aux pesticides

L'ingestion maximale "ajustée" de résidus de pesticide par jour et par personne est calculée en prenant en compte de facteurs de correction (lavage, épluchage, cuisson etc.) qui affectent le niveau de résidus de pesticide dans les aliments de table (WHO, 1997). En absence de ces facteurs de correction au niveau local, l'ingestion quotidienne de résidus de pesticide a été évaluée sur la base de la consommation moyenne de chacun des aliments étudiés.

L'ingestion journalière estimée de résidu de pesticide EDI (Estimated Daily Intake) a été calculée pour chacun des pesticides suivis de la manière suivante:

$$\text{EDI}_{\text{aliment}} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ poids corporel/jour}) = \text{NR} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}) \times \text{QAI} (\text{kg}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ poids corporel/jour})$$

EDI : Ingestion Journalière Estimée de résidu de pesticide (Estimated Daily Intake)
 NR : Niveau de Résidu de pesticide dans l'aliment ingéré
 QAI : Quantité d'Aliment Ingéré

$$\text{EDI}_{\text{eau de boisson}} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ poids corporel/jour}) = \text{NR} (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) \times \text{VEI} (\text{L}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ poids corporel/jour})$$

NR : Niveau de Résidu de pesticide dans l'eau ingérée
 VEI : Volume d'Eau Ingérée

$$\text{EDI}_{\text{Total}} (\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ poids corporel/jour}) = \sum_i \text{EDI} (\text{aliment } i) + \text{EDI}_{\text{eau de boisson}}$$

Enfin, pour chaque pesticide, le pourcentage total d'ingestion journalière estimée de résidu (EDI) a été calculé pour l'ensemble des aliments de base étudiés.

2.3.1.2 - Apport quotidien en résidu de pesticide par les aliments étudiés

Les apports quotidiens en résidu de pesticide par aliment (le maïs, le niébé et l'eau de puits et de rivières) sont présentés dans le Tableau 44.

Tableau 44- Apport quotidien en résidu de pesticides par chaque aliment (EDI*) $\mu\text{g.kg}^{-1}$ poids corporel/jour

Pesticides détectés	EDI graines de niébé	EDI grains du maïs	EDI eau d'Anié	EDI eau du Mono	EDI eau de Puits	ADI FAO/OMS
lindane	0,00405	0,04039				8
2-4 DDE	0,01192	0,01386	0,00192	0,00320	0,00128	20
2-4 DDD	0,00954		0,000128		0,00032	20
2-4 DDT	0,00385					20
4-4 DDE	0,01290	0,03366	0,00128		0,000384	20
4-4 DDT	0,01022	0,13866	0,00704	0,00960	0,00192	20
aldrine	0,00490	0,00335		0,00448		0,1
dieldrine	0,03232	0,11512	0,00256	0,00384	0,00128	0,1
endrine	0,01077			0,00832		0,2
heptachlore	0,00321	0,01094	0,01536	0,00704	0,02112	0,1
hept-époxyde	0,04000	0,11235	0,01088	0,00960	0,00576	0,1
α -endosulfan	0,08083	0,22105	0,02048	0,01856	0,0032	6
β -endosulfan	0,07242	0,41810	0,016	0,02560	0,00128	6

* EDI = Estimated Daily Intake (quantité de résidu de pesticide estimée ingérable par jour)

Les quantités quotidiennes de résidu de pesticides "EDI" apportées par l'ensemble des aliments, somme des apports individuels par "zone d'eau", sont consignées dans le Tableau 45 ci-dessous. "EDI" de chaque pesticide pour une personne adulte de 55 kg consommant dans la journée les deux aliments (maïs, niébé) plus soit l'eau de la rivière Anié, soit l'eau du fleuve Mono, soit l'eau du puits varie de 0,004 à 0,52 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 45).

Afin d'examiner d'éventuels effets néfastes sur la santé, ces valeurs ont été comparées aux doses journalières admissibles (D.J.A.) ou Acceptable Daily Intakes (ADI) disponibles. La D.J.A. fixée par la FAO et l'OMS (1998) est la quantité de contaminant

pouvant être ingérée quotidiennement sans causer d'effets néfastes sur la santé (Tableau 45).

Tableau 45- Apport quotidien en résidu de pesticides par l'ensemble des aliments (EDI*) ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) comparé à la D.J.A. de la FAO et de l'OMS (1998) (en %)

Pesticides détectés	Zone d'eau de rivière Anié		Zone d'eau du fleuve Mono		Zone d'eau de puits Adéta		Valeurs de référence FAO/OMS DJA ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
	EDI ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	% DJA	EDI ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	% DJA	EDI ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	% DJA	
lindane	0,044	0,55	0,044	0,55	0,044	0,55	8
2-4 DDE	0,027	0,14	0,029	0,15	0,027	0,14	20
2-4 DDD	0,01	0,05	0,01	0,05	0,01	0,05	20
2-4 DDT	0,004	0,02	0,004	0,02	0,004	0,02	20
4-4 DDE	0,049	0,25	0,047	0,24	0,047	0,24	20
4-4 DDT	0,158	0,79	0,159	0,80	0,151	0,76	20
aldrine	0,008	8,00	0,013	13,00	0,008	8,00	0,1
dieldrine	0,155	155,00	0,151	151,00	0,149	149,00	0,1
endrine	0,011	5,50	0,019	9,50	0,011	5,50	0,2
heptachlore	0,015	15,00	0,021	21,00	0,035	35,00	0,1
hept-epoxide	0,162	162,00	0,16	160,00	0,158	158,00	0,1
α -endosulfan	0,316	5,27	0,321	5,35	0,305	5,08	6
β -endosulfan	0,517	8,62	0,512	8,53	0,492	8,20	6

* EDI = Estimated Daily Intake (quantité de résidu de pesticide estimée ingérable par jour)

D.J.A. dose journalière admissible (quantité de contaminant pouvant être ingérée quotidiennement durant toute la vie sans causer d'effets néfastes sur la santé (FAO/OMS, 1998).

L'examen comparatif des résultats indique que le risque est élevé pour la dieldrine (0,149 à 0,155 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) et l'heptachlore époxyde (0,158 à 0,162 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) (Tableau 45). Ces valeurs représentent 149 à 155 % de la Dose Journalière Admissible (D.J.A.) pour la dieldrine et 158,17 à 162,07 % de la D.J.A. pour l'heptachlore époxyde. En effet, les quantités potentiellement ingérables de ces deux substances dépassent respectivement de 55 % et 62 % les doses journalières admissibles (D.J.A.) recommandées par l'OMS et la FAO (FAO/OMS, 1998).

Par ailleurs, à l'exception de la dieldrine et de l'heptachlore époxyde, nos résultats sont tout à fait comparables aux données relatives aux pesticides organochlorés rapportées en Russie (0,007 à 0,7 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) (Sofina, 1991). La valeur résiduelle de DDTs pouvant être ingérée par jour et par personne calculée dans ce travail (0,25 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$) est sensiblement inférieure aux valeurs de 1,42 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ et 1,22 $\mu\text{g.kg}^{-1}.\text{jour}^{-1}$ signalées respectivement au Japon (Nakagawa, 1995) et en Espagne (Herrera *et al.*, 1996).

2.3.2- Calcul du pourcentage du DDT, dieldrine, heptachlore apporté par aliment

Le pourcentage en résidu du DDT, de dieldrine et d'heptachlore époxyde apporté par chacun des aliments étudiés a été calculé de la façon suivante :

$$Aa\% = \frac{Ra}{Rt} \times 100$$

$Aa\%$ = pourcentage de résidu de pesticide apporté par l'aliment "a"

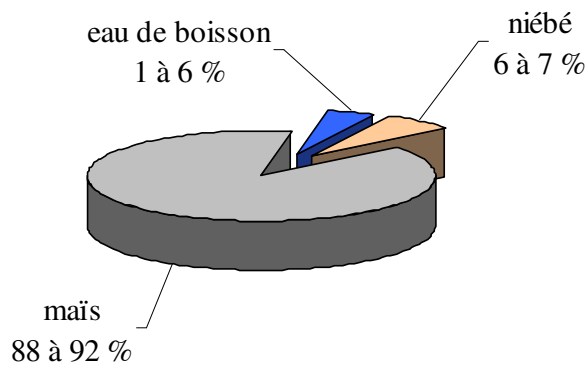
Ra = résidu de pesticide apporté par l'aliment "a"

Rt = résidu total de pesticide apporté par l'ensemble des aliments considérés

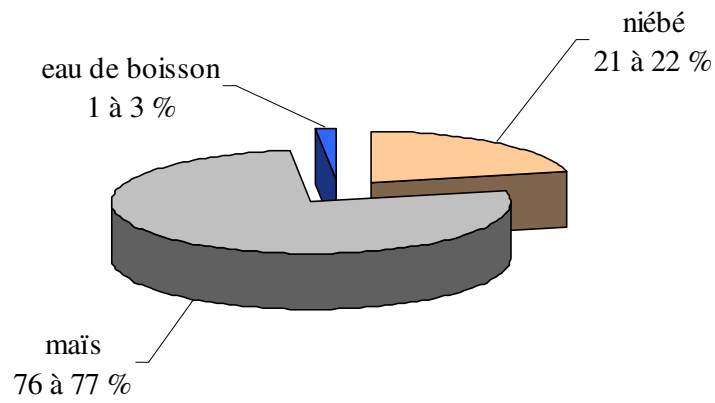
Le calcul du pourcentage d'apport quotidien en résidu du DDT, de dieldrine et d'heptachlore époxyde par chacun des aliments étudiés indique que par jour (Fig. 22) :

- le maïs apporte 88 à 92 % du DDT résiduel, le niébé 6 à 7 % et l'eau de boisson 1 à 6 %,
- le maïs apporte 76 à 77 % de résidu de dieldrine, le niébé 21 à 22 % et l'eau de boisson 1 à 3 %,
- le maïs apporte 69 à 71 % de résidu d'heptachlore époxyde, le niébé 25 % et l'eau de boisson 4 à 7 %.

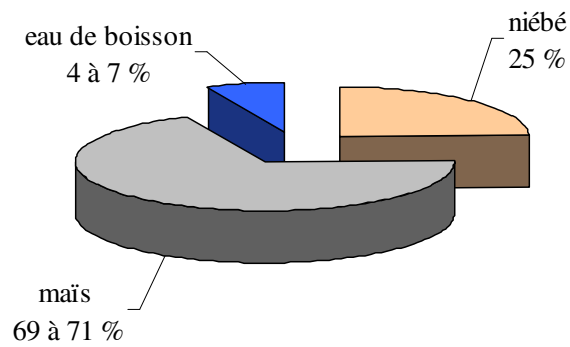
La variation de l'apport total quotidien en résidu du DDT, de dieldrine et d'heptachlore époxyde suit le changement de zone (zone d'eau de rivière Anié, zone d'eau du fleuve Mono et zone d'eau de puits).



DDT



Dieldrine



Heptachlore époxyde

Figure 22- Pourcentage de résidus de DDT, de dieldrine, et d'heptachlore époxyde apporté par le maïs, le niébé et l'eau de boisson

CONCLUSION

Les denrées alimentaires de consommation courante au Togo que sont le maïs et le niébé, provenant de cultures sur sol en rotation de la zone de production cotonnière contiennent des résidus de pesticides organochlorés, polluants organiques persistants ou non (lindane et endosulfan) à des concentrations plus ou moins élevées. Le maïs et le cacao présentent des teneurs en résidus de pesticides organochlorés inférieures aux limites maximales de résidus d'origine étrangère (LMRE) et limites maximales de résidus (LMR) de la FAO et de l'OMS. Le niébé présente en revanche des teneurs en dieldrine, endrine, heptachlore époxyde, α -endosulfan et en β -endosulfan supérieures aux LMRE et LMR de la norme Française. Les teneurs du café en lindane, dieldrine et endrine excèdent les LMRE de la réglementation Européenne en vigueur. Par rapport aux normes de la FAO et de l'OMS, à la réglementation Européenne et à la norme Française, les valeurs expérimentales obtenues présentent dans l'ensemble un risque de contamination de l'Homme par voie alimentaire. La quantité de résidus de dieldrine et d'heptachlore époxyde estimée ingérable par le biais de l'alimentation dans un contexte local est nettement supérieure aux normes (D.J.A. de la FAO et de l'OMS) jugées acceptables d'un point de vue toxicologique.

TROISIEME CHAPITRE :

ETUDE CHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DES HUILES ESSENTIELLES DE CINQ PLANTES AROMATIQUES LOCALES ET DE L'ACTION DE L'HUILE DE NEEM SUR LE SCOLYTE (*Hypothenemus hampei*) ET SES PARASITOÏDES *Cephalonomia stephanoderis*, *Phymastichus coffea*

INTRODUCTION

Les plantations caféières de la planète sont menacées par le scolyte (*Hypothenemus hampei* Ferrari 1867), un coléoptère de la famille des Scolytidae. Ce coléoptère creuse des galeries dans les jeunes fruits de caféier, s'y nourrit et s'y reproduit. Il occasionne ainsi d'énormes pertes économiques par la chute des jeunes fruits attaqués, la diminution de poids et de la valeur commerciale du café. Les plantations caféières du Togo n'échappent pas à cette réalité. Cette situation inquiète les petits planteurs aux ressources très limitées. Deux principaux parasitoïdes : *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (1961) (Hyménoptère: Bethyridae) et *Phymastichus coffea* LaSalle (1990) (Hyménoptère: Eulophidae) cohabitent avec le ravageur dans les caféières mais n'arrivent pas à limiter sa population. Les scolytes sont si nombreux en cas d'invasion qu'ils débordent leurs ennemis naturels. La récolte sanitaire qui consiste à ramasser les fruits noirs "scolytés" d'inter-campagne et à les détruire demande un travail supplémentaire et est très peu pratiquée. Le contrôle du scolyte se fait toujours par des applications de l'endosulfan. L'utilisation de cet insecticide organochloré pose des problèmes de résidus dans les récoltes et les eaux de surface et de puits pour la consommation humaine dans les régions productrices de café et du coton au Togo. Nos observations expérimentales révèlent la présence de l'endosulfan total à des teneurs de 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans le café, 100,44 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans le maïs, 187,30 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans le niébé et 0,07 – 0,69 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ dans l'eau de boisson. Par ailleurs, il a induit une résistance chez le scolyte du café (Brun *et al.*, 1989). Une nouvelle approche de lutte devient impérative d'autant plus que cet insecticide est déjà classé au plan international comme une substance organique persistante.

Dans l'optique d'aller vers des alternatives plus écologiques capables de remplacer notamment l'endosulfan dans la caféiculture, nous avons choisi comme insecte cible le scolyte du fruit du caféier (*Hypothenemus hampei*).

L'objectif de l'étude est d'évaluer le potentiel insecticide d'extraits de quelques végétaux locaux (l'huile de graine de neem : *Azadirachta indica* et les huiles essentielles extraites d'aoellanthus : *Aoellanthus pubescens*, du basilic : *Ocimum basilicum*, du basilic blanc : *Ocimum canum*, du basilic salubre : *Ocimum gratissimum*, et de la verveine des Indes : *Cymbopogon schoenanthus*) sur le scolyte. Ce chapitre porte aussi sur l'identification des constituants des huiles essentielles de plantes aromatiques étudiées.

3.1- ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE CINQ PLANTES AROMATIQUES LOCALES A EFFET INSECTICIDE

On sait que l'activité biologique d'une huile essentielle extraite de plante aromatique dépend souvent de ses constituants majoritaires. Ainsi, il nous a paru intéressant de chercher à connaître la composition chimique des huiles essentielles d'*A. pubescens*, d'*O. basilicum*, d'*O. canum*, d'*O. gratissimum* (Lamiaceae) et de *C. schoenanthus* (Poaceae) retenues pour les tests biologiques dans ce travail. Cette étude s'inscrit dans le contexte global de la valorisation des plantes aromatiques de la flore locale à huiles essentielles par des applications agronomiques en complément d'autres applications faites dans la pharmacopée.

L'objectif d'une telle étude est de préciser les chimiotypes d'huiles essentielles préalablement à leur mise en œuvre dans les bioessais en laboratoire pour l'étude de leur pouvoir pesticide.

3.1.1- MATERIEL ET METHODES

3.1.1.1- Récolte des plantes

Le matériel végétal a été collecté en juin 2005. Les espèces d'*O. basilicum*, d'*O. canum*, d'*O. gratissimum* et de *C. schoenanthus* ont été cultivées sur la Station d'Expérimentation de l'Ecole Supérieure d'Agronomie (ESA) de l'Université de Lomé située sur le campus universitaire de Lomé. Les feuilles sont récoltées au stade de pleine floraison. Quant aux feuilles d'*A. pubescens*, elles ont été récoltées dans leur habitat naturel dans la localité de Ogou-Kinko "village Eko" au Togo au niveau du 8^e parallèle nord. Toute la biomasse ainsi collectée a été acheminée au Laboratoire de Pédo-chimie de l'ESA où elle a été séchée à la température de 20 - 25°C (sous climatiseur) pendant sept jours avant l'extraction des huiles essentielles.

3.1.1.2- Extraction des huiles essentielles

Un échantillon de 50 g du matériel végétal séché est extrait par entraînement à la vapeur d'eau pendant 2 heures au moyen du dispositif de Clevenger modifié par Craveiro *et al.* (1976). Le schéma du dispositif d'extraction d'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau est représenté par la figure 23.

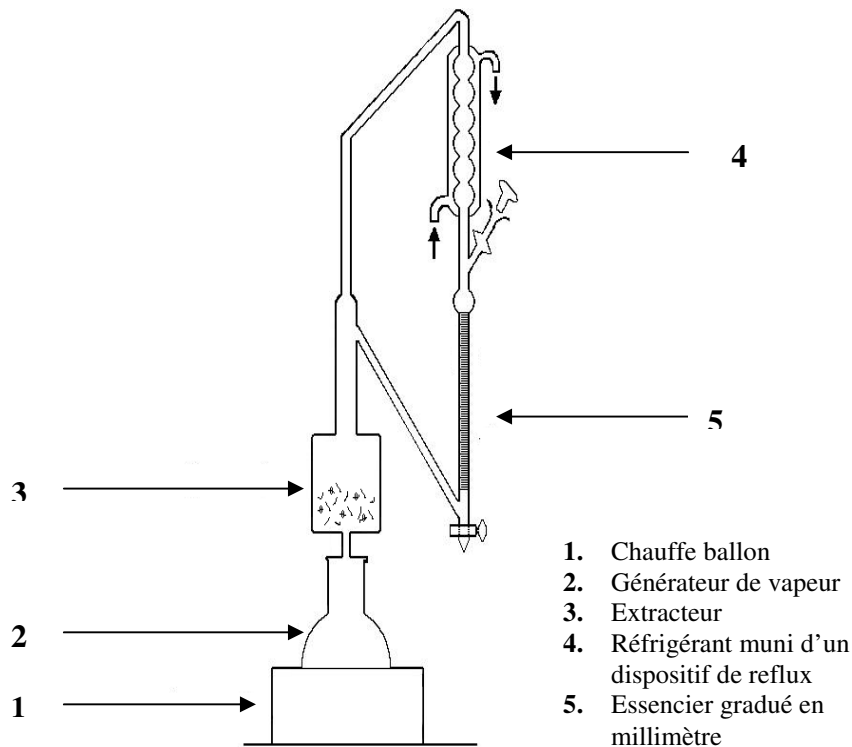


Figure 23- Schéma du dispositif d'extraction d'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau

Les essences obtenues sont conservées dans des flacons inactiniques en verre hermétiquement fermés et couverts d'une feuille d'aluminium afin de renforcer la protection contre la lumière. Les flacons d'huile essentielle ainsi traités sont gardés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à l'analyse.

3.1.1.3- Analyse chimique des huiles essentielles

L'analyse chimique des huiles essentielles a été réalisée à la fois par la chromatographie en phase gazeuse au détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID) et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Les échantillons d'huile essentielle sont analysés en CPG / FID sur un chromatographe de type Varian 3300 équipé d'un Détecteur à Ionisation de Flamme (FID). Les indices de rétention sont calculés à partir de la colonne capillaire apolaire DB-5 (30 m x 0,25 mm d.i; épaisseur du film 0,25 µm) et de la colonne polaire Supelcowax 10. La programmation de température sur la colonne DB-5 est la suivante : 50 °C (5 min), de 50 °C à 250 °C avec un gradient de 2 °C/min et la Supelcowax 10 : 50 °C (5 min), de 50 °C à 200 °C avec un gradient de 2 °C/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 250 °C et 300 °C. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1,50 mL/min. Le volume d'huile essentielle (non diluée) injecté manuellement est de 0,2 µL.

L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est faite sur un chromatographe de type Hewlett Packard 5890 SERIES II, couplé à un spectromètre de masse de type Hewlett Packard 5971 SERIES II à Impact d'électrons opérant en mode EI 70 eV. Le type de colonne capillaire utilisée est la DB5-MS (30 m x 0,25 mm d.i.; épaisseur du film 0,25 µm). La quantité d'huile essentielle injectée et les paramètres en CPG/SM sont les mêmes que ceux en CPG/FID.

Les constituants de chaque huile essentielle sont identifiés par comparaison de leurs spectres de masses avec ceux des produits de référence de bases de données Willey (McLafferty, 1994), NIST (NIST, 1992) aussi bien que par leurs indices de rétention calculés à l'aide d'alcane C₅-C₁₈ comparés aux indices des produits de référence et des données de la littérature (Kondjoyan et Berdagué, 1996 ; Adams, 2001).

Les pourcentages relatifs (%) des composés identifiés dans la composition chimique des huiles essentielles ont été calculés à partir des aires de pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse GPC/FID sans aucun facteur de correction.

3.1.2- RESULTATS ET DISCUSSION

Les rendements en huile essentielle obtenus, par rapport à la matière sèche, sont les suivants : *A. pubescens* 1,8 %, *O. basilicum* 1,9 %, *O. canum* 1,3 %, *O. gratissimum* 1,7 % et *C. schoenanthus* 2,3 %. L'examen comparatif des résultats analytiques conduit à une observation principale : la prédominance des composés monoterpéniques dans toutes les huiles essentielles étudiées (Tableaux 46 et 47).

Dans cette étude, le linalol (56,42 %) et la fenchone (28,60 %) sont les constituants majoritaires de l'huile essentielle d'*A. pubescens* qui confèrent à cette huile essentielle le chimiotype à linalol/fenchone. Le chimiotype à linalol/fenchone de l'huile essentielle de *A. pubescens* vient d'être identifié pour la première fois à notre connaissance en référence aux autres chimiotypes déjà décrits par Sanda *et al.* (1999) et Koba (2003).

Parmi les principaux constituants identifiés dans l'huile essentielle des feuilles d'*O. basilicum*, l'estragole (76,73 %) est le plus important suivi du méthyl eugénol (7,08 %). La prédominance de l'estragole indique que cette huile essentielle est du chimiotype à estragole.

Le terpinéol-4 (34,69 %) et le linalol (22,70 %) sont les composés majoritaires suivis secondairement du γ -terpinène (7,34 %) dans l'huile essentielle d'*O. canum* étudiée. La prédominance de ces deux constituants attribue à cette huile essentielle le chimiotype à terpinéol/linalol.

L'huile essentielle d'*O. gratissimum* présente des teneurs élevées en thymol (23,13 %), ortho-cymène (22,10 %) et γ -terpinène (16,87 %). Ces composés majoritaires déterminent le chimiotype à thymol/ortho-cymène/ γ -terpinène pour cette huile essentielle.

Le constituant majoritaire de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* est la pipéritone (65,61 %) suivi de loin du 2-carène (21,74 %). La prédominance de la pipéritone et du 2-carène indique que cette huile essentielle appartient au chimiotype à pipéritone/2-carène.

Tableau 46- Principaux constituants d'huiles essentielles de *Aeollanthus pubescens* et de *Cymbopogon schoenanthus*

Principaux constituants des huiles essentielles	Indice de rétention IR		<i>Aeollanthus pubescens</i>	<i>Cymbopogon schoenanthus</i>
	calculé	Théorique	Aires des pics en %*	
Hydrocarbures monoterpéniques				
α -Pinène	928,82	939	1,18	
camphène	943,59	954	0,22	
Myrcène	985,81	991	0,70	
2-Carène	1003,97	1002		21,74
α -Phellandrène	1004,79	1003	0,10	0,11
Limonène	1027,65	1029	4,15	3,94
Trans β -ocimène	1031,53	1050	0,10	
γ -Terpinène	1053,58	1060	0,25	
Terpinolène	1082,48	1089	0,39	
Monoterpènes oxygénés				
1, 8-Cinéole	1028,40	1031	0,14	0,13
Fenchone	1091,56	1087	28,60	0,10
Linalol	1109,46	1097	56,42	
Trans hydrate Pinène	1122,70	1123		1,23
Camphor	1143,35	1146	1,05	
Bornéol	1167,24	1169	0,44	
Terpinéol -4	1176,01	1177	0,44	0,17
α -Terpineol	1191,07	1189	0,23	1,03
cis -Piperitol	1196,25	1196		0,39
Piperitone	1264,44	1253		65,61
Thymol	1290,10	1290	0,10	
Hydrocarbures sesquiterpéniques				
β -Elemene	1382,53	1391	0,79	
trans α -Bergamotene	1426,56	1435	1,08	
β -Selinène	1478,13	1490	0,93	
Total			97,31	94,45

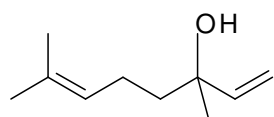
*Les pourcentages relatifs (%) des composés identifiés dans la composition chimique des huiles essentielles ont été calculés à partir des aires de pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse GPC/FID sans aucun facteur de correction.

Tableau 47- Principaux constituants d'huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*, d'*Ocimum canum* et d'*Ocimum gratissimum*

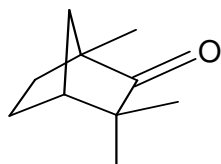
Principaux constituants des huiles essentielles	Indice de rétention IR		<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Ocimum canum</i>	<i>Ocimum gratissimum</i>
	calculé	Théorique	Aires des pics en %*		
Hydrocarbures monoterpéniques					
α -Thujène	922,40	930	0,04	1,63	7,17
α -Pinène	929,61	939	0,28	1,99	2,84
camphène	945,28	954	0,06	0,20	0,18
Sabinène	968,42	975	0,18	0,17	0,87
Myrcène	986,96	991		2,15	5,52
α -Terpinène	1014,75	1017		1,26	4,13
Limonène	1026,37	1029	0,23	2,66	1,16
ortho-Cymène	1027,04	1026			22,10
γ -Terpinène	1055,98	1060	0,18	7,34	16,87
Terpinolène	1082,79	1089		1,14	
Para-Cymenene	1089,50	1091			1,78
Monoterpènes oxygénés					
1,8-Cineole	1029,94	1031	4,00		0,42
trans-thujan-4-ol	1069,55	1070		5,91	2,14
Cis-Thujone	1101,02	1102	1,25		0,66
Linalol	1109,46	1097		22,70	
Camphor	1142,59	1146		0,63	
Terpinéol –4	1176,21	1177	0,42	34,69	0,82
Estragole	1189,93	1196	76,73		
Thymol	1290,48	1290		0,12	23,13
Methyl eugenol	1402,40	1404	7,08		
Hydrocarbures sesquiterpéniques					
Caryophyllène	1410,07	1409		4,62	
trans α -Bergamotène	1428,52	1435		4,94	
Germacrème D	1570,81	1485		0,46	0,58
2E- α -Farnesène	1489,08	1490		1,30	
Total			90,45	93,91	90,37

*Les pourcentages relatifs (%) des composés identifiés dans la composition chimique des huiles essentielles ont été calculés à partir des aires de pics obtenus en chromatographie en phase gazeuse GPC/FID sans aucun facteur de correction.

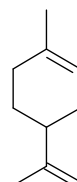
Les formules développées et le n° CAS des constituants majoritaires des huiles essentielles étudiées sont représentés dans la figure 24.



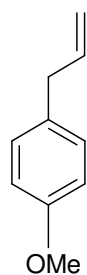
Linalol (C₁₀H₁₈O)
N° CAS: 56105-46-5



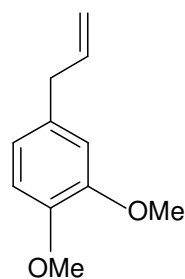
Fenchone (C₁₀H₁₆O)
N° CAS : 1195-79-5



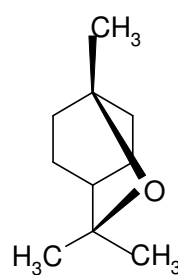
Limonène (C₁₀H₁₆)
N° CAS: 7705-14-8



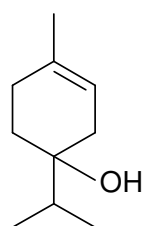
Estragole (C₁₀H₁₂O)
N° CAS: 140-67-0



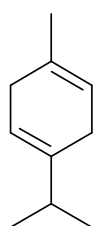
Méthyl eugénol (C₁₁H₁₄O₂)
N° CAS: 93-15-2



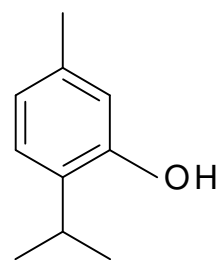
1,8 – cinéole (C₁₀H₁₈O)
N° CAS: 470-82-6



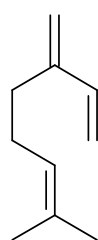
Terpinéol-4 (C₁₀H₁₈O)
N° CAS: 562-74-3



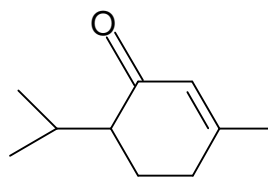
γ-terpinène (C₁₀H₁₆)
N° CAS: 99-85-4



Thymol (C₁₀H₁₄O)
N° CAS: 89-83-8



Myrcène (C₁₀H₁₆)
N° CAS: 123-35-3



Pipéritone (C₁₀H₁₆O)
N° CAS: 89-81-6

Figure 24- Formules développées et le n° CAS des principaux constituants majoritaires des huiles essentielles étudiées

Bien que l'activité biologique des huiles essentielles soit attribuée à leurs composés majoritaires, un effet synergique des constituants minoritaires n'est pas exclu. Ainsi, il nous a paru au préalable intéressant d'évaluer le potentiel insecticide des huiles essentielles à l'état brut pour des intérêts agronomiques que de poursuivre la purification et rechercher l'isolement de la molécule insecticide.

3.2- POTENTIEL INSECTICIDE DES HUILES ESSENTIELLES ETUDIÉES ET DE L'HUILE DE GRAINE DE NEEM SUR LE SCOLYTE DES FRUITS DU CAFÉIER (*Hypothenemus hampei* Ferrari 1867)

A ce stade de notre investigation, nous allons évaluer les propriétés insecticides des huiles essentielles sur le scolyte adulte à travers des essais biologiques en laboratoire. L'alternative de lutte recherchée ici se voulant avant tout respectueuse de l'environnement, à même de constituer une composante d'une approche de lutte intégrée contre le scolyte, il est intéressant de connaître l'effet de ces huiles essentielles ainsi que l'effet de l'huile de graine de neem sur ses deux principaux parasitoïdes *Cephalonomia stephanoderis* (Betrem, 1961) (Hyménoptère: Bethyridae) et *Phymastichus coffea* LaSalle (Hyménoptère: Eulophidae).

3.2.1- MATERIEL ET METHODE

3.2.1.1- Cadre expérimental et matériel utilisé

Les tests biologiques ont été réalisés dans le laboratoire d'entomologie de l'Institut Togolais de Recherche Agronomique, Zone Forestière à Kpalimé dans la région productrice de café, cacao située à 120 km au Nord-Ouest de Lomé. Le laboratoire dispose d'une salle d'élevage équipée d'un thermomètre et d'un humidificateur.

Les populations naturelles d'*H. hampei*, *C. stephanoderis* et de *P. coffea* ont constitué le matériel biologique. Les huiles essentielles d'*A. pubescens*, d'*O. basilicum*, d'*O. canum*, d'*O. gratissimum* (Lamiaceae) et de *C. schoenanthus* (Poaceae) étudiées, l'huile de graine de neem dont les caractéristiques physiques et chimiques sont présentées en annexe 3 et l'insecticide commercial de référence, l'endosulfan (EC 500 g L⁻¹) sont les matières actives utilisées. Le petit matériel de laboratoire comprenait les boîtes d'élevage, les caisses d'émergence, un aspirateur à bouche (Fig. 25), les éprouvettes et les béchers, l'aiguille à palper les insectes, une loupe et une micro-pipette de marque Gilson, des flacons en verre, une toile moustiquaire et un chronomètre.

3.2.1.2. Préparation de l'huile de graine de neem

Des graines de neem mûres et séchées à 40 °C à l'étuve pendant trois jours ont été décortiquées et vannées. Les amandes recueillies sont moulues à l'aide d'un moulin à café. La pâte obtenue est pétrie à la main avec quelques gouttes d'eau pour en extraire l'huile (Agbodzavu, 2005).

3.2.1.3- Collecte des insectes

Les stades larvaires des trois espèces d'insecte se déroulent à l'intérieur des cerises de caféier et seuls les individus aux stades adultes se déplacent et sont faciles à obtenir. Pour cette raison, notre choix a porté sur le stade adulte des trois espèces d'insecte. Les cerises «scolytées» d'inter-campagnes sont d'abord récoltées dans les plantations des paysans et sur les stations de l'Institut Togolais de Recherche Agronomique en zone forestière. Elles sont ensuite placées dans les boîtes d'élevage et les caisses d'émergence au laboratoire (Fig. 25). Enfin, à l'aide d'un aspirateur à bouche, les insectes adultes qui émergent sont récupérés au fur et à mesure pour les tests biologiques.

3.2.1.4- Préparation des doses de matières actives

La méthode des concentrations en série du laboratoire de phytopharmacie et de médiateurs chimiques de l'INRA-Versailles a été adoptée pour le choix de la gamme des doses (Bala, 1996). Les concentrations ont été déterminées suivant une progression géométrique de raison $r = 1,7782$. Après plusieurs tests préliminaires et pour chacune des matières actives, cinq concentrations $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $180 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $320 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $560 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ont été retenues. Elles sont préparées par dilution d'huile essentielle brute ou d'huile de graine de neem dans l'eau distillée. Deux gouttelettes d'agent tensio-actif émulsifiable "Akotoh" (savon indigène) sont ajoutées à chaque dilution pour réaliser une émulsion stable.

Des émulsions titrant $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $180 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $320 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $560 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ d'endosulfan sont également préparées par dilution appropriée de la formulation EC 500g.L^{-1} dans l'eau distillée.



①



②



③

Figure 25- Matériel utilisé en tests biologiques : ① Boîte d'élevage contenant des cerises, ② Caisse d'émergence et ③ Trois aspirateurs à bouche pour la récupération des insectes émergeant

3.2.1.5- Conduite des essais biologiques en laboratoire

Un test de toxicité par contact direct, inhalation non exclue, d'huiles essentielles étudiées, de l'huile de graine de neem et de l'endosulfan a été effectué sur des insectes adultes. Ceux-ci, collectés à l'aide de l'aspirateur à bouche, sont introduits dans des

flacons en verre (3 cm de diamètre intérieur et 5 cm de hauteur) dont les parois internes sont imprégnées au préalable de 100 µL de chaque concentration de produit testé. L'unité expérimentale est constituée de 30 insectes adultes par flacon, produit, dose et espèce d'insecte et est en 5 répétitions.

La population naturelle de chaque espèce d'insecte est soumise à 35 traitements différents issus de la combinaison des niveaux des 2 facteurs (7 x 5 = 35 traitements). Deux témoins absolus, l'eau distillée et l'agent tensio-actif servant de ligne de base des mortalités ont été parallèlement réalisés. Les flacons contenant les insectes adultes sont fermés à l'aide d'une toile moustiquaire fine et placés dans la salle d'élevage à 25°C et à 60 % d'humidité relative suivant un dispositif complètement randomisé. La durée d'exposition des sujets est de 24 heures au bout desquelles les individus morts sont dénombrés. Les mortalités ont été corrigées par rapport à la moyenne de la ligne de base, mortalité moyenne des deux témoins absolus l'eau distillée et l'agent tensio-actif, en utilisant la formule d'Abbott (1925) recommandée par la FAO et l'OMS dans les tests insecticides.

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

où : Mc : mortalité corrigée (%),

Mo : mortalité observée dans les lots traités (%)

Me : moyenne des mortalités issues des deux témoins négatifs eau distillée et agent tensio-actif (%)

3.2.1.6- Analyse statistique des données

Le traitement statistique des données a été réalisé en utilisant le logiciel STATISTICA version 5.1 Module Switcher. Les produits et les doses ont été comparés entre eux à travers les mortalités d'insectes qu'ils ont induites. Les écarts de mortalité étant naturellement élevés chez les insectes, il a été nécessaire de procéder à des transformations pour la normalisation des données afin de rendre le test de ségrégation des moyennes sensible. Ainsi, les taux de mortalité corrigés ont été transformés par la formule $\sqrt{\arcsin us}$ avant d'être soumis à l'analyse de la variance. Le test de Newman et Keuls a été utilisé pour la comparaison des moyennes de mortalité. Le niveau de signification pour déterminer des différences entre les traitements est de $P = 0,05$.

La dose létale de chaque produit tuant 50 % de la population (DL_{50}) a été calculée par la méthode des Probits de Finney (1971) à l'aide du programme Dslp version 4.5. Il s'agit

d'une analyse statistique faisant appel à des calculs log-probit difficiles à traiter manuellement (Raymond, 1985). Elle implique des calculs que seul l'outil informatique permet de réaliser. Les principales étapes du programme qui effectue rapidement ces calculs sont présentées en annexe 4.

La détermination mathématique des DL_{50} ou autre indice de toxicité d'un produit s'effectue à partir de courbes dose-réponse par des transformations mathématiques permettant de calculer les divers paramètres suite à la linéarisation des courbes. Pour chaque dose de produit appliquée sur un groupe d'individus, on observe l'apparition d'un effet. Les courbes dose-réponse sont établies en portant la fréquence d'apparition de l'effet ou la proportion des individus qui manifeste cet effet (nombre d'individus présentant l'effet par rapport au nombre total d'individus dans le groupe) en fonction de la dose ou du logarithme de la dose. La fréquence d'apparition de l'effet recherché se distribue d'une manière statistique selon les lois de probabilité généralement gaussienne, en fonction des doses données. Du fait même de la nature biologique de la population, il y a quelques individus très sensibles, quelques uns, très résistants et une majorité qui réagit à des doses moyennes. La représentation graphique de ces fréquences prend l'aspect d'une courbe en cloche (courbe de Gauss ou "Bell shaped curve"). Afin de pouvoir extrapoler aux doses nulle et infinie, il est indispensable de linéariser la courbe dose-réponse. La méthode des transformations en probits en fonction du logarithme de la dose a un double avantage : il corrige l'asymétrie de la répartition des fréquences et linéarise la courbe. La comparaison de plusieurs courbes pour diverses substances permet d'appréhender leur toxicité, plus la pente sera forte, plus une légère modification de la dose entraînera plus d'effet comme l'indique la pente A dans la figure 26. Une faible variation de Log (DOSE) donne un fort changement de fréquence de l'effet. La comparaison des courbes est utile pour comprendre la relative toxicité.

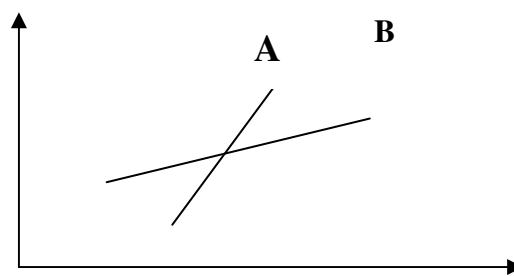


Figure 26- Courbe sigmoïde dose – réponse

Remarque : A et B ont la même DL_{50} mais 2 pentes différentes A est le plus dangereux car en augmentant légèrement la dose, on accroît de manière importante l'effet.

Ce programme nous a permis, par traitement informatique, d'évaluer l'efficacité des produits testés par le calcul de leur DL₅₀.

3.2.2- RESULTATS ET DISCUSSION

Les taux de mortalité du scolyte du café en fonction des doses d'huiles essentielles et de l'huile de graine de neem observés dans les tests biologiques sont présentés dans le Tableau 48.

3.2.2.1- Effet de dose sur la mortalité d'*Hypothenemus hampei*

Au regard des résultats (Tableau 48), les huiles essentielles d'*A. pubescens*, d'*O. basilicum*, d'*O. canum*, d'*O. gratissimum* (Lamiaceae) et de *C. schoenanthus* (Poaceae) ont exprimé leur activité insecticide sur les populations naturelles d'*Hypothenemus hampei* soumises aux différentes doses (Fig. 27). Les effets de ces huiles essentielles sont assez proches de ceux de l'endosulfan, l'insecticide commercial actuellement utilisé au Togo contre le ravageur devenu résistant aux pyréthrinoïdes de synthèse. L'activité insecticide de ces huiles essentielles sur le scolyte est également comparable à celle de l'huile de graine de neem connue pour ses propriétés biocides (Bruce *et al.*, 2004 ; Okumu *et al.*, 2007).

Tableau 48- Effet des différentes doses ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) d'huiles essentielles, d'huile de neem et de l'endosulfan sur la mortalité* d'*H. hampei* (en %)

Dose ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Matières actives							
	HE** <i>pubescens</i>	d'A. <i>basilicum</i>	HE <i>d'O. basilicum</i>	d'O. <i>canum</i>	HE <i>d'O. gratissimum</i>	d'O. <i>schoenanthus</i>	HE de <i>C. neem</i>	Huile de Endosulfan
1000	93,92a	91,96b	88,95c	88,74c	87,79c	88,67c	87,49c	
560	90,68b	68,02e	60,71f	75,06d	34,27i	60,05f	53,53g	
320	54,57g	66,69e	53,95g	46,97h	19,45j	47,04h	33,28i	
180	53,89g	32,82i	18,19j	19,22j	17,98j	34,75i	17,11j	
100	16,83j	9,13k	8,65k	9,39k	9,30k	9,16k	9,34k	

* Moyenne des répétitions (30 insectes adultes par répétition et 5 répétitions par traitement n = 150). Les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman et Keuls.

** HE : huile essentielle

L'analyse de la variance des données de mortalité en fonction du produit et de la dose révèle des différences de mortalité statistiquement significatives entre les traitements au seuil de 5 % (Tableau 48). Elle indique, en revanche, qu'il n'y a pas de différence de mortalité hautement significative entre les témoins absolus : l'eau distillée et l'agent tensio-actif. L'agent tensio-actif paraît donc n'avoir pas d'effet significatif sur le scolyte. Ce qui a permis de considérer la moyenne des deux témoins absolus comme la ligne de base des mortalités. Les tests de ségrégation des moyennes conduisent à deux principales observations : le taux de mortalité des scolytes croît avec la dose et varie d'un produit à l'autre à une même dose donnée (Han *et al.*, 2006).

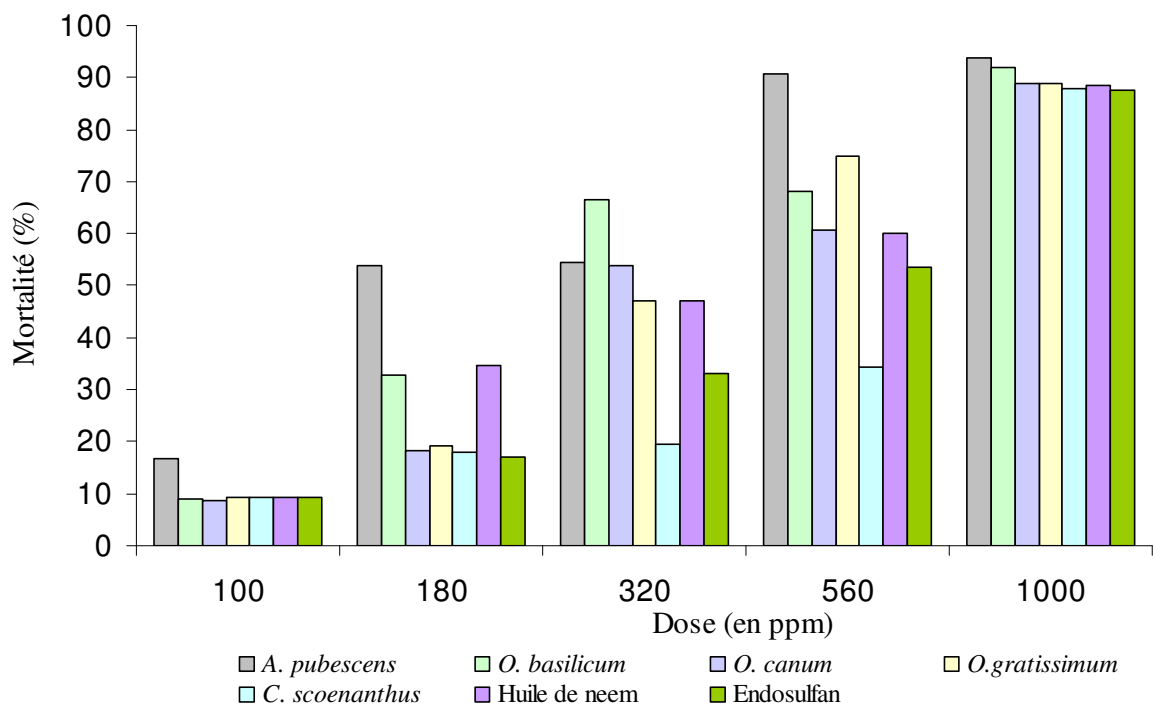


Figure 27- Mortalité en % d'*Hypothenemus hampei* en fonction des doses et produits testés

3.2.2.1.1- Dose – réponse (comparaison verticale)

L'endosulfan, l'huile de graine de neem et les huiles essentielles d'*O. gratissimum* et d'*O. canum* ont présenté, à diverses doses, des différences d'efficacité hautement significatives sur les populations de scolytes étudiées. Par contre, l'huile essentielle d'*A. pubescens* exprime la même efficacité aux doses de 180 et 320 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ comme l'huile essentielle d'*O. basilicum* aux doses de 320 et 560 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ et l'huile essentielle de *C. schoenanthus* aux doses de 180 et 320 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ au seuil de 5 % (Tableau 48).

3.2.2.1.2- *Produit et dose – réponse (comparaison linéaire)*

L'analyse de la variance ne révèle aucune différence de mortalité dans les populations de scolyte soumises à l'endosulfan, à l'huile de graine de neem et aux huiles essentielles de *C. schoenanthus*, d'*O. gratissimum* et d'*O. canum* à la plus forte dose (1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). A l'opposé, les huiles essentielles d'*A. pubescens* et d'*O. basilicum* présentent à cette même dose (1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) des différences d'efficacité significatives ($P = 0,05$). L'huile essentielle d'*A. pubescens* se révèle statistiquement plus efficace à la plus forte dose de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ que les autres produits (Tableau 48). Les tests de ségrégation des moyennes de mortalité indique aussi que l'huile essentielle d'*O. basilicum* à la dose de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ et l'huile essentielle d'*A. pubescens* à la dose de 560 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ présentent des effets significativement assez proches.

A la dose de 180 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, l'endosulfan et les huiles essentielles de *C. schoenanthus*, d'*O. gratissimum* et d'*O. canum* ne présentent aucune différence d'efficacité entre elles au seuil de 5 % (Tableau 48). La ségrégation des moyennes indique également que l'effet de l'huile essentielle d'*A. pubescens* à la dose de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ est assez proche de ceux de l'endosulfan et des huiles essentielles de *C. schoenanthus*, d'*O. gratissimum* et d'*O. canum* à la dose de 180 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A l'exception de l'huile essentielle de *C. schoenanthus*, toutes les autres huiles essentielles et l'huile de graine de neem se sont révélées plus toxiques pour le scolyte que l'insecticide commercial, l'endosulfan. Les tests statistiques de ségrégation des moyennes de mortalité des scolytes indiquent que l'huile essentielle d'*A. pubescens* paraît la plus intéressante suivie de l'huile essentielle d'*O. basilicum* ($P = 0,05$) (Fig. 27).

Par ailleurs, la littérature rapporte que les composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles étudiées possèdent des activités insecticides. En effet, Kim et Ahn (2001) ont démontré l'activité insecticide de l'estragole et de la fenhone sur trois coléoptères des stocks de denrées alimentaires : le charançon du riz (*Sitophilus oryzae* Linnaeus, 1763), la bruche chinoise (*Callosobruchus chinensis* Linnaeus, 1758) et le lasioderme du tabac (*Lasioderma serricornis* Fabricius, 1792). L'activité insecticide du linalol a été démontrée sur le pou de tête (*Pediculus humanus* Linnaeus, 1758) Capitis par Yang *et al.* (2005). Le terpinéol, le thymol et le linalol ont montré leurs effets létaux

sur le coléoptère la bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus* Say, 1831) (Regnault-Roger et Hamraoui, 1995). Hummelbrunner et Isman (2001) ont rapporté l'efficacité du thymol comme insecticide de contact sur lépidoptère *Spodoptera litura* (Fabricius, 1775). Le terpinen-4-ol a causé 100 % de mortalité de charançon du blé (*Sitophilus granarius* Linnaeus, 1758) à des doses de 0,5 ; 0,75 et de 1 $\mu\text{L/l}$ après 12 h d'exposition (Kordali *et al.*, 2006). La pipéritone est reconnue comme toxique pour les adultes de la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775) et inhibe également le développement larvaire de l'espèce (Ketoh *et al.* 2006).

3.2.2.2- Effet des produits et doses sur les parasitoïdes

Les effets des produits testés ont été mieux observés sur le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* que sur le parasitoïde *Phymastichus coffea*. Les taux de mortalité observés sont présentés dans les Tableaux 49 et 50.

3.2.2.2.1- Mortalité du parasitoïde *Phymastichus coffea*

Les données de mortalité observées dans les populations du parasitoïde *Phymastichus coffea* soumises aux différents tests sont dichotomiques, assez élevées et proches les unes des autres quel que soit le produit et la dose (Tableau 49).

Tableau 49- Effet des différentes doses d'huiles essentielles, d'huile de neem et de l'endosulfan sur la mortalité* de *P. coffea* (en %)

Dose $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Matières actives							
	HE d'A. <i>pubescens</i>	HE d'O. <i>basilicum</i>	HE d'O. <i>canum</i>	HE d'O. <i>gratissimum</i>	HE de C. <i>schoenanthus</i>	Huile de neem	Endosulfan	
1000	98,98	99,19	96,81	97,99	98,99	97,64	98,48	
560	96,78	96,77	96,22	97,54	98,99	96,86	99,99	
320	97,88	98,99	95,80	96,70	89,99	98,60	96,99	
180	97,43	89,99	97,45	98,08	97,80	96,40	98,99	
100	98,13	97,73	96,30	99,99	98,56	96,21	97,99	

** HE : huile essentielle

La mortalité des témoins traités à l'eau distillée est aussi élevée et assez proche de celle des populations soumises aux différents produits. Nous n'avons donc pas obtenu assez de données crédibles sur la mortalité de *P. coffea* pouvant nous permettre de réaliser des analyses statistiques et aboutir à des conclusions fiables.

La non fiabilité des données de mortalité sur *P. coffea* serait liée à la courte longévité du parasitoïde. En effet, le cycle de développement de *P. coffea* dure environ 30 jours. Cependant, la longévité des adultes n'est que de 2 jours pour les mâles et 3 jours pour les femelles (Feldhege, 1992 ; López-Vaamonde et Moore, 1998). Les sujets utilisés dans les tests expérimentaux proviennent de leur habitat naturel et non d'un élevage contrôlé. De ce fait, il nous a été difficile de maîtriser les paramètres biologiques des populations de *Phymasthichus coffea* testées.

3.2.2.2.2- Mortalité du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis*

La sensibilité du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* aux produits testés croît avec la dose (Tableau 50 ; Fig. 28).

Tableau 50- Effet dose de cinq huiles essentielles, de l'huile de graine de neem et de l'endosulfan sur la mortalité* de *Cephalonomia stephanoderis* (en %)

Dose $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Matières actives						
	HE** d'A. <i>pubescens</i>	HE d'O. <i>basilicum</i>	HE d'O. <i>canum</i>	HE d'O. <i>gratissimum</i>	HE de C. <i>schoenanthus</i>	Huile de neem	Endosulfan
1000	35,44i	41,06j	32,59h	36,12i	24,63g	20,15f	33,09h
560	33,02h	40,13j	23,93g	24,05g	19,56f	13,30d	32,89h
320	20,11f	15,88e	16,03e	3,38b	15,91e	10,02c	24,51g
180	10,37c	13,82d	13,57d	3,07b	10,24c	1,11a	19,68f
100	9,98c	10,18c	13,16d	2,97b	3,79b	0,91a	13,24d

* Moyenne des répétitions (30 insectes adultes par répétition et 5 répétitions par traitement n = 150). Les valeurs affectées de mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman et Keuls.

** HE : huile essentielle

La ségrégation des moyennes montre que l'efficacité de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* dépend de la dose au seuil de 5 %. A l'opposé, l'huile essentielle d'*O. gratissimum* n'a pas exprimé de différence d'efficacité aux doses de 100, 180 et 320 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ tout comme l'huile de graine de neem et les huiles essentielles d'*O. canum* et d'*A. pubescens* aux doses de 100 et 180 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. L'huile essentielle d'*O. basilicum* et l'endosulfan n'ont pas présenté de différence d'efficacité aux doses de 560 et 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ au seuil de 5 %.

L'huile de graine de neem s'est révélée la plus intéressante parce qu'elle est la moins toxique pour le parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* (Fig. 28).

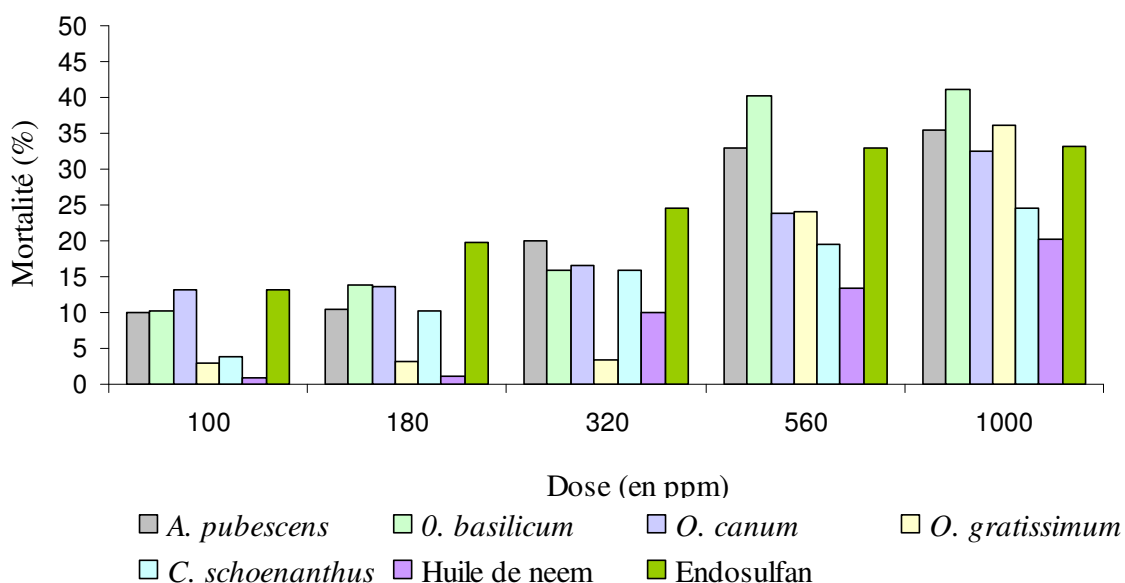


Figure 28- Mortalité de *Cephalonomia stephanoderis* en fonction des produits et doses

3.2.2.3 - La dose létale causant 50 % de mortalité des populations d'*Hypothenemus hampei* et du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* soumises aux tests

3.2.2.3.1 - La dose létale causant 50 % de mortalité dans la population de scolyte

(*Hypothenemus hampei*)

Les valeurs de la DL_{50} (Tableau 51) montrent que l'huile essentielle d'*A. pubescens* présente la plus faible DL_{50} vis-à-vis du scolyte du café soit $220 \mu\text{g.mL}^{-1}$ contre $280 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle d'*O. basilicum*, $320 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle d'*O. canum*, $350 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle d'*O. gratissimum*, $570 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle de *C. schoenanthus* et $450 \mu\text{g.mL}^{-1}$ pour l'insecticide chimique, l'endosulfan. L'huile essentielle d'*A. pubescens* paraît la plus efficace contre le scolyte avec la plus faible valeur de DL_{50} de $220 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Cette efficacité de l'huile essentielle d'*A. pubescens* s'est déjà dégagée à travers les résultats d'analyse statistique des données de mortalité du scolyte en fonction des produits et des doses (Tableau 48).

La DL_{50} de l'endosulfan d'une valeur de 450 ppm observée ici est assez proche de la réponse de différentes souches de scolyte en Nouvelle Calédonie où la dose de 400 ppm était discriminante dans la séparation des phénotypes résistants des phénotypes

sensibles (Brun *et al.*, 1990). Les mêmes auteurs ont noté une augmentation de la mortalité de 13,3 à 35,6 % au sein des populations résistantes pour un accroissement de la dose de 20 fois soit 400 ppm à 8 000 ppm.

Une étude d'évaluation de la sensibilité du scolyte (*Hypothenemus hampei* F.) à l'endosulfan sur des bases enzymatiques et génétiques devrait contribuer à une meilleure connaissance de la proportion d'individus résistants et à la distribution de cette population au Togo.

3.2.2.3.2 - La dose létale tuant 50 % de la population de *Cephalonomia stephanoderis*

Les valeurs de DL₅₀ (Tableau 51) des huiles essentielles vis-à-vis du parasitoïde *C. stephanoderis* sont de 1100 µg.mL⁻¹ pour *O. basilicum*, 1510 µg.mL⁻¹ pour *O. gratissimum*, 1690 µg.mL⁻¹ pour *A. pubescens*, 3620 µg.mL⁻¹ pour *O. canum* et 4700 µg.mL⁻¹ pour *C. schoenanthus* contre 2400 µg.mL⁻¹ pour l'endosulfan et 4850 µg.mL⁻¹ pour l'huile de graine de neem.

On observe que les taux de mortalité du ravageur *hypotheremus hampei* et de son parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* et les valeurs de la DL₅₀ des produits testés sont inversement proportionnels. Une logique se dégage entre les résultats d'analyse statistique des données de mortalité et les valeurs de la DL₅₀.

3.2.2.3.3- Effet produit-dose comparé sur *Hypothenemus hampei* et son parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis*

L'examen comparatif des taux de mortalités observés dans les populations du ravageur et de son parasitoïde *C. stephanoderis* soumises aux différentes doses de produits testés révèle visiblement que la mortalité des scolytes est plus élevée que celle du parasitoïde. L'huile de graine de neem se révèle la moins toxique pour le parasitoïde *C. stephanoderis* que l'huile essentielle d'*O. gratissimum* qui l'est moins que les huiles essentielles, de *C. schoenanthus*, d'*O. canum*, d'*A. pubescens*, et d'*O. basilicum* (Tableau 51).

Tableau 51- DL₅₀ d'huiles essentielles, de l'huile de graine de neem et de l'endosulfan (µg.mL⁻¹)

Matériel biologique (ravageur scolyte du café et son parasitoïde)	Matières actives						
	HE <i>A. p.</i>	HE <i>O. b.</i>	HE <i>O. c.</i>	HE <i>O. g.</i>	HE <i>C. s.</i>	H neem	Endo
<i>Hypothenemus hampei</i> (Coléoptère)							
(+)	220	280	320	350	570	340	450
<i>Cephalonomia stephanoderis</i> (Hyménoptère)							
(-)	1690	1100	3620	1510	4700	4850	2400

Les signes positifs (+) et négatifs (-) affectés respectivement aux espèces à l'intérieur du tableau définissent la sensibilité du scolyte et de son parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis* aux produits testés. Le signe positif signifie plus sensible et le signe négatif moins sensible aux produits. Par rapport aux DL₅₀ observées, le signe négatif est affecté au parasitoïde étant donné qu'il est moins sensible aux produits et le signe positif au scolyte qui en est plus sensible.

En général, les huiles essentielles étudiées sont moins toxiques pour le parasitoïde *C. stephanoderis* que pour le scolyte. La sélectivité des huiles essentielles visiblement observée dans cette étude concorde avec celle de Chiasson et Beloin (2007) qui ont déjà mis en évidence l'action sélective d'huile essentielle d'origine végétale vis-à-vis des parasitoïdes et prédateurs. Le FACIN, un produit à base d'huile essentielle d'herbe du genre Chénopode, originaire de l'Amérique Centrale, est peu toxique pour le parasitoïde adulte des pucerons, *Aphidius colemanii* (Viereck) et pour les prédateurs des acariens (les tétraniques), *Amblyseius fallacis* (Garman) et *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) (Chiasson et Beloin, 2007).

La sensibilité du scolyte (*H. hampei*) à l'huile de graine de neem est plus élevée que celle du parasitoïde *C. stephanoderis*. Ce qui dénote la sélectivité des extraits végétaux naturels qui tuent heureusement plus le ravageur que son ennemi naturel. L'huile de graine de neem paraît la plus sélective. Ces observations recourent celles contenues dans la littérature (Simmonds *et al.*, 2002 ; Lyon *et al.*, 2003) indiquant que le neem semble ne pas être toxique pour certains parasitoïdes appartenant à l'ordre des hyménoptères. Les paramètres habituellement étudiés dans les tests d'évaluation de l'effet du neem sur les parasitoïdes sont : le niveau du parasitisme, la survie des adultes (mortalité), le développement, passage du stade larvaire au stade adulte, la durée de vie et l'appétence. Simmonds *et al.* (2002), ont testé deux formulations de neem (un extrait brut à l'éthanol dosant 1 % d'azadirachtine et Azatin EC, 3 % d'azadirachtine) sur le parasitoïde *Encarsia formosa* et son hôte, la mouche blanche ou aleurode des serres

(*Trialeurodes vaporariorum*, Hémiptère) (un parasite de la tomate et du haricot vert). Ils ont conclu n'avoir pas observé d'effet toxique des deux formulations du neem sur les adultes d'*E. formosa*. Lyon *et al.* (2003) ont démontré que les produits qui contiennent de l'azadirachtine à des concentrations fonctionnelles ont un effet minimal sur *Trichogramma minutum* lorsqu'ils sont utilisés pour le contrôle de *Ephestia kuehniella* (parasite de la farine de grains de céréales).

D'une manière générale, tous les extraits végétaux testés affectent plus le ravageur *hypothemus hampei* que son parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis*. De ce fait, ils peuvent être compatibles au programme de gestion intégrée des populations du scolyte, application d'insecticides à base de l'huile de graine de neem ou à base d'huiles essentielles étudiées en association avec la lutte biologique dans les plantations caféières.

CONCLUSION

Les cinq espèces végétales aromatiques locales étudiées dans ce travail ont donné des huiles essentielles riches en composés à activité insecticide avérée : les chimiotypes à linalol/fenchone, à estragole, à terpinéol/linalol, à thymol/ortho-cymène/ γ -terpinène et à pipéritone/2-carène. Le type à linalol/fenchone est mis en évidence ici pour la toute première fois du moins à notre connaissance.

Les résultats des tests biologiques montrent que les huiles essentielles des plantes aromatiques de la flore locale, répandues par ailleurs en Afrique de l'Ouest, présentent une activité insecticide relative vis-à-vis du scolyte et de son parasitoïde *C. stephanoderis*. Fort logiquement, le pourcentage de mortalité croît avec la dose, varie suivant le matériel végétal et dépend de la sensibilité de l'espèce d'insecte. Toutes les huiles essentielles et l'huile de graine de neem sont visiblement plus toxiques pour le ravageur *H. hampei* que pour le parasitoïde *C. stephanoderis*. La sélectivité exprimée par les essences est un paramètre très intéressant. A l'exception de l'huile essentielle de *C. schoenanthus*, toutes les autres huiles essentielles et l'huile de graine de neem sont plus toxiques pour le ravageur que l'insecticide commercial, l'endosulfan. Ces résultats permettent de penser que ces extraits végétaux que l'on est en mesure de produire localement pourraient remplacer dans les petites exploitations rurales les produits chimiques fort dangereux et coûteux. Contrairement aux insecticides chimiques à une

seule cible moléculaire, les insecticides naturels sont constitués de plusieurs composés à mécanismes d'action multiples, ce qui peut retarder l'apparition de populations résistantes quant à leur utilisation en agriculture.

CONCLUSION GENERALE

PERSPECTIVES

L'utilisation intensive des produits phytosanitaires et tout particulièrement des pesticides dans la protection des cultures n'a pas épargné le Togo. Depuis l'époque coloniale, des pesticides organochlorés connus comme le DDT, l'aldrine, la dieldrine, l'endrine, l'heptachlore, le lindane ou l'endosulfan ont été utilisés pour protéger les plantations de caféier et de cacaoyer et la culture cotonnière contre leurs ravageurs respectifs. La forte rémanence de ces matières actives qui était associée à leur efficacité est aujourd'hui à l'origine de leur interdiction totale en agriculture en raison des risques encourus en santé humaine et par l'environnement. Afin d'évaluer le niveau des effets néfastes de ces substances chimiques, l'établissement d'un bilan environnemental est apparu comme une phase préalable. Ainsi dans le cadre de cette thèse, nous avons contribué à l'évaluation de la contamination des compartiments environnementaux (eau, sol, sédiment) et des cultures (alimentaires ou industrielles) par les pesticides organochlorés (DDT, aldrine, dieldrine, endrine, heptachlore, lindane et endosulfan), plus particulièrement en zone de culture du café, du cacao et du coton au Togo.

Les résultats du bilan environnemental révèlent la présence de DDT, DDD, DDE, aldrine, dieldrine, endrine, heptachlore, heptachlore époxyde, lindane, α -endosulfan et β -endosulfan dans les matrices étudiées : sol, sédiment, eau de rivières et de puits, grain de maïs, graines de niébé et de café et fève de cacao. Si la contamination des sols au Togo est comparable à celle constatée dans d'autres pays d'Afrique, voire plus faible, elle marque une différence entre molécules issues de traitements anciens (DDT) et molécules d'usage récent (endosulfan) posant le problème de la pertinence du contrôle des prédateurs de grandes cultures comme le café, le cacao ou le coton par les organochlorés. L'approche par le taux de métabolisation de ces dérivés montre des différences notoires entre produits et parcelles cultivées. Les sites étatiques (stations agronomiques) s'avèrent plus biodynamiques que les sites de petits cultivateurs sans possibilité de privilégier un meilleur respect de la législation ou une meilleure conduite des pratiques culturales tant le gisement en organochlorés dans ces sols est important. Cette contamination des sols peut être suivie dans les sédiments et les eaux. L'approche sédimentaire montre que cette contamination est bien en relation avec les pratiques agricoles du bassin versant étudié. Dans le lit de la rivière, les pesticides sont liés à la phase organique fraîchement emportée, alors que le sédiment de la retenue « au fil de l'eau » se caractérise par une adsorption sur les particules fines minérales plus lourdes. Les teneurs en pesticides organochlorés étant plus élevées dans les sédiments que dans

les eaux, ceux-ci semblent constituer ici un réservoir potentiel de pollution pour l'environnement. Comme les eaux de rivières et de puits servent d'eau de boisson pour les populations, leurs teneurs en résidus de pesticides organochlorés étudiés ont été tout particulièrement suivies et les résultats indiquent globalement qu'elles sont supérieures aux normes de potabilité de l'eau recommandées par l'OMS et l'Union Européenne. Sur les échantillons analysés, l'eau se caractérise par des rapports métabolique ou isométrique spécifiques aux bassins versants suivis sans être systématiquement en lien direct avec les matrices précédentes (sol ou sédiment) tant pour les eaux de surfaces que les eaux de puits.

En comparaison avec les valeurs indiquées nocives ou trouvées en d'autres lieux dans la sous-région Ouest Africaine, on peut dire que celles mesurées dans les fèves de cacao et les grains de maïs sont faibles et ne représentent pas un danger immédiat pour l'Homme. A l'inverse, les teneurs du café en dieldrine, endrine et lindane sont supérieures aux LMRE selon la réglementation européenne en vigueur. Les concentrations de dieldrine, endrine, heptachlore époxyde, α -endosulfan et β -endosulfan dans les grains de niébé excèdent les valeurs de LMRE appliquées en France pour d'autres haricots. Les rapports métaboliques et isométriques montrent que la contamination des denrées de première nécessité (maïs et niébé) est en étroite relation avec celle de l'eau ou celle du sol en fonction des types d'exploitation (station agronomique ou milieu paysan) démontrant l'importance des pratiques agricoles. Il est à noter que c'est cette composante de l'alimentation qui contribue le plus à des valeurs fortes alors que l'eau serait la première incriminée naturellement.

Nous sommes donc en mesure de dire que les risques d'exposition environnementale des populations aux pesticides polluants organiques persistants existent bel et bien au Togo. Le premier état des lieux réalisé dans cette étude doit être poursuivi sur l'ensemble du territoire afin d'identifier les zones à haut risque encore non identifiées. Après ce bilan environnemental qui souligne l'importance des pratiques agricoles actuelles, la recherche d'alternatives à l'utilisation de l'endosulfan dans la culture du café a été menée à travers l'évaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques locales et de l'huile de la graine de Neem sur le Scolyte *H. hampei*. Nous avons ainsi pu montrer pour la première fois que les huiles essentielles d'*A. pubescens*, d'*O. basilicum*, d'*O. canum*, d'*O. gratissimum* (Lamiaceae) et *C.*

schoenanthus (Poaceae) et l'huile de graine de Neem ont une toxicité pour le Scolyte des fruits du caféier.

A la plus forte dose testée ($1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$), les pesticides naturels ont entraîné des taux de mortalité atteignant ou dépassant 90 %. Les pesticides naturels testés ont montré des doses létales pour le scolyte DL_{50} comprises entre 220 à $570 \mu\text{g.mL}^{-1}$ comparables à la DL_{50} de l'insecticide commercial, l'endosulfan qui était de 450 ppm. L'huile essentielle d'*A. pubescens* s'est révélée la plus intéressante avec une DL_{50} de $220 \mu\text{g.mL}^{-1}$ et une plage d'activité plus longue. Si les effets létaux de ces huiles essentielles sur le parasitoïde *Phymastichus coffea* n'ont pas pu être bien observés en raison de la courte longévité des adultes, toutes les huiles essentielles et l'huile de graine de neem testées ont présenté une sélectivité vis-à-vis du parasitoïde *Cephalonomia stephanoderis*. Elles sont visiblement plus toxiques pour le scolyte *H. hampei* que pour le parasitoïde *C. stephanoderis*. Les tests biologiques ayant porté sur des sujets issus de leur habitat naturel, les résultats de ces tests permettent d'envisager un passage au terrain même s'il est difficile de maîtriser les paramètres biologiques des populations sauvages étudiées. Ces tous premiers résultats sur l'efficacité des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques à huiles essentielles de la flore locale et celle de l'huile de graine de neem à combattre effectivement le scolyte du café sont forts prometteurs pour que se poursuive la recherche entamée dans ce domaine de l'utilisation d'extraits végétaux locaux.

Ainsi, les perspectives ouvertes par ce travail portent sur plusieurs domaines:

* Diminution de la pression des produits phytosanitaires sur l'Environnement:

- meilleure connaissance de leur usage par le contrôle des matières actives qui arrivent au Togo pour s'assurer de la qualité et de la conformité des formulations insecticides en particulier, sachant qu'un marché parallèle transfrontalier existe,
- mise en place de pratiques culturales plus efficaces pour la dégradation de dérivés persistants:
 - o détruire les vieilles souches de caféier contenant des insecticides organochlorés,

- favoriser les processus de dégradation par des études de la dynamique de la microflore des sols tropicaux et de sa capacité à dégrader les pesticides persistants.

* Contrôle des denrées premières café, cacao et de leurs produits dérivés (matières grasses de cacao (beurre de cacao),

* Etudes de stratégies d'information et de formation des populations pour augmenter le niveau de prudence et encourager les interdictions des pesticides polluants organiques persistants (POPs) nécessaires pour répondre à la question d'un public non encore averti à notre connaissance des risques que les pesticides POPs représentent pour la santé humaine,

* Développement de la filière des huiles essentielles dans le cadre de la protection des cultures et des personnes.

Le potentiel scientifique des différents chimiotypes des huiles essentielles est loin d'être épuisé. La sélectivité des huiles essentielles vis-à-vis du ravageur *H. hampei* et de son parasitoïde *C. stephanoderis* est particulièrement surprenante.

- des études de mécanisme d'action des huiles essentielles et de leurs constituants majoritaires sur les arthropodes permettront de comprendre la question de sélectivité vis-à-vis du ravageur qui est un coléoptère et de son parasitoïde, un hyménoptère,
- des études spécifiques de corrélation entre l'efficacité insecticide et le chimiotype des huiles essentielles aideront à répondre à la question de choix de type d'huile essentielle.
- la conduite des essais en plein champ sur station et en milieu paysan permettra de confirmer ou d'infirmer nos résultats qui ne sont qu'issus des tests en laboratoire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abbott WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide
Journal. Ecological Entomology. 18:265-267.
2. Adjanohoun E, Ahyi MRA, Ake-Assi L, Akpagana K, Chibon P, El-Hadj A, Eymen
I, Goutote E, Ginko S, Hodouto KK, Hougnon P, Keita A, Keoula Y, Klouga-Ocloo
WP, Lo I, Siamevi K, Garba M, Gassita JN, Gbeassor M. 1986. Médecine
traditionnelle et Pharmacopée: Contribution aux études ethnobotaniques floristiques
du Togo ACCT, Paris, 671p.
3. Adeyeye A, Osibanjo O. 1999. Residues of organochlorine pesticides in fruits,
vegetables and tubers from Nigerian markets. The Science of the Total Environment
231: 227-233.
4. Adams RP. 2001. Identification of essential oil components by gaz
chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation,
Carol Stream, IL.
5. AFES (Association Française pour l'Étude des Sols). 1995. Référentiel Pédologique
INRA Éditions, Paris. 332 p.
6. AFNOR, 1999. Qualité des sols, volume 1. AFNOR, Paris, 566p
7. AFNOR, 1999. Qualité des sols, volume 2. AFNOR, Paris, 408p
8. AFNOR - Norme NF EN 25667-1 ISO 5667-1 (décembre 1993) «Qualité de l'eau –
Echantillonnage – Partie 1 : Guide général pour l'établissement des programmes
d'échantillonnage».
9. AFNOR - Norme NF EN 25667-2 ISO 5667-2 (décembre 1993) «Qualité de l'eau –
Echantillonnage – Partie 2 : Guide général sur les techniques d'échantillonnage».
10. AFNOR - Norme NF X 31-100 (décembre 1992) «Qualité des sols, échantillonnage
– Méthode de prélèvement d'échantillons de sol»
11. AFNOR - Norme NF EN ISO 5667-3 (février 1996) «Qualité de l'eau –
Echantillonnage – Partie 3 : Guide général pour la conservation et la manipulation
des échantillons».
12. AFNOR – Norme NF EN ISO 6468 (février 1997) «Qualité de l'eau, dosage de
certains insecticides organochlorés, des polychlorobiphényles et des
chlorobenzènes».

13. AFNOR – Norme NF ISO 10381-1 (X 31-008-1) (mars 2003) : «Qualité du sol, échantillonnage partie 1 : lignes directrices pour l'établissement des programmes d'échantillonnage».
14. AFNOR – Norme NF ISO 10381-2 (X 31-008-2) (mars 2003) «Qualité du sol, échantillonnage partie 2 : lignes directrices pour les techniques d'échantillonnage».
15. AFNOR – Norme NF ISO 10382 (mars 2003) «Qualité du sol, dosage des pesticides organochlorés et des biphényles polychlorés, méthode par CPG avec détection par capture d'électrons».
16. AFNOR – Norme NF ISO 14507 (septembre 2003) «Qualité du sol, pré-traitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques».
17. AFNOR – Norme NF ISO 10381-4 (X 43-008-4) (octobre 2003) «Qualité du sol, échantillonnage partie 4 : lignes directrices pour les procédures d'investigation des sites naturels, quasi naturels et cultivés».
18. AFNOR – XP X 33-012 (2000) Caractérisation des boues : Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB).
19. Agbodzavu KM. 2005. Evaluation de l'efficacité de quatre extraits végétaux (*Azadirachta indica*; *Jatropha curcas*; *Hyptis suaveolens*; *Tephrosia vogeli*) dans le contrôle de *Mussidia nigrivenella* L (Lepidoptera: Pyralidae) au champ et au laboratoire. Mémoire d'Ingénieur Agronome, ESA - Université de Lomé, 73p.
20. Ahmed MT, Ismail SMM, Mabrouk SS. 1998. Residues of some chlorinated hydrocarbon pesticides in rain water, soil and ground water, and their influence on some soil micro-organisms. *Environment International* 24: 665-670.
21. Ahmed KS, Yasui Y, Ichikawa T. 2001. Effects of neem oil on mating and oviposition behaviour of Azuki bean weevil (*Challosobruchus chinensis* L). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4(11): 1371-1373.
22. Akol AM, Sithanatham S, Njagi PGN, Varela A, Mueke JM. 2002. Relative safety of sprays of two neem insecticides to *Diadegma mollipla* (Holgren), a parasitoid of the diamondback moth: effects on adult longevity and foraging behaviour. *Crop protection* 21: 853-859.
23. Akou-Edi D. 1983. Effects of neem seed powder and oil on *Tribolium confusum* and *Sitophilus zeamais*. Proc. 2nd Int. Neem Conf. (Rauischholzhausen), pp. 445-452.

24. Amoah P, Drechsel P, Abaidoo RC, W. J. Ntow WJ. 2006. Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's Urban Markets. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50:1-6.
25. Assogba-KomLan F, Anihouvi P, Achigan E, Sikirou R, Boko A, Adje C, Ahle V, Vodouhe R, Assa A. 2007. Pratiques culturelles et teneur en éléments anti nutritionnels (nitrates et pesticides) du *Solanum macrocarpum* au sud du Bénin. *African Journal of Food Agriculture Nutrition and development* 7, ISSN 1684-5374.
26. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2000. Toxicological profile for endosulfan. Atlanta, USA.
27. Awad OM, Shimaila A. 2003. Operational use of Neem oil as an alternative anopheline larvicide. Part A: laboratory and field efficacy. *Eastern Mediterranean Health Journal* 9 (4):45-48.
28. Awofolu RO, Fatoki OS. 2003. Persistent organochlorine pesticide residues in freshwater systems and sediments from the Eastern Cape, South Africa. *Water SA* 29:323-330. Disponible sur le site web <http://www.wrc.org.za>
29. Babatunde 1985 in PNUE. 2002. Evaluation régionale des substances toxiques persistantes. Rapport de la Région Subsaharienne p23-24.
30. Baldi I, Lebailly P, Mohammed-Brahim B, Letenneur L, Dartigues JF, Brochard P. 2003. Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly. *American Journal of Epidemiology*. 157(5):409-414.
31. Banque Mondiale. 2003. World development indicators datadase. August, 2003. The World Bank. Washington DC. in Djagni 2007. Capacité d'ajustement des exploitations agricoles aux processus de libéralisation de la filière cotonnière au Togo. Thèse de doctorat 374p.
32. Bartra PC, Urrelo GR, Rodriguez SR. 1982. Biología de la broca del café *Hypothenemus hampei* ferr. (Coleoptera, Ipidae), en Tingo Maria-Peru. *Tropicultura* 2(1): 17-31.
33. Bergamin J. 1943. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Ipidae). *Arquivos do Instituto Biológico* 14:31-72.
34. Betrem JG. 1961. *Cephalonomia stephanoderis* nov. spec. (Hyménoptère: Bethyilidae). State College for Tropical Agriculture, Deventer, Netherlands.

- Beyer WN, Krynskiy AJ. 1989. Long-term persistence of dieldrin, DDT and heptachlor epoxide in earthworms. *Ambio* 5:271-274.
- Beyer A, Matthies M. 2001. Long-range transport potential of semivolatile organic chemicals in coupled air-water systems. *Environmental Science and Pollution Research - International* 8(3):173-179.
35. Borbon-Martinez O. 1989. Bio écologie d'un ravageur des baies de caféier, *Hypothenemus hampei* FERR. (Coleoptera: Scolytidae) et de ses parasitoïdes au Togo. Thèse de Doctorat de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, France 185p.
36. Boul HL, Garnham ML, Hucker D, Baird D, Aislabie J. 1994. Influence of agricultural practices on the levels of DDT and its residues in soil. *Environmental Science & Technology* 28: 1397-402.
37. Boul HL. 1995. DDT residues in the environment – a review with a New Zealand perspective. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 38:257-77.
38. Bouwman H, Cooppan RM, Reinecke AJ, Becker PJ. 1990. Levels of DDT and metabolites in breast milk from Kwa-Zulu mothers after DDT application for malaria control. *Bulletin of the World Health Organization* 68(6):761-768.
39. Briggs GP. 1981. Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol–water partition coefficients, water solubilities, bioconcentration factors and parathion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29: 1050.
40. Brignon J-M, Gouzy A. 2007a. Dieldrine. I N E R I S - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 13p. <http://rsde.ineris.fr/> site consulté en octobre 2007.
41. Brignon J-M, Gouzy A. 2007b. Endrine. I N E R I S - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 14p. <http://rsde.ineris.fr/> site consulté en octobre 2007.
42. Bruce YA, Gounou S, Chabi-Olaye A, Smith H, Schulthess F. 2004. The effect neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil on oviposition development and reproductive potentials of *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera Noctuidae) and *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera Pyralidae). *Agricultural and Forest Entomology* 6:1-10.
43. Brun LO, Marcillaud C, Gaudichon V, Suckling DM. 1989. Endosulfan resistance on *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. *Journal of Economic Entomology* 82(5):1311-1316.

44. Brun L-O, Marcillaud C, Gaudichon V. 1990. Etudes sur le ravageur majeur du café en Nouvelle Calédonie : *Hypothenemus hampei* (Coleoptera : Scolytidae) (deuxième année). Nouméa : ORSTOM 58 p. (Sciences de la Vie. Zoologie Appliquée. Conventions ; 4). Publications des scientifiques de l'IRD Notice fdi:30921 http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins
45. CEAEQ (Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec) 2002. Détermination des pesticides de type organochloré extraction avec de l'hexane et du dichlorométhane : dosage par chromatographie en phase gazeuse. MA. 403 – P. Ocl 4.0, Ministère de l'Environnement du Québec 22 p.
46. Charlery B. 2002. Les caféiculteurs, paysans des tropiques. <http://www.cafe-geo.net/article.php3?id-article=162>. 24 février 2005.
47. Chaumont JP, Mandin D, Sanda K, Koba K, de Souza CA. 2001. Activités antimicrobiennes de cinq huiles essentielles de Lamiacées togolaises vis à vis de germes représentatifs de la microflore cutanée. Acta. Bot. Gallica. 148(2):93-101.
48. Chiasson H, Beloin N. 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre ». Bulletin de la Société d'entomologie du Québec, 14(1) :2-6. (http://www.seq.qc.ca/antennae/archives/Antennae_vol14_no1.pdf site consulté en décembre 2007)
49. Chikuni O, Skare JU, Nyazema N, Polder A. 1991. Residues of organochlorine pesticides in human milk from mothers living in the greater Harare area of Zimbabwe. Central African Journal of Medicine 37(5):136-141.
50. Chikuni O, Polder A, Skaare JU, Nhachi CFB. 1997. An evaluation of DDT and DDT residues in human breast milk in the Kariba Valley of Zimbabwe. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 58:776-778.
51. Chun OK, Kang HG. 2003. Estimation of risks of pesticide exposure, by food intake, to Koreans. Food and Chemical Toxicology 41:1063–1076.
52. Cissé I, Tandia AA, Fall ST, Diop E-HS. 2003. Usage incontrôlé des pesticides en agriculture périurbaine: cas zone des Niayes au Sénégal. Cahiers d'Etudes et de Recherches Francophones Agricultures 12 :181-186.
53. Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. Environmental Health Perspectives 101(5):378-384.

54. Corbett GH. 1933. Some preliminary observations on coffee berry borer *Stephanoderes (Cryphalus) hampei* Ferr., Malayan's Agriculture Journal 2 (1): 8-22.
55. Coste R. 1989. Les caféiers et cafés. Ed. Maisonneuve et la Rose, Paris, 373p.
56. CPCS (Commission Pedologique de Cartographie des Sols). 1967. Classification Française des sols. Rapport Ensa Grignon 87 p.
57. Craveiro AA, Matos FJ, Alencar JW. 1976. A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. J. Chem. Ed. 53:652.
58. Crowe AS, Smith JE, Spencer S. 2002. DDT and Dieldrin assessment and monitoring protocols for Point Pelee National Park. 71p. Environnement Canada, Institut national de recherche sur les eaux, Burlington/Saskatoon, Collection de l'INRE n° 02-007.
59. CTA/PAN (Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale / Pesticide Action Network). 1993. Pesticides et agriculture tropicale, dangers et alternatives p42.
60. Devault D., Merlina G., Lim P., Probst J.-L., Pinelli E., 2007. Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: application to the Mid-Garonne river. Journal of Environmental Monitoring, 9, 1009-1017.
61. da Silva FAC, Martinez SS. 2004. Effect of Neem Seed Oil Aqueous Solutions on Survival and Development of the Predator *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). Neotropical Entomology 33(6):751-757.
62. Damon A. 2000. A review of the biology and the control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferr) (Coleoptera: Scolytidae) Bulletin of Entomological Research 90: 453-465.
63. de Sousa EMBD, Câmara APC, Costa WA, Costa ACJ, Oliveira HNM, Galvão EL, Marques MMO. 2005. Evaluation of the extraction process of the essential oil from *Cymbopogon schoenanthus* with pressurized carbon dioxide. Brazilian Archives of Biology and Technology 48:231-236.
64. Decazy B. 1989. Le scolyte des fruits du caféier *Hypothenemus hampei* Ferr. Considération sur la lutte intégrée contre ce ravageur In 13^e colloque de l'Association Scientifique Internationale du café, Paipa (Colombie) 21-25 août 1989, pp 655-665.
65. Decazy B, Castro MC. 1990. El manejo integrado de la broca del fruto del cafeto (*Hypothenemus hampei* Ferr.). Manuel tecnico. Programa de generacion y

- transferecia de tecnologia, PROMECAFE. Publicacion Miscelanea del IICA A1/GT-90-01, ISSN 0534-5391. 21p.
66. Dem SB, Cobb JM, Mullins DE. 2007. Pesticide residues in soil and water from four cotton growing areas of Mali, west Africa. *Journal of Agricultural, Food and Environmental* Vol 1 Issue 1 ISSN 1934-7235 <http://www.scientificjournals.org/articles/1062.htm>
67. Department of Soil Protection. 1994. The Netherlands soil contamination guidelines, Netherlands intervention values for soil remediation. Reference N°DBO/07494013, Amsterdam, the Netherlands.
68. Devault D., Merlina G., Lim P., Probst J.-L., Pinelli E. 2007. Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: application to the Mid-Garonne river. *Journal of Environmental Monitoring* 9:1009-1017.
69. Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Gingras S, Belles-Isles M, Roy R. 2000. Susceptibility to infections and immune status in Inuits infants exposed to organochlorines. *Environmental Health Perspectives* 108:205-211.
70. Dionex 2003. Rapid determination of organochlorine pesticides in animal feed using Accelerated Solvent Extraction (ASE®). Dionex Corporation Application Note 349, 3p.
71. Dionex 2004a. Accelerated Solvent Extraction (ASE®) of pesticides residues in food products. Dionex Corporation Application Note 332, 4p.
72. Dionex 2004b. Extraction of chlorinated pesticides using Accelerated Solvent Extraction (ASE®). Dionex Corporation Application Note 320, 3p.
73. Djaneye-Boundjou G, Bawa LM, Boukari Y. 2000. Organochlorinated pesticide residues in vegetable food. *Microbiologie et Hygiène Alimentaire* 12:42-46.
74. DPV/GTZ (Direction de la Protection des Végétaux du Togo / Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit). 1994. Conservation du niébé (haricot) avec l'huile de neem, Cacaveli Lomé, 26 pages.
75. Dufour B, Pucasso C, Gonzalez MF. 2001. Contribution au développement d'un piège pour capturer le scolyte du café. *Hypothenemus hampei* Ferr en El Salvador. 19^e colloque de l'Association Scientifique Internationale sur le café, Trieste, Italie.
76. Edoh K. 1991. Etude des conditions de réutilisation du Florisil pour la purification des extraits lors du dosage des pesticides dans l'eau et les denrées alimentaires. Mémoire du Diplôme Universitaire de Technologie DUT – Université de Lomé 56p.

77. Ehrlich PR., Raven PH. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18:586-608.
78. Ejobi F, Kanja LW, Kyule MN, Muller P, Kruger J, Latigo AA. 1996a. Organochlorine pesticide residues in mothers' milk in Uganda. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1996 56(6):873-880.
79. Ejobi F, Kanja LW, Kyule MN, Muller P, Kruger J, Nyeko JH, Latigo AA. 1996b. Organochlorine pesticide residues in cow's milk in Uganda. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56(4):551-557.
80. EPA METHOD 8080A (1994) : Pesticides organochlorés et PCB par chromatographie en phase gazeuse.
81. EPA METHOD 8081 (1994) : Pesticides organochlorés et PCB par CPG : technique de la colonne capillaire.
82. EPA METHOD 8082 (1996) : PCB par chromatographie en phase gazeuse.
83. EPA METHOD 8270D (1998) : composés organiques semi-volatils par GC/MS.
84. EPA METHOD 8250 (1998) : composés organiques semi-volatils par GC/MS.
85. Esseric DY. 1980. Brevet Fr. n°8012239 in Koba K. 2003. Thèse de doctorat, Université de Lomé 172p.
86. Essobiyou T. 1990. Contribution à l'étude des atteintes à l'environnement liées au développement industriel au Togo. Mémoire du diplôme de Technicien Supérieur de Génie Sanitaire, Ecole des Assistants Médicaux – Université de Lomé. 92 p.
87. EU (European Union). 1998. Directive on the Quality of Water Intended for Human Consumption, 98/83/EC. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
88. FAO/WHO 1998. Pesticide residues in food, maximum residue limits Codex Alimentarius Vol. 2B second edition Roma 547 p.
89. Feldhege M.R. 1992. Rearing techniques and aspects of biology of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), a recently described endoparasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). *Café Cacao Thé* 26, 45–54.
90. Finney DF. 1971. Probit Analysis 3rd Edition. University Press, Cambridge.

91. Fisk AT, Hobson KA, Norstrom RJ. 2001. Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater polynya marine food web. *Environ Sci Technol* 35:732-738.
92. Fismes J, Perrin-Ganier C, Empeureur-Bissonnet P, Morel JL. 2002. Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *Journal of Environmental Quality* 31:1649-1656.
93. Gan J, Papiernik SK, Koskinen WC, Yates SR. 1999. Evaluation of Accelerated Solvent Extraction (ASE) for analysis of pesticide residues in soil. *Environmental Science and Technology* 33:3245-3253.
94. Gevao B, Semple KT, Jones KC. 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution* 108:3-14.
95. Ghadiri H, Rose CW. 2001. Degradation and transport of endosulfan in cotton soils from cotton farms of western Queensland. *Journal of Environmental Management* 62: 155-162.
96. Greenlee AR, Arbuckle TE, Chyou PH. 2003. Risk factors for female infertility in an agricultural region. *Epidemiology*. 14(4):429-436.
97. Greichus YA, Greichus A, Amman BD, Call DJ, Hamman DC, Pott RM. 1977. Insecticides, polychlorinated biphenyls and metals in African lake ecosystems. I. Hartbeespoort Dam, Transvaal and Voëlvelei Dam, Cape Province, Republic of South Africa. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 6:371-83.
98. Greichus YA, Greichus A, Draayer HA, Marshall B. 1978. Insecticides, polychlorinate biphenyls and metals in African lake ecosystems. II. Lake McIlwaine, Rhodesia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 19:444-53.
99. GTZ (Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit) 1995. Nim, un insecticide naturel. GTZ, D-65726, Eschborn, Federal Republic of Germany, 34 p.
100. Gù-konu YE, Laclavère G, Addra KM, Gayibor NL, Nyassogbo KG, Aziaha YA, Gnon-Samya K, Pennanaech BS, Aduayom A, Houénassou-Houangbé MT, Petit M, Attignon K, Kuevi D, Seddoh AN, Brunel JF, Faure P, Feli DY, Marguerat Y, Napo A, Seddoh KF, Segbor K, Tossou KA. Atlas du Togo. Les éditions Jeune Afrique 64p.

101. Han M-K, Kim S-I, Ahn Y-J. 2006. Insecticidal and antifeedant activities of medicinal plant extracts against *Attagenus unicolor japonicus* (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research* 42: 15–22.
102. Harner T, Wideman JL, Jantunen LMM, Bidleman TF, Parkhurst WJ. 1999. Residues of organochlorine pesticides in Alabama soils – *Environmental Pollution* 1999, 106: 323-332.
103. Harris CA, Renfrew, MJ, Woolridge MW. 2001. Assessing the risks of pesticide residues to consumers: recent and future developments. *Food Additives and Contaminants* 18(2):1124-1129.
104. Hatrik S, Tekel' J. 1996. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. *Journal of Chromatography A* 733:217-233.
105. Heberer T, Dünnebier U. 1999. DDT metabolite bis(chlorophenyl) acetic acid: the neglected environmental contaminant. *Environmental Science and Technology* 33: 2346-2351.
106. Hellar H, Kishimba MA. 2004. Levels of pesticide residues in water from TPC sugarcane plantations and environs, Kilimanjaro region, Tanzania. Inaugural conference Proceedings 8th – 11th August Arusha – Tanzania p.1-6.
107. Henry L, Kishimba MA. 2003. Levels of pesticide residues in water, soil and sediments from southern Lake Victoria and its basin. *Tanzania Journal of Science* 29:77-90.
108. Herrera A, Arino A, Conchello P, Lazarro R, Bayarri S, Perez-Arquillue C, Garrido MD, Jodral M, Pozo R. 1996. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty food stuffs. *Bull Environ Contam Toxicol* 56:173-177.
109. Hickey JJ, Keith JA, Coon FB. 1966. An exploration of pesticides in a Lake Michigan Ecosystem. *Pesticides in the environment and their effects on wildlife. Journal of Applied Ecology* vol. 3 (Suppl.) 141-154.
110. Hickey CW, Roper DS, Roper PT, Trower TM. 1995. Accumulation of organic contaminant in two sediment-dwelling shellfish with contrasting feeding modes: deposit (*Macomona liliana*) and filter-Feeding (*Austrovenus stutchburyi*). *Archives of environmental contamination and toxicology* 29:221-31.

111. Hitch RK, Day HP. 1992. Unusual persistence of DDT in some western USA soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 48:264-295.
112. Hodgson E, Levi PE. 1996. Pesticides: an important but underused model for the environmental health sciences. *Environmental Health Perspectives* 104 (1): 97-106.
113. Howard G, Bartram J. 2003. Domestic Water Quantity, Service, Level and Health. World Health Organization WHO/SDE/WSH/03.02, 39 p.
114. Hummelbrunner LA, Isman MB. 2001. Acute, sublethal, antifeedant and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep. Noctuidae). *Journal of agricultural and food chemistry* 49:715-720.
115. Huq SM. 1995. Studies on organochlorine pesticide (HCH & DDT) residues in food. CSIR-TWAS Post Doctoral Fellow Industrial Toxicology Research Centre, Lucknow.
116. Infante F, Murphy ST, Barrera JF, Gomez J, De La Rosa W, Damon A. 1994. Cría de *Phymastichus coffea* parasitoide de la broca del café, y algunas notas sobre su historia de vida. *Southwest. Entomology* 19:313–315.
117. Islam MD, Latif MA, Begum R, Razzaque MA, Akhtar Akhy A. 2007. Effect of neem oil on food consumption, growth and development of Jute hairy caterpillar, *Spilarctia obliqua* (Walker). *International Journal of Sustainable Agricultural Technology* 3(4):1-5.
118. ITRA (Institut Togolais de Recherche Agronomique). 2003. Rapport annuel 2003. Lomé 94p.
119. Jauzein M, Feix I, Wiart J. 1995. Les micro-polluants organiques dans les boues résiduaires des stations d'épuration urbaines, connaître pour agir, Guides et cahiers techniques. Edition Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (pp. 132-133) Ademe Angers.
120. Jayashree R, Vasudevan N, Chandrasekaran S. 2006. Surfactants enhanced recovery of endosulfan from contaminated soils. *International journal of Environmental Science and Technology* 3(3):251-259.
121. Kaba N. 1992. Résidus d'organochlorés dans les milieux lagunaire et marin. Communication à la Journée AISA (Association Ivoirienne des Sciences Agronomique) Abidjan, mai 1992. Abidjan, Côte d'Ivoire, Centre de recherches océanologiques.

122. Kammann U, Landgroff O, Steinhart H. 1992. Cyclic organochlorines in Benthic organisms from the North sea and the German bight. *Anal Magaz* 20:M70-3 in Mehdaoui O, Venant A, Fekhaoui M. 2000. Contamination par les pesticides organochlorés et les nitrates de la lagune de Moulay Bouselham, Maroc. Cahiers d'étude et de recherche francophones / santé, Volume 10, N°6 381-388.
123. Kanazawa J. 1989. Relationship between the soil sorption constants for pesticides and their physicochemical properties. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8: 477-484.
124. Kanja LW, Skaare JU, Maitai KU, Lokken P. 1986. Organochlorine pesticides in human milk from different parts of Kenya 1983-1985 *Journal of Toxicology and Environmental Health* 19:449-464.
125. Kaphalia BS, Takroo R, Mehrotra S, Nigam U, Seth TD. 1990. Organochlorine pesticide residues in different Indian cereals, pulses, spices, vegetables, fruits, milk, butter, Deshi ghee, and edible oils. *Journal - Association of official analytical chemists* 73:509-152.
126. Karickhoff SW, Brown DS, Scott TA. 1979. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Research* 13:241-248.
127. Karickhoff SW. 1981. Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere* 10, 833–846.
128. Karlsson H, Muir DCG, Teixeira CF, Burniston DA, Strachan WMJ, Hecky RE, Mwita J, Bootsma HA, Grift NP, Kidd KA, Rosenberg B. 2000. Persistent chlorinated pesticides in air, water and precipitation from the Lake Malawi area, Southern Africa. *Environmental Science and Technology* 34: 4490-4495.
129. Keïta SM, Vincent C, Jean-Pierre Schmit JP, Ramaswamy S, Bélanger A. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 36:355-364.
130. Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA. 2005. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research* 41: 363-371.

131. Ketoh G.K., Koumaglo, H.K., Glitho, I.A., Huignard, J. 2006. Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia* 77: 506-510.
132. Kim D-H, Ahn Y-J. 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Management Science* 57:301-306.
133. Kinyamu JK, Kanja LW, Skaare JU, Maitho TE. 1998. Levels of organochlorine pesticides residues in milk of urban mothers in Kenya. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60:732-738.
134. Kishimba MA, Henry L, Mwevura H, Mmochi AJ, Mihale M, Hellar H. 2004. The status of pesticide pollution in Tanzania. *Talanta* 64:48-53.
135. Koba K. 2003. Activités antimicrobiennes de différents chimiotypes d'huiles essentielles de quatre Lamiacées aromatiques de la flore togolaise vis-à-vis des germes représentatifs de la microflore cutanée. (Application à la formulation d'émulsions à usage topique). Thèse de Doctorat Université de Lomé 172p.
136. Koba K, Sanda K, Raynaud C, Mandin D, Millet J, Chaumont J-P. 2003. Antimicrobial activity of essential oils of *Cymbopogon citratus* L. (DC) stapf., *C. nardus* L. rendle and *C. schoenanthus* L. spreng. *Journal de mycologie médicale* 13(4): 175-180.
137. Koba K, Sanda K, Raynaud C, Millet J, Chaumont JP. 2004. Composition chimique des huiles essentielles d'*Aeollanthus pubescens* Benth. acclimatée au Togo. *Compte Rendu Chimie* 7 :1107-1111.
138. Koba K., Poutouli PW., Nenonene YA., Songai MS., Raynaud C., Sanda K. 2007. Chemical composition and anti-termite activity of three tropical essential oils against termite species *Trinervitermes geminatus* (Wasmann). *Journal des Sciences et technologies* 5 (2):39-46.
139. Koch VJ. 1973. Abondance de *Hypothenemus hampei* Ferr. Scolyte des graines de café, en fonction de sa plante-hôte et son parasite *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, en Côte d'Ivoire. *Meded. Landbowhogeschool, Wageningen* 16:1-84.
140. Kolani EG, Baba G, Nenonene AY, Amouzou E. 2003. Rapport d'inventaire national préliminaire des quantités de pesticides POPs au Togo 31 p.

141. Kondjoyan N, Berdagué JL. 1996. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds: Ed. Laboratoire Flaveur, INRA de Theix, France.
142. Kordali S, Aslan I, Çalmaşur Ö, Ahmet Cakir A. 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products* 23:162-170.
143. Kouninki H, Ngamo LST, Hance T, Ngassoum MB. 2007. Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *tribolium castaneum* (herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 7(5): ISSN 1684-5374.
144. Lamouroux M. 1969. Carte pédologique du Togo à 1/ 1 000 000 Notice explicative n°34 Orstom Paris 91p.
145. Lasalle J. 1990. A new genus and species of Tetrastichidae (Hymenoptera: Eulophidae) parasitic on the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research* 80 (1):7-10.
146. Lemaire G, Terouanne B, Mauvais P, Michel S, Rahmani R. 2004. Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation in vitro. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196 :235–246.
147. Leone AD, Amato S, Falconer RL. 2001. Emission of chiral organochlorine pesticides from agricultural soils in the Cornbelt region of the United States. *Environ. Sci. Technol.* 35: 4592-4596.
148. Levêque A. 1979. Carte pédologique du Togo à 1/200 000. Socle granito-gneissique limité à l'ouest et au nord par les monts Togo. Notice explicative no 82, 3 coupures, ORSTOM Paris 77p.
149. Lewinsohn E, Ziv-Raz II, Dudai N, Tadmor Y, Lastochkin E, Larkov O, Chaimovistsh D, Ravid U, Putievsky E, Shoham Y. 2000. Inheritance of estragole and methyl-eugénol in Sweet-basil (*Ocimum basilicum* L) Developmental and chemotypic association of allylphenol O-methyl transferase activities. *Plant Science* 160 (1):27-37.
150. Lyons DB, Helson BV, Bouchier RS, Jones GC, McFarlane JW. 2003. Effects of azadirachtin-based insecticides on the egg parasitoid *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *The Canadian Entomologist* 135: 685-695.

151. López-Vaamonde C, Moore D. 1998. Developing methods for testing host Specificity of *Phymastichus coffea* LaSalle (Hymen.: Tetrastichinae), a potential biological control agent of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Col.; Scolytidae) in Colombia. *Biocontrol Science and Technologie* 8:397–411.
152. Madadi OV, Wandiga SO, Jumba IO. 2006. The status of persistent organic pollutants in Lake Victoria catchment. *Proceedings of the 11th World Lakes Conference (Kenya): vol. 2, 2006. p.107-112. <http://hdl.handle.net/1834/1475>.*
153. Malaka SLO. 1978. Some measures applied in the control of termite in parts of Nigeria. *Nigeria Entomology magazine* 2: 137-141.
154. Manirakiza P, Akinbamijo O, Covaci A, Pitonzo R, Schepens P. 2003. Assessment of organochlorine pesticide residues in West African City Farms: Banjul and Dakar case study. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44, 171-179.
155. MAPF: Ministère de l'Agriculture et de la Pêche France. 2002. Référentiel des Limites Maximales applicables aux résidus de pesticides dans ou sur les produits d'origine végétale en France available from: <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>
156. Marchand M, Martin JL. 1985. Détermination de la pollution chimique (hydrocarbures, organochlorés, métaux) dans la lagune d'Abidjan (Côte d'Ivoire) par l'étude des sédiments. *Océanographie tropicale* 20(1):25–39.
157. Matthiessen, P., 1983. Environmental contamination with DDT in Zimbabwe and its likely impact on wildlife. Dans *Proceedings of The international conference on environmental hazards of agrochemicals in developing countries, Alexandria, Egypt, 8–12 November 1983, Vol 1:204–13. Alexandria, Egypt, Unesco and UNEP.*
158. Martel JP. 1977. Brevet Fr, n°7712831 in Koba K. 2003. Thèse de doctorat, Université de Lomé.172p.
159. Mavura WJ, Wangila PT. 2004. Distribution of pesticide residues in various lake matrices: water, sediment, fish and algae, the case of lake Nakuru, Kenya. *Inaugural conference Proceedings 8th – 11th August Arusha – Tanzania* p.88-98.
160. McLafferty FW. 1994. *The Willey Registry of Mass Spectral Data*; 6th ed. John Wiley and Sons, New York, NY.
161. Menegaux F, Baruchel A, Bertrand Y, Lescoeur B, Leverger G, Nelken B, Sommelet D, Hemon D, Clavel J. 2006. Household exposure to pesticides and risk

- of childhood acute leukaemia. *Occupational and Environmental Medicine* 63 (2):131-134.
162. Mhlanga AT, Madziva TJ. 1990. Pesticide residues in Lake McIlwaine. *J. Human Envir.* 19(8):368-72.
163. Montain SJ, Latzka WA, Sawka MN. 1995. Control of thermoregulatory sweating is altered by hydration level and exercise intensity. *Journal of Applied Physiology* 79:1434-1439.
164. Mukherjee I, Gopal M. 1996. Chromatographic techniques in the analysis of organochlorine pesticide residues. *Journal of Chromatography A.* 754 (1-2):33-42.
165. Mwevura H, Othman OC, Mhehe GL. 2002. Organochlorine pesticides residues in waters from the coastal area of Dar es Salaam and their effect on aquatic biota. *Tanzania Journal of Science* 28(2):117-130.
166. Nakagawa R, Nirakava H, Hori T. 1995. Estimation of 1992-1993 dietary intake of organochlorine and organophosphorus pesticides in Fukuoka Japan. *J AOAC Int* 78:921-929.
167. National Institute of Standards and Technology. 1992. Mass spectral data-base. US Department of Commerce, Washington, DC.
168. Naves V. 1974. *Technologie des parfums naturels*. Ed. Masson Paris in Koba K. 2003. Thèse de Doctorat, Université de Lomé 172p.
169. Nordström M, Hardell L, Lindström G, Wingfors H, Hardell K, Linde A. 2000. Concentrations of organochlorines related to titers to Epstein-Barr virus early antigen IgG as risk factors for hairy cell leukemia. *Environmental Health Perspectives* 108: 441-445.
170. Ntow WJ. 2001. Organochlorine pesticides in water, sediment, crops, and human fluids in a farming community in Ghana. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology* 40: 557-563.
171. Ntow WJ. 2005. Pesticide residues in Volta Lake, Ghana. *Lakes & Reservoirs: Research and Management* 10:243-248.
172. Nwankwoala AU, Osibanjo O. 1992. Baseline levels of selected organochlorine pesticides in surface waters in Ibadan (Nigeria) by electron capture gas chromatography. *Science of the Total Environment* 119:179-190.
173. Ojo OO. 1991. Bottom sediments as indicators of chemical pollution in Lekki Lagoon. MSc. Thesis. Department of Chemistry, University of Ibadan, Nigeria.

174. Okumu FO, Knols BGJ, Fillinger U. 2007. Larvicidal effects of a Neem (*Azadirachta indica*) oil formulation on the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Malaria Journal* 6:63-75.
175. Oliva A, Spira A, Multigner L. 2001. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction* 16(8):1768-1776.
176. Oloudé O, Houmey NV, Koussougbo MK, SamLaba EY. 1995. Rapport provisoire de recherche sur l'utilisation des pesticides modernes et naturels en milieu paysan au Togo – Inades-Formation Lomé/Togo 178 p.
177. OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 1982. DDT et dérivés, Critères d'hygiène de l'environnement n° 9. OMS, Genève, 209 p.
178. Osibanjo O, Adeyeye A. 1995. Organochlorine pesticide residues in cereals in Nigerian markets. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 54(3):460-465.
179. Osibanjo O, Jensen S. 1980. Ecological and environmental perspectives of pesticide pollution. in *Proceedings of First National Conference on Water pollution and pesticides residue in food*, University of Ibadan, Nigeria, pp 206–220.
180. Otani T, Seike N, Sakata Y. 2007. Differential uptake of dieldrin and endrin from soil by several plant families and *Cucurbita* genera. *Soil Science and Plant Nutrition* 53:86-94.
181. Paasivirta J, Palm H, Paukku R. 1988. Chlorinated insecticide residues in Tanzanian environment. *Tanzadrin. Chemosphere*, 17(10):2055-2062.
182. Palson K, Jaesson TG. 1999. Plant products used as mosquito repellent in Guinea Bissau, West Africa. *Acta. Trop.* 72 (1):39-52.
183. Paris M, Aurabielle M. 1981. *Agbégé de matière médicale, pharmacognosie*. Ed. Masson in Koba K. 2003. Thèse de Doctorat, Université de Lomé 172p.
184. Pavillon JF. 1990. Problématique de la biodisponibilité des polluants dans les sédiments. *Oceanis* 16:287-304.
185. Perut M. 1986. Informations chimiques n° 272 129-135 in Koba K. 2003. Thèse de Doctorat, Université de Lomé 172p.
186. Pichard A, Bisson M, Bureau J, Hulot C, Lacroix G, Lefevre JP, Mandin C, Strub MP. 2005. Lindane. I N E R I S - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 58p. (<http://rsde.ineris.fr/>)

187. Pignatello JJ. 1998. Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Adv. Coll. Inter. Sci.* 76-77: 445-467.
188. Pike MC, Spicer DV, Dahmouh L, Press MF. 1993. Estrogens, progesterone, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiologic Reviews* 15:17-35.
189. Pourriot R, Meybeck M. 1995. *Limnologie générale*. Masson Paris, FRA, 956p.
190. Pradhan S, Jotwani MG, Rai BK. 1962. The neem seed deterrent to locusts. *Indian Farming* 12:7-11.
191. PNUE (Programme des Nations Unies pour l'Environnement). 2002. Evaluation régionale des substances toxiques persistantes. Rapport de la Région Subsaharienne p23-24.
192. Raymond M. 1985. Présentation d'un programme Basic d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. *Cah. ORSTOM Ent. méd. et Parasitol.*, vol. 23(2):117-121.
193. Raponda-Walker A, Sillans R. 1961. Les plantes utiles du Gabon. Essai d'inventaire et de concordance des noms vernaculaires et scientifiques des plantes spontanées et introduites. Description des espèces, propriétés, utilisations économiques, ethnographiques et artistiques. Edition Paul Le Chevalier, Paris p 210.
194. Regnault-Roger C, Hamraoui A. 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a Bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Stored Products Research* 31:291-299.
195. Reuber MD. 1978. Carcinomas, sarcomas and other lesions in Osborne-Mendel rats ingesting endrin. *Experimental Cell Biology* 46(3):129-145.
196. Robison AK, Sirbasku DA, Stancel GM. 1985. DDT supports the growth of an estrogen-responsive tumor. *Toxicology Letters*. 27 (1-3):109-113.
197. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. 1991. Reproductive performance in population exposed to pesticides in cotton fields in India. *Environmental Research* 55:123-128.
198. Saiyed H, Dewan A, Bhatnagar V, Shenoy U, Shenoy R, Rajmohan H, Patel K, Kashyap R, Kulkarni P, Rajan B. 2003. Effect of endosulfan on male reproductive development. *Environ. Health Perspect.* 111:1958–1962.

199. Sanda K, Koba K, Walla BA, Akpagana K, Garneaux F-X, Gagnon H, Jean F-I. 1999. *Aeollanthus pubescens* Benth. A Potential Source of Thymol-rich Essential oil. *Journal of Essential Oil Research* 11:257-258.
200. Sawaya WN, Al-Awadhi FA, Saeed T, Al-Omair A, Ahmad N, Husain A, Khalafawi S, Al-Zenki S, Al-Amiri H, Al-Otaibi J, Al-Saqer J. 1999. Dietary intake of pesticides: State of Kuwait total diet study. *Food Additives and Contaminants* 16:473-480.
201. Skaare JU. 1981. Persistent organochlorinated compounds in Norwegian human milk in 1979. *Acta Pharmacol et Toxicol* 49: 384-389
202. Schmutterer H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual review of entomology* 35:271-97.
203. Schroll R, Bierling B, Cao G, Dörfler U, Lahaniati M, Langenbach T, Scheunert I, Winkler R. 1994. Uptake pathways of organic chemicals from soil by agricultural plants. *Chemosphere*, 28, 297-303.
204. Scribner JD, Mottet NK. 1981. DDT acceleration of mammary gland tumors induced in the male Sprague-Dawley rat by 2-acetamidophenanthrene. *Carcinogenesis* 2(12):1235-1239.
205. Singh AK, Spassova D, White T. 1998. Quantitative analysis of polychlorinated biphenyls, organochlorine insecticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated hydrocarbons and polynitrohydrocarbons in spiked samples of soil, water and plasma by selected-ion monitoring gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 706(2): 231-44.
206. Simmonds MSJ, Manlove JD, Blaney WM, Khambay BPS. 2002. Effects of selected botanical insecticides on the behaviour and mortality of the glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and the parasitoid *Encarsia formosa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102: 39-47.
207. Sofina LI, Kolycheva SS, Zorya NYu, Aronchik AA. 1991. Studying contamination by pesticides of food-stuffs in regions of Krasnodar territory. *The problems of nourishment* 4:36-37.
208. Soil Survey Division Staff. 1993. *Soil Survey Manual, Revised Edition*. Agriculture Handbook, vol. 18. United States Department of Agriculture, Washington DC.

209. Soil Survey Staff. 1992. Keys to Soil Taxonomy, 5th edition 556 pp.
210. Soltner D. 1996. Les bases de la production végétale, Tome I: le sol et son amélioration. Collection Sciences et Techniques Agricoles 21^{ème} édition p147.
211. Somogyi A, Beck H. 1993. Nurturing and breast-feeding: exposure to chemicals in breast milk. Environmental Health Perspectives. Suppléments 101 (suppl. 2):45-52.
212. Sserunjoji, J.M.S., 1974. A study of organochlorine insecticide residues in Uganda with special reference to dieldrin and DDT in Comparative studies of food and environmental contamination. Vienna, IAEA, STI/PUB/348, pp 43–58.
213. Sserunjoji-Ssebalija J. 1976. Environmental insecticide residues from tsetse fly control measures in Uganda in Trace contaminants of agriculture, fisheries and food in developing countries. Vienna, IAEA, STI/PUB/454, pp 69–71.
214. Stone M, Droppo IG. 1996. Distribution of lead, copper and zinc in size-fractionated river bed sediment in two agricultural catchment of southern Ontario, Canada. Environmental Pollution 93:353-362.
215. SPV/GTZ. 1995. Conservation du Niébé avec l'huile de Neem, Fiche technique, Projet Bénino-Allemand Protection des Végétaux, Porto-Novo. Documents du Benin 20 p.
216. Sultanbayev YA., Vol'Man TI., Ulmanov TA. 1983. Application of X-ray diffractometry in the study of the mineralogical composition of medium silt (0.01-0.005 mm in diameter). *Soviet soil science* 5:118-124.
217. Taniwaki MH, Pitt JI, Urbano GR, Teixeira AA, Leitao MF. 1999. Fungi production Ochratoxin A in coffee. 18^e colloque de l'Association Internationale Scientifique sur le café, Helsinki, Finland.
218. Ticheler JH. 1961. Etude analytique de l'épidémiologie du scolyte des graines de café, *Stephanoderes hampei* Ferr., en Côte d'Ivoire. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 61:1-49.
219. Thompson AR, Edwards CA, Edwards MJ, Beyon KI. 1970. Movement of dieldrin through soils. II. In sloping troughs and soil columns. Pesticide Science 1:174.

220. UNEP (United Nations Environmental Program). 2001. Final act of the conference of plenipotentiaries on the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Geneva, Switzerland, pp 44. http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_en.pdf.
221. US EPA. 1986. Development of advisory levels for polychlorinated biphenyls (PCBs) cleanup. U.S. Environmental Protection Agency - Office of Pollution Prevention and Toxics. <http://www.epa.gov/opptintr/pcb/>
222. Velez de la Calle JF, Rachou E, le Martelot MT, Ducot B, Multigner L, Thonneau PF. 2001. Male infertility risk factors in a French military population. *Human Reproduction*. 16(3):481-486.
223. Vine MF, Stein L, Weigle K, Schroeder J, Degnan D, Tse CK, Backer L. 2001. Plasma 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) levels and immune response. *American Journal of Epidemiology*. 153(1):53-63.
224. Walkley A. 1947. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic constituents. *Soil Science* 63: 251-264.
225. Wegbe K. 1990. Etude de la biologie de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (Hymenoptera: Bethyridae) parasitoïde du scolyte des baies du caféier. Mémoire d'Ingénieur Agronome. Université du Bénin. 54p.
226. Wegbe K, Cilas C, Decazy B, Alauzet C, Dufour B. 2003. Estimation of production losses caused by the coffee berry borer (Coleoptera: Scolytidae) and calculation of an economic damage threshold in Togolese coffee plots. *Journal of Economic Entomology* 96 (5):1473-1478.
227. Wegbe K. 2004. Contribution à la gestion agro-écologique des scolytes *Hypothenemus hampei* FERR dans les caféières du Togo. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse III. France 148p.
228. WHO (World Health Organisation). 1984. Endosulfan. Environmental Health Criteria 40. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
229. WHO 1997. Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues (revised) Prepared by the Global Environment Monitoring System-Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food) in collaboration with the Codex Committee on Pesticide Residues. 41p. Available from: <https://www.who.int/foodsafety/publications> Accessed 2006 July 6.

230. WHO 1998. Guidelines for Drinking water quality, Second Edition. Addendum to Vol.2. Health Criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva. pp.201-208.
231. Yang YC, Lee HS, Lee, SH, Clark JM, Ahn YJ. 2005. Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). International journal for parasitology 35(14):1595-1600.

SITES INTERNET

<http://www.afnor>

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Paul>

http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1948/

http://www.fne.asso.fr/PA/sante/dos/Page_PS_A7.pdf

http://www.pops.int/documents/convtext/convtext_en.pdf.

<http://www.prc.cnrs-gif.fr/dossiers/cmr29.pdf>

<http://www2.gtz.de/uvp/publika/French/begin3.htm#Contents>

<http://www.actu-environnement.com/ae/>

<http://www.fao.org/docrep/meeting/005/X7616F/x7616f0h.htm#bm17.2>

<http://www.afrik.com/article8336.html>

<http://www.eurofin.com>

- ANNEXE 1-

LISTE DE QUELQUES METHODES D'ANALYSE NORMALISEES

1.1- Prélèvement ou échantillonnage d'eau

Les opérations de prélèvement ou d'échantillonnage d'eau peuvent être faites selon les normes AFNOR : NF ISO 5667-1 (1980), NF ISO 5667-2 (1991) et NF ISO 5667-3 (1994).

Domaine d'application

Les directives générales sur les précautions à prendre pour conserver et transporter des échantillons d'eau sont particulièrement applicables lorsque un échantillon, localisé ou composite, ne peut être analysé sur le site de prélèvement.

Principe

L'utilisation de flacons en verre brun est recommandée. Ceux ci doivent être préalablement nettoyés à l'aide de détergent, rincés à l'eau déminéralisée, séchés à 105 °C, rincés à l'aide du solvant choisi pour l'extraction et séchés à nouveau sous courant d'air ou d'azote purifié. Il est recommandé d'ajouter le solvant d'extraction dans le flacon au moment du prélèvement. Les échantillons sont ensuite conservés à une température comprise entre + 2 °C et + 5 °C, à l'obscurité, et analysés dans les 24 heures suivant le prélèvement.

Interférences

Les phtalates qui pourraient être introduits par l'emploi de flacons en matière plastique sont générateurs d'interférences analytiques.

Les phtalates

Les phtalates sont un groupe de produits chimiques apparentés du point de vue de leur structure à l'acide organique connu sous le nom d'acide phtalique. Ils sont composés d'un noyau benzénique et de deux groupements carboxylates placés en ortho et dont la taille de la chaîne alkyle peut varier. Ce sont des additifs utilisés couramment dans les matières plastiques et d'autres matériaux, principalement pour les rendre souples et

flexibles. L'utilisation en tant que plastifiant représente 90 % des applications des phthalates. De ce fait, ils se retrouvent dans diverses matières plastiques, en particulier le PVC, dans les revêtements en vinyle, les rideaux de douche, certains sacs plastiques et joints d'étanchéités souples, les couches, les jouets souples d'importation et même dans de nombreux matériels médicaux (poche de sang, cathéter, gants...). En revanche, des effets ont été démontrés en ce qui concerne les problèmes de fertilité ou de croissance chez les enfants exposés à de fortes doses en période prénatale ou néonatale. Les phthalates sont reconnus pour être des perturbateurs endocriniens. Leur utilisation dans les emballages alimentaires est très réduite en Europe en raison de la réglementation.

1.2- Prélèvement ou échantillonnage de sol

Les opérations de prélèvement ou d'échantillonnage de sol peuvent être réalisées suivant les normes AFNOR - NF X 31-100 (1992), AFNOR : NF ISO 10381-1 (X 31-008-1) (mars 2003), NF ISO 10381-2 (X 31-008-2) (mars 2003), et NF ISO 10381-4 (X 43-008-4) (octobre 2003).

Domaine d'application

Les échantillons de sol présentent souvent une grande variabilité géologique en plus de la variabilité des types de polluants et une hétérogénéité de distribution de leur concentration à l'échelle du lieu. Le prélèvement des sols doit donc faire l'objet de stratégies et de plans d'échantillonnage qui ne s'appliquent pas dans le cas des autres matrices.

Principe

La qualité du résultat analytique dépend directement de celle de l'échantillon. Tout risque d'interférence de la technique de prélèvement sur l'intégrité et la représentativité de l'échantillon doit être minimisé.

1.3- Pré-traitement des échantillons de sol

Les opérations de pré-traitement des échantillons de sol peuvent être faites suivant les dispositions de normes AFNOR : NF ISO 14507 (septembre 2003).

Domaine d'application

AFNOR-Norme NF ISO 14507 (septembre 2003) définit une méthode de pré-traitement des échantillons de sol en laboratoire avant la détermination des contaminants organiques. Le pré-traitement décrit dans la norme a pour but de préparer un échantillon pour essai dans lequel la concentration de contaminant est aussi proche que possible de celle du sol d'origine.

Principe

Pour la détermination des composés peu volatils (composés ayant un point d'ébullition supérieur à 300° C, pour une pression de 101 kPa), les sous-échantillons pour essai sont prélevés sur l'échantillon initial et subissent un broyage cryogénique avec criblage à 1 mm. Le résultat est ensuite extrait selon la procédure analytique spécifique décrite dans la norme ISO/DIS 10382. S'il faut des échantillons composites, des extraits d'échantillons individuels sont mélangés. Les échantillons broyés doivent être conservés à l'obscurité entre + 2° C et + 5° C et engagés en analyse avant 10 jours.

1.4- Dosage de pesticides organochlorés et de polychlorobiphényles

Les opérations de dosage de pesticides organochlorés et des polychlorobiphényles (PCB) dans les matrices environnementales peuvent être faites suivant les normes AFNOR-ISO et EPA.

1.4.1- AFNOR – Norme NF ISO 6468 (1997)

Domaine d'application

La méthode est applicable aux eaux ne contenant pas plus de 0,05 g.L⁻¹ de matières en suspension. La limite de détection se situe entre 1 et 50 ng.L⁻¹ suivant le congénère considéré.

Principe

Une extraction liquide/liquide est réalisée à l'aide d'un solvant, hexane, heptane ou éther de pétrole. Il est recommandé d'effectuer l'extraction dans le récipient d'échantillonnage, par agitation dudit récipient (flacon) ou à l'aide d'un barreau magnétique. L'extraction étant peu sélective, il peut s'avérer nécessaire, lorsque l'on traite des échantillons chargés, de procéder à une purification destinée à éliminer les

substances indésirables co-extraites afin de minimiser les interférences. Cette purification pourra être effectuée par percolation de l'extrait sur:

- colonne alumine/nitrate d'argent pour éliminer les composés polaires,
- colonne de gel de silice pour séparer les pesticides et les phtalates.

L'extrait purifié est ensuite concentré et analysé par chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à capture d'électrons (ECD). Dans tous les cas, il convient de réaliser un essai à blanc sur de l'eau pure et de déterminer le rendement d'extraction / purification.

Interférences

Les PCB sont en général présents en très faibles quantités dans les eaux : une des principales sources d'interférences est la contamination en cours d'extraction. Les phtalates ont une réponse importante sur les détecteurs cités : il est important d'éviter tout contact de l'échantillon avec des récipients ou des objets en matière plastique. Il convient également de confirmer la présence de PCB, soit par l'utilisation de colonnes de polarités différentes en détection ECD, soit par une identification par l'intermédiaire du spectre de masse.

1.4.2- AFNOR – Norme NF ISO 10382 (mars 2003)

Domaine d'application

La méthode est utilisée pour déterminer une liste de pesticides organochlorés et de PCB dans les sols et les sédiments. La limite de quantification dépend de la matrice et est de 0,4 à 3,1 mg.kg⁻¹ pour les sols et 0,2 à 1,5 mg.kg⁻¹ pour les sédiments.

Principe

Après pré-traitement, l'échantillon est extrait avec un solvant hydrocarboné. L'extrait est concentré puis purifié à travers une colonne remplie d'alumine afin d'éliminer les composés polaires. L'éluat est concentré, puis le soufre élémentaire est retiré par un traitement à l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium. Une séparation fractionnée sur colonne de gel de silice permet d'éliminer les pesticides organochlorés les plus polaires.

L'extrait purifié est ensuite analysé par chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons (ECD).

Interférences

Les interférences sont essentiellement dues à des contaminations par des flacons non adaptés ou à des contaminations croisées lors de l'étape de préparation au laboratoire. Les phtalates ont une réponse importante sur le détecteur ECD. Ils sont éliminés lors de la purification par élution fractionnée sur colonne de gel de silice.

1.4.3- AFNOR - XP X 33-012 (2000)

Domaine d'application

La méthode est utilisée pour déterminer une liste d'Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et de Polychlorobiphényles (PCB) dans les boues susceptibles de faire l'objet d'un épandage sur des sols.

Principe

Les PCB contenus dans les boues sont extraits par une des trois méthodes suivantes:

- extraction au Soxhlet à l'aide d'un mélange hexane/acétone,
- extraction en milieu ouvert ou fermé par chauffage aux micro-ondes,
- extraction à chaud sous pression (ASE).

Après concentration, reprise à l'hexane et si nécessaire purification, l'analyse des extraits est réalisée par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons et/ou spectromètre de masse.

Interférences

Les composés présents dans les boues pouvant conduire à des interférences sont nombreux : il est possible de les éliminer par purification:

- percolation sur colonne de FLORISIL[®] (élimination des composés polaires);
- percolation sur colonne d'alumine basique (élimination des composés acides) ;

- séparation sur gel de silice ;
- traitement à l'acide sulfurique (élimination des composés saponifiables) ;
- traitement à l'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium ou au cuivre (élimination du soufre libre) ;
- choc thermique (élimination des paraffines chlorées).

Il convient également de confirmer la présence de PCB, soit par l'utilisation de colonnes de polarités différentes en détection ECD, soit par une identification par l'intermédiaire du spectre de masse.

1.4.4- MA. 403 – P. Ocl 4.0 (CEAEQ, 2002)

Domaine d'application

La Méthode d'Analyse Approuvée, MA. 403 – P. Ocl 4.0, s'applique à la détermination des insecticides de type organochloré dans les eaux souterraines, l'eau de surface et l'eau potable.

Principe

Les pesticides organochlorés sont extraits de l'échantillon liquide avec du dichlorométhane et, ensuite, deux fois avec de l'hexane. Les extraits sont combinés et concentrés à un petit volume. L'extrait concentré est dosé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. Les concentrations des pesticides de type organochloré contenus dans l'échantillon sont calculées en comparant les surfaces des pics des produits de l'échantillon à celles obtenues avec des solutions étalons de concentrations connues.

Interférences

Les interférences peuvent être causées par des contaminants contenus dans les solvants, les réactifs, la verrerie ou les appareils de préparation. Tous les solvants, les réactifs et les appareils doivent être vérifiés régulièrement par l'analyse de solutions témoins. Les interférences causées par une contamination peuvent survenir lorsqu'un échantillon qui contient une faible concentration de pesticides de type organochloré est dosé

immédiatement après un échantillon dont la concentration en pesticides organochlorés est plus élevée "effet de mémoire". Pour éliminer cet effet de mémoire après dosage d'un échantillon dont la concentration en pesticides est très élevée, on procède à l'injection d'isooctane une ou plusieurs fois.

1.4.5- EPA METHOD 8080A (1994)

Domaine d'application

La méthode EPA 8080 est utilisée pour déterminer une liste de pesticides organochlorés et de PCB dans des échantillons d'eau ou dans des matrices solides. La limite de quantification dépend de la matrice et est de $0,07 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour les eaux de surface et $700 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour les sols très contaminés.

Principe

L'extraction est en général réalisée au solvant, à pH neutre sur les eaux à l'aide de chlorure de méthylène:

- EPA METHOD 3510 : extraction liquide/liquide en ampoule,
- EPA METHOD 3520 : extraction liquide/liquide à l'aide d'un système en continu, et sur les solides,
- EPA METHOD 3540 : extraction au Soxhlet par mélange hexane/acétone (1:1),
- EPA METHOD 3541 : extraction automatisée par mélange hexane/acétone (1:1),
- EPA METHOD 3550 : extraction au bain à ultrasons à l'aide d'un mélange hexane/acétone (1:1).

L'extraction est généralement suivie d'une purification sur colonne de FLORISIL[®] (EPA METHOD 3620) ou de gel de silice (EPA METHOD 3630). On procède ensuite à un changement de solvant par évaporation pour remplacer le chlorure de méthylène par l'hexane, puis les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, colonne remplie, avec détection ECD et/ou SM.

Interférences

En plus des interférents classiques, composés de temps de rétention similaires et pollution croisée avec d'autres échantillons lors des phases de préparation, les phtalates ont une réponse importante sur les détecteurs cités. Il convient donc de confirmer la présence des PCB, soit par l'utilisation de colonnes de polarités différentes en détection ECD, soit par une identification par l'intermédiaire du spectre de masse.

1.4.6- EPA METHOD 8081 (1994)

Domaine d'application

La méthode EPA 8081 aide à déterminer une liste de pesticides organochlorés et de PCB dans des échantillons d'eau ou dans des matrices solides. La limite de quantification dépend de la matrice et va de 0,054 à 0,9 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour les eaux de surface, et 0,57 à 70 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour les sols.

Principe

L'extraction est en général réalisée au solvant, à pH neutre sur les eaux à l'aide de chlorure de méthylène :

- EPA METHOD 3510 : extraction liquide/liquide en ampoule,
- EPA METHOD 3520 : extraction liquide/liquide à l'aide d'un système en continu, et sur les solides :
- EPA METHOD 3540 : extraction au Soxhlet par mélange hexane/acétone (1:1),
- EPA METHOD 3541 : extraction automatisée par mélange hexane/acétone (1:1),
- EPA METHOD 3550 : extraction au bain à ultrasons à l'aide d'un mélange hexane/acétone (1:1).

L'extraction est généralement suivie d'une purification par lavage de l'extrait avec un mélange acide sulfurique/permanganate (EPA METHOD 3665), suivi d'un fractionnement sur colonne d'alumine (EPA METHOD 3610), de FLORISIL® (EPA METHOD 3620) ou de gel de silice (EPA METHOD 3630). On procède ensuite à un changement de solvant par évaporation pour remplacer le chlorure de méthylène par

l'hexane, puis les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, colonne capillaire ou « *wide-bore* », avec détection ECD et/ou SM. La méthode décrit l'option « double-colonne » pour l'identification des composés, dans laquelle deux colonnes de polarités différentes sont couplées au même injecteur. La quantification est réalisée sur la somme des congénères, dosage en profil, en utilisant une substance de référence de composition la plus voisine possible du mélange à doser.

Interférences

En plus des interférents classiques, composés de temps de rétention similaires et pollutions croisées avec d'autres échantillons ou des réactifs lors des phases de préparation, les phtalates ont une réponse importante sur les détecteurs cités. Ils peuvent être éliminés par purification par perméation de gel (méthode EPA 3640) ou par élution fractionnée sur colonne de gel de silice (méthode EPA 3660). La présence de composés soufrés dans les échantillons analytiques conduit à une interférence ; il convient alors de les éliminer en utilisant la méthode EPA 3660 (élution fractionnée sur colonne de gel de silice) et de confirmer la présence de PCB, soit par l'utilisation de colonnes de polarités différentes en détection ECD, soit par une identification au moyen du spectre de masse.

1.4.7- EPA METHOD 8082 (1996)

Domaine d'application

La méthode EPA 8082 est utilisée pour déterminer une liste de pesticides organochlorés et de PCB dans des échantillons d'eau ou dans des matrices solides. La limite de quantification est estimée à 0,054 - 0,9 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour les eaux de surface et à 0,57 - 70 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour les sols.

Principe

L'extraction est en général réalisée au solvant, à pH neutre sur les eaux à l'aide de chlorure de méthylène :

- EPA METHOD 3510 : extraction liquide/liquide en ampoule ;
- EPA METHOD 3520 : extraction liquide/liquide à l'aide d'un système en continu, et sur les solides ;

- EPA METHOD 3540 : extraction au Soxhlet par mélange hexane/acétone (1:1) ;
- EPA METHOD 3541 : extraction automatisée par mélange hexane/acétone (1:1) ;
- EPA METHOD 3550 : extraction au bain à ultrasons par mélange hexane/acétone (1:1).

Elle est généralement suivie d'une purification par lavage de l'extrait avec un mélange acide sulfurique/permanganate (EPA METHOD 3665), suivi d'un fractionnement sur de gel de silice (EPA METHOD 3630). On procède ensuite à un changement de solvant par évaporation pour remplacer le chlorure de méthylène par l'hexane, puis les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, colonne capillaire ou « *wide-bore* », avec détection ECD et/ou SM. La méthode décrit l'option « double-colonne » pour l'identification des composés, dans laquelle deux colonnes de polarités différentes sont couplées au même injecteur.

La quantification est réalisée :

- Soit sur la somme des congénères, dosage en profil, en utilisant une substance de référence de composition la plus voisine possible du mélange à doser,
- Soit sur chaque congénère individuellement, en employant comme substances de référence des solutions de chaque congénère préparées individuellement. L'utilisation d'un étalon interne est nécessaire pour la quantification en congénères.

1.4.8- EPA METHOD 8270D (1998)

Domaine d'application

La méthode EPA 8270 est utilisée pour déterminer une liste de composés organiques semi volatils, dont les PCB, dans des échantillons d'eau ou dans des matrices solides, sols, déchets et supports de prélèvement d'air. Aucune limite de quantification n'est indiquée pour les PCB dans toutes sortes de matrices. La limite de quantification est estimée à 600 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour les sols et les sédiments et à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour les eaux de surface.

Principe

L'extraction est en général réalisée au solvant, à pH neutre sur les eaux à l'aide de chlorure de méthylène :

- EPA METHOD 3510 : extraction liquide/liquide en ampoule ;
- EPA METHOD 3520 : extraction liquide/liquide à l'aide d'un système en continu ;
- EPA METHOD 3535 : extraction sur phase solide ou SPE ;
- EPA METHOD 3540 : extraction au Soxhlet par hexane/acétone (1:1) ;
- EPA METHOD 3541 : extraction automatisée au Soxhlet par hexane/acétone (1:1) ;
- EPA METHOD 3545 : extraction par solvant pressurisé ;
- EPA METHOD 3550 : extraction au bain à ultrasons par hexane/acétone (1:1) ;
- EPA METHOD 3580 : dilution des rejets (rejets non miscibles à l'eau).

Elle est généralement suivie d'une purification par lavage de l'extrait avec un mélange acide sulfurique/permanganate (EPA METHOD 3665), suivi d'un fractionnement sur colonne d'alumine (EPA METHOD 3610) ou sur colonne de FLORISIL® (EPA METHOD 3620) ou de gel de silice (EPA METHOD 3630).

Les extraits sont analysés par chromatographie en phase gazeuse, colonne capillaire, avec détection SM. L'identification des composés est réalisée sur la base de la comparaison de leur spectre de masse en impact électronique avec celui de composés de référence ; la quantification est réalisée en comparant la réponse du pic de plus grande intensité avec celui d'une solution étalon. Ceci nécessite la réalisation d'une courbe d'étalonnage à cinq points en présence d'un étalon interne. La quantification est réalisée sur la somme des congénères, dosage en profil, en utilisant une substance de référence Aroclor® de composition la plus voisine possible du mélange à doser.

1.4.9- EPA METHOD 8250 (1998)

La méthode décrite par cette norme est identique à celle de EPA 8270 à la différence qu'elle utilise des colonnes remplies au lieu des colonnes capillaires pour la séparation analytique.

- ANNEXE 2 -

ANALYSE MINÉRALOGIQUE DES ARGILES PAR DIFFRACTOMETRIE X

La détermination de la nature minéralogique des argiles par la méthode de diffractométrie X est en trois étapes :

2.1- Première étape

La première étape consiste à :

- peser dans un bécher 2 à 10 g de sol (2 à 3 g lorsque le sol est argileux, 5 g de sol faiblement argileux et 10 g de sol sableux),
- ajouter 20 mL d'eau oxygénée (pH 7) et attaquer la matière organique sur plaque chauffante jusqu'à la fin de dégagement de CO₂,
- utiliser plutôt de l'acide chlorhydrique à la place de l'eau oxygénée si les sols sont riches en fer (sol de couleur rouge ou jaune) et attaquer sur plaque chauffante pendant une heure,
- filtrer et laver l'échantillon à l'eau distillée jusqu'à l'élimination des ions chlorures (Cl⁻),
- percer le filtre et récupérer l'échantillon dans un tube à essai,
- ajouter de l'eau distillée et passer aux ultrasons,
- agiter à la main et laisser l'échantillon au repos 2 h,
- déposer quelques gouttes de la suspension stable des particules à étudier sur une lame de verre étiquetée et laisser sécher lentement,
- préparer 3 lames de verre par échantillon,
- introduire 2 lames sur 3 dans le four à 550°C pendant 1 h et laisser refroidir,

2.2- Deuxième étape

C'est la phase d'analyse microscopique par diffractométrie X proprement dite. Trois types de lame sont analysés pour chaque échantillon : lame normale, glycolée et chauffée.

2.3- Troisième étape

La troisième étape concerne l'interprétation des graphiques. Quelques graphiques à titre d'exemple sont présentés ci-dessous : lame normale, lame glycolée et lame chauffée.

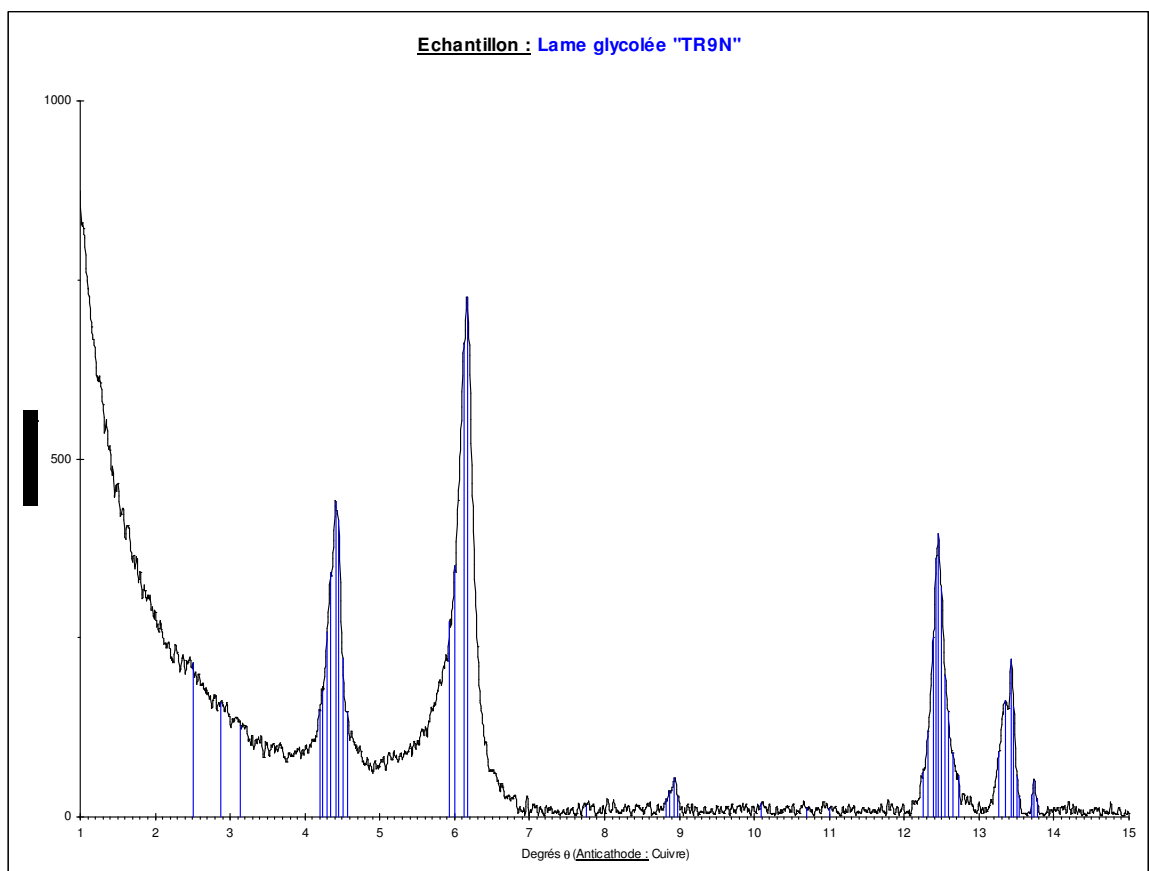
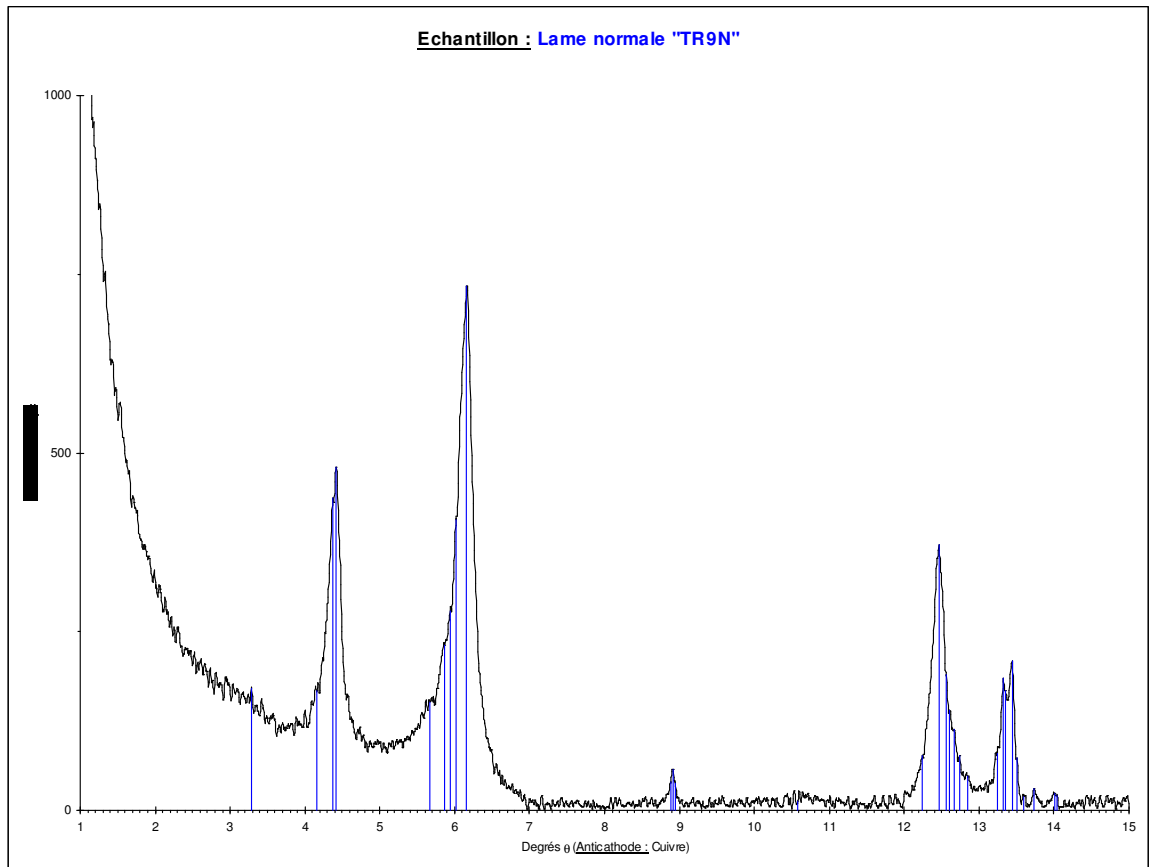


Figure 29- Graphiques issus de l'analyse minéralogique des argiles de sols étudiés

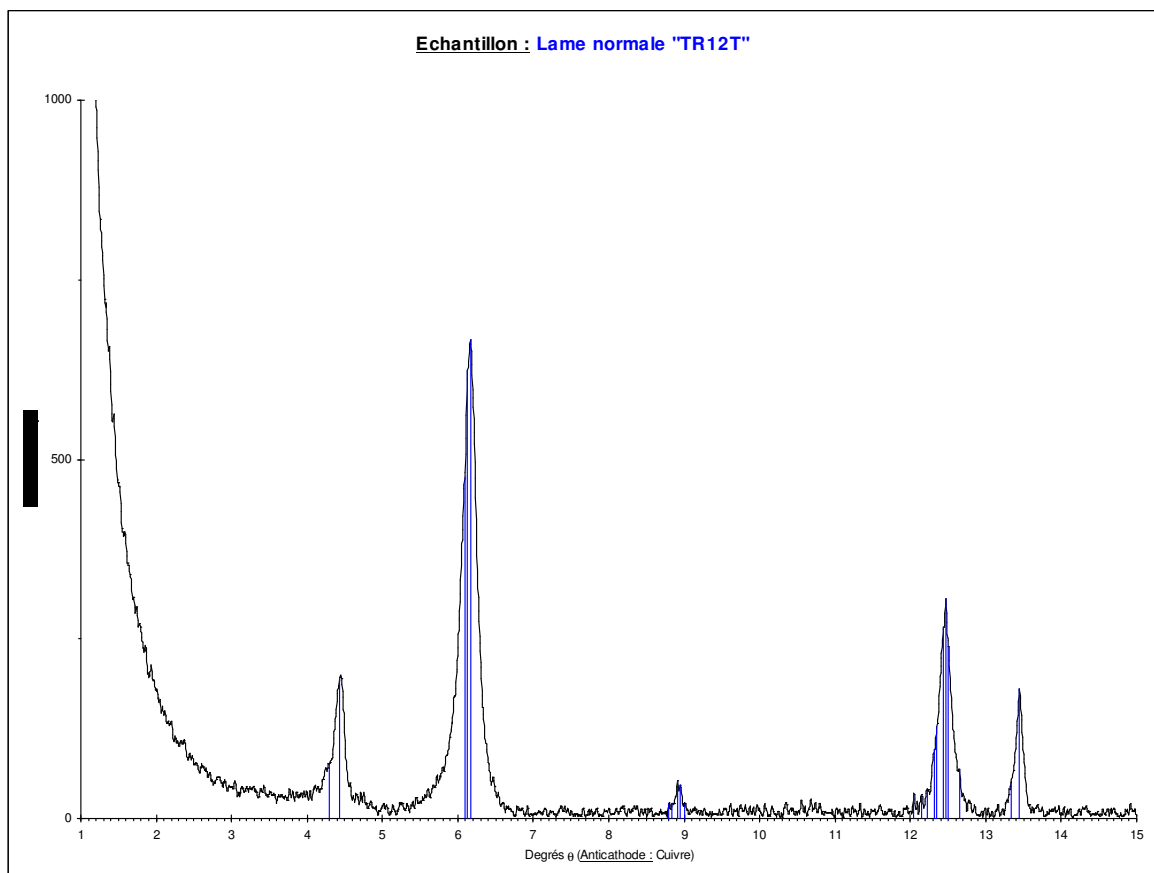
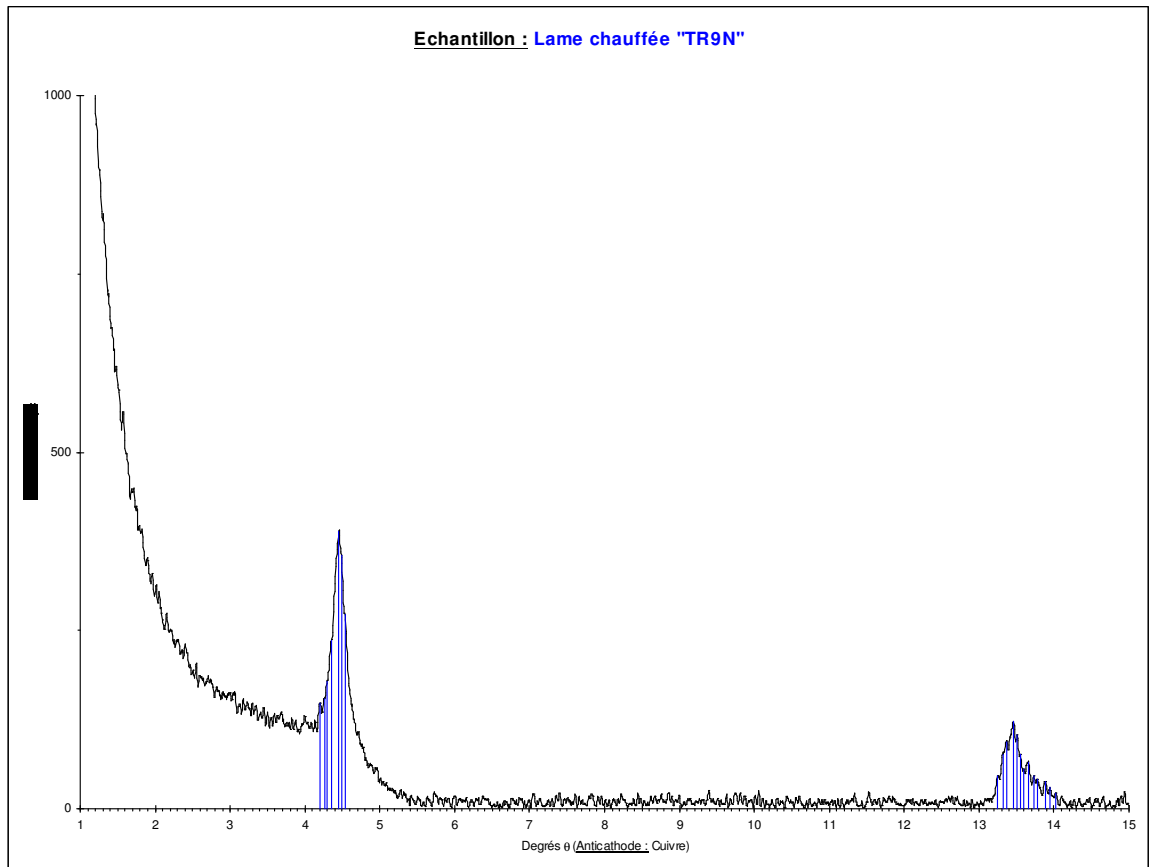


Figure 29 (suite)- Graphiques issus de l'analyse minéralogique des argiles de sols étudiés

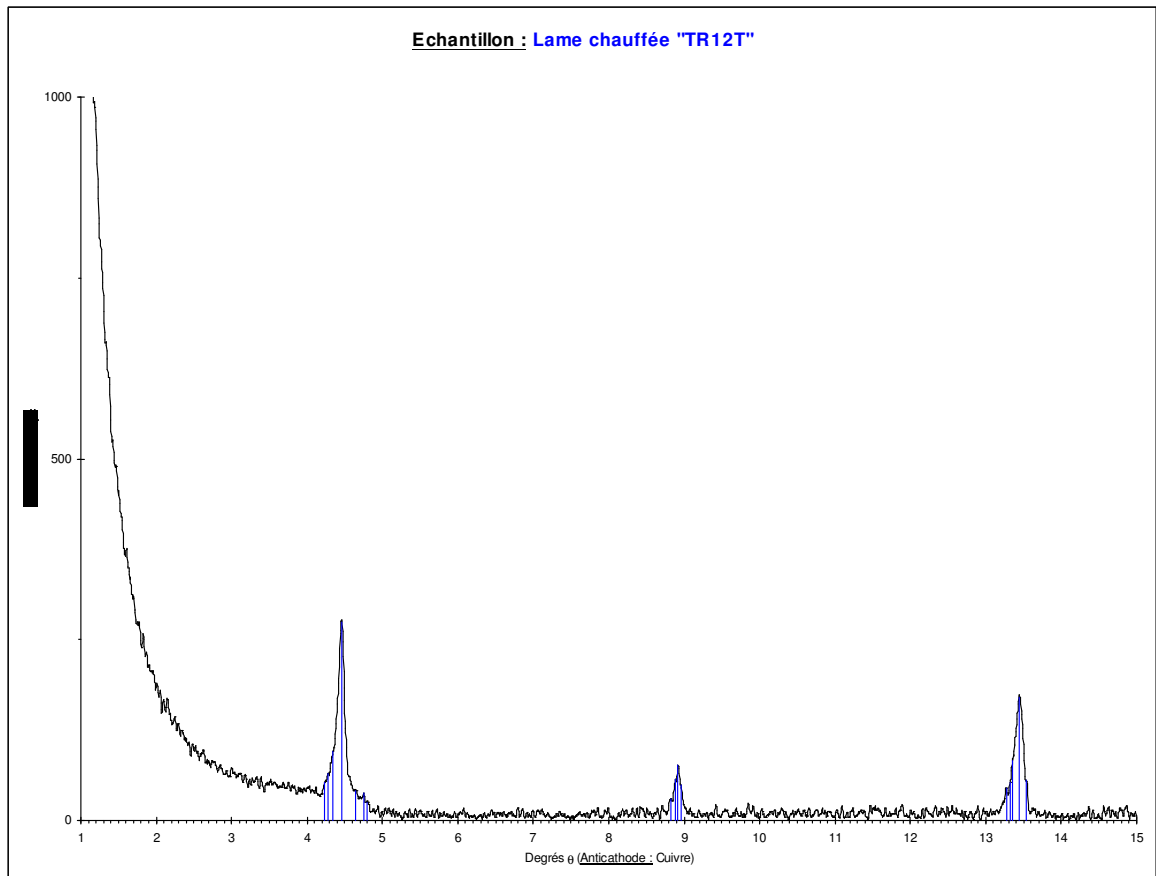
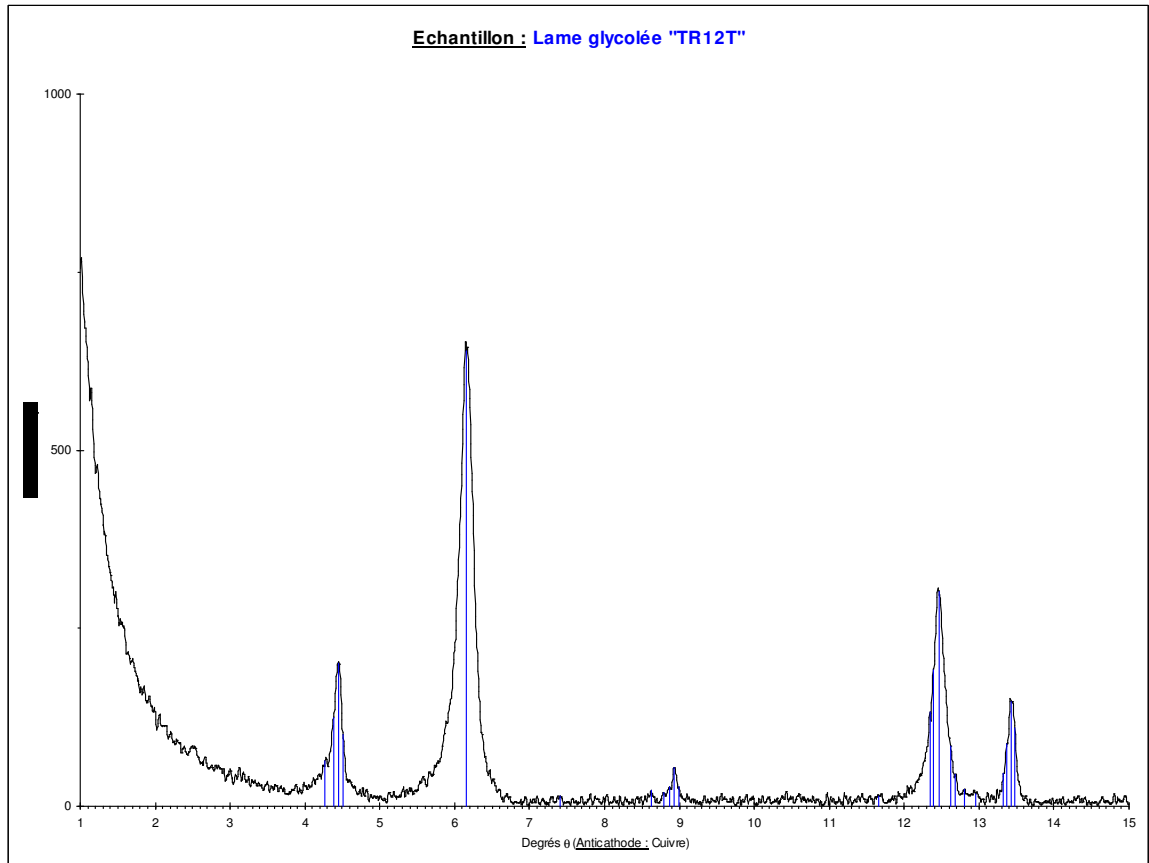


Figure 29 (suite)- Graphiques issus de l'analyse minéralogique des argiles de sols étudiés

CARACTERISTIQUES DE L'HUILE DE GRAINE DE NEEM

3.1- Données de la littérature

Source des données : Internet France/Europe <http://www.huile.com> (octobre 2006).

3.1.1- Caractéristiques chimiques

Tableau 52- Composition chimique d'huile de neem (données de littérature <http://www.huile.com>, octobre 2006)

Acides Gras	En %
Acide myristique C14 :0	2,6
Acide palmitique C16 :0	13,6 à 14,9
Acide stéarique C18 :0	14,4 à 19,1
Acide oléique C18 :1	49,1 à 61,9
Acide linoléique C18 :2	7,5 à 15,8
Acide linoléique C18 :3	0,5

Le taux d'éléments non saponifiables dans l'huile de neem est d'environ 2%.

3.1.2- Caractéristiques physiques

Aspect : pâteux à 20°C

Odeur : épicée caractéristique

Couleur : vert marron

Densité (à 30°C) : 0,908 à 0,934

Indice de saponification : 175 - 205

Indice d'iode : 65 - 80

Indice de réfraction (40°C) : 1,4615 à 1,4705

3.2- Caractéristiques chimiques de l'huile de graine de neem étudiée

Les analyses chimiques de l'huile de graine de neem étudiée ont donné des teneurs en acides gras en glycérides (Tableaux 53, 54 et 55).

Tableau 53- Composition en acides gras et glycérides d'huile de neem (données du présent travail)

Nom des composés	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Concentration (%)
Acides gras	168,0680	14,90
Monoglycérides	0,0000	0,00
Diglycérides	83,3029	7,39
Triglycérides	876,2459	77,71
Total	1127,6168	100

Tableau 54- Composition des acides gras d'huile de neem (données du présent travail)

Acides gras	En %
Acide palmitique C16 :0	14,20
Acide oléique C18 :1	46,06
Acide linoléique C18 :2	39,74

Tableau 55- Composition des triglycérides d'huile de neem (données du présent travail)

Triglycérides	En %
Triglycéride T50	8,98
Triglycéride T52	40,16
Triglycéride T54	48,78
Triglycéride T56	2,08

- ANNEXE 4 -

PRINCIPALES ETAPES DU PROGRAMME DE CALCULS LOG-PROBIT

A partir des résultats bruts des tests biologiques comprenant le nombre de morts observés à chaque concentration, le nombre total d'individus testés et la dose correspondante, le programme principal calcule :

- 1) la mortalité relative à chaque concentration, corrigée en fonction de la mortalité observée dans les témoins, selon la formule d'Abbott (1925),
- 2) la meilleure droite de régression pondérée de la mortalité sur les doses. Ce calcul comprend dans l'ordre :
 - la transformation de chaque mortalité en probit,
 - la transformation de la dose en unité logarithmique,
 - le calcul de la droite de régression non pondérée,
 - le calcul de la meilleure droite de régression pondérée par itérations successives,
- 3) une fois la droite calculée, les mortalités observées sont comparées aux mortalités attendues selon un test du χ^2 , suivant la formule (Finney, 1971) :

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^N \frac{(r_j - n_j * P_j)^2}{n_j * P_j * (1 - P_j)}$$

où N est le nombre de concentrations testées et où, pour le $j^{\text{è}}$ point, r_j est le nombre de morts observés parmi les n_j individus testés et P_j la mortalité attendue. Cette comparaison permet de vérifier que la droite obtenue représente correctement les données.

La DL50 ainsi que ses limites de confiance, et, éventuellement d'autres DL sont calculées d'après la formule exacte de (Finney, 1971) :

$$DLx = m + \frac{g*(m-Xi)}{b*(1-g)} \pm \frac{t}{b*(1-g)} * \sqrt{\left(\frac{1-g}{S_{nw}} + \frac{(m-Xi)^2}{S_{xx}}\right) * H}$$

avec $g = \frac{t^2}{b^2 * S_{xx} * H}$

où b est la pente de la droite, H le facteur d'hétérogénéité, Xi la moyenne pondérée des abscisses, S_{nw} la somme des poids, S_{xx} la variance pondérée des abscisses, t la valeur de la loi de student suivant le niveau de confiance choisi et le nombre de degré de liberté (ddl = ∞ si $H = 1$) et m l'abscisse correspondante à x % de mortalité.

Le calcul de la variance des points de la droite et des limites de confiance des mortalités attendues (Finney, 1971) permet de voir si les points expérimentaux sont bien compatibles avec la droite, avec un degré de confiance choisi.

Test de compatibilité des points vis-à-vis de la droite

Pour chaque point de la droite, le calcul de la variance permet de déterminer une valeur inférieure (MINI) et supérieure (MAX), d'après le niveau de confiance accordé. Si la mortalité observée (MORT.) n'est pas contenue dans ces limites, le test rejette le point.

Si le test du χ^2 rejette l'hypothèse de la bonne représentation des données par la droite de régression, on peut, soit réaliser un regroupement des valeurs observées et attendues des mortalités des points extrêmes afin de diminuer leur contribution au χ^2 (Finney, 1971), soit calculer l'indice d'hétérogénéité, $H = \chi^2/ddl$ (Firmey, 1971), qui interviendra alors dans les calculs des DL et de l'intervalle de confiance des mortalités.

Sous-programme de parallélisme

Un sous-programme testant le parallélisme de plusieurs droites de régression est associé au programme principal ; il permet de comparer la variance relative (la pente) d'un nombre quelconque de droites de régression (seule la capacité mémoire de l'ordinateur est un facteur limitant) selon les formules de Finney (1971). Enfin, deux programmes de tracé de courbes et de droites de régression nécessitent une table traçante (TRS-80, CGP-115 ou Multi-Pen Plotter) (Raymond, 1985).

Les programmes effectuent toutes les opérations de manière automatique et conversationnelle. Le regroupement des différentes options en "*menu*" permet de conduire l'analyse complète d'un ensemble de données suivant chaque cas particulier. Le menu principal (*menu 1*) permet d'appeler le sous-programme testant le parallélisme et les programmes annexes (programme de mise en fichier et programmes pour les tables traçantes), d'atteindre les fichiers de données déjà stockés et d'en initier l'analyse. Après le calcul de la meilleure droite de régression pondérée, le *menu 2* permet de réaliser ou non tous les calculs suivant les caractéristiques des données (homogènes ou non) et les desiderata de l'expérimentateur (par exemple calcul de la DL 99 au niveau de confiance 1%) (Raymond, 1985).

Assessment of average exposure to organochlorine pesticides in southern Togo from water, maize (*Zea mays*) and cowpea (*Vigna unguiculata*)

G. Mawussi^{a*}, K. Sanda^a, G. Merlina^b and E. Pinelli^b

^aUnité de Recherche sur les Agroressources et la Santé, Environnementale, Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo; ^bUniversité de Toulouse, UPS, INP; EcoLab (Laboratoire d'écologie fonctionnelle); ENSAT, Avenue de l'Agrobiopôle, F-31326 Castanet-Tolosan, France-2CNRS; EcoLab, F-31326 Castanet-Tolosan, France

(Received 1 October 2008; final version received 3 October 2008)

Drinking water, cowpea and maize grains were sampled in some potentially exposed agro-ecological areas in Togo and analysed for their contamination by some common organochlorine pesticides. A total of 19 organochlorine pesticides were investigated in ten subsamples of maize, ten subsamples of cowpea and nine subsamples of drinking water. Analytical methods included solvent extraction of the pesticide residues and their subsequent quantification using gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). Estimated daily intakes (EDIs) of pesticides were also determined. Pesticides residues in drinking water ($0.04\text{--}0.40\ \mu\text{g l}^{-1}$) were higher than the maximum residue limit (MRL) ($0.03\ \mu\text{g l}^{-1}$) set by the World Health Organization (WHO). Dieldrin, endrin, heptachlor epoxide and endosulfan levels ($13.16\text{--}98.79\ \mu\text{g kg}^{-1}$) in cowpea grains exceeded MRLs applied in France ($10\text{--}50\ \mu\text{g kg}^{-1}$). Contaminants' levels in maize grains ($0.53\text{--}65.70\ \mu\text{g kg}^{-1}$) were below the MRLs ($20\text{--}100\ \mu\text{g kg}^{-1}$) set by the Food and Agriculture Organization (FAO) and the WHO. EDIs of the tested pesticides ranged from 0.02% to 162.07% of the acceptable daily intakes (ADIs). Population exposure levels of dieldrin and heptachlor epoxide were higher than the FAO/WHO standards. A comprehensive national monitoring programme on organochlorine pesticides should be undertaken to include such other relevant sources like meat, fish, eggs and milk.

Keywords: drinking water; maize (*Zea mays*); cowpea (*Vigna unguiculata*); organochlorine pesticides residues; estimated daily intake (EDI)

Introduction

The Stockholm Convention on persistent organic pollutants (POPs) (Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE) 2001) was adopted in May 2001 by the international community as a response to the urgent need to reduce or eliminate sources and releases of these hazardous chemicals in order to protect human health and the environment from their adverse effects. Togo is party to the Stockholm Convention and has elaborated a national plan for the implementation of this treaty. The drawing of the national environmental contamination baseline is among others required in view of the evaluation of the effectiveness of the POPs reduction or elimination measures adopted by the country.

POPs include organochlorine pesticides like DDT, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlor, which have been widely used to control agricultural pests or disease vectors in Togo. Production and use of most POPs pesticides are banned in many countries throughout the world. Togo has taken a recent regulation to integrate this in the national law (Kolani et al. 2003).

POPs have been largely replaced by less persistent molecules as organophosphates, carbamates and pyrethroids. However, endosulfan, a persistent toxic substance, not yet listed in the POPs Convention, is still authorized in Togo for agricultural use in coffee (*Coffea* sp.) and cotton (*Gossypium* sp.) production. This practice leads to its illegal use by poor farmers for cowpea (*Vigna unguiculata*) production. In addition, crop rotation between cotton and maize (*Zea mays*), potentially exposes maize grains to POPs pesticides contamination (Schroll et al. 1994; Fismes et al. 2002).

Organochlorine pesticides resist chemical and biological degradation (Megharaj et al. 1997; Gevao et al. 2000), consequently they bioaccumulate in the food chain (Bernhoft et al. 1997; Ruus et al. 1999; Senthilkumar et al. 1999; Borga et al. 2001; Fisk et al. 2001). Humans may be exposed by the oral route to pesticides through both food and drinking water (Adeyeye and Osibanjo 1999; Badach et al. 2000; Harris et al. 2001; Chun and Kang 2003). Chronic low exposure levels to bioaccumulative pesticide residues can result in various severe pathologies or adverse effects including cancer, diabetes, endocrine

*Corresponding author. Email: gmawussi@gmail.com

disruption, reproductive failure or developmental effects (Fry 1995; Romieu et al. 2000; Chandra et al. 2001; Picard et al. 2003). The level of human exposure is related to the daily intake of contaminated foods and drinks, associated with the frequency of consumption of these products (Dagher et al. 1999). The population exposure risk could be high in Togo where staple foods like maize and cowpea grains are assumed to be potentially contaminated.

Economically, maize and cowpea have an important value in Togo. Their production is widely distributed throughout the country. In addition, rural populations depend on well and river water for drinking and other domestic water uses. The proof of significant contamination of drinking water and miscellaneous foodstuff in Togo by POPs pesticides was established by earlier work (Djaneyé-Boundjou et al. 2000). However, limited information is available on the health risk based on the exposure of the population to pesticides by food and water intake.

The objective of this study is to test the content of some common organochlorine pesticides in drinking water and in maize and cowpea grains, which are local staple foods, and to assess the health risk through estimated daily intakes as compared with acceptable daily intakes set by the Food and Agricultural Organization/World Health Organization (FAO/WHO).

Materials and methods

Sampling areas and samples collection

Maize and cowpea grain samples were collected from ten different important local markets in the 'Région des Plateaux' in Togo (Figure 1). This part of the country is the main producer of cotton, coffee and cocoa (*Theobroma cacao* L.), which are the principal cash crops. Moreover, food crops like leguminous plants and cereals are also produced in this region. Grains of the two species (maize and cowpea), not subjected to post-harvest pesticides treatments, were sampled from new harvest in August 2004 to ensure they were representative of the region, and free of pesticides used in post-harvest protection.

At each of the ten markets, five subsamples of 100 g of the different species were collected directly from five different farmers. The grain sample, representative of the region, was obtained by pooling these individual samples. Water samples were collected from the Anié River and the Mono River in the cotton production area and from five wells in the town of Adéta in the coffee and cocoa production area (Figure 1). Each final water sample (2.5 litres of volume) was a composite of five subsamples of 0.5 litres per site. All water samples were collected in early September 2004 in glass bottles and refrigerated at 4°C until extraction (48 h).

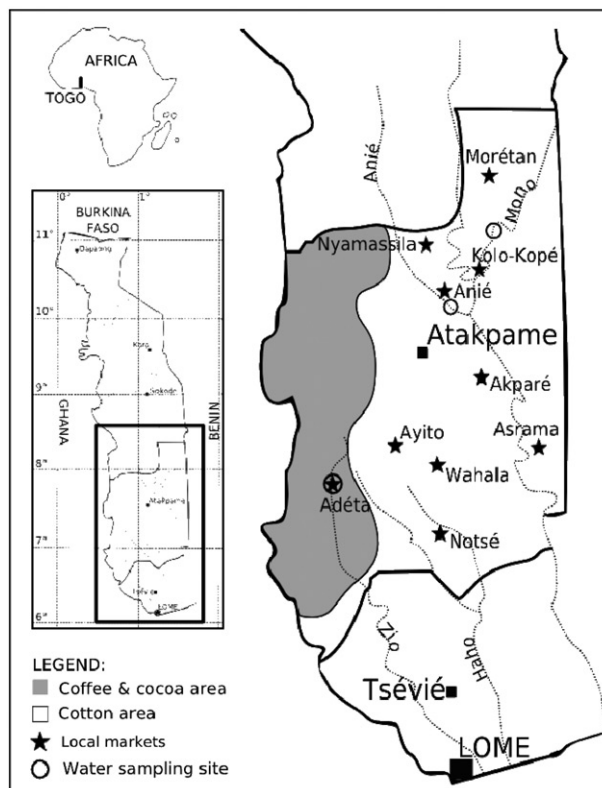


Figure 1. Agro-ecological map of Togo and retained sampling sites.

Reagents and solvents

Analytical grade reagents and solvents were used. Standard Pesticides-Mix 20 with 97.00–99.50% purity from Dr Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) was provided by Cluzeau Info Labo (Sainte-Foy-la-Grande, France). Florisil® cartridges used for purification were purchased from Waters Cooperation (Milford, MA, USA). Dichloromethane, hexane, acetone and anhydrous sodium sulphate were obtained from SDS (Solvant Documents Synthèse, Peypin, France). Diatomaceous earth (Hydromatrix®) was from Varian (Palo Alto, CA, USA).

Extraction of the pesticides residues

Pesticide residues in water samples were extracted by liquid–liquid extraction with dichloromethane (Hatrik and Tekel 1996). The 2.5-litre sample was fractionated in three subsamples which were placed in a separating funnel and mixed with 100 ml dichloromethane. The mixture was hand shaken for 30 min and allowed to settle for phase separation. The lower aqueous phase in the separating funnel was taken and extracted twice using 50 ml of dichloromethane. The combined organic extracts from each sample were filtered twice through a bed of anhydrous sodium sulphate to eliminate residual water and concentrated to dryness using

a Buchi rotary evaporator at 35–40°C. The dried extract was then dissolved in 1.5 ml hexane and kept in glass vials until GC/MS analysis.

Maize and cowpea grains were milled into flour which was subjected to extraction using an accelerated solvent extractor ASE 200 from Dionex (Salt Lake City, UT, USA) (Gan et al. 1999). Each sample of 5.36 g flour was mixed with 3.33 g of diatomaceous earth (Hydromatrix®), packed in a 22 ml cell and extracted for 5 min with acetone/dichloromethane (3:1 v/v) at 110°C, 1500 psi with an intermediate flush volume of 60% and for two cycles. The extract was washed with 30 ml of aqueous NaCl solution (0.060 g ml⁻¹), dried on anhydrous sodium sulphate and concentrated to about 2.5 ml in a rotary evaporator at 38°C before clean-up on a Florisil Sep-Pack® Cartridges using adapted method (Müller et al. 2000). Elution was performed with 20 ml hexane/diethylether (94:6 v/v), 10 ml hexane/acetone (9:1, v/v) and 20 ml hexane/acetone (1:1 v/v), respectively. The rate of elution was about 0.5 ml min⁻¹. The eluates were collected separately and evaporated individually using a Buchi rotary evaporator to about 1.0 or 1.5 ml residual solution ready to use for GC/MS analysis.

Analysis and quantification

All samples were analysed on a Hewlett-Packard 5890 Series II GC coupled to an HP MSD 5971 mass spectrometer operating in selected ion-monitoring (SIM) and electron-ionization modes (70 eV). The ions used in SIM were: γ -hexachlorocyclohexane (γ -HCH) (170, 181, 183, 219); heptachlor (100, 272, 135); aldrin (66, 79, 261, 263); heptachlor epoxide (81, 263, 353); 2,4-DDE and 4,4-DDE (246, 248); α -endosulfan (135, 197, 207, 241); dieldrin (79, 81, 261, 263, 279); 2,4-DDD and 4,4-DDD (165, 235, 237); endrin (81); β -endosulfan (197, 241); 2,4-DDT and 4,4-DDT (165, 235, 237). Chromatographic conditions were HP5MS capillary column (30 m \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness), injection in splitless mode, 1 μ l of extract. The oven temperature was programmed as follows: starting temperature at 45°C for 1 min, followed by a first ramp of 35°C min⁻¹ up to 190°C, a second ramp at 3°C min⁻¹ up to 250°C held for 3 min and a third ramp at 20°C min⁻¹ to 280°C held for 15 min. The injector and the detector were maintained at 280°C and 300°C, respectively. The carrier gas was high purity helium at a constant flow rate of 0.8 ml min⁻¹. Identification of organochlorine pesticides was performed using a solution of pesticide standards. They were quantitatively determined by external standard method, comparing the peak area of each detected constituent with the same individual component in the corresponding calibration curve.

Analytical quality assurance

In preliminary validation studies the samples of water, maize and cowpea were spiked with a solution containing a mixture of the pesticide standards. Blank and recovery experiments were run for the various sample types using standard methods (Åkerblom 1995; Adou et al. 2001). In most cases the detected pesticide recoveries ranged between 70% and 115% with an acceptable repeatability standard deviation (SD) < 12%. Data were not corrected according to the recovery rate. The limit of detection (LOD) was set at a signal-to-noise ratio equal to three and the limit of quantification (LOQ) was determined to be three times the LOD.

Determination of estimated daily intake (EDI)

The dietary intake of pesticide is obtained by multiplying the residue level in food by the estimated amount of that food consumed per day. The total dietary intake of the pesticide residue is then obtained by summing up intakes from all foods and drinking water containing this residue (WHO 1997). In this study the average quantity of the edible parts of maize and of cowpea ingested per day by an adult of 55 kg was estimated via the method previously described by Sawaya et al. (1999). The estimated values were 350 g for maize and 45 g for cowpea according to the inquiry data collected from 50 households in five localities in 'Région des plateaux'. The volume of drinking water daily intake per person depends on physical activity: exercises intensity and duration, heat acclimatization, and individual sweat rate (Montain et al. 1995). The WHO estimated that adult females needed 2.2 l day⁻¹ and males 2.9 l day⁻¹ under average conditions. Under tropical climate, the manual labour increases the need in drinking water up to 4.5 litres for both men and women (Howard and Bartran 2003). To obtain the mean quantity of daily drinking water intake, the average value (litres) of these data was used:

$$\frac{(2.2 + 2.9 + 4.5 + 4.5)}{4} = 3.52 \text{ litres.}$$

Adjusted total estimated daily intake (EDI) was calculated using the pesticide residue data, the food and drinking water consumption and the correction factors that take into account the effects of food processing and cooking on residue levels (WHO 1997). In the absence of domestic correction factors, non-adjusted EDI was calculated as follows:

$$\begin{aligned} \text{EDI}_{\text{FOOD}} (\mu\text{g kg}^{-1} \text{ body weight day}^{-1}) \\ = \text{RL} (\mu\text{g kg}^{-1}) \times \text{FC} (\text{kg kg}^{-1} \text{ body weight day}^{-1}), \end{aligned}$$

where RL is the residue level in food consumed; and FC is the quantity of food consumed.

$$\text{EDI}_{\text{DRINKING WATER}} (\mu\text{g kg}^{-1} \text{ body weight day}^{-1}) \\ = \text{RL} (\mu\text{g l}^{-1}) \times \text{DW} (\text{l kg}^{-1} \text{ body weight day}),$$

where RL is the residue level in drinking water; and DW is the volume of drinking water intake.

$$\text{EDI}_{\text{TOTAL}} = \Sigma \text{EDI}_{\text{FOOD}} + \text{EDI}_{\text{DRINKING WATER}}.$$

Results and discussion

The average recoveries for all compounds ranged between 70% and 115%. Repeated analysis gave a standard deviation <12%. Detection limits varied for the different pesticides and samples. They were generally in the range 0.002–0.006 $\mu\text{g l}^{-1}$ in water,

0.2–1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in maize (dry weight), and 0.5–3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in cowpea (dry weight).

Levels of pesticide residues in tested food and water samples

Cowpea grains, maize grains and drinking water samples analysed for pesticide residue level showed that all samples were contaminated by DDT and its metabolites (DDE, DDD), γ -HCH, aldrin, dieldrin, endrin, α - and β -endosulfan, heptachlor and heptachlor epoxide. The average concentrations of the pesticides detected are shown in Tables 1 and 2.

Regarding drinking water contamination, the DDT residue levels in Anié River (0.11 $\mu\text{g l}^{-1}$) and Mono River (0.15 $\mu\text{g l}^{-1}$) were found to be higher than the maximum residue limit (0.1 $\mu\text{g l}^{-1}$) of European Union Council Directive (98/83/EC) (European Union 1998). However, these values were below the MRL (2 $\mu\text{g l}^{-1}$)

Table 1. Means, standard deviations of organochlorine pesticide residues detected in drinking water of Anié River, Mono River ad wells in Adéta town ($\mu\text{g l}^{-1}$).

Detected pesticide	Anié River	Mono River	Well at Adéta	Guideline values of the World Health Organization (WHO)	European Union Council Directive
2,4-DDE	0.03 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00		
4,4-DDE	0.02 \pm 0.00	–	0.00		
2,4-DDD	0.00	–	0.00		
4,4-DDT	0.11 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.03 \pm 0.00	2	0.1
Aldrin	–	0.07 \pm 0.00	–	0.03	0.03
Dieldrin	0.04 \pm 0.00	0.06 \pm 0.00	0.02 \pm 0.00	0.03	0.03
Endrin	–	0.13 \pm 0.01	–		0.1
Heptachlor	0.24 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01	0.03	0.03
Hepta epoxide	0.17 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.09 \pm 0.00	0.03	0.03
α -Endosulfan	0.32 \pm 0.01	0.29 \pm 0.01	0.05 \pm 0.00		0.1
β -Endosulfan	0.25 \pm 0.01	0.40 \pm 0.02	0.02 \pm 0.00		0.1

Table 2. Means, standard deviations of organochlorine pesticide residues detected in maize and cowpea grains ($\mu\text{g kg}^{-1}$).

Detected pesticides	Cowpea (<i>Vigna unguiculata</i>)	French ^a standard	Maize (<i>Zea mays</i>)	Limit values ^b of the Food and Agricultural Organization/World Health Organization (FAO/WHO)
γ -HCH	4.95 \pm 0.5	10	6.35 \pm 0.8	500
2,4-DDE	14.57 \pm 0.9		2.18 \pm 0.2	
4,4-DDE	15.76 \pm 1.2		5.29 \pm 0.3	
2,4-DDD	11.66 \pm 1.0		–	
4,4-DDD	4.71 \pm 0.4		–	
4,4-DDT	12.49 \pm 1.1	50	21.79 \pm 1.3	100
Aldrin	6.00 \pm 0.7	10	0.52 \pm 0.01	20
Dieldrin	39.50 \pm 1.2	10	18.09 \pm 1.2	20
Endrin	13.16 \pm 1.1	10	–	20
Heptachlor	3.92 \pm 0.6	10	1.72 \pm 0.02	20
Hepta epoxide	48.88 \pm 1.2	10	17.65 \pm 1.1	20
α -Endosulfan	98.80 \pm 1.3	50	34.74 \pm 1.2	100
β -Endosulfan	88.51 \pm 1.2	50	65.71 \pm 1.2	100

Notes: ^aMaximum residue limits ($\mu\text{g kg}^{-1}$) applied in France.

^bMaximum residue limits ($\mu\text{g kg}^{-1}$) prescribed jointly by the FAO/WHO.

set by the WHO (1998). The residual level of DDT ($0.03 \mu\text{g l}^{-1}$) in well water at Adéta was below the MRL of the European Union Council Directive and WHO limit (0.1 and $2 \mu\text{g l}^{-1}$, respectively) (Table 1). The concentration of aldrin ($0.07 \mu\text{g l}^{-1}$) in water of Mono River exceeded the MRL ($0.03 \mu\text{g l}^{-1}$) of the European Union Council Directive. It was the same for endrin contamination ($0.13 \mu\text{g l}^{-1}$). Average residues of dieldrin (0.04 – $0.06 \mu\text{g l}^{-1}$), heptachlor (0.11 – $0.24 \mu\text{g l}^{-1}$), and heptachlor epoxide (0.15 – $0.17 \mu\text{g l}^{-1}$) in freshwater from Anié and Mono rivers exceeded the MRL ($0.03 \mu\text{g l}^{-1}$) of the European Union Council Directive and WHO. Likewise, α -endosulfan (0.29 – $0.32 \mu\text{g l}^{-1}$) and β -endosulfan (0.25 – $0.40 \mu\text{g l}^{-1}$) residues were higher than the MRL of the European Union ($0.1 \mu\text{g l}^{-1}$). In well water from Adéta, the dieldrin residue level ($0.02 \mu\text{g l}^{-1}$) was close, but below the MRL ($0.03 \mu\text{g l}^{-1}$). In the same manner, the residue levels of α -endosulfan ($0.05 \mu\text{g l}^{-1}$) and β -endosulfan ($0.02 \mu\text{g l}^{-1}$) were below the MRL ($0.1 \mu\text{g l}^{-1}$). Conversely, the residue levels of heptachlor ($0.33 \mu\text{g l}^{-1}$) and heptachlor epoxide ($0.09 \mu\text{g l}^{-1}$) in this well water exceeded the MRL ($0.03 \mu\text{g l}^{-1}$). Similar values ($>0.1 \mu\text{g l}^{-1}$) have been reported by Awofolu and Fatoki (2003) in freshwater of Buffalo, Keiskamma, Swartkops and Tyume rivers in South Africa. Well water pesticide concentrations in Adéta were lower than those reported by Cissé et al. (2003) in well water in Senegal (2, 4-DDT: $5.58 \mu\text{g l}^{-1}$; 4, 4-DDT: $9.72 \mu\text{g l}^{-1}$; α -endosulfan: $1.26 \mu\text{g l}^{-1}$; β -endosulfan: $1.84 \mu\text{g l}^{-1}$; aldrin: $1.70 \mu\text{g l}^{-1}$; heptachlor: $3.43 \mu\text{g l}^{-1}$). In Tanzania, Kishimba et al. (2004) found DDT at $9 \mu\text{g l}^{-1}$ in well water. In the neighbouring Ghana, Ntow (2005) detected endosulfan at a 0.036 ng l^{-1} level in water from Lake Volta.

In Togo, the sources of drinking water for rural populations are wells located within the household areas and the rivers close to farms and/or villages. The presence of pesticide residues in well water presumably supported the assumption of the vertical mobility of organochlorine pesticides from various sources in the soil profile (Piao et al. 2004). The overall amount of DDTs, aldrin, dieldrin, heptachlor, heptachlor epoxide α -endosulfan and β -endosulfan are $1.19 \mu\text{g l}^{-1}$ in Anié River, $1.42 \mu\text{g l}^{-1}$ in Mono River and $0.58 \mu\text{g l}^{-1}$ in well water from Adéta. These values exceeded the MRL ($0.5 \mu\text{g l}^{-1}$) applied in European countries.

The average residue levels of DDT and its metabolites (2.18 – $21.79 \mu\text{g kg}^{-1}$), γ -HCH ($6.35 \mu\text{g kg}^{-1}$), aldrin ($0.52 \mu\text{g kg}^{-1}$), dieldrin ($18.09 \mu\text{g kg}^{-1}$), heptachlor ($1.72 \mu\text{g kg}^{-1}$), heptachlor epoxide ($17.65 \mu\text{g kg}^{-1}$), α -endosulfan ($34.74 \mu\text{g kg}^{-1}$) and β -endosulfan ($65.71 \mu\text{g kg}^{-1}$) found in maize grains were below the maximum residue limits recommended by the FAO/WHO (Table 2). In cowpea grains, the average residual levels of DDT and its metabolites

(4.71 – $15.76 \mu\text{g kg}^{-1}$), γ -HCH ($4.96 \mu\text{g kg}^{-1}$), aldrin ($6.00 \mu\text{g kg}^{-1}$) and heptachlor ($3.92 \mu\text{g kg}^{-1}$) were also below the MRLs allowed in France (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche France (MAPF) 2002). Conversely, the mean residue levels of dieldrin, endrin, heptachlor epoxide and α - and β -endosulfan in cowpea grains exceeded the MRLs applied in France. Their concentrations ranged from 13.16 to $98.80 \mu\text{g kg}^{-1}$ (Table 2). Previous studies on food contamination by pesticides in Togo (Djaneyé-Boundjou et al. 2000) showed higher residues levels in edible grains (maize, sorghum, rice and cowpea) DDT (20 – $300 \mu\text{g kg}^{-1}$), endrin (50 – $70 \mu\text{g kg}^{-1}$), dieldrin (10 – $63 \mu\text{g kg}^{-1}$), aldrin (3 – $27 \mu\text{g kg}^{-1}$) and heptachlor (49 – $490 \mu\text{g kg}^{-1}$).

The experimental data in Table 2 indicate that cowpea grains were more contaminated than maize grains in general. This is consistent with continued direct use of the tested pesticides in cowpea cultivation to control various insect pests (Oloude et al. 1995). Furthermore, soil contamination due to pesticides persistence is known to lead to uptake by subsequent crop after a previous use (Schroll et al. 1994; Fismes et al. 2002). This contamination route is likely the one leading to maize grain contamination as found in this work since this crop is not directly treated by pesticides in local cropping practices.

Assessment of exposure

The presence of organochlorine pesticides in drinking water and food indicates a current exposure of humans and the environment to these hazardous compounds. The estimated daily intake (EDI) of individual pesticide varied within the range of 0.004 – $0.52 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$. These findings are comparable with those (0.007 – $0.7 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) previously mentioned for Russia (Sofina et al. 1991/1999; Barkatina et al. 1999). The EDI of DDTs ($0.25 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) was significantly lower than previous literature reports: $1.42 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ in Japan (Nakagawa et al. 1995) and $1.22 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ in Spain (Herrera et al. 1996). The highest EDIs were found in this study for dieldrin (0.149 – $0.155 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) and heptachlor epoxide (0.158 – $0.162 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$). These values represented 149–155% of the acceptable daily intake (ADI) for dieldrin and 158.17–162.07% of ADI for heptachlor epoxide. The exposure level of the Togolese population to dieldrin and heptachlor epoxide exceeded the minimum level leading to health risk set by the FAO/WHO (1998).

It is known that fatty food like fish, meat, eggs and milk accumulate organochlorine pesticides and may be making a more significant contribution to residue exposure than water, maize or cowpea. However, in the investigated areas, the consumption of fish and meat is very limited. In addition, milk and eggs are scarcely part of the diet.

Conclusion

Drinking water, maize and cowpea grains contamination by various organochlorine pesticides (most of which are currently termed as persistent organic pollutants) such as γ -HCH, DDTs, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlor, heptachlor epoxide, and endosulfan were determined to estimate their human daily intake in cash crop (cocoa, coffee, cotton) cultivation areas in Togo. The findings indicated that concentrations of organochlorine pesticides detected in water from the Anié River (cotton area), the Mono River (cotton area) and wells at Adéta (cocoa and coffee area) were higher than the maximum residue limits recommended by the European Union and the WHO. In comparison with the French standard, the cowpea grains tested were highly contaminated by dieldrin, endrin, heptachlor epoxide, and endosulfan. Dieldrin and heptachlor epoxide were the most worrying of the tested pesticides due to their higher EDI values. The experimental findings support the assumption that maize is more likely to be the principal route of pesticide intake by humans in the investigated areas and very probably throughout the country. Nevertheless, daily pesticide intake of even small amounts of fatty food like fish, meat, eggs and milk is an issue of concern to take into account in a broader monitoring programme of organochlorines related to food security. This study is a useful starting point for exposure assessment and the evaluation of dietary exposure from different relevant sources making up the total exposure in studied localities.

Acknowledgements

This study was financially supported by the Service de Coopération et d'Action Culturelle du gouvernement français à Lomé. The authors wish to thank Dr Mianikpo Sogbedji (Fulbright Research fellow at Cornell University) for his precious contribution, and Damien Devault and Carole Castaing for their helpful technical assistance.

References

- Adeyeye A, Osibanjo O. 1999. Residues of organochlorine pesticides in fruits, vegetables and tubers from Nigerian markets. *Sci Total Environ.* 231:227–233.
- Adou K, Bontoyan WR, Sweeney PJ. 2001. Multiresidue method for the analysis of pesticides residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography. *J Agricult Food Chem.* 49:4153–4160.
- Åkerblom M. 1995. Environmental monitoring of pesticide residues. Guidelines for the SADC Region. SADC ELMS monitoring techniques series. Vol. 3. Lesotho: Maseru.
- Awofolu RO, Fatoki OS. 2003. Persistent organochlorine pesticide residues in freshwater systems and sediments from the Eastern Cape, South Africa. *Water SA* 29: 323–330. Available from <http://www.wrc.org.za/>
- Badach H, Nazimek T, Kaminski R, Turski W. 2000. Organochlorine pesticides concentration in the drinking water from regions of extensive agriculture in Poland. *Ann Agricult Environ Med.* 7:25–28.
- Badach H, Nazimek T, Kaminski R, Turski W. 2000. Organochlorine pesticides concentration in the drinking water from regions of extensive agriculture in Poland. *Ann Agricult Environ Med.* 7:25–28.
- Barkatina EN, Pertsovsky AL, Murokh VI, Kolomiets ND, Shulyakovskaya OV, Venger ON, Makarevich VI. 1999. Organochlorine pesticide residues in basic food products and diets in the Republic of Belarus. *Bull Environ Contam Toxicol.* 63:235–242.
- Bernhoft A, Wiig O, Skaare JU. 1997. Organochlorines in polar bears (*Ursus maritimus*) at Svalbard. *Environ Poll.* 95:159–175.
- Borga K, Gabrielsen GW, Skaare JU. 2001. Biomagnification of organochlorines along a Barents Sea food chain. *Environ Poll.* 113:187–198.
- Chandra R, Prasad S, Srivastava S, Siddiqui MKJ. 2001. Acute interactive effects of lindane and dimethoate on cerebral and peripheral tissues in rats. *Toxicol Environ Chem.* 82:23–31.
- Chun OK, Kang HG. 2003. Estimation of risks of pesticide exposure, by food intake, to Koreans. *Food Chem Toxicol.* 41:1063–1076.
- Cissé I, Tandia AA, Fall ST, Diop E-HS. 2003. Usage incontrôlé des pesticides en agriculture périurbaine: cas zone des Niayes au Sénégal. *Cahiers Etudes Recherches Francophones Agricultures.* 12:181–186.
- Dagher SM, Talhouk RS, Nasrallah SS, Tannous RI, Mroueh SM. 1999. Relationship of dietary intake to DDE residues in breast milk of nursing mothers in Beirut. *Food Addit Contam.* 16:307–312.
- Djaneyé-Boundjou G, Bawa LM, Boukari Y. 2000. Organochlorinated pesticide residues in vegetable food. *Microbiologie Hygiène Alimentaire.* 12:42–46.
- European Union. 1998. Directive on the quality of water intended for human consumption, 98/83/EC. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Fisk AT, Hobson KA, Norstrom RJ. 2001. Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the northwater polynya marine food web. *Environ Sci Tech.* 35:732–738.
- Fismes J, Perrin-Ganier C, Empereur-Bissonnet P, Morel JL. 2002. Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J Environ Qual.* 31:1649–1656.
- Food and Agricultural Organization/World Health Organization (FAO/WHO). 1998. Pesticide residues in food, maximum residue limits. *Codex Alimentarius.* 2nd ed. Vol. 2B. Rome: FAO/WHO.
- Fry DM. 1995. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environ Hlth Perspect.* 103(Suppl. 7):165–171.
- Gan J, Papiernik SK, Koskinen WC, Yates SR. 1999. Evaluation of accelerated solvent extraction (ASE) for analysis of pesticide residues in soil. *Environ Sci Tech.* 33:3245–3253.

- Gevao B, Semple KT, Jones KC. 2000. Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ Poll.* 108:3–14.
- Harris CA, Renfrew MJ, Woolridge MW. 2001. Assessing the risks of pesticide residues to consumers: recent and future developments. *Food Addit Contam.* 18:1124–1129.
- Hatrik S, Tekel J. 1996. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. *J Chromatograph. A* 733:217–233.
- Herrera A, Arino A, Conchello P, Lazzaro R, Bayarri S, Perez-Arquillue C, Garrido MD, Jodral M, Pozo R. 1996. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from Spanish fatty food stuffs. *Bull Environ Contamin Toxicol.* 56:173–177.
- Howard G, Bartram J. 2003. Domestic water quantity, service, level and health. WHO/SDE/WSH/03.02. Geneva (Switzerland): World Health Organization.
- Kishimba MA, Henry L, Mwevura H, Mmochi AJ, Mihale M, Hellar H. 2004. The status of pesticide pollution in Tanzania. *Talanta.* 64:48–53.
- Kolani EG, Baba G, Nenonene AY, Amouzou E. 2003. Rapport d'inventaire national préliminaire des quantités de pesticides POPs au Togo.
- Megharaj M, Jovicic A, Boul HL, Thiele JH. 1997. Recalcitrance of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene (DDE) to cometabolic degradation by pure cultures of aerobic and anaerobic bacteria. *Archiv Environ Contamin Toxicol.* 33:141–146.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche France (MAPF). 2002. Référentiel des Limites Maximales applicables aux résidus de pesticides dans ou sur les produits d'origine végétale en France. Available from: <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>
- Mountain SJ, Latzka WA, Sawka MN. 1995. Control of thermoregulatory sweating is altered by hydration level and exercise intensity. *J Appl Physiol.* 79:1434–1439.
- Müller JF, Duquesne S, Ng J, Shaw GR, Krrishnamohan K, Manonmanii K, Hodge M, Eaglesham GK. 2000. Pesticides in sediments from Queensland irrigation channels and drains. *Mar Poll Bull.* 41:294–301.
- Nakagawa R, Nirakava H, Hori T. 1995. Estimation of 1992–1993 dietary intake of organochlorine and organophosphorus pesticides in Fukuoka Japan. *J AOAC Int.* 78:921–929.
- Ntow WJ. 2005. Pesticide residues in Volta Lake, Ghana. *Lake Reservoir: Res Manage.* 10:243–248.
- Oloude O, Houmey NV, Koussougbo MK, Samlaba EY. 1995. Rapport provisoire de recherche sur l'utilisation des pesticides modernes et naturels en milieu paysan au Togo. INADES-Formation Lomé/Togo.
- Piao XY, Wang XJ, Tao S, Shen WR, Qin BP, Sun R. 2004. Vertical distribution of organochlorine pesticides in farming soils in Tianjin area. *Res Environ Sci.* 17:26–29, [in Chinese].
- Picard A, Palavan G, Robert S, Pesando D, Ciapa B. 2003. Effect of organochlorine pesticides on maturation of starfish and mouse oocytes. *Toxicol Sci.* 73:141–148.
- Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE). 2001. Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POPs). Texte Annexes October.
- Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber J, Dewailly E. 2000. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol.* 152:363–370.
- Ruus A, Ugland KI, Espeland O, Skaare JU. 1999. Organochlorine contaminants in a local marine food chain from Jarfjord, Northern Norway. *Mar Environ Res.* 48:131–146.
- Sawaya WN, Al-Awadhi FA, Saeed T, Al-Omair A, Ahmad N, Husain A, Khalafawi S, Al-Zenki S, Al-Amiri H, Al-Otaibi J, Al-Saqer J. 1999. Dietary intake of pesticides: State of Kuwait total diet study. *Food Addit Contam.* 16:473–480.
- Schroll R, Bierling B, Cao G, Dörfler U, Lahaniati M, Langenbach T, Scheunert I, Winkler R. 1994. Uptake pathways of organic chemicals from soil by agricultural plants. *Chemosphere.* 28:297–303.
- Senthilkumar K, Kannan K, Sinha RK, Tanabe S, Giesy JP. 1999. Bioaccumulation profiles of polychlorinated biphenyl congeners and organochlorine pesticides in Ganges river dolphins. *Environ Toxicol Chem.* 18:1511–1520.
- Sofina LI, Kolycheva SS, Zorya NYu, Aronchik AA. 1991. Studying contamination by pesticides of food-stuffs in regions of Krasnodar territory. *The problems of nourishment.* 4:36–37.
- World Health Organization (WHO). 1997. Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues (revised) prepared by the Global Environment Monitoring System-Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food) in collaboration with the Codex Committee on Pesticide Residues; [cited 2006 Jul 6]. Available from: <http://www.who.int/foodsafety/publications>
- World Health Organization (WHO). 1998. Guidelines for drinking water quality. 2nd ed. Addendum to Vol. 2. Health criteria and other supporting information. Geneva (Switzerland): World Health Organization; 201–208.



ISSN 0972-060X

Chemical Composition and Insecticidal Activity of *Aeollanthus pubescens* Essential Oil Against Coffee Berry Borer (*Hypothenemus hampei* Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae)

Gbénonchi Mawussi ^{1*}, Gérard Vilarem ², Christine Raynaud ²,
Georges Merlina ^{3(a,b)}, Agbéklodji K. Gbongli ⁴, Komlan Wegbe ⁴, Komla Sanda ¹

¹ Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale,
Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, BP. 1515, Lomé Togo

² Laboratoire de Chimie Agro-industrielle UMR 1010 INRA/INP-ENSIACET, CATAR-
CRITT Agroressources 118 Route de Narbonne-31077 Toulouse Cedex 4, France

^{3-a} Université de Toulouse, UPS, INP, EcoLab (Laboratoire d'écologie fonctionnelle),
ENSAT, Avenue de l'Agrobiopôle, F-31326 Castanet-Tolosan, France

^{3-b} CNRS ; EcoLab, F-31326 Castanet-Tolosan, France

⁴ Laboratoire d'Entomologie du Centre de Recherche Agronomique
en Zone Forestière BP 90 Kpalimé Togo

Received 11 June 2008; accepted in revised form 19 December 2008

Abstract: Essential oil extracted from aerial parts of *Aeollanthus pubescens* was analysed for its chemical composition and investigated for possible insecticidal activity against *Hypothenemus hampei* (Ferrari), the major pest of coffee throughout the world. The GC and GC-MS analyses indicated that linalool (56.4 %) and fenchone (28.6 %) were the main components of the tested *A. pubescens* oil sample. Emulsions of crude essential oil of *A. pubescens* exhibited adulticidal activity against coffee berry borer and response was being dose-related. The LD₅₀ were respectively 220 ppm for *A. pubescens* essential oil and 450 ppm for endosulfan, the conventional insecticide used as standard. These preliminary findings indicate that the tested volatile oil have a potential insecticidal activity and can be used as active ingredient in natural and sustainable pesticide within an Integrated Pest Management approach to combat coffee berry borer.

Key-words: *Hypothenemus hampei*, insect pest, *Aeollanthus pubescens*, essential oil, insecticidal activity.

Introduction: The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari), is the most important coffee pest throughout the world and can be found in several coffee producing

*Corresponding author (Gbénonchi Mawussi)

E- mail: < gmawussi@gmail.com >

countries including Togo. The insect pest bores the bean, enters, feeds and reproduces inside the seed decreasing coffee quality and its weight. Several biological control agents, including parasitoids like *Cephalonomia stephanoderis* Betrem (*Hymenoptera: Bethyridae*) and *Phymastichus coffea* LaSalle (*Hymenoptera: Eulophidae*), have been reported as natural enemies of the coffee berry borer¹ but they do not satisfactorily limit *H. hampei* population growth in coffee plantations in Togo where an organochlorine insecticide, endosulfan, is still largely applied to control the pest. This chemical control is a very limited option due to the economic situation of small holder coffee growers, the development of resistance to endosulfan by the coffee berry borer², the health and environmental concerns inherent to the use persistent toxic substances.

Considering the current context of international trade, with more and more binding regulation on pesticides residues in foodstuff leads to a growing interest in the use of less toxic pesticides like those from plant origin including essential oils. Insecticidal activities of local aromatic plants essential oils against stored-product insect were carried out^{3,4}.

In continuing to explore indigenous plants advantages such investigation, our aim in this work was to study the chemical composition and insecticidal properties of *Aeollanthus pubescens* (Lamiaceae) essential oil against *H. hampei*.

Material and Methods

Plant material and volatile oil isolation: Aerial parts (leaves) of *A. pubescens* were harvested in August 2006 in Togo. This aromatic species was authenticated by Pr. Akpagana at the "Laboratoire de Botanique et d'Ecologie Végétale, Université de Lomé", where Voucher specimen was stored in the Herbarium. A sample (50 g) of air-dried plant material was extracted by the hydro-distillation technique for 2 hours in a modified Clevenger-type apparatus⁵. The extracted crude essential oil was stored in hermetically sealed dark glass flasks with rubber lids, covered with aluminium foil to protect the contents from light and kept under refrigeration at 4°C until use without any prior purification.

Essential oil analyses: In order to establish its percentage composition, the essential oil sample was analysed on a GC Varian 3300 type chromatograph equipped with FID. An apolar capillary column DB-5 (30 m x 0.25 mm i.d.; film thickness 0.25 µm) and on a polar column Supelcowax 10 with the same characteristics as above mentioned were used. The DB-5 column temperature was programmed from 50°C (5 min), 50°C to 250°C at the rate of 2°C/min. and Supelcowax 10 from 50°C (5 min.), 50°C to 200°C at 2°C/min. The injector and detector temperatures were respectively 250°C and 300°C. The carrier gas was helium at a flow rate of 1.50 ml/min. Sample (0.2 µl) of non diluted essential oil and standards were injected manually. The GC-MS analysis was carried out on a Hewlett Packard 5890 series II chromatograph, coupled with a mass spectrometer of the Hewlett Packard 5971 series type operating in the EI mode at 70 eV. The capillary column type was DB5-MS (30 m x 0.25 mm i.d.; film thickness 0.25 µm). The amount of samples injected and GC-MS parameters were the same as above.

The components were identified based on the comparison of their relative retention time and mass spectra with those of NIST⁶ and Wiley⁷ libraries data of GC-MS system,

literature data ^{8,9} and standards of the main components. The results were also confirmed by the comparison of the compounds and co-injected standards elution order with their relative calculated retention indices on non polar phases reported in the literature ⁹.

Insects collection: Natural populations of insect pest were obtained from infested cherries collected from coffee plantations. These cherries were stored in emergence cages in the laboratory and emerged *H. hampei* adults were used for experiments.

:

Bioassay: The insecticidal activity of tested essential oil was evaluated through dose-response experiment by direct contact application in laboratory conditions using five doses: 100, 180, 320, 560 and 1000 ppm (v/v). These doses were obtained by crude essential oil emulsion in sterile distilled water. Two droplets of surfactant were added to ensure complete emulsification of oil in water. Three controls were used like two negative ones: distilled water and emulsifier (giving mortality base line) and one positive: a commercial insecticide, endosulfan (EC 500 g L⁻¹). The adult insects were introduced in glass flask (3.0 cm internal diameter and 5.0 cm height), the inner side of which was first impregnated with 100 µL of testing products. Experimental unit involved 30 insects per flask for each dose and experiments were carried out in five replicates. Glass flasks were covered with fine cloth to prevent the insects from flying away. The bioassays were carried out in laboratory (temperature 25°C, relative humidity 60 %) following a completely randomized device. Mortality rate was recorded after 24-h exposure and data corrected using the Abbott's formula ¹⁰ as recommended by WHO and FAO for insecticides testing:

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

Where: *Mc*: corrected mortality (%); *Mo*: mortality observed in the test (%); *Me*: average of mortality base line recorded in the negative control (water & surfactant) (%).

Statistical analysis: The software package STATISTICA Module Switcher version 5.1 was used. The percentage mortality was determined and transformed to arcsine square-root values. The data were submitted to variance analysis (ANOVA) to determine the difference between the treatments. When appropriate the treatment means were compared and discriminated by Newman and Keuls's test ($P < 0.05$). The means of untransformed data are reported. The lethal dose of tested substance which kills 50 % of the population (LD_{50}) was calculated using Probit analysis ¹¹.

Results and discussion

Essential oil chemical composition: Essential oil sample analysed consisted predominantly of monoterpenes (Table 1). Nineteen compounds were identified representing 97.4 % of the detected constituents which included 94.6 % of monoterpenes and less than 3 % of sesquiterpenes. Linalool (56.4 %) and fenchone (28.6 %) were the major constituents.

The linalool/fenchone chemotype of *A. pubescens* essential oil as found in this work is very different from those previously reported ^{12,13}. This probably represents an entirely

new chemotype, since this type of essential oil compositional pattern has never been reported for *A. pubescens* leaves essential oil according to our knowledge.

Dose-response bioassay: Tested volatile oil did kill the coffee berry borer like the conventional insecticide, endosulfan (Figure 1). But none of the experimented doses led to 100 % mortality of the insect pest neither with the volatile oil nor with the reference commercial pesticide (Table 2). There are significant differences between the mortality levels at $P < 0.05$ (ANOVA) according to the dose applied (Table 2). For products, the higher the dose, the higher the resulting insect mortality. Conversely, ANOVA does not reveal statistically a significant difference between mortality of the populations subjected to distilled water and surfactant. It means that two droplets of emulsifier do not have a lethal effect on the insect pest.

LD_{50} was 220 ppm for *A. pubescens* essential oil while LD_{50} value recorded for the commercial positive control, endosulfan was 450 ppm. In this study, insecticidal activity of volatile oil could be attributed to the contact and fumigant effects.

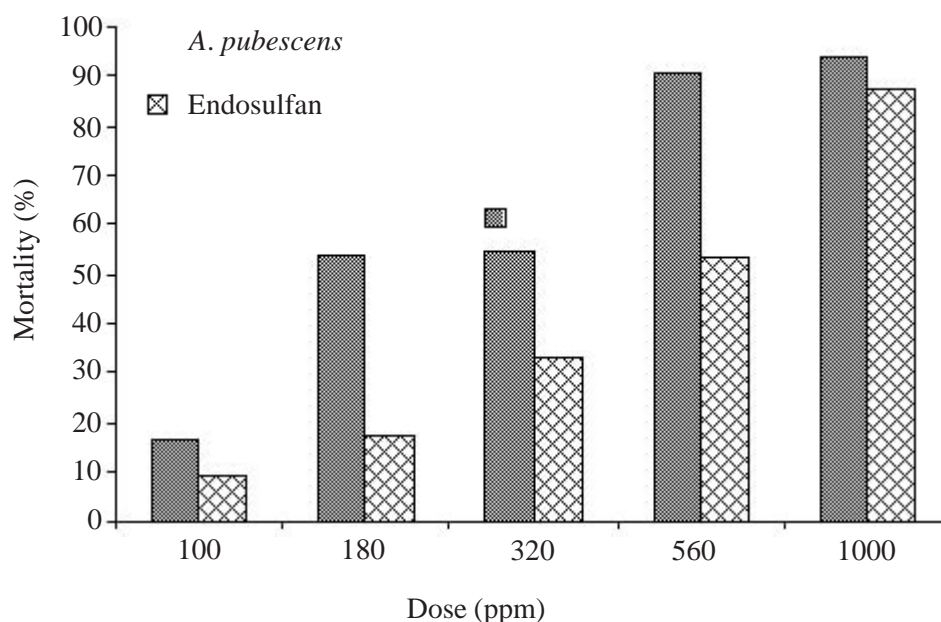


Fig. 1. Mortality of coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) treated at different doses with *Aeollanthus pubescens* essential oil and endosulfan

Conclusion: In this work, we have investigated chemical composition and for the first time insecticidal activity of *Aeollanthus pubescens* essential oil against coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*), the most important insect pest menacing coffee production throughout the world. The tested essential oil showed great promise for the botanical pesticides to control coffee berry borer.

Acknowledgements: The authors wish to thank Dr Koffi Koba (Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale, Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé) for his precious contribution, his valuable suggestions and keen interest shown during this work.

References

1. **Vega, F.E., Mercadier, G., Damon, A., Kirk, A. (1999).** Natural enemies of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) in Togo and Côte d'Ivoire, and other insects associated with coffee beans. *African Entomol.*, 7: 243-248.
2. **Brun, L.O., Marcillaud, C., Gaudichon, V., Suckling, D.M. (1989).** Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. *J. Econ. Entomol.*, 82: 131-1316.
3. **Glitho, I.A., Ketoh, G.K., Koumaglo, K.H. (1997).** Effets de quelques Huiles Essentielles sur l'activité reproductrice de *Callosobruchus maculatus* Fab. *Ann. Univ. Ouagadougou*, 5: 174-185.
4. **Ketoh, G.K., Glitho, I.A., Koumaglo, H.K., Garneau, F.-X. (2000).** Evaluation of essential oils from six plants in Togo for *Callosobruchus maculatus* F. pest control. *Insect Sci. Appl.*, 20, 45-49.
5. **Craveiro, A.A., Matos, F.J., Alencar, J.W. (1976).** A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. *J. Chem. Ed.* 53: 652.
6. **National Institute of Standards and Technology. (1992).** Mass spectral data-base. US Department of Commerce, Washington, DC.
7. **McLafferty, F.W. (1994).** The Wiley Registry of Mass Spectral Data; 6th ed. John Wiley and Sons, New York, NY.
8. **Kondjoyan, N., Berdagué, J.L. (1996).** A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds: Ed. Laboratoire Flaveur, INRA de Theix, France.
9. **Adams, R.P. (2001).** Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectrodcopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL.
10. **Abbott, W.S. (1925).** A method for computing the effectiveness of an insecticide *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
11. **Finney, D.F. (1971).** Probit Analysis 3rd Edition. University Press, Cambridge.
12. **Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C., Millet J., Chaumont J.P. (2004).** Composition chimique des huiles essentielles d'*Aeollanthus pubescens* Benth. acclimatée au Togo. *C.R. Chimie*, 7: 1107-1111.
13. **Koba, K., Sanda, K., Guyon, C., Raynaud, C., Millet, J., Chaumont, J-P., Nicod, L. (2007).** Chemical composition and *in vitro* cytotoxic activity of essential oils from two tropical Lamiaceae: *Aeollanthus pubescens* Benth. and *ocimum gratissimum* L. *J. Essent. Oil Bearing Plants*, 10(1): 60-69.

Table 1. Chemical composition of *Aeollanthus pubescens* essential oil leaves from Togo

Compounds	RI ¹	Peak area (%) ²
Monoterpenes		94.6
α -Pinene	928	1.2
camphene	943	0.2
β -myrcene	985	0.7
α -Terpinene	1014	0.1
Limonene	1026	4.2
1,8-Cineol	1028	0.1
γ -Terpinene	1053	0.3
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1067	0.2
Terpinolene	1082	0.4
Fenchone	1091	28.6
Linalool	1109	56.4
Camphor	1143	1.1
Borneol	1167	0.4
Terpineol -4	1176	0.4
α -Terpineol	1191	0.2
Thymol	1290	0.1
Sesquiterpenes		2.8
β -Elemene	1382	0.8
<i>trans</i> - α -Bergamotene	1426	1.1
β -Selinene	1478	0.9
Total		97.4

¹ Retention indices on an apolar DB-5 column: ² Peak area percentages based on an apolar DB-5 column, and values represent average of three determinations

Table 2. Insecticidal activity of *A. pubescens* essential oil on *H. hampei*

Dose (ppm)	Mortalities (%)*	
	<i>Aeollanthus pubescens</i> essential oil	commercial insecticide Endosulfan
1000	93.9a	87.5c
560	90.7b	53.5d
320	54.6d	33.3e
180	53.9d	17.1f
100	16.8f	9.3g
LD ₅₀ (ppm)	220	450

* Replicate average (30 adult insects per replicate and replicates per treatment: n = 150): Means within followed by the same letter are not significantly different (P = 0.05, Newman and Keuls's test): Mortalities were transformed to arcsine square-root before ANOVA: Means of untransformed data are reported.