

## Evaluation au laboratoire de l'efficacité de la combinaison de l'huile de neem et du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* vis-à-vis de *Maruca vitrata* (Fabricius) (Lepidoptera : Crambidae)

<sup>1</sup>A. Kindozandji, <sup>1</sup>O. K. Douro Kpindou, <sup>2</sup>K. Amevoïn, <sup>1</sup>A. N. Nondichao, <sup>2</sup>A.I. Glitho & <sup>1</sup>M. Tamó

### Résumé

L'une des contraintes à la production du niébé est la pression parasitaire provenant des insectes et maladies. L'objectif de l'étude était d'évaluer, au laboratoire, l'efficacité de l'huile de neem, du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* et de leur combinaison sur les larves de *Maruca vitrata*, ravageur majeur du niébé en culture. Le traitement à l'huile de neem (riche en azadirachtine) a été fait en nourrissant les larves de *M. vitrata* avec des graines de niébé prégermées trempées dans l'huile de neem. Le traitement au *B. bassiana* a consisté en une application topique de 2 µl de la solution fongique déposée sur le corps de chaque larve. Pour tester l'efficacité de la combinaison des deux biopesticides, 2 µl de *B. bassiana* ont été déposés sur chaque larve une heure après sa mise en contact avec les graines prégermées traitées à l'huile de neem. Le dispositif utilisé était un bloc complètement aléatoire avec quatre répétitions. La mortalité a été observée quotidiennement. Les taux de mortalité des larves de *M. vitrata* ont augmenté avec la dose de *B. bassiana* et les jeunes larves ont été plus sensibles que les plus âgées. La sensibilité à l'azadirachtine était accentuée sur les jeunes chenilles avec un taux de mortalité élevé de  $96,66 \pm 1,92\%$  à  $100,00 \pm 0,00\%$ . Le taux de mortalité des larves est plus élevé avec la combinaison des deux pesticides variant entre  $65 \pm 6,87\%$  et  $100 \pm 0,00\%$ . L'interaction des deux était de type synergique ou additif. L'analyse de régression de Cox a indiqué que les différentes doses du champignon ont un prédicteur significatif dans la mortalité des larves de *M. vitrata*. Les biopesticides testés semblent être de bons candidats pour la gestion de *M. vitrata* dans les champs de niébé.

**Mots clés:** Niébé, huile de neem, *Beauveria bassiana*, *Maruca vitrata*, Mortalité larvaire.

### Abstract

#### Laboratory assessment of the effect of the combination of neem oil with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against *Maruca vitrata* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae)

One of the major constraints to cowpea production is biotic pressure from insects and diseases. The objective of the study was to evaluate, in the laboratory, the efficacy of neem oil, the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (isolate Bb 115) and their combination on the larvae of *Maruca vitrata*, major cowpea field pests. Neem oil treatment was done by feeding of *M. vitrata* larvae using pre-germinated cowpea seeds soaked in neem oil. *B. bassiana* treatment consisted of a topical application of 2 µl of the fungal solution on the body of each larva. For the combination, 2 µl of *B. bassiana* were applied to each larva an hour after their submission to the pre-germinated seeds infected with neem oil. The different treatments were arranged in a completely random block design with four replicates. Larval mortality was checked daily. Results revealed that the mortality rates increased with *B. bassiana* doses, young *M. vitrata* larvae being more susceptible than the older ones. Susceptibility to *Azadirachtin* was higher in young caterpillars with a mean mortality rate ranging between  $96.66 \pm 1.92\%$  and  $100.00 \pm 0.00\%$ . The larval mortality rate is higher with the combination of the two pesticides ranging between  $65 \pm 6.87\%$  and  $100 \pm 0.00\%$ . The interactions were synergistic or additive in neem oil and *B. bassiana* combinations. Cox regression analysis indicated that different doses of the fungus had a significant predictor in the mortality of *M. vitrata* larvae. The results showed that the biopesticides tested could be good alternative for *M. vitrata* management in cowpea.

**Key words:** Cowpea, Neem seed oil, *Beauveria bassiana*, *Maruca vitrata*, larval mortality.

Corresponding author: A. Kindozandji, E-mail: [kinauguste@yahoo.fr](mailto:kinauguste@yahoo.fr)

### Introduction

Le niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., principale légumineuse en Afrique occidentale est une plante dont la contribution à la sécurité alimentaire et à la croissance économique du monde rural est considérable. Il est produit dans les régions péri-urbaines et rurales des zones tropicales et équatoriales (Mortimore *et al.*, 1997). En Afrique de l'Ouest, le rendement moyen du niébé ne dépasse guère 600

kg/ha (OBEPAB, 2004) malgré les qualités agronomiques de cette plante et les conditions pédoclimatiques favorables à sa culture. La contrainte majeure à la production du niébé est la pression parasitaire provenant des insectes et maladies. Le niébé est en effet, une plante de prédilection des insectes et est donc attaqué depuis la levée jusqu'en stocks par différents insectes ravageurs. Les plus connus et les plus dévastateurs des cultures et des stocks de cette denrée sont *Maruca vitrata*

Fabricius (Lepidoptera : Crambidae), *Megalurothrips sjostedti* Trybom (Thysanoptera : Thripidae), *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae), *Clavigralla tomentosicollis* Stål (Hemiptera : Coreidae), *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Chrysomelidae- Bruchinae). (Liao et Lin, 2000 ; Egho, 2011). Les dégâts provoqués par ces ravageurs sont en général importants si bien que la production du niébé est totalement hypothéquée en l'absence de toute mesure de protection phytosanitaire. L'un de ses ravageurs importants est la foreuse de fleurs et de gousses *M. vitrata*. Elle a une très large distribution géographique dans les régions tropicales et subtropicales où elle est responsable de dégâts parfois très graves (Singh et Allen, 1979). Selon Atachi *et al.* (2007), les dommages et les pertes de rendement dus à cet insecte se situent entre 20 et 80%. Pour lutter contre ces ravageurs, les producteurs ont recours aux produits chimiques de synthèse, dont l'usage abusif entraîne des effets néfastes aussi bien sur l'environnement que sur la santé humaine (Ekesi, 1999). Il s'avère donc nécessaire de développer d'autres méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs du niébé. L'une d'elles est la lutte biologique qui implique l'usage d'auxiliaires dont les prédateurs, les parasitoïdes et des microorganismes (Van Lenteren *et al.*, 2006). Les biopesticides testés jusqu'à présent sont d'origine végétale ou microbienne. Il s'agit essentiellement de l'huile de neem et du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana*. Des travaux récents ont montré que l'huile de neem était toxique pour les chenilles de *Sylepta derogata* Fabricius (Lepidoptera : Pyralidae). Il existe une corrélation positive entre le taux de mortalité et la concentration (Ganda *et al.*, 2018). Aussi, ce pesticide d'origine botanique est plus efficace que l'insecticide chimique, la Deltaméthrine dans la gestion des ravageurs du niébé et améliore son rendement (Toffa-Mehinto *et al.*, 2014a). Des espèces de champignons telles que *Beauveria bassiana* ont été identifiées comme des microorganismes prometteurs dans la lutte contre *M. vitrata* (Toffa Mehinto *et al.*, 2014b). La virulence de cet isolat a été prouvée aussi bien au laboratoire qu'en milieu paysan sur les différents stades larvaires de *M. vitrata* (Toffa Mehinto *et al.*, 2014c). Le taux de mortalité des larves de *M. vitrata* a été proportionnel à l'augmentation du nombre de conidies par millilitre contenu dans la solution. S'agissant de l'huile de neem Sokame *et al.* (2015) ont démontré que les taux de mortalité des larves de *M. vitrata* avaient augmenté avec l'élévation de la concentration de l'huile de neem. De même, Jackai et Oyediram (1991) ont prouvé que l'huile de neem à 5% avait un effet inhibiteur prononcé sur les chenilles de *M. vitrata*.

On s'emploie aujourd'hui à combiner ces types de biopesticides le plus souvent utilisés seuls pour lutter contre certains insectes nuisibles spécifiques dans l'optique d'améliorer leur spectre d'action. Cependant, les effets qu'entraînent ces combinaisons ne sont pas nécessairement synergiques ni même additionnels.

L'objectif de l'étude a été d'évaluer l'efficacité de l'huile de neem, de *B. bassiana* (isolat 115) et de leurs combinaisons contre *M. vitrata*.

## MATERIEL ET METHODES

### Sites d'étude

De juillet 2017 à mars 2018, les travaux ont été conduits au laboratoire d'entomologie de la station de l'Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA-Bénin) au Bénin où la température moyenne était de  $26,75 \pm 0,27^\circ\text{C}$  et l'humidité relative moyenne de  $54,45 \pm 1,99\%$ .

L'IITA-Bénin est située à Togoudo ( $06^\circ 21'55''\text{N}$ ,  $02^\circ 25'50''\text{E}$ ) dans la commune d'Abomey-Calavi, département de l'Atlantique, au Sud du Bénin ; à 12 km au Nord-Ouest de Cotonou (capitale économique de la République du Bénin) et à 2,5 km environ de la voie inter État Cotonou-Bohicon avec une altitude de 15 m au-dessus de la mer.

### Dispositif expérimental

L'essai a été conduit suivant un dispositif en blocs complètement aléatoires, incluant plusieurs facteurs. Il s'agit des stades de développement de l'insecte test, l'huile de Neem, l'isolat de *B. bassiana* Bb 115 et les combinaisons à base d'huile de neem et de Bb 115. Les modalités des facteurs se présentent comme suit:

- Témoin absolu sans aucun traitement ;
- Huile de neem à la concentration de 12%. Cette concentration a été choisie suite aux différents travaux effectués à l'IITA station Bénin sur les différentes concentrations de l'huile de neem (Mikpon-aï, 2017 ; Mama *et al.*, 2016);
- Trois niveaux de conidies (poudre) du champignon Bb 115 issu d'une larve de *M. vitrata* et produite au laboratoire de pathologie de l'IITA-Bénin :  $10^7$  conidies/ml ;  $10^8$  conidies/ml ;  $10^9$  conidies/ml. Ces différentes concentrations ont été obtenues par dilution dans l'eau distillée des conidies de *B. bassiana*, isolat Bb 115;
- trois niveaux de combinaison de l'huile de neem 12% + Bb 115 notamment  $10^7$  conidies/ml et 12% d'huile de neem;  $10^8$  conidies/ml et 12% d'huile de neem;  $10^9$  conidies/ml et 12% d'huile de neem.

### Procédure d'application des biopesticides

-Test avec huile de Neem : les graines prégermées de niébé ont été trempées pendant 30 à 45 minutes dans l'émulsion de l'huile de Neem. Elles ont ensuite été retirées et séchées par ventilation dans les conditions ambiantes pendant 10 à 15 minutes. Deux de ces graines traitées à l'huile de neem ont été ensuite déposées dans des boîtes de 30 cm<sup>3</sup> contenant une larve soit L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> ou L<sub>5</sub> de *M. vitrata*. Chaque traitement a été répété quatre fois.

- Tests avec Bb 115 : deux microlitres de la dilution de Bb 115 aux concentrations de  $10^7$  conidies/ml,  $10^8$  conidies/ml et  $10^9$  conidies/ml ont été utilisées par application topique sur chaque stade larvaire L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> ou L<sub>5</sub> de *M. vitrata* déposée dans des boîtes contenant deux graines prégermées de niébé. Chaque traitement a été répété quatre fois.
- Tests avec combinaison d'huile de neem et de Bb 115 : une heure après exposition des larves L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> ou L<sub>5</sub> de *M. vitrata* aux graines prégermées et traitées à l'huile de neem, 2 µl de la suspension de Bb 115 aux concentrations  $10^7$  conidies/ml ;  $10^8$  conidies/ml;  $10^9$  conidies/ml ont été déposées sur chaque larve. Chaque traitement a été répété quatre fois.

### Collecte des données

Pour chacune des situations expérimentales, un suivi a été effectué pendant 14 jours pour relever la mortalité larvaire et 14 jours pour le suivi de la sporulation. Les insectes morts par Bb 115 dans les traitements uniques ou associatifs ont été incubés dans des boîtes de pétri contenant du papier filtre pour l'observation de la sporulation. La sporulation est la production de conidies sur le corps de l'insecte hôte.

## Analyses des données

L'analyse descriptive des données collectées a été faite à l'aide du tableur Excel. Les taux de mortalité et de sporulation ont subi une transformation arc sinus avant toute analyse pour normaliser les données. Les comparaisons statistiques entre les différents traitements ont été réalisées à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA) utilisant le logiciel SAS version 9.2. Lorsque l'analyse de variance révèle des différences significatives le test de séparation des moyennes de Student-Newman-Keuls (SNK) a été appliqué au seuil de 5% par la procédure <<General Linear Models>>(GLM).

Le Temps Moyen de Survie (TMS) a été calculé en utilisant une analyse de Kaplan Meier de survie (SPSS 16). Les TMS ont été transformés en log, avant d'être soumis à une analyse de variance (ANOVA). Les différents traitements ont été comparés, utilisant le logiciel SPSS, 16. Lorsque les valeurs de  $F$  sont statistiquement significatives, les moyennes ont été comparées à l'aide du test SNK (Student-Newman-Keuls) au seuil de probabilité de 5%.

### Estimation des types d'interaction entre les 2 biopesticides en combinaison

Les types d'interaction ont été déterminés selon la méthode de Trang *et al* (2002) par la détermination du facteur de cotoxicité pour estimer les effets de combinaisons. Ce facteur est calculé par la formule suivante:

$$CTF = \frac{OM - EM}{OM} \times 100$$

CTF = facteur de cotoxicité

OM = pourcentage de mortalité observé pour la combinaison

EM = pourcentage de mortalité attendue (nombre moyen de mortalités induites par chacun des insecticides).

Ce facteur est utilisé pour tester les hypothèses suivantes:

- $H_A = CTF > 20$ , correspondant au synergisme;
- $H_B = CTF < -20$ , correspondant à un antagonisme ;
- $H_C = -20 < CTF < +20$ , correspondant à un effet additif.

### Estimation de la DL50 (Dose Létale 50)

La modélisation des données temps-dose-mortalité a été effectuée en utilisant le modèle « Cox régression » (Cox, 1972) dans le logiciel SPSS 16. La fonction de risque est utilisée par les modèles de régression de Cox pour estimer le risque d'échec relatif. La fonction de risque,  $h(t)$  est une évaluation de la mort potentielle d'un individu par unité de temps à un moment donné, étant dit que l'individu a survécu jusqu'à ce moment. Les modèles de *Cox-régression* sont exprimés en termes de fonction de risque comme suit :

$$h(t) = [h_0(t)]e^{(BX)} \quad (1)$$

Où  $X$  représente log (dose),  $B$  le coefficient de régression qui est le risque relatif (ici risque instantané de mortalité) associé à un traitement par rapport à un autre traitement,  $e$  la base du logarithme népérien et  $h_0(t)$  la fonction de risque lorsque  $X$  est égal à 0.

La fonction cumulative de risque,  $H(t)$ , est liée à la fonction de survie et peut être dérivée de cette dernière comme suit :

$$H(t) = -\ln S(t) \quad (2)$$

Avec  $S(t) = \Pr \{T \geq t\}$ ,  $t \geq 0$  ;

Pour  $t$  fixé,  $c$ 'est la probabilité de survivre jusqu'à l'instant  $t$ .

$t$  est une variable aléatoire symbolisant le moment du décès,

$\Pr$  est la fonction probabilité et  $S(t)$  la fonction de survie.

La fonction de survie est égale à la probabilité que le décès intervienne après un temps  $t$  donné. La fonction de risque et la fonction de survie sont étroitement liées, et toutes les deux ont été calculées en utilisant le procédé de Cox régression (SPSS 16).

La DL50 est définie comme la dose d'un agent (chimique ou biologique) nécessaire pour produire la mort de la moitié des organismes testés à un moment donné après application (Maddox, 1982). La DL50 peut être dérivée des équations (1) et (2) comme suit :  $X = 10^{[\ln(\ln(0,5) - \ln(h_0(t)))/B]}$

Les intervalles de confiance pour la DL50 ont été calculés sur la base des mêmes équations, utilisant les informations suivantes : écart-type (SD) de  $B$  et écart-type (SD) de  $h_0(t)$ .

## RESULTATS

### Mortalité des stades larvaires de *M. vitrata* en fonction des traitements.

Le tableau 1 indique les taux de mortalités causés par les biopesticides utilisés sur les larves de *M. vitrata*.

Comparativement au témoin, le taux de mortalité des larves traitées a été plus élevé avec les biopesticides utilisés seuls ou en combinaison. Il en ressort que les larves  $L_1$ ,  $L_2$  et  $L_3$  ont été sensibles à l'émulsion de l'huile de neem avec une mortalité comprise entre 96,66 ± 1,92% à 100,00 ± 0,00%. Cette mortalité était moins prononcée pour les larves  $L_4$  et  $L_5$  avec 50,83 ± 2,83% et 37,50 ± 2,90%, respectivement. Une réponse effet/dose a été observée pour l'isolat *Bb* 115, surtout avec les larves  $L_1$ ,  $L_2$  et  $L_3$  mais ce n'est pas le cas avec les larves de stade 4 et stade 5 où les taux de mortalité de  $L_4$  varient entre 33,75 ± 4,75% à 46,25 ± 3,14% et de 32,50 ± 3,22% à 46,25 ± 2,39 pour  $L_5$  malgré la variation de concentration. Par contre, les combinaisons effectuées contrôlaient mieux les stades larvaires  $L_4$  et  $L_5$  de *M. vitrata* avec un taux de mortalité compris entre 65 ± 6,87% à 100 ± 0,00% (tableau 1)

Tableau 1 : Taux de mortalité (moyenne ± SE) des stades larvaires de *M. vitrata* avec les différents traitements

Traitements	L1	L2	L3	L4	L5
Témoin	8,50 ± 2,04 c	8,33 ± 0,96 d	7,50 ± 1,44 e	6,25 ± 2,39 e	5 ± 2,88 f
Huile de Neem 12%	100,00 ± 0,00 a	96,66 ± 1,92 a	100,00 ± 0,00 a	50,83 ± 2,83 c	37,50 ± 2,90 e
<i>Bb</i> 115 10 <sup>9</sup> conidies/ml	71,25 ± 5,54 b	46,25 ± 3,14 c	47,50 ± 6,61 d	33,75 ± 4,75 d	32,50 ± 3,22 e
<i>Bb</i> 115 10 <sup>8</sup> conidies/ml	85,00 ± 3,53 b	65,00 ± 5,77 b	71,25 ± 2,39 c	38,75 ± 2,39 d	36,25 ± 3,75 e
<i>Bb</i> 115 10 <sup>7</sup> conidies/ml	96,25 ± 2,39 a	91,66 ± 2,25 a	88,75 ± 2,15 b	46,25 ± 3,14 cd	46,25 ± 2,39 d
Huile de Neem 12% + <i>Bb</i> 115 10 <sup>9</sup> conidies/ml	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	95,83 ± 4,16 a	86,66 ± 4,71 b	65 ± 6,87 c
Huile de Neem 12% + <i>Bb</i> 115 10 <sup>8</sup> conidies/ml	98,33 ± 1,66 a	100,00 ± 0,00 a	100 ± 0,00 a	92,5 ± 2,50 b	91,66 ± 2,88 b
Huile de Neem 12% + <i>Bb</i> 115 10 <sup>7</sup> conidies/ml	100,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	100 ± 0,00 a	100 ± 0,00 a	99,16 ± 0,83 a

Les moyennes (± SE) d'une même colonne suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles suivant le test t (SNK) au seuil de 5 %  
SE : erreur standard

### Détermination des types d'interactions des différentes combinaisons de l'huile de neem avec le champignon *B. bassiana* et leur impact sur les larves de *M. vitrata*

Le tableau 2 présente deux types d'interactions entre les combinaisons de l'huile de neem et de *Bb* 115 sur les différents stades larvaires de *M. vitrata*. L'interaction était de type additif pour la combinaison Huile de Neem 12% + *Bb* 115 10<sup>9</sup> conidies/ml pour les larves  $L_1$ ,  $L_2$  et  $L_3$ . Elle était de type synergique pour les larves  $L_4$  et  $L_5$  pour cette même combinaison. Les résultats similaires ont été obtenus avec la combinaison Huile de Neem 12% + *Bb* 115 10<sup>8</sup> conidies/ml. L'interaction était de type synergique pour la combinaison Huile de Neem 12% + *Bb* 115 10<sup>7</sup> conidies/ml pour les stades larvaires  $L_2$ ,  $L_3$ ,  $L_4$ ,  $L_5$  à l'exception de  $L_1$  où l'interaction était de type additif.

**Tableau 2:** Types d'interactions entre les différentes combinaisons par détermination de leur facteur de toxicité sur les stades larvaires

Concentrations	CTF				
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>	L <sub>5</sub>
Huile de Neem 12%+ Bb 115 10 <sup>7</sup> conidies/ml	14,37	28,54	23,04	30,22	46,15
Huile de Neem 12%+ Bb 115 10 <sup>8</sup> conidies/ml	0,20	19,17	14,38	24,10	59,77
Huile de Neem 12%+ Bb 115 10 <sup>9</sup> conidies/ml	1,50	5,54	5,62	26,88	57,77

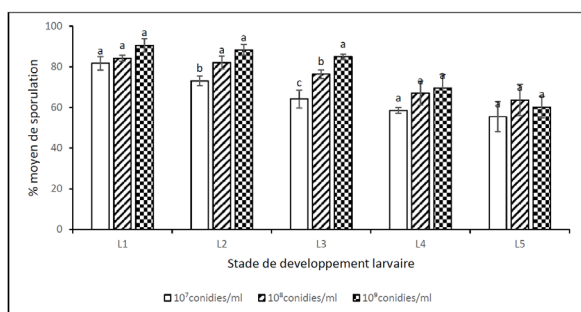
H<sub>A</sub>= CTF> 20, correspondant au synergisme; H<sub>B</sub> = CTF< -20, correspondant à l'antagonisme; H<sub>C</sub>= -20 <CTF<+ 20, correspondant à un effet additif

**Sporulation**

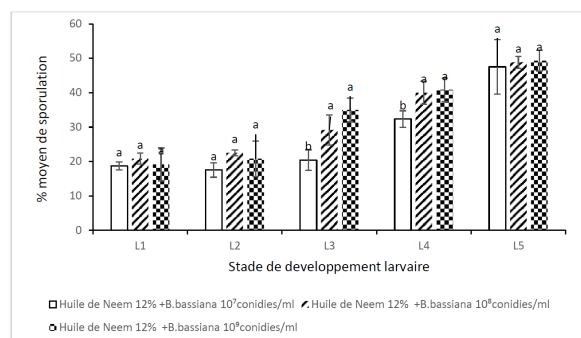
Pour toutes les concentrations de *Bb 115* testées, les larves mortes ont une croissance fongique sur leur cuticule. Avec les larves L<sub>1</sub>, la variation de la concentration de la suspension n'a entraîné aucune différence significative et les taux moyens de sporulation pour les trois concentrations étaient compris entre 81,70±3,35% et 90,53±3,26%. Il en est de même pour les larves L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub>, à la différence que les taux de sporulation étaient inférieurs à ceux de L<sub>1</sub>, soit respectivement de 58,48±1,46% à 69,57±6,63% et de 55,53±7,37% à 60,13±5,35%.

Des taux de sporulation proportionnels à l'augmentation de la dose des conidies ont été notés sur les larves L<sub>2</sub> et L<sub>3</sub> (figure1).

La figure 2 montre les pourcentages moyens de sporulation enregistrés après l'incubation des larves mortes avec des traitements associatifs. Les taux de sporulation des larves L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub> des combinaisons Huile de Neem 12% + Bb 115 ont été élevés du fait qu'elles ont mis du temps à se nourrir aux graines prégermées traitées à l'huile de neem. Pendant ce temps les conidies ont eu le temps de coloniser ces larves. Ainsi, le taux de sporulation a varié en fonction de l'âge de la larve. Il n'y a pas de différence significative pour les différentes concentrations de *Bb 115* pour les stades larvaires L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> et L<sub>3</sub> pour les combinaisons.



**Figure 1 :** Taux moyens de sporulation des différents stades larvaires en fonction des différentes concentrations de *Bb115*



**Figure 2 :** Taux moyens de sporulation des différents stades larvaires en fonction des différentes concentrations de *Bb115* associées au neem. Les histogrammes surmontés des mêmes lettres ne sont pas significativement différents au seuil de 5% (Analyse de variance suivie de SNK)

**Temps moyen de survie des larves**

À l'issue de cet essai, le temps moyen de survie (TMS) des larves nourries avec le milieu sain (traitement témoin) a été beaucoup plus long. Cependant, le TMS des larves des milieux traités à l'huile de neem et/ou avec Bb 115 a été significativement plus court ( $P < 0,0001$ ). Le TMS des traitements témoins a varié de 7,61±0,17 à 10,90±0,17. Avec l'utilisation des biopesticides, il a varié de 1,51±0,07 à 8,56 ± 0,25.

Comparativement aux témoins, la survie des larves L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> et L<sub>4</sub> de *M. vitrata* a été significativement affectée par l'huile de neem et le champignon Bb 115. L'analyse de régression de Cox (Tableau 4) a indiqué que les différentes doses du champignon Bb 115 sont un prédicateur significatif dans la mortalité des larves de *M. vitrata* testées ( $P < 0,05$ ) et que le modèle a fourni une bonne régression.

**Tableau 3:** Temps moyen de survie des stades larvaires de *M. vitrata* dans les traitements

Traitements	TMS ± SE			
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>
Témoins	7,61 ± 0,12 d	10,64 ± 0,28 d	10,64 ± 0,28 e	10,90 ± 0,17 d
Neem 12%	1,51 ± 0,07 a	3,70 ± 0,029 b	3,66 ± 0,27 a	3,70 ± 0,29 a
Bb 115 10 <sup>7</sup> Conidies/ml	6,77 ± 0,33 c	7,26 ± 0,16 c	8,12 ± 0,25 d	8,56 ± 0,25 c
Bb 115 10 <sup>8</sup> Conidies/ml	6,17 ± 0,25 c	7,45 ± 0,24 c	7,56 ± 0,24 c	8,54 ± 0,19 c
Bb 115 10 <sup>9</sup> Conidies/ml	5,65 ± 0,09 c	6,58 ± 0,24 c	7,36 ± 0,24 c	8,02 ± 0,19 c
Bb 115 10 <sup>7</sup> Conidies/ml +huile de neem 12%	2,23 ± 0,11 b	3,35 ± 0,17 b	5,44 ± 0,44 b	5,44 ± 0,44 b
Bb 115 10 <sup>8</sup> Conidies/ml +huile de neem 12%	2,01 ± 0,10 b	2,90 ± 0,14 b	5,13 ± 0,44 b	5,13 ± 0,44 b
Bb 115 10 <sup>9</sup> Conidies/ml + huile de neem 12%	2,02 ± 0,10 b	2,04 ± 0,02 b	5,13 ± 0,45 b	5,13 ± 0,45 b

Les moyennes (± SE) d'une même colonne, suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles suivant le test t (SNK) au seuil de 5 % SE : erreur standard

**Tableau 4 :** Valeurs des estimations de B résultant de la régression de Cox pour l'isolat Bb 115 sur les trois premiers stades larvaires de *M. vitrata*

Isolat de Champignon	Stades larvaires	B	SE	Wald	ddl	Sig.
Bb 115	L1	0,56	0,013	17,493	1	0,000
	L2	0,62	0,013	21,633	1	0,000
	L3	0,70	0,013	28,748	1	0,000

B : valeur B de la régression Cox ; SE : erreur standard ; Wald : coefficient de Wald ; ddl : degré de liberté ; Sig: Significance

**Variation de la DL 50 après l'application de Bb 115 sur les stades L1, L2, L3 de *M. vitrata***

Les variations de la DL50 après l'application de Bb115 sur les stades L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> de *M. vitrata* sont présentées par les figures 3, 4, 5. L'ajustement des données par le modèle de régression de Cox pour les courbes de DL 50 a été relativement bon. En effet, il fallait 10<sup>11</sup> et 10<sup>9</sup> conidies/insecte pour tuer 50% des larves L<sub>1</sub> respectivement en 5 jours et 7 jours (Figure 3) et pour L<sub>2</sub>, il fallait 10<sup>11</sup> et 10<sup>12</sup> conidies/insecte respectivement en 5 jours et 7 jours (Figure 4). Quant aux larves L<sub>3</sub>, il fallait 10<sup>11</sup> et 10<sup>12</sup> conidies/insecte de Bb115 pour tuer 50% des larves de *M. vitrata* respectivement en 5 et 7 jours (Figure 5).

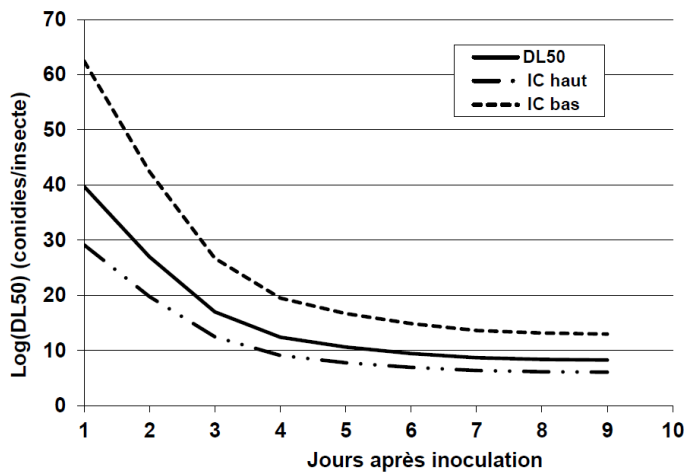


Figure 3 : Valeurs de DL50 après traitement des larves L1 de *M. vitrata* à différentes doses de Bb 115

IC : intervalle de confiance

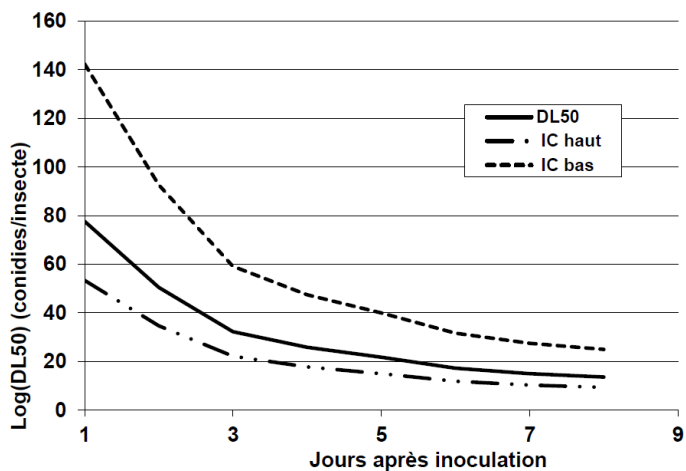


Figure 4 : Valeurs de DL50 après traitement des larves L2 de *M. vitrata* à différentes doses de Bb115

IC : intervalle de confiance

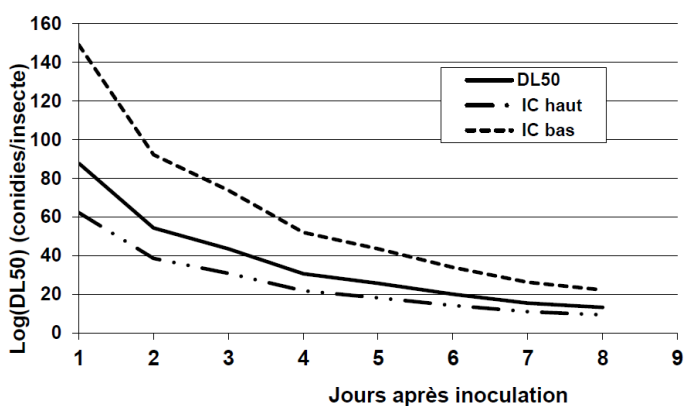


Figure 5 : Valeurs de DL50 après traitement des larves L3 de *M. vitrata* à différentes doses de Bb 115.

IC = intervalle confiance

## DISCUSSION

Il ressort de cette étude que chacune des formulations de biopesticides testées affecte la survie des larves de *M. vitrata*. Ainsi, l'huile de neem à 12% testée sur les larves L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub> de *M. vitrata* entraîne une mortalité significativement plus élevée surtout pour les trois premiers stades; ce qui montre l'efficacité remarquable de cette huile sur les larves de *M. vitrata*. Cet effet insecticide a été démontré par bon nombre d'auteurs dont Mama *et al.* (2016) qui ont obtenu des taux de mortalité allant jusqu'à 100% après application de l'huile de neem 15%

sur les stades L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> et L<sub>4</sub> de *M. vitrata*. De même, Camarda *et al.* (2018) ont obtenu une réduction de 94,67% de la population de l'acarien *Dermanyssus gallinae* Dugès (Mesostigmata ; Dermanyssidae) avec une formulation de l'huile de neem à 20%. Par ailleurs, les forts taux de mortalité jusqu'à 100% des larves de *M. vitrata* soumises à l'aliment contaminé à l'huile de neem pourraient être justifiés par la présence d'azadirachtine contenue dans l'huile de neem. Contrairement aux résultats ci-dessus, Muhammad *et al.* (2018) ont également montré que le taux de mortalité des jassides est de 72,03% pour l'huile de neem à 5%. Cette différence pourrait s'expliquer par le type d'insecte, sa taille et sa biologie. Ces résultats corroborent ceux de Schenk *et al.*, (2001) qui ont prouvé que, lorsque les composantes de neem spécialement l'azadirachtine entrent dans le corps des larves, l'activité de l'ecdysone (hormone stéroïde intervenant notamment dans le processus de la mue) est supprimée. Ceci empêche la métamorphose chez ces dernières.

L'évaluation au laboratoire de la pathogénie de l'isolat Bb115 sur les larves de *Maruca* montre que tous les stades larvaires de l'insecte sont sensibles à cet isolat du champignon *B. bassiana*. Le taux de mortalité des larves varie en fonction de la concentration (nombre de conidies par millilitre contenu dans la solution). Les taux de mortalité des stades larvaires de *M. vitrata* traités à l'isolat Bb 115, à la concentration de 10<sup>9</sup> conidies/ml sont très élevés et similaires. Les tests statistiques réalisés ont permis de valider que le taux de mortalité dans ce cas est proportionnel au nombre de conidies dans la solution. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Toffa (2004, 2008) qui avaient, en effet, montré l'efficacité des isolats de *M. anisopliae* et *B. bassiana* sur la punaise *Clavigralla tomentosicollis* et sur les larves de *Hymeniere curvalis* L. (Lepidoptera : Pyralidae) et de *Psara basalis* L. (Lepidoptera : Pyralidae) ravageurs de l'amarante, de *Selepa docilis* L. (Lepidoptera : Noctuidae) et de *Phycita melongena* L. (Lepidoptera : Pyralidae) ravageur de la grande morelle. D'autres auteurs ont également montré la sensibilité des larves de *Helicoverpa armigera* aux isolats de *B. bassiana* (Gundannavar *et al.*, 2006 ; Douro Kpindou *et al.*, 2012b). Le taux de mortalité des larves est fonction à la fois de l'espèce de champignon, de l'isolat, de la concentration et des stades larvaires de *M. vitrata* traités. Pour un même isolat, les jeunes larves sont plus vulnérables; ce qui est en adéquation avec les résultats de Kulkarni *et al.* (2008) qui ont montré que les jeunes larves de *H. armigera* étaient plus affectées par les différentes concentrations des conidies de champignons entomopathogènes que les larves âgées. En revanche, pour tous les stades larvaires de *M. vitrata* testés, les effets des concentrations 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup> et 10<sup>9</sup> conidies/ml sont similaires. Adanvè (2012) au cours de ses travaux, a montré que la dose de 10<sup>6</sup> spores par insecte soit une concentration de 10<sup>9</sup> conidies.ml<sup>-1</sup> de l'isolat 115 de *B. bassiana* avait engendré une mortalité significative des larves L<sub>3</sub> de *M. vitrata* en moins de dix jours. Ceci témoigne du fait que les fortes doses induisent de fortes mortalités. Aussi, dans un contexte naturel, plus la concentration augmente, plus la mortalité croît. Les résultats similaires ont été trouvés par Jimaja *et al.* (2012) et Toffa (2008), qui ont obtenu un fort taux de mortalité des larves avec les fortes doses.

D'une manière générale, les plus faibles taux de sporulation ont été obtenus avec les traitements associatifs. Ceci semble s'expliquer par le fait que l'huile de neem agit plus rapidement que le champignon. Ainsi, ce dernier ne pouvait pas s'extérioriser sur le corps des insectes déjà tués par l'huile de neem. Les larves L<sub>4</sub> et L<sub>5</sub> étant plus robustes ont probablement

résisté à l'effet choc de l'huile de neem, mais tués plus tard par le champignon. Ceci expliquerait le fort taux de sporulation observé sur ces larves mortes.

Les tests issus de la combinaison de deux produits ont induit également, des taux de mortalité élevés sur les larves de *M. vitrata*. Ce qui pourrait être expliqué par le fait que, dans la combinaison des deux produits, l'azadirachtine contenue dans le neem n'a pas inhibé l'action des conidies contenues dans le champignon. Néanmoins, les taux de mortalité pratiquement semblables à ceux obtenus avec les traitements uniques pourraient être dus aux doses des différents produits pris individuellement qui ont déjà occasionné des mortalités élevées allant jusqu'à 100%. Les combinaisons contrôlent mieux tous les stades larvaires de *M. vitrata*.

Les taux de sporulation élevés observés au niveau des larves traitées avec les formulations uniques de *Bb 115* et combinées avec l'huile de neem révèlent de la forte pathogénicité de cet isolat. La sporulation est l'un des facteurs déterminants pour le choix d'un isolat à utiliser comme biopesticide sur le terrain. Elle permet l'augmentation de l'inoculum, favorisant ainsi la transmission des conidies aux insectes non touchés lors des applications au champ (Vega *et al.*, 2003; Douro Kpindou *et al.*, 2005). La pathogénie des isolats de ce champignon entomopathogène sur *M. vitrata* pourrait s'expliquer par le fait que *Bb 115* est un isolat conditionné, c'est-à-dire isolé de *M. vitrata* même. Ces résultats confirment les travaux de Goettel (1992) qui ont démontré qu'un isolat était généralement plus pathogénique envers l'hôte duquel il avait été isolé. D'autres travaux antérieurs comme ceux de Delattre et Jean-Bart (1978) n'ont pas remarqué au niveau des entomopathogènes, une spécificité bien établie avec leurs hôtes. Ces contradictions apparentes entre ces différentes études révèlent la complexité des facteurs impliqués dans la pathogénicité des champignons.

Pour établir la relation isolat-temps-mortalité sur *M. vitrata*, les résultats ont montré que les intervalles de confiance (IC) des temps moyens de survie (TMS) du champignon *Bb115* témoignent de la possibilité de tuer des larves en 5, 6 à 7 jours. La relation isolat-temps-mortalité est bonne avec cet isolat. La survie de l'hôte inoculé a été statistiquement affectée comparativement au témoin. Des auteurs comme Tanada et Kaya (1993), Silvy et Riba (1999) et Ziani (2008), stipulent que les larves des lépidoptères soumises à des isolats virulents meurent dans un délai de 3 à 10 jours après l'infection. En effet, un bon bio insecticide doit être capable de tuer rapidement une proportion importante d'individus dans une épidémie de l'insecte-hôte. Les taux de mortalité de larves, élevés (100%) et survenant tôt dans le temps avec *Bb 115*, témoignent de la grande virulence de ce pathogène. Ces résultats sont conformes à ceux de Valda *et al.* (2003) qui ont obtenu 43-100 % de mortalité de larves de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), redoutable ravageur du chou avec les isolats de *B. bassiana* qu'ils ont testés à différentes doses. La virulence de l'isolat est associée non seulement à la production d'enzymes et de mycotoxines au cours de l'infection de l'insecte (McCoy *et al.*, 2000), mais aussi au temps moyen de survie de la population d'insectes exposée à une dose déterminée du pathogène (Goettel *et al.*, 2000).

Des différents résultats obtenus, il s'avère que la mortalité des larves de *M. vitrata* est probablement fonction de la quantité de conidies qu'elles reçoivent. Plus les quantités de conidies augmentent et plus la mortalité des larves s'accroît.

La combinaison des paramètres tels que le taux de mortalité très élevé des larves, la meilleure sporulation observée chez les insectes traités avec *Bb115* uniquement et la courte durée des Temps Moyens de Survie (TMS) des larves traitées avec *B. bassiana* *Bb 115* à la dose de  $10^7$ ,  $10^8$  et  $10^9$  conidies par insecte, font de l'isolat *Bb115* un excellent candidat pour le développement d'insecticides microbiens. Toutefois, une étude plus approfondie de la DL 50 de l'isolat est nécessaire dans une perspective de son utilisation à grande échelle comme biopesticide.

Le modèle de régression de Cox utilisé dans la détermination de la DL 50 de l'isolat virulent *Bb115* a permis de faire une analyse aisée des essais biologiques de biopesticides. Les modèles qui considèrent des effets de temps et de dose semblent être plus appropriés pour évaluer l'efficacité d'un microbe pathogène ou d'un pesticide sur la cible (Robertson et Preisler, 1992). Les modèles de régression de Cox ont permis la modélisation des liens existant entre temps, dose et survie de l'isolat fongique infectant les larves de *M. vitrata* dans les expérimentations de la dose létale.

Les modèles de régression de Cox ont bien fonctionné en modélisant des liens existant dans temps-dose-survie de l'isolat fongique infectant les larves de *M. vitrata* dans ces expérimentations. Toutes les régressions de Cox adaptées aux données de survie obtenues à partir des larves traitées avec différentes doses de cet isolat, ont eu des valeurs moyennes de B élevées et par conséquent des intervalles de confiance (IC haut et IC bas) moins larges et des valeurs de DL50 les moins élevées. Les ajustements des valeurs de B tous significatifs, indiquent une réponse effet/dose significative pour cet isolat et ceci vient confirmer la bonne régression de Cox pour cette dernière sur les jeunes larves de *M. vitrata* testées. Pour la même raison, les courbes de DL50 obtenues ne sont pas très raides et leurs intervalles de confiance ne sont pas trop grands. Ces résultats sont conformes à ceux de Douro Kpindou *et al.* (2012a) lorsqu'ils ont utilisé des isolats de champignons entomopathogènes virulents sur *H. armigera*. Nos résultats montrent également que pour un même stade larvaire, le temps mis pour mourir est fonction de la dose appliquée. De même, à un temps donné, la dose à appliquer est fonction du stade larvaire ; plus le stade est évolué, plus la quantité de conidies à appliquer sera élevée.

En ce qui concerne la combinaison des produits, les taux de mortalité élevés ont été obtenus comparativement à ceux des produits appliqués séparément et les types d'interaction révélés entre eux sont le synergisme et l'effet additif. Ceci semble s'expliquer par le fait que chaque produit n'a aucun effet négatif sur l'expression de l'autre ou dans une large mesure, semble plutôt favoriser l'expression de ce dernier et réciproquement, d'où l'effet synergique.

## Conclusion

Les résultats de ces travaux montrent que l'huile de neem et l'isolat *Bb 115* peuvent être un potentiel insecticide intéressant contre *M. vitrata*. En association, ils ont entraîné une mortalité encore plus forte avec tous les stades larvaires. Ils offrent une utilisation possible en champ pour la répression de ce ravageur.

## Remerciements

Les auteurs expriment leurs sincères remerciements à l'Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA) pour son assistance scientifique et financière. Ils remercient les techniciens du

Laboratoire d'entomopathologie de l'IITA-Bénin et ceux de la section niébé pour leur assistance technique et leur franche collaboration.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Adanvè, F., 2012 :** Etude comparative des différentes concentrations d'inoculation du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin dans le contrôle des larves de *Maruca vitrata* (Lepidoptera : Crambidae). Mémoire pour l'obtention du diplôme de Licence Professionnelle, Ecole Nationale Supérieure des Sciences et Techniques Agronomiques de Kétou, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 73p.

**Atachi, P., Dannon, E. A., Rurema, D. G., 2007:** Trap cropping and intercropping of pigeon pea (*Cajanus cajan* Millsp.) in pest management of cowpea (*Vigna unguiculata*) in southern Benin: competing risk and pest status in pod attack. *Annales des Sciences Agronomiques du Bénin*, 9: 1-20.

**Camarda, A., Pugliese, N., Bevilacqua, A., Circella, E., Gradoni, L., George, D., Sparagano, O., Giangaspero, A., 2018:** Efficacy of a novel neem oil formulation (RP03™) to control the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*. *Medical and Veterinary Entomology* Vol. 32, Issue 3, pp: 290-297.

**Cox, D. R., 1972:** Regression models and life tables. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*, Vol. 34, No. 2(1972), pp:187-220 Published by: Wiley for the Royal Statistical Society Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/2985181> Accessed: 12-12-2019 16:26 UTC.

**Delattre, P., Jean-Bart, A., 1978 :** Activités des champignons entomopathogènes (*Fungi imperfecti*) sur les adultes de *Cosmopolites sordidus* Germ. (Coleoptera: Curculionidae). *Turrialba*, 28: 287-293.

**Douro Kpindou, O. K., Gbongboui, C., Badou, R., Paa-Kwessi, E., Ackonor, J. B. & Langewald, J., 2005:** Optimisation de l'application du *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sur le criquet puant, *Zonocerus variegatus* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 25: 251-258.

**Douro Kpindou, O. K., Djegui, D. A., Glitho, I. A. & Tamò, M., 2012b:** Sensitivity of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera:Noctuidae) to the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in laboratory. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 7: 1007-1015.

**Douro Kpindou, O. K., Djegui, D. A., Glitho, I. A., & Tamò, M., 2012a:** Réponse des stades larvaires de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) à l'application de champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana*. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16: 283-293.

**Egho, E. O., 2011:** Evaluation of Neem Seed Extract for the Control of Major Field Pests of Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) under Calendar and Monitored Sprays. *Advances in Environmental Biology*, 5(1): 61-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v4n1p181>.

**Ekesi, S., 1999:** Insecticide resistance in field populations wasp of the legume pod-borer, *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), on cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in Nigeria. *International Journal of Pest Management*, 45: 57-59.

**Ganda, H., Togbé, E. C., Houndété, T. A., Zannou-Boukari, E. T., Gogan, M., Dagbénonbakin, G. D., & Kossou, D.,**

**2018:** Effectiveness of neem seed oil (*Azadirachta indica* A. Juss: Meliaceae) on *Syllepte derogata* Fabricius, Lepidoptera: Pyralidae. *Journal of Applied Biosciences*, 129: 13029 -13038.

**Goettel, M. S., 1992 :** Des champignons comme agents de lutte biologique. *In: La lutte biologique contre les acridiens*. Lomer C. J. & Prior C., (Ed.), Centre for Agricultural Bioscience International/International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria, pp : 122-131.

**Goettel, M. S., Inglis, G. D., & Wraight, S. P., 2000 :** Fungi. *In: Field manual of techniques in invertebrate pathology*. Lacey L.A. & Kaya H.K., (Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp: 255-282.

**Gundannavar, K. P., Lingappa, S., & Giraddi, R. S., 2006:** Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Hubner) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Journal of Agricultural Sciences*, 19: 952-953.

**Jackai, L. E. N., et Oyederan, I. A. O., 1991.** The potential of neem (*Azadirachta indica*). A. Juss for control Aling post-flowering pest of cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.) The pod borer *Maruca testulalis*. *Insect Sci. Applic.* 12, 103-109.

**Jimaja, A., Mbang, À., Mounjouenpou, P., Mahob, R. J., MbargaAmougou, M., MouenBedimo, J., Nyasse, S., Dibog, L., Bidzanga Nomo, L., Tchouamo, I. R., et Babin, R., 2012:** Evaluation naturelle de l'impact de *Beauveria bassiana* : champignon entomopathogène dans la dynamique de population de S2, pp : 443 – 451.

**Liao, C.T., et Lin, C. S., 2000:** Occurrence of legume podborer *Maruca testulalis* (Geyer) (Lepidoptera: Pyralidae) on cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. and its insecticides application trial. *Plant Protection Bulletin-Tapei*, 42(4): 213-222.

**Kulkarni, S. A., Ghormade, V., Kulkarni, G., Kapoor, M., Chavan, S. B., Rajendran, A., Patil, S. K., Shouche, Y., & Deshpande, M. V., 2008:** Comparison of *Metarhizium isolates* for bio control of hypothenemus hampei, scolyte de baies des cerises de coffea canefora. *African Crop Science Journal*, Vol. 20, Issue Supplement *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae) in chickpea. *Biocontrol Science and Technology*, 18:809-828.

**Mama, B. E., Agbaka, A., Tamò, M., 2016:** Evaluation de l'efficacité de l'huile de neem, biovirus *Mavi* MNPV et leur combinaison dans le contrôle des larves de *Maruca vitrata* au laboratoire. Mémoire de licence, Génie de l'environnement, Université d'Abomey-calavi, Epac (Benin), pp : 29-32.

**McCoy, C. W., Shapiro, W. D. I., & Duncan, L. W., 2000 :** Application and Evaluation of Entomopathogens Application and Evaluation of Entomopathogens for Citrus Pest Control. *In: Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology; Application and Evaluation of Pathogens for insects and other Invertebrate Pests*. Lacy L. A. & Kaya H. K., (Ed.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 21-32.

**MIKPON-ai 2017 :** Evaluation des effets de différentes doses de formulations de *MaviMNPV* virus et la combinaison avec l'huile de neem contre *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae), ravageur du niébé. Rapport de licence, Génie de l'environnement, Université d'Abomey-calavi, Epac (Benin), pp : 26-27.

**Mortimore, M. J., Singh, B. B., Hanis, F., & Blade S. F., 1997:** Cowpea in traditional cropping system, pp. 99 R 113 *In: Singh, B.B.; Mohan Rag,B. R.; Dashiell, K. 98 E. and Jackai, L.*

E. N. eds. Advances in cowpea research copublication of International Institute of Agriculture (IITA) and Japan International research center for Agricultural Sciences ( JIRCAS). IITA, Ibadan, Nigeria.

**Muhammad, U. A., Raza, M., Waseem, A., Mubasshir, S., Javed, A. T., and Muhammad, I., 2018:** Comparative efficacy of Neem derivatives and imidacloprid against some cotton pests. *Journal of entomology zoology studies*. 6(3): 113-117.

**OBEPAB, 2004 :** Expansion du commerce intra et inter-régional entre les pays de la CEMAC et de l'UEMOA : Etude de l'offre et la demande sur des produits alimentaires, République du Bénin ; 189 p.

**Robertson, J. L., & Preisler, H. K., 1992:** Pesticide Bioassay with Arthropods. *In: Handbook of Pest Management in Agriculture*. Pimentel D., (Ed.), Chemical Rubber Company (CRC) Press, London, Boca Raton, 127 p.

**SAS Institute Inc. (2011):** The SAS for Windows, version 9.2; Cary, NC, SAS Institute Inc.

**Schenk, P., Indorf, A., et Fluri, P., 2001 :** Effet de l'huile de neem sur l'acarien varroa et sur les abeilles. *Revue Suisse d'Apiculture* 98 (3): 114- 119.

**Silvy, C., & Riba, G., 1999 :** Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. *Dossier de l'environnement*, 9 : 157-201.

**Singh, S. R., et Allen, D. J., 1979:** Les insectes nuisibles et les maladies du niébé, IITA Ibadan/Nigéria, 113 p.

**Sokame, B. M., Tounou, A. K., Datinon, B., Dannon, E. A., Agboton, C., Srinivasan, R., Pittendrigh, B. R., & Tamò, M., 2015 :** Combined activity of *Maruca vitrata* multi-nucleopolyhedrovirus, *MaviMNPV*, and oil from neem, *Azadirachta indica* Juss and *Jatropha curcas* L., for the control of cowpea pests. *Crop Protection*, 72:150–157.

**SPSS Inc. Released 2007:** SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc.

**Tanada, Y., & Kaya, H. K., 1993:** Insect pathology. Singh S. R., Van Emden H. F. & Taylor T. A., (Ed.), Academic Press, London, United Kingdom, 666p.

**Toffa Mehinto, J., Atachi, P., Elégbédé, M., Douro Kpindou, O. K., & Tamò, M., 2014a :** Efficacité comparée des insecticides biologiques et chimiques dans la gestion des insectes ravageurs du niébé (*Vigna unguiculata*) au Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 84: 7674-7681.

**Toffa Mehinto, J., Atachi, P., Douro Kpindou, O. K., and Tamò, M., 2014b:** Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on larvae of the legume podborer *Maruca vitrata* (Lepidoptera:Crambidae). *J. Agri. and Biol. Science*. 9: 55-64.

**Toffa Mehinto, J., Atachi, P., Douro Kpindou, O. K., Dannon, E. A., Tamò, M., 2014c:** Mortality of *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) larval stages induced by different doses of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Inter. J. Advanced Res.* 4: 273-285.

**Toffa, J., 2004 :** Efficacité au champ des spores de champignons entomopathogènes, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin et *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin dans le contrôle de *Clavigrallatomentosicollis* (Stål) (Hétéroptère:Coreidae), punaise suceuse de gousses de niébé, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Mémoire d'étude pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur des Travaux en Aménagement et Protection de l'Environnement, Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 82p.

**Toffa, J., 2008 :** Etude de la virulence des entomopathogènes *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin et *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin sur les chenilles défoliatrices de l'amarante (*Amaranthus cruentus*) et de la grande morelle (*Solanum macrocarpon*). Mémoire de fin de formation pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures Spécialisées (DESS) en Sciences de l'Environnement pour le Développement Durable, Centre Interfacultaire de Formation et de Recherche en Environnement pour le Développement Durable, Université d'Abomey Calavi, Bénin, 92 p.

**Trang, T. K., et Chaudhari, S., 2002:** Bioassay of nuclear polyhedrosis virus (npv) and in combination with insecticide on *Spodoptera litura* (Fab). *Omonrice* 10: 45-53.

**Valda, C. A. S., Reginaldo B., Edmilson, J. M. & Jorge, B.T., 2003:** Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the Fungi *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotropical Entomology*, 32: 653-658.

**Van Lenteren, J. C., Bale, J., Bigler, F., Hokkanen, H. M. T., Loomans, A. J. M., 2006:** Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual Review of Entomology* 51: 609-634.

**Vartak, V. D. et Ghate, V., 1990:** Ethnobotany of neem *Biol. Ind*, 1, 55-59.

**Vega, F. E., Jackson, M. A., Mercadier, G., & Poprawski, T. J., 2003:** The impact of nutrition on spore yields for various fungal entomopathogens in liquid culture. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19:363-368.

**Ziani, J., 2008:** Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise terne *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera Miridae) : dans les vignobles. Mémoire de Maîtrise en Biologie. Université du Québec, Montréal, Canada, 101p.