



Activité biologique des huiles de neem (*Azadirachta indica* Juss.) sur les œufs de *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae), foreuse des gousses du niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] en conditions de laboratoire

Fousséni TRAORE^{1*}, Mayouré Edith ILBOUDO², Antoine WAONGO¹

¹Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles, CREAM de Kamboinsé, 01 BP 476 Ouagadougou 01, Burkina Faso;

²Institut des Sciences, 01 BP 1757 Ouagadougou, Burkina Faso

* Auteur correspondant : foussnitraore@gmail.com; Tel : (+226) 70 88 88 11

Original submitted in on 16th August 2019. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 30th November 2019
<https://dx.doi.org/10.4314/jab.v143i1.2>

RESUMÉ

Objectif : cette étude a été conduite pour évaluer l'efficacité de l'huile de neem extraite à chaud et à froid sur les œufs de *Maruca vitrata* Fabricius dans les conditions de laboratoire, comme un préalable et alternative à l'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte contre le ravageur.

Méthodologie et résultats : les œufs âgés de 24 heures, 48 heures et 72 heures ont été collectés dans des tubes de ponte, dénombrés et traités avec des concentrations de 0,74%, 1,25%, 2,5%, 3,75% et de 5% d'huile de neem extraite à froid et à chaud, l'eau étant le témoin. Pour chacune des concentrations les œufs ont été répartis en deux lots et traités comme suit : les œufs traités et non rincés, les œufs traités et rincés ½ heure, 1 heure et 2 heures après application de l'huile de neem. Les taux d'éclosion des œufs et de mortalité induite par l'effet résiduel des huiles sur les larves néonates ont été évalués. Les résultats montrent que les huiles de neem extraites à froid et à chaud réduisent respectivement d'au moins 50% et 45 % le taux d'éclosion des œufs non rincés ou rincés à la concentration de 0,74%. Dans le même ordre, elles infligent une mortalité de larves issues des œufs non rincés ou rincés de 100% à des concentrations de 2,5% et 3,75%.

Conclusion et application des résultats : les huiles de neem utilisées ont été toxiques pour les œufs de *M. vitrata*. Elles pourraient être incluses dans un programme de lutte comme alternative à l'utilisation de la lutte chimique contre *M. vitrata*. Cette lutte devrait cibler le stade œuf de l'insecte au cours de la formation des boutons floraux du niébé en culture.

Mots clés : *Maruca vitrata*, œufs, Huile de neem, éclosion, mortalité.

Biological activity of neem oils (*Azadirachta indica* Juss.) on the eggs of *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae), cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] pod borer under laboratory conditions.

ABSTRACT

Objective: this study was carried out to assess the efficacy of neem oil hot and cold pressed against the eggs of *Maruca vitrata* Fabricius (*M. vitrata*) under laboratory conditions, as an alternative to chemical insecticides.

Methodology and results: Twenty Four Hour old (24-hour-old), 48-hour-old and 72-hour-old eggs were collected in cups, counted and treated with concentrations of 0.74%, 1.25%, 2.5% et 3.75% and 5% of neem oils , cold and hot-pressed. Tap water as a control. For each of neem concentrations, eggs were divided into two batches as follows: eggs neem-treated and unwashed, eggs neem-treated and washed 1/2 h, 1 h or 2 h after the neem oil application. The hatching and mortality rates inflicted by the residual effect on the hatched larvae were assessed. The results showed that neem oil cold and hot pressed, led to the reduction of at least 50% and 45% respectively, of the rates of the hatchability of the unwashed eggs and washed at 0.74 of the neem concentration. In the same order, they inflict a mortality of larvae from unwashed and washed eggs of 100% at the concentration of 2.5% and 3.75%.

Conclusion and application of findings: neem oils used were toxic to the eggs of *M. vitrata*. They could be included in the control program of *M. vitrata* as an alternative to the use of chemicals. This control might target eggs stage of pest during the cowpea budding stage.

Keywords: *Maruca vitrata*, eggs, neem oil, hatchability, mortality.

INTRODUCTION

Le niébé [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.], est une légumineuse alimentaire largement cultivée dans le monde avec une production estimée à 6,4 millions de tonnes (FAOSTAT, 2013) de graines sèches. La production de l'Afrique subsaharienne représente environ 95% de la production mondiale de niébé dont plus de 80% est produite en Afrique de l'Ouest (Sanginga et Bergvinson, 2015). Produit essentiellement en pluviale pour ses vertus économique, sociale et alimentaire, la production actuelle du niébé est faible pour couvrir les besoins alimentaires nationaux et la demande sous régionale sans cesse croissante. Les rendements graines actuel du niébé sont de 700 à 800Kg/ha en culture pure avec des variétés améliorées (Kaboré, 2013) comparativement au rendement potentiel de la plante qui est estimé entre 1,5 et 3,0 t/ha (Downham, 2003). Plusieurs contraintes incluant les stress hydriques, les maladies et les insectes sont à l'origine de ces faibles rendements. Les insectes constituent l'une des contraintes majeures du faible rendement du niébé (Adigoun, 2002) car à chaque stade du cycle de développement de la plante, au moins un

insecte majeur peut causer des dégâts considérables et réduire la production (Singh, 1985). Dans la partie ouest du pays à pluviométrie plus élevée, *Maruca vitrata* FABRICIUS (Lepidoptera : Crambidae) a été répertorié comme un ravageur important avec les dégâts qui sont variables d'une saison à l'autre (Ba et al., 2009 ; Traoré et al., 2013). Ces dégâts qui restent endémiques dans toute la région (Dabiré, 2001 ; Ba et al., 2009) sont dus aux larves qui s'attaquent aux boutons floraux, aux fleurs et aux gousses du niébé (Singh et Jackai, 1988) occasionnant des pertes de production estimées entre 20 et 80% (Dreyer, 1994). Au regard de son importance économique, les producteurs ont tendance à recourir à l'utilisation systématique des pesticides chimiques de synthèse. Bien qu'efficace de par leurs effets immédiats, leur utilisation pose de sérieux problèmes de pollution de l'eau, de l'air avec des conséquences néfastes sur la santé (Adigoun, 2002). En outre, ces pesticides sont onéreux pour les petits exploitants aux revenus modestes. A cause du caractère endophyte de la larve, le contrôle de *M. vitrata* exige plus de

traitements avec des doses plus fortes d'insecticides pour réduire les populations larvaires (Atachi et Sourokou, 1989). De ce fait, certains producteurs font recours à un épandage d'associations d'insecticides à fortes doses (Abeeluck et al., 1997). Or, une telle utilisation favorise à long terme le développement de la résistance des insectes (Bell et Wilson, 1995) et la résurgence de souches de ravageurs très redoutées (Repetto, 1985 ; Van Hius, 1991). D'où l'intérêt pour la recherche de solutions alternatives efficaces (Ilboudo, 2009). Les biopesticides constituent une des solutions alternatives aux insecticides chimiques dans la protection des végétaux, mais aussi un moyen de lutte non polluant pour l'environnement (Sanon et al., 2005). L'huile de neem est un biopesticide dont l'application seule ou en combinaison avec d'autres biopesticides dans le champ de niébé en début de floraison augmente les rendements (Kadri et al., 2013). Cependant, cette hausse de rendements grains constaté reste toujours en deçà des rendements potentiels. D'où l'importance d'approfondir les études au laboratoire pour une

plus grande efficacité de l'huile de neem sur les populations de *M. vitrata* en culture de niébé. L'huile de neem disponible sur le marché local, s'est avérée efficace sur les œufs de *M. vitrata* âgés de 12 heures (Traoré et al., 2019b). Cependant, cette huile existe sous deux formes dont une, extraite à chaud et l'autre extraite à froid. La différence entre ces deux huiles réside au niveau de leur concentration en azadirachtine. L'huile extraite à froid est plus riche en azadirachtine (1600 ppm) que celle extraite à chaud (300 ppm) car les composés chimiques sont dénaturés au-delà de 60 °C (Mouffok et al., 2008). De plus, en culture de niébé, il y'a des œufs de différents âges et pour lesquels nous ne disposons pas d'informations sur leur sensibilité à l'huile de neem. Dans ce contexte, cette étude veut évaluer l'activité biologique des huiles de neem extraite à chaud et à froid sur les œufs de *M. vitrata* de différents âges. Si une telle efficacité venait à être prouvée, des applications précoces pourraient être envisagées en culture de niébé afin de réduire le niveau des populations du ravageur et améliorer les rendements.

MATERIEL ET METHODES

Condition de l'étude : L'étude a été conduite au Laboratoire Central d'Entomologie Agricole de Kamboinsé (LCEAK) du Centre de Recherches Environnementales, Agricoles et de Formation de Kamboinsé (CREAF/K) dans la province du Kadiogo au Burkina Faso. Les tests se sont déroulés dans les conditions de température moyenne $24 \pm 2^\circ\text{C}$, d'humidité relative moyenne variant entre 54 à 78% et, de photopériode de 12/12.

Obtention des œufs fertiles : Les œufs fertiles de *M. vitrata* âgés de 24 heures, 48 heures et 72 heures utilisés au cours de cette étude sont issus d'un élevage de masse réalisé du laboratoire. Le test de fertilité a consisté à prélever et placer individuellement cent soixante (160) femelles gravides de *M. vitrata* issues de l'élevage de masse dans des tubes de ponte de 70 cm³ numérotées de 1 à 160. Ces femelles ont été placées en oviposition pendant 5 heures dans une salle obscure. Après, les œufs pondus sont collectés par

transfert des femelles dans de nouveaux tubes de même dimension et portant les mêmes numéros que les précédents. Les œufs collectés sont alors incubés dans la salle d'élevage des adultes, jusqu'à leur éclosion. Ce test de fertilité a été répété ainsi jusqu'à l'éclosion des premiers œufs, preuve que les femelles qui les ont pondus sont fertiles. Les femelles, dont les numéros de tubes contenaient des œufs éclos ont été séparées des autres et placées en oviposition deux à deux dans de nouveaux tubes de ponte, et ce pendant 2 heures afin de collecter les œufs fertiles pour les tests. Ces femelles ont été régulièrement alimentées avec du coton imbibé d'eau miellée à 10%.

Concentrations des huiles de neem : Pour la conduite du test, 250 ml de solution de chaque type d'huile de neem ont été préparées pour chaque concentration par dilution avec de l'eau simple. Les différentes concentrations (Tableau 1) ont été obtenues en références aux travaux de Traoré et al., 2019a.

Tableau 1 : Concentrations et volumes de chaque constituant, de la solution d'huile de neem

Concentration du produit (%)	Volume huile de neem (ml)	Volume eau (ml)
0,74	1,85	248,15
1,25	3,125	246,875
2,5	6,25	243,75
3,75	9,375	240,65
5	12,5	237,5

Bioassays

Œufs traités et non rincés : A l'aide d'une loupe manuelle, les œufs ont été dénombrés par tube et traités avec une solution de neem de concentration donnée « *n* ». Le traitement a consisté à pulvériser un volume de 1 ml d'une solution de neem de concentration *n* sur les œufs à l'aide d'un micro-pulvérisateur à main d'une capacité de 250 ml. Les tubes ont été ensuite secoués légèrement pour vider l'excès de solution d'huile de neem qui pourrait noyer les œufs. Cinq concentrations de chaque type d'huile plus un témoin constitué d'eau de robinet ont été effectuées. Les œufs traités ont été incubés jusqu'à l'éclosion. A l'éclosion, les larves ont été renversées sur une feuille de couleur blanche pour faciliter leur dénombrement.

Œufs traités et rincés : Les tubes contenant les œufs de chaque âge ont été répartis en trois lots correspondant au temps de rinçage à l'eau après contact avec la solution de biopesticide. Pour chaque solution de concentration *n*, les lots suivants ont été constitués : (1) lot 1: 6 tubes d'œufs, dont 1 témoin a été utilisé pour chaque concentration *n*, répétée 5 fois, soit un total de 30 tubes contenant les œufs. Trente (30) minutes après contact avec la solution de biopesticide, ceux-ci ont été rincés; (2) lot 2 : Idem que précédemment à la seule différence que les œufs sont rincés, 1 heure après contact avec le biopesticide; (3) lot 3 : Idem que le lot 1 à la seule différence que les

œufs sont rincés 2 heures après contact avec le biopesticide. Les œufs rincés ont été ensuite incubés afin de suivre leur éclosion. Le rinçage a été utilisé, pour simuler l'effet d'une probable pluie après application d'huile de neem en culture de niébé. Il a consisté à plonger les œufs avec leur contenant dans de l'eau de robinet pendant 1 mn et à les retirer.

Paramètres mesurés : Les nombres d'œufs éclos et de larves néonates ont été les paramètres mesurés. Les taux d'éclosion des œufs (TEO) et de mortalité larvaire (TML) ont été ensuite calculés à l'aide des formules ci-dessous :

$$TEO = (NOT - NOE / NOT) \times 100$$

NOT : Nombre total d'œufs pondus

NOE : Nombre d'œufs éclos

$$TML = (NTL - NLM / NTL) \times 100$$

NTL : Nombre total des larves

NLM : Nombre de larves mortes

Analyse des données : Pour la saisie des données, le tableur Excel 2007 a été utilisé. Les données sur les taux d'éclosion des œufs et de mortalité larvaire ont subi une transformation de $\log(x+1)$ avant d'effectuer l'analyse de variance suivi de la séparation des moyennes par le test de comparaisons multiples de Student-Newman-Keuls (SNK), lorsque la p-value était significative. L'analyse de variance a été effectuée avec le logiciel SAS version 9 (SAS Institute 2003).

RESULTATS

Effet ovicide de l'huile de neem extraite à froid : Le tableau 2 montre que l'huile réduit de manière significative le taux moyen d'éclosion comparativement au témoin non traité ($P < 0,001$) (Tableau 2). Ce taux d'éclosion diminue avec l'augmentation de la concentration de l'huile de neem. Les taux d'éclosion

les plus faibles ont été observés avec les concentrations de 3,75 et 5% pour les âges d'œufs étudiés. En revanche, pour une même concentration d'huile, on ne note pas de différence significative entre les taux d'éclosion des œufs d'un âge à un autre ($P > 0,05$).

Tableau 2 : Taux moyen (%) d'éclosion des œufs de *M. vitrata* traités à l'huile de neem extraite à froid

Concentration de l'huile de neem (%)	Taux d'éclosion des œufs (%±ET)			Probabilité
	Âges des œufs (heures)			
	24	48	72	
Témoin (eau simple)	88,33±2,87 A	98,21±1,10 A	89,37±2,53 A	0,06
0,74	42,55±6,86 B	39,44±4,79 B	39,26±16,10 B	0,58
1,25	35,45±3,31 B	27,43±0,64 B	29,69±8,98 BC	0,07
2,5	14,58±2,79 C	18,80±3,37 C	18,50±5,26 BC	0,218
3,75	1,01±1,01 D	0,90±0,46 D	8,40±3,81 C	0,06
5	1,01±0,62 D	0,75±0,65 D	3,01±2,44 D	0,55
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	-

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet ovicide de l'huile de neem extraite à chaud : L'analyse de l'effet ovicide (Tableau 3) de l'huile de neem extraite à chaud montre qu'elle réduit également le taux d'éclosion des œufs de manière significative ($P<0,001$). Ce taux d'éclosion diminue aussi avec l'augmentation des concentrations. Les plus faibles

taux d'éclosion ont été obtenus à partir de la concentration 2,5%. A l'exception de la différence observée pour la concentration 2,5%, les taux d'éclosion des œufs d'âges différents traités avec la même concentration, ne se différencient pas ($P>0,05$).

Tableau 3: Taux moyen (%) d'éclosion des œufs de *M. vitrata* traités à l'huile de neem extraite à chaud

Concentration de l'huile de neem (%)	Âges des œufs (heures)			Probabilité
	24	48	72	
Témoin (eau simple)	89,20±3,19 A	88,29±5,48 A	89,72±4,81 A	0,97
0,74	55,86±10,61 B	49,62±15,33 B	50,96±0,93 B	0,93
1,25	26,22±4,36 C	18,44±18,76 C	24,05±7,99 C	0,79
2,5	7,40±1,16 D ab	0,23±0,23 D b	18,67±6,97 C a	0,03
3,75	2,03 ±0,96 D	0,00±0,00 D	5,07±3,97 D	0,34
5	0,99±0,61 D	0,00±0,00 D	5,89±0,64 D	0,15
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet larvicide résiduel de l'huile de neem extraite à froid sur les larves néonates : Les résultats de l'effet résiduel de l'huile de neem sur les larves néonates sont consignés dans le Tableau 4. Il y ressort que, lorsque les œufs sont traités à l'huile de neem extraite à froid, le taux de survie, des larves néonates qui en sortent est également affecté ($P<0,001$). Le taux de mortalité des larves néonates augmente avec la concentration de l'huile jusqu'à la concentration de 2,5% à partir de

laquelle ce taux atteint 100% pour les œufs de 24 heures et 48 heures. Pour les œufs de 72 heures, le taux de mortalité 100% des larves néonates est atteint à partir de la concentration 5%. En revanche, le taux de mortalité des larves néonates issues des œufs de différents âges traités à l'huile de neem extraite à froid n'est pas significativement différent pour une même concentration ($P>0,05$).

Tableau 4 : Taux moyen (%) de mortalité des larves néonates issues des œufs traités à l'huile de neem à froid et non rincés

Concentration de l'huile de neem(%)	Âges des œufs (heures)			Probabilité
	24	48	72	
Témoin (eau simple)	0,00±0,00 D	0,00±0,00 D	0,00±0,00 C	-
0,74	27,00±6,5 C	30,55±7,27 C	25,94±8,98 B	0,16
1,25	54,20±6,10 B	46,203±6,57 B	58,71±8,80 AB	0,76
2,5	100,00±0,00 A	100,00±0,00 A	90,78±3,25 A	0,32
3,75	100,00±0,00 A	100,00±0,00 A	98,00±1,53 A	0,39
5	100,00±0,00 A	100,00±0,00 A	100,00±0,00A	-
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet larvicide résiduel de l'huile de neem extraite à chaud sur les larves néonates : Les résultats de l'effet résiduel de l'huile de neem extraite à chaud sur les larves néonates sont présentés dans le Tableau 5. Ces résultats montrent que l'huile de neem extraite à chaud affecte négativement la viabilité des larves issues d'un même âge d'œufs ($P < 0,001$). Pour les œufs de 24 heures et 48 heures, le taux de mortalité

augmente avec la concentration de l'huile jusqu'à la concentration de 3,75% à partir de laquelle ce taux atteint 100%. Pour les œufs de 72 heures, le taux de mortalité 100% est atteint à partir de la concentration 5%. En revanche, en fonction de l'âge des œufs, aucune différence n'a été observée lorsque les œufs ont été traités avec la même concentration ($P > 0,05$).

Tableau 5 : Taux moyen (%) de mortalité des larves néonates de *M. vitrata* traités à l'huile de neem extraite à chaud

Concentration de l'huile de neem(%)	Âges des œufs (heures)			Probabilité
	24	48	72	
Témoin (eau simple)	0,00±0,00 D	0,00±0,00 D	0,00±0,00 C	-
0,74	44,43±1,86 C	43,45±18,36 C	50,13±4,31 B	0.83
1,25	48,15±9,18 B	55,00±10,0 B	57,94±11,92 B	0.74
2,5	86,67±13,3 A	80,00±20,0 A	79,89±12,14 A	0.93
3,75	100,00±0,00 A	100,00±0,0 A	99,18±0,81 A	0.39
5	100,00±0,00 A	100,00±0,00A	100,00±0,00 A	-
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet ovicide comparé de l'huile de neem extraite à froid sur les œufs traités non rincés et rincés : Le tableau 6 présente le taux moyen d'éclosion des œufs de différentes modalités de traitement. Quelle que soit la modalité de traitement (rincé et non rincé) et le temps mis avant rinçage, le taux d'éclosion des œufs est plus élevé avec les témoins et diminue avec l'augmentation

de la concentration de l'huile de neem extraite à froid. Les plus faibles taux d'éclosion sont observés à partir de la concentration 3,75% pour les œufs traités non rincés et rincés. Pour la même concentration, les taux d'éclosion ne diffèrent pas ($P > 0,05$) entre les temps de rinçage.

Tableau 6 : Taux moyen(%) d'éclosion des œufs traités à l'huile de neem extraite à froid non rincés et rincés

Concentration de l'huile de neem(%)	Taux d'éclosion des œufs (%±ET)				Probabilité
	Temps mis avant rinçage (mn)				
	Non rincés	30	60	120	
Témoin (eau simple)	91,97±1,70 A	93,57±1,24 A	93,5±1,24 A	91,57±1,61 A	0,67
0,74	40,41±5,61 B	48,72±3,42 B	42,4±3,62 B	33,91±5,02 B	0,28
1,25	30,86±3,09 C	29,97±6,88 C	27,6±3,87 C	21,41±5,24 C	0,53
2,5	17,30±2,17 D	14,74±4,74 D	8,80±2,36 D	14,44±5,61 C	0,50
3,75	3,39±1,55 E	2,98±1,19 E	5,76±1,69 D	2,00±0,90 D	0,26
5	1,64±0,84 E	1,08±0,45 E	2,54±1,70 D	1,78±0,71 D	0,16
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet ovicide comparé de l'huile de neem extraite à chaud sur les œufs traités non rincés et rincés : Les résultats de l'analyse de variance (Tableau 7) ne présentent aucune différence significative entre les différentes modalités de traitement pour une même concentration ($P>0,05$) à l'exception de la concentration 2,5%. En revanche, on note une différence significative

($P<0,001$) entre le témoin et les différentes concentrations d'une part et entre les différentes concentrations de chaque mode de traitement d'autre part. Les plus faibles taux d'éclosion sont observés à partir de la dose 3,75% quel que soit le mode de traitement.

Tableau 7 : Taux moyen (%) d'éclosion des œufs traités à l'huile de neem extraite à chaud puis rincés et non rincés

Concentration de l'huile de neem (%)	Temps mis avant rinçage (mn)				Probabilité
	Non rincés	30	60	120	
Témoin (eau simple)	89,07±2,46A	89,24±1,78A	89,07±2,62A	88,32±2,4A	0,97
0,74	52,14±6,57B	44,62±3,92B	49,14±3,50B	56,68±3,90B	0,32
1,25	22,90±4,48C	34,69±6,16C	31,89±3,79C	37,86±3,66C	0,13
2,5	8,77±3,05Db	16,33±3,56Dab	19,66±3,75Dab	23,82±2,71Da	0,01
3,75	2,37±1,37D	6,29±1,55E	3,21±1,27E	6,22±2,01E	0,18
5	2,29±1,33D	2,97±1,20E	3,17±0,90E	2,93±1,14E	0,95
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet larvicide résiduel comparé de l'huile de neem extraite à froid sur les larves néonates issues des œufs traités non rincés et rincés : Pour les modalités de traitement des œufs et le temps mis avant rinçage, les résultats montrent qu'il y a une différence significative ($P<0,001$) entre les taux de mortalité (Tableau 8). Ces taux de mortalité augmentent avec les concentrations de l'huile de neem extraite à froid. A

partir de la concentration de 2,5%, le taux de mortalité reste statistiquement le même quel que soit le mode de traitement. Cependant, à l'exception de la différence observée sur le taux de mortalité des larves issues des œufs traités à la concentration 0,74% puis rincés 30 mn et 120 mn après, il n'y a aucune différence significative entre les taux de mortalité des différents modes de traitement.

Tableau 8 : Taux moyen (%) de mortalité des larves néonates issues des œufs traités à l'huile de neem à froid puis rincés et non rincés

Concentration de l'huile de neem (%)	Temps mis avant rinçage (mn)				Probabilité
	Non rincés	30	60	120	
Témoin (eau simple)	0,00±0,00D	0,00±0,00D	0,00±0,00D	0,00±0,00D	-
0,74	18,83±5,06Cab	36,66±8,7Ca	18,65±5,63Cab	11,09±3,68Cb	0,02
1,25	53,03±6,57B	58,81±9,61B	59,78±9,41B	55,37±0,98B	0,24
2,5	92,74±6,65A	86,49±5,98A	95,00±5,00A	98,91±1,08A	0,13
3,75	99,48±0,51A	100,0±0,00A	100,0±0,00A	100,00±0,00A	0,43
5	100,00±0,00A	100,0±0,00A	100,00±0,00A	100,00±0,28A	-
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effet larvicide résiduel de l'huile de neem extraite à chaud sur les larves néonates issues des œufs traités non rincés et rincés : L'analyse de variance (Tableau 9) sur la cumulation concentration par concentration des différentes modalités de traitement (œufs traités non rincés et œufs traités et rincés 30mn, 60 mn et 120 mn après traitement) a montré une différence significative ($P < 0,001$) entre les concentrations d'huile pour le taux de mortalité des

larves néonates. Les plus forts taux de mortalité ont été obtenus avec les concentrations de 3,75% et 5%. Quant aux plus faibles taux de mortalité, ils ont été obtenus avec la concentration de 0,74%. Cette analyse a montré également qu'il n'y a aucune différence significative ($P > 0,05$) entre les modalités de traitement pour une même concentration à l'exception de la concentration 0,74%.

Tableau 9 : Taux moyen (%) de mortalité des larves néonates issues des œufs traités à l'huile de neem extraite à chaud puis rincés et non rincés

Concentration de l'huile de neem (%)	Temps mis avant rinçage (mn)				Probabilité
	Non rincés	30	60	120	
Témoin (eau simple)	0,00±0,00D	0,00±0,00E	0,00±0,00E	0,00±0,00E	
0,74	29,33±7,72Ca	9,75±3,28Db	8,31±2,21Db	11,75±3,56Db	0,007
1,25	37,02±7,28C	44,71±6,57C	37,09±5,09C	37,23±7,73C	0,33
2,5	82,15±8,35B	87,66±3,12B	87,24±3,71B	83,10±3,12B	0,81
3,75	99,72±0,27A	98,88±1,11A	100,00±0,00A	100,0±0,00A	0,47
5	100,0±0,00A	100,00±0,0A	100,00±0,00A	98,51±0,00A	0,10
Probabilité	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

Les moyennes affectées des mêmes lettres alphabétiques en majuscule dans la colonne, n'ayant pas de lettres en minuscule sur la ligne, ne sont pas significativement différentes d'après le test de Student Newman-Keuls au seuil de 5%.

Effets ovicides comparés à la même concentration, des huiles de neem extraites à froid et à chaud sur le taux d'éclosion des œufs : La Figure 1 compare les taux d'éclosion des œufs traités à huile de neem extraite à froid et à chaud à la même concentration. A

la même concentration, le taux d'éclosion ne diffère pas statistiquement ($P > 0,05$) pour les deux types d'huiles. La concentration 3,75% et 5% présentent les plus faibles taux d'éclosion.

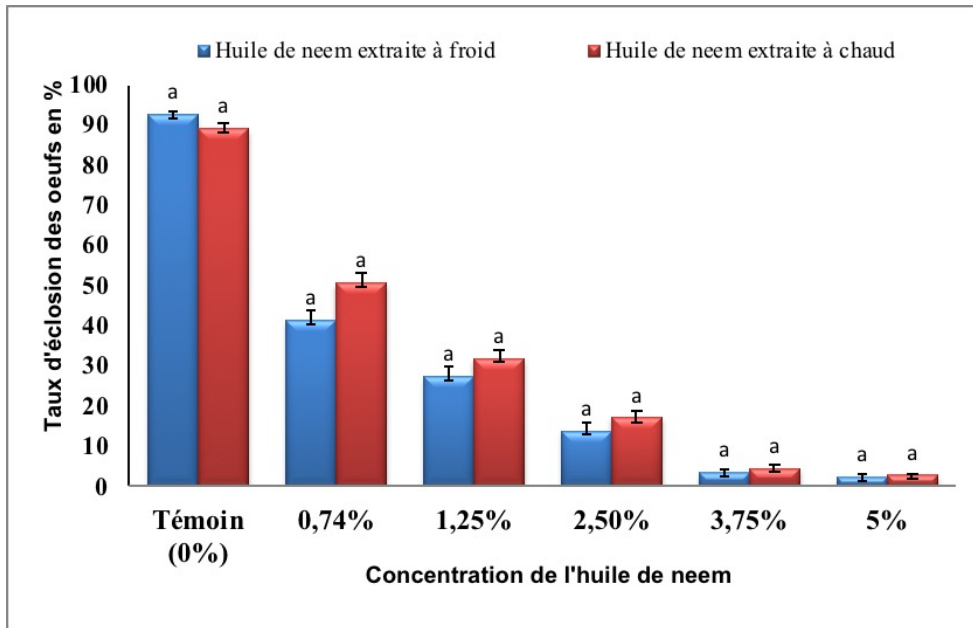


Figure 1: Taux moyen (%) d'éclosion des œufs traités à la même concentration avec les huiles extraites à froid et à chaud

Effets larvicides comparés à la même concentration, des huiles de neem extraites à froid et à chaud sur le taux de mortalité des larves néonates : La Figure 2 compare à la même concentration, le taux de mortalité des larves néonates issues des œufs traités à l'huile de neem extraite à froid de celle extraite à chaud. Les différentes concentrations

ont induit une mortalité des larves, comparé au témoin (0%). Pour chacune des concentrations d'huile testées, la mortalité des larves néonates ne diffère pas significativement ($P > 0,05$) selon que l'huile soit extraite à chaud ou à froid. Pour les deux types d'huile de neem, les concentrations 3,75% et 5% induisent un taux de mortalité des larves néonates à plus de 98%.

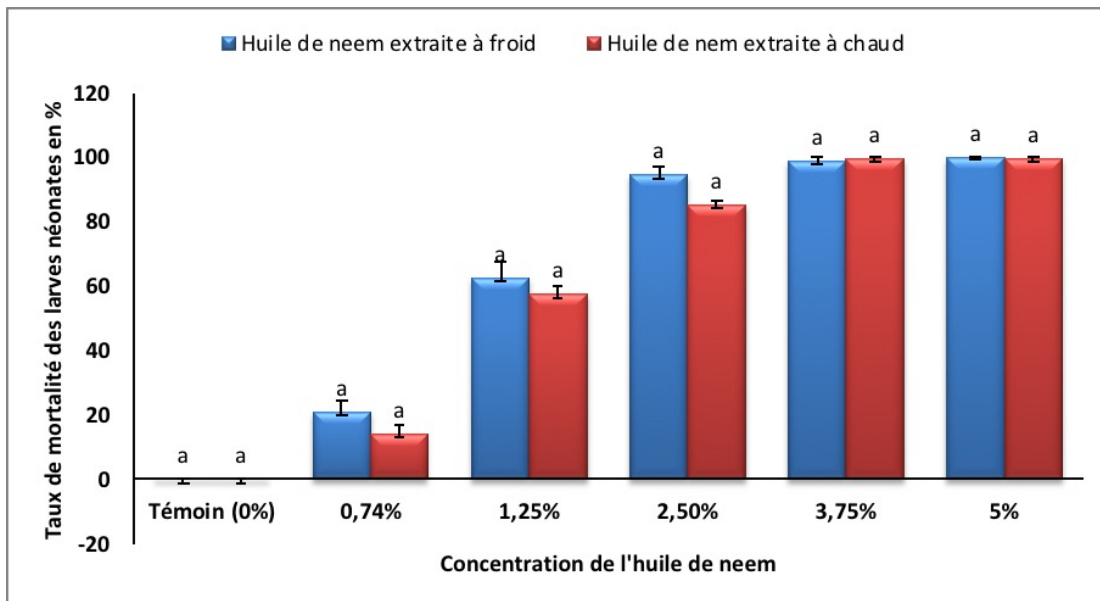


Figure 2 : Taux moyen (%) de mortalité des larves néonates infligé par les huiles de neem extraites à froid et à chaud, à la même concentration.

DISCUSSION

La présente étude montre que l'application de l'huile de neem extraite à froid ou à chaud sur les œufs de *M. vitrata* réduit significativement leur taux d'éclosion. En effet, lorsque les œufs du ravageur ont été traités à l'huile de neem, quel que soient l'âge, le taux d'éclosion a été significativement réduit. L'huile de neem est connue pour son pouvoir insecticide mais aussi ovicide (Faye, 2010). Des résultats similaires ont été rapportés sur plusieurs insectes dont *Atherigona soccota* Rondani (Zongo et al., 1993), *Pieris brassicae* (Fazil et Ansari, 2011), *Diatraea saccharalis* (Oliveira et al., 2013), *Maruca vitrata* (Traoré et al., 2019b), *Clavigralla gibbosa* (Schukla et Kumar, 2002), *Clavigralla tomentosicollis* (Traoré et al., 2019a) et des insectes de stocks (Das, 1987 ; Mankanjuola, 1989 ; Nukenine et al., 2011). Ces résultats pourraient s'expliquer par la perméabilité du chorion des œufs. En effet, l'œuf de *M. vitrata* a un chorion mince et muni d'aéropyles (petits trous liés à la respiration embryonnaire), ce qui faciliterait la pénétration des composés chimiques toxiques de l'huile de neem. Don-Pedro (1988) rapporte que le revêtement des œufs de *Callosobruchus maculatus* par l'huile d'arachide peut : bloquer la respiration en créant « un effet barrière » et l'œuf meurt par un manque d'oxygène ; créer le durcissement de la coquille d'œuf pour empêcher l'éclosion ou encore créer une perturbation du bilan hydrique de l'embryon ou les protéines d'œuf. Ces résultats expliqueraient l'absence de différence significative entre les taux d'éclosion des œufs de différents âges. L'huile de neem, extraite à froid ou à chaud affecte négativement la survie des larves issues des œufs traités. L'huile de neem à travers ses essences volatiles (azadirachtine, organosulfurés) se diffuserait dans l'œuf à travers les aéropyles et affecterait l'embryon. Le développement physiologique embryonnaire serait donc perturbé et peut conduire à la mort des larves néonates. Ce constat a été fait par Traoré et al., 2019b qui a attribué la perte de viabilité dans les œufs au principal composé chimique (azadirachtine) présent dans l'essence d'huile de neem. Selon le même auteur, l'azadirachtine se diffuserait à travers la coquille de l'œuf et affecterait tout le processus physiologique et biochimique lié au développement embryonnaire. Des résultats similaires ont été obtenus par Saxena (1981), avec les œufs de *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée), traités à l'huile de neem à des concentrations différentes. Une fois traités, la matière active agirait durant toute la durée du développement embryonnaire aboutissant à l'obtention des larves néonates qui, ayant une physiologie

perturbée meurent. Le même constat est fait par Traoré et al., 2019b sur les œufs de *M. vitrata* traités avec l'huile de neem à des concentrations différentes. Concernant le taux d'éclosion des œufs traités non rincés et ceux rincés pour une même concentration, nos résultats ont montré qu'il n'y a pas de différence significative, ce qui signifierait que le rinçage n'a pas affecté le principe actif de l'huile de neem sur les œufs. Cet effet ovicide de l'huile même après rinçage est rapporté par Traoré et al., 2019b. Cela peut s'expliquer par la nature et la densité de l'huile qui ne se rince pas à l'eau. En effet, les molécules d'eau sont polaires tandis que celles d'huile ne le sont pas (Karaborni et al., 1996). De ce fait, l'huile ne se dissout pas dans l'eau et par conséquent, n'est pas entièrement lessivée en situation de rinçage. Ce résultat pourrait aussi signifier que l'huile de neem à travers ses composés chimiques peut agir immédiatement sur les œufs. Selon Mehlhorn et al., 2011, seulement cinq minutes suffisent pour tuer la larve en développement à l'intérieur de l'œuf et inhiber ainsi son éclosion. Alors que dans notre cas, les œufs ont été rincés ½ heure, 1 heure et 2 heures après application, ce qui est suffisant comme temps pour tuer les embryons à l'intérieur des œufs. Cette action immédiate des composés chimiques a été rapportée par Traoré et al., 2019b qui, après traitement des œufs de *M. vitrata* à l'huile de neem et rincés à des temps différents n'ont pas constaté de différence significative. Un résultat encore plus intéressant, c'est la mortalité infligée aux larves néonates par l'effet résiduel des huiles de neem, même lorsque les œufs dont elles sont issues ont été rincés. Des résultats similaires ont été rapportés sur les œufs de 12 heures de *M. vitrata* par Traoré et al., 2019b. Cette mortalité des larves néonates serait due au contact direct avec la coquille de l'œuf traité durant l'éclosion ou par absorption des molécules de neem présentes sur la coquille. Même rincé à l'eau, l'huile continue de perturber le développement de la larve à l'intérieur de l'œuf. Les effets de l'huile de neem sur la viabilité des œufs et la mortalité des larves néonates sont dépendants de la concentration. L'étude a montré que plus la concentration est élevée, plus le taux d'éclosion des œufs est réduit et le taux de mortalité des larves néonates augmente. Ainsi, la forte corrélation entre la concentration de l'huile, le taux d'éclosion et la mortalité des larves néonates indiquerait qu'une augmentation de la concentration d'huile induirait une diminution du taux d'éclosion et une augmentation du taux de mortalité des larves néonates. Cette corrélation pourrait

donc s'expliquer par le fait qu'une augmentation de la concentration conduit à une augmentation des principes actifs. Ce qui est en accord avec une étude similaire menée par Ekesi (2000) qui a établi que les extraits de graines de neem à des concentrations de 5, 10 et 15% réduisent considérablement le taux d'éclosion des œufs. Les concentrations utilisées dans l'étude sont inférieures à celles utilisées par le même auteur. Ce résultat suggère donc que les principaux composés chimiques n'ont pas seulement besoin d'être à une forte concentration dans la solution pour agir sur les œufs du ravageur. L'huile de neem extraite à froid ou à chaud a les mêmes effets sur les œufs de *M. vitrata* ainsi que les larves néonates. La comparaison des résultats sur le taux d'éclosion des œufs et la mortalité des larves néonates ne montre pas de

différence significative pour les deux huiles à la même concentration. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que la concentration en azadirachtine n'est pas la principale variable prédictive du pouvoir insecticide ou ovicide de l'huile de neem. Un ou plusieurs autres composés, probablement des limonoïdes causent une mortalité additionnelle équivalente à 8800 ppm d'azadirachtine (Schmutterer 1990). Des études conduites avec différentes concentrations d'huile de neem par Gauvin *et al.* (2003) ont établi que l'huile de neem avait le même effet sur des drosophiles et ce, indépendamment de la concentration en azadirachtine de l'huile. Ces résultats montrent qu'il existe une synergie entre les différents composés actifs de l'huile de neem.

CONCLUSION

Les huiles de neem utilisées dans cette étude ont été toutes toxiques pour les œufs et les larves de *M. vitrata* en conditions de laboratoire. Ces deux (02) huiles ont la même efficacité sur les œufs et les larves néonates du ravageur. Ces huiles bien qu'efficace en tant que biopesticide dans les conditions de laboratoire méritent d'être évaluées en milieu réel, en vue de leur utilisation comme un produit alternatif aux insecticides chimiques dans la lutte contre *M. vitrata* au niveau des petites exploitations agricoles. Leur utilisation pourrait

améliorer les rendements du niébé si une application précoce (à l'initiation des boutons floraux) est faite en culture du niébé. Elles garantiront la production des aliments de qualité répondant aux besoins des consommateurs. L'utilisation de la solution de l'huile de neem à 3,75% soit une dose de 1,5 litre d'huile à l'hectare est recommandée. Cette dose pourrait réduire le taux d'éclosion des œufs et conduire à une forte mortalité des larves néonates

REMERCIEMENTS

Cette étude a été rendue possible grâce au projet de recherche Sahel-IPM financé par la fondation McKnight sous les termes de référence 18-096. Nos remerciements vont également aux techniciens

Tarpidiga Simon et Ouédraogo Dominique pour leurs précieuses contributions lors de la collecte des données.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abeeluck D., Benimadhu S.P., Rajkomar B. et Ramnauth R.K., 1997. Pesticide use in Mauritius. A Report of a Survey. Agricultural Research and Extension Unit, Réduit, Maurice.
- Adigoun F. A., 2002. Impact des traitements phytosanitaires du niébé sur l'environnement et la santé des populations: cas des Klouékanmé et de la basse vallée de l'Ouémé (Bénin). Mémoire de maîtrise professionnelle, Université d'Abomé Calavi (UAC) 71p.
- Atachi P. et Sourokou B., 1989. Use of decis and systoate for the control of *Maruca testulalis* (Geyer) in cowpea. *Insect Science and its application*, 3 : 373-381.
- Ba N.M., Margam V. M., Dabiré L.C., Sanon A., McNeil J. N., Murdock L.L. and Pittendrigh B.R., 2009. Seasonal and regional distribution of the cowpea pod borer *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) in Burkina Faso. *International Journal of Tropical Insect Science*, 29, 109–113.
- Bell C.H. et Wilson S.M., 1995. Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Product Research*, 31 : 199-205.
- Dabiré L.C.B., 2001. Etude de quelques paramètres biologiques et écologiques de *Clavigralla tomentosicollis* STAL., 1855 (Hemiptera: Coreidae), punaise suceuse des gousses du

- niébé [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.] dans une perspective de lutte durable contre l'insecte au Burkina Faso. Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences Naturelles. Université de Cocody, UFR Biosciences, 179P.
- Das G.P., 1987. Efficacy of neem oil on the egg and grub mortality of *Callosobruchus chinensis* Linn. (Bruchidae: Coleoptera). Tropical Grain Legume Bulletin, 34 : 14-15.
- Don-Pedro K. N., 1988. Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* F., Pesticide Science 26 PP 107-115.
- Downham M.C.A., Hall D.R., Chamberlain D.J., Cork A., Farman D.I., Tamò M., Dahounto D., Datinon B. et Adetonah S., 2003. Minor components in the sex pheromone of legume pod borer: *Maruca vitrata* development of an attractive blend. Journal of Chemical Ecology, 29: 989-1011.
- Dreyer H., 1994. Seed damaging field pest of cowpea (*Vigna unguiculata*) in southern Bénin, with special reference to *C. tomentosicollis* Stål (Hemiptera: Coreidae). A dissertation submitted to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich for the degree of Doctor of technical Sciences, 186 p.
- Ekesi S., 2000. Effect of Volatiles and Crude Extracts of Different Plant Materials on Egg Viability of *Maruca vitrata* and *Clavigralla tomentosicollis*. Phytoparasitica, 28 (4) : 305 - 310.
- FAOSTAT 2013 : <http://www.fao.org/fao-stat/fr/#data/QC>.
- Faye M., 2010. Nouveau procédé de fractionnement de la graine de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) sénégalais : production d'un bio-pesticide d'huile et de tourteau. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, France, 267P.
- Fazil H. et Ansari M.S., 2011. Toxic effects of neem-based insecticides on *Pieris brassicae* (Linn.). Crop protection, 30(4) : 502-507.
- Gauvin M.J., Bélanger A., Nébié R. et Boivin G., 2003. « *Azadirachta indica* : l'azadirachtine est-elle le seul ingrédient actif ? » Phytoprotection, 84 : 115-119.
- Ilboudo Z., 2009. Activité Biologique de quatre huiles essentielles contre *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera : Bruchidae), insecte ravageur des stocks de niébé au Burkina Faso. Thèse de doctorat, université de Ouagadougou, 150p.
- Kaboré K.H., 2013. Effet de microdosage de la fumure organo-minérale sur la dynamique de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., agent causal de la pourriture charbonneuse du niébé. Mémoire de DEA, option : phytopathologie. 35P.
- Kadri A., Moussa Z.O., Sidoyacouba A., ABDOU K.K.H. et Karimoune L., 2013. Gestion intégrée de *Maruca vitrata* (FABRICIUS, 1787) et *Megalurothrips sjostedti* (TRYBOM, 1908), deux insectes ravageurs majeurs du niébé au Niger. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 7(6): 2549-2557.
- Karaborni S., Klaas E. et Smith B., 1996. Le ballet moléculaire de l'huile et du savon. Fondation de l'Ecole normale supérieure chaires internationales de recherche « Blaise PASCAL » 45, rue d'ulm : 75230 Paris cedex 05, 5 P.
- Makanjuola, W.A., 1989. Evaluation of extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) for the control of some stored product pests. Journal of Stored Products Research, 25(4): 231-237.
- Mehlhorn, H., Abdel-Ghaffar, F., Al-Rasheid, K. A., Schmidt, J., & Semmler, M. (2011). Ovicidal effects of a neem seed extract preparation on eggs of body and head lice. Parasitology Research, 109(5): 1299-1302. doi:10.1007/s00436-011-2374-8.
- Mouffok B., Raffy E., Urruty N. et Zicola J., 2008. Le neem, un insecticide biologique efficace. Projet tutoré du S2, Université Paul Sabatier IUT, Département génie biologique, 15p.
- Nukenine E.N., Tchiegang C., Mekouo A.A.T., Tofel K.H., Adarkwah C., Obeng Ofori D. et Adler C., 2011. Efficacy of Calneem derived from Ghanaian neem seeds and seed oils from two locations in Cameroon against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on maize. International Journal of Tropical Insect Science, 31(4) : 225-234.
- Oliveira H.N., Santana, A.G. et Antigo M.R., 2013. Insecticide activity of physic nut (*Jatropha curcas* L.) oil and neem (*Azadirachta indica* a. Juss.) oil on eggs of *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). Arquivos do Instituto Biológico (São Paulo), 80(2) : 229-232.
- Repetto R., 1985. Paying the price: pesticide subsidies in developing counties. Worldresources institute publication. Holmes USA, 27p.

- Sanginga N. et Bergvinson D., 2015. Oléagineux et Protéagineux. 26 P.
- Sanon A., Dabire L.C.B., Ouedraogo A.P. et Huignard J., 2005. Field occurrence of bruchid pests of cowpea and associated parasitoids in sub humid zone of Burkina Faso: importance on the infestation of two cowpea varieties at harvest. Plant pathology Journal, 4 (1): 14 - 20.
- SAS Institute. (2003). Version 9 for windows. Raleigh, NC: SAS Institute, North Carolina State University.
- Saxena R.C., 1981. Neem seed oil for leaf folder control. Plant Proc. News (Philippines), 10:48-50.
- Schmutterer H., 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. Annual Review of Entomology, 35: 271-297.
- Shukla A. et Kumar A., 2002. Ovicidal properties of some plant oils against pigeonpea pod sucking bug, *Clavigralla gibbosa* Spinola (Coreidae: Hemiptera). Plant Protection Bulletin (Faridabad), 54(1/2) : 15-16.
- Singh R.S. et Jackai L.E.N., 1988. The legume pod borer *Maruca testulalis* (Geyer) past present and future research. Insect Science and Its Application, 9 : 1-5.
- Singh S. R., 1985. Grain legume Entomology, IITA, Ibadan, Nigéria, 48 p.
- Traoré F., A. Waongo A., A. Sanou A., M.N. Ba M.N., C. Dabiré C. and B.R. Pittendrigh B.R., 2019a. Effects of cold- and hot-pressed neem oil on eggs of thepod-sucking bug *Clavigralla tomentosicollis* Stål (Hemiptera: Coreidae) and its parasitoid *Gryon fulviventre* Crawford (Hymenoptera: Scelionidae) under laboratory conditions. African Entomology, 27: 395-402.
- Traoré F., Waongo A., Ba N.M., Sanou A., Tamò M., et Pittendrigh R.B., 2019b. Effects of *Maruca vitrata* multi-nucleopolyhedrovirus and neem oil, *Azadirachta indica* Juss on the eggs of the cowpea pod borer, *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae). International Journal of Tropical Insect Science. <https://doi.org/10.1007/s42690-019-00061-2>
- Traoré, F., Ba, N.M., Dabire-Binso, L.C., Sanon, A. et Pittendrigh R.B., 2013. Feeding preferences of the legume pod borer *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) larvae and suitability of different flower parts for larval development. International Journal of Tropical Insect Science, 33 : 107–113.
- Van Huis A., 1991. Biological methods of bruchid control in the tropics: a review. Insect science and Its application, 12 : 87-102.
- Zongo, J.O., Vincent, C. et Stewart, R. K., 1993. Effect of neem seed kernel extract on egg and larval survival of the sorghum shootfly, *Atherigona soccata* Rondani (Dip., Muscidae). Journal of Applied Entomology, 115 :363- 369.