



Université de Ouagadougou

N° D'ORDRE

UFR/Sciences de la Vie et de la Terre

Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquées

## **THESE UNIQUE**

Présentée

Pour l'obtention du grade de

**Docteur de l'université de Ouagadougou**

Spécialité : Sciences Biologiques Appliquées

Option : Entomologie

Par

**ZAKARIA ILBOUDO**

Sur le thème

---

**Activité Biologique de quatre huiles essentielles contre *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera : Bruchidae), insecte ravageur des stocks de niébé au Burkina Faso.**

---

**Soutenue le 12 Décembre 2009 devant la commission d'examen composée de :**

**Président :**

Laya SAWADOGO	Professeur Titulaire	Université de Ouagadougou
---------------	----------------------	---------------------------

**Membres :**

Isabelle A. GLITHO		Université de Lomé
Anne Marie CORTESERO	Professeur Titulaire	Université de Rennes1 CREAF /K , INERA

Clémentine L. BINSO  
DABIRE

Idrissa O DICKO

Antoine SANON

Professeur Titulaire

Maître de  
Recherches

Maître de  
Conférences

Maître de  
Conférences

Université de Bobo  
Dioulasso

Université de  
Ouagadougou

# Avant propos

## DEDICACE

**J**e dédie cette thèse à toute ma famille : Maman, Papa, ceci est la fin de vos légitimes inquiétudes et appréhensions. Trouvez en cette œuvre, le couronnement de tous vos efforts.

# **R**EMERCIEMENTS

Demain, dès l'aube, lorsque le coq chantera, que toutes les personnes qui de près ou de loin, d'une manière ou d'une autre, se sont intéressées à ce travail acceptent mes remerciements.

Je voudrais en particulier, exprimer toute ma gratitude à Monsieur Antoine SANON, Maître de Conférences à l'UFR/SVT et Responsable du Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée de l'Université de Ouagadougou. Il a dirigé de bout en bout ce travail avec toute la dextérité et la clairvoyance requises. Sa disponibilité, sa sollicitude, sa magnanimité, sa rigueur scientifique, ses immenses qualités humaines ainsi que ses soutiens multiples et multiformes ont permis de mener cette thèse à bon port et dans de meilleures conditions. Je lui rends hommage d'avoir guidé mes premières marches dans l'univers passionnant et complexe de la recherche. En tant que guide scientifique, je lui saurais gré de continuer à m'abreuver dans son riche et inépuisable savoir de l'Entomologie.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur Laya SAWADOGO, Professeur Titulaire, Responsable de la formation doctorale de l'UFR/SVT pour son soutien et les facilités administratives obtenues dans la préparation de cette thèse.

Je voudrais également remercier Madame Clémentine L. BINSO DABIRE, Maître de Recherches à l'INERA pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail. Madame, trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

Je remercie très sincèrement Madame Isabelle Adolé GLITHO, Professeur Titulaire, Responsable du Laboratoire d'Entomologie Appliquée de l'Université de Lomé (Togo), Rapporteur externe. Ce fut à la fois un plaisir et une chance inouïe d'avoir bénéficié de votre enseignement, de votre longue expérience ainsi que de vos précieuses connaissances de la problématique de la conservation post-récolte du niébé. Merci pour l'honneur que vous me faites, malgré vos multiples occupations, la longue distance qui sépare nos deux universités et la fatigue du voyage, d'accepter de juger ce travail.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame Anne-Marie CORTESERO, Professeur Titulaire, Responsable du Laboratoire d'Ecobiologie des Parasitoïdes de l'Université Rennes 1 (France), Rapporteur externe. Vous avez accepté de juger ce travail en dépit de

vos agenda très chargé, soyez en abondamment remerciée.

Je tiens à témoigner ma gratitude à Monsieur Idrissa O. DICKO, Maître de Conférences à l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Rapporteur interne. Professeur, vous nous avez enseigné l'Entomologie dans toute sa noblesse et avez grandement contribué à guider notre choix pour cette discipline. Vous avez également accepté de juger cette thèse, trouvez ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Ce travail a bénéficié de la collaboration très franche et fructueuse de M. Roger C.H. NEBIE, Chimiste-Organicien, Maître de recherches à l'IRSAT à qui nous adressons nos sincères remerciements et toute notre reconnaissance. Nous souhaitons pouvoir bénéficier toujours de cette collaboration.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de tous les Enseignants de l'UFR/SVT et particulièrement ceux du département de Biologie et Physiologie Animale pour le labeur accompli durant toutes ces années de formation.

Je n'oublie pas mes aînés, Dr GNANKINE Olivier, Dr BADOLO Athanase, Dr BAYALA B. Roger, Dr OUEDRAOGO Maurice, M. FABRE Hamed pour leur attention et leurs encouragements.

J'ai une pensée toute particulière à l'endroit de mes amis d'université, OUEDA Adama, GNEME Awa, ZONGO Dramane, KPODA Noëlie, TRAORE Souleymane pour la cordialité des relations et la chaleur de l'ambiance entretenues durant toutes ces années de quête du savoir.

Je fais un point d'honneur très spécial à tous les Doctorants du Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée, j'ai nommé : SANKARA Fernand, ILBOUDO-TAPSOBA Edith, BAMBBA H.E.S. Aboubacar, BAKOANE Alexis, TRAORE Fousséni, ROUAMBBA Bakari, ZONGO Salifou, KIENTEGA Honoré, KAM Koï, YAMKOULGA Marcelin, WAONGO Antoine et WANGRAWA Dimitri. De tout cœur, merci pour tous ces moments d'intense émotion et d'échange créés lors des « Show Entomo » et des « pause-café ». Bon vent à tous pour la suite de vos travaux et retenez ceci : ce n'est pas impossible, il suffit d'y croire. Que KANGOYE Malika trouve ici toute ma reconnaissance.

Qu'il me soit permis d'adresser mes sincères et vifs remerciements à mes amis et frères de longue date, BONKOUNGOU Isidore, TOUGOURI Grégoire, OUEDRAOGO Joachim, COMPAORE Patrice, KIENTEGA Abdoulaye et BAMA Sidoine. Vous avez toujours répondu favorablement et sans

conditions à toutes mes sollicitations, trouvez en ce travail la manifestation de l'amitié dans toute sa plénitude.

A mes frères et sœurs, je réitère inlassablement mes remerciements pour leur soutien indéfectible, leur particulière attention ainsi que leur constante affection à mon égard.

Je ne saurais clore cette liste de remerciement sans un clin d'œil amusé et complice à ma douce, tendre et bien aimée chérie, COMPAORE Jacqueline. La seule et unique Rose épanouie du paysage rutilant de mon cœur. Ma chérie, merci pour ton accompagnement, ta compréhension et ta patience.

Nous tenons vivement à remercier la Fondation Internationale pour la Science qui apporte un soutien à nos recherches sur les plantes insecticides à travers le contrat c/3393 et le Ministère Français de la Coopération qui a financé notre séjour d'échange à l'Université de Rennes1 et par l'accord d'un fonds de recherche CORUS à travers le contrat 6072.

## SOMMAIRE

<a href="#">Avant propos.....</a>	
<a href="#">DEDICACE.....</a>	
<a href="#">REMERCIEMENTS.....</a>	
<a href="#">SOMMAIRE.....</a>	
<a href="#">LISTE DES FIGURES.....</a>	
<a href="#">LISTE DES TABLEAUX.....</a>	
<a href="#">RESUME.....</a>	
<a href="#">INTRODUCTION GENERALE.....</a>	
<a href="#">CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....</a>	
<a href="#">1. <i>Le niébé, Vigna unguiculata</i>.....</a>	
<a href="#">1.1. Importance du niébé.....</a>	
<a href="#">1.2. Les insectes ravageurs du niébé.....</a>	
<a href="#">1.2.1. Les insectes ravageurs du niébé en culture.....</a>	
<a href="#">1.2.2. Les insectes ravageurs du niébé en stockage.....</a>	
<a href="#">1.3. La conservation du niébé.....</a>	

II. Les Bruchidae ravageurs du niébé.....
2.1. Importance économique des bruches.....
2.2. Description morphologique et position systématique de <i>C. maculatus</i> .....
2.2.1. Description morphologique.....
2.2.2. Position systématique.....
2.3. Biologie et stades de développement.....
2.3.1. Biologie.....
2.3.2. Stades de développement.....
2.4. Les stratégies de lutte.....
2.4.1. Les méthodes traditionnelles.....
2.4.3. La résistance variétale.....
2.4.4. La lutte biologique.....
2.4.5. Les biopesticides d'origine végétale.....
CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....
I. Matériel expérimental, biologique et les plantes aromatiques.....
1.1. Matériel expérimental.....
1.1.1. Le matériel utilisé pour les tests de toxicité.....
1.1.2. Le matériel utilisé pour le test de stockage expérimental.....
1.2. Matériel biologique.....
1.2.1. Origine des graines de niébé utilisées pour les élevages et les expérimentations.....
1.2.2. Origine et élevages de <i>Callosobruchus maculatus</i> .....
1.2.3. La souche du parasitoïde, <i>Dinarmus basalis</i> .....
1.3. Les plantes aromatiques.....
II. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....
III. Analyse statistique.....
<b>RESULTATS.....</b>
<i>CHAPITRE 3 : TOXICITE AIGÛE ET CHRONIQUE ET IMPACT DE FACTEURS INFLUENCANT L'EFFICACITE DES HUILES ESSENTIELLES VIS-A-VIS DE CALLOSOBRUCHUS MACULATUS.....</i>
Introduction.....
<i>I. Toxicité aiguë des huiles essentielles vis-à-vis des adultes et des œufs de C. maculatus.....</i>
1.1. Procédure expérimentale.....
1.2. Résultats.....
1.2.1. Variation de la réponse concentration-mortalité chez les adultes de <i>C. maculatus</i> .....

1.2.2. Toxicité aigue des 4 huiles essentielles vis-à-vis des adultes et des œufs de C. maculatus.....

1.3. Discussion.....

II. Toxicité chronique des huiles essentielles vis-à-vis de C. maculatus.....

2.2. Etude comparée de la sensibilité des insectes provenant des souches traitées (ST) et des insectes issus de la souche non traitée (SNT) aux huiles essentielles.....

2.3. Etude comparée de l'activité reproductrice des insectes des souches traitées (ST) et des insectes de la souche non traitée (SNT).....

2.5. Résultats.....

2.5.1. La sensibilité des adultes de la souche non traitée (SNT) et des souches traitées (ST) aux huiles essentielles.....

2.5.2. Activité reproductrice des insectes de la souche non traitée (SNT) et des insectes des souches traitées (ST) aux quatre huiles essentielles.....

2.6. Discussion.....

2.7. Conclusion partielle.....

III. Facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles vis-à-vis de C. maculatus.....

3.1. Persistance de l'activité biologique des huiles essentielles en conditions naturelles.....

3.2. Effets de l'exposition à un régime thermopériodique chaud sur l'activité biologique des huiles essentielles.....

3.2.1. Effets d'une exposition ponctuelle de graines traitées avec les huiles essentielles.....

3.2.2. Effets d'une exposition prolongée de graines traitées avec O. americanum.....

3.2.3. Effets d'une exposition directe et ponctuelle d'O. americanum.....

3.3. Résultats.....

3.3.1. Persistance de l'activité biologique des huiles essentielles en conditions naturelles.....

3.3.2. Effets d'une exposition ponctuelle de graines traitées avec les huiles essentielles.....

3.3.3. Effets d'une exposition prolongée de graines traitées avec O. americanum.....

3.3.4. Effets d'une exposition directe et ponctuelle d'O. americanum.....

3.4. Discussion.....

3.5. Conclusion partielle.....

CHAPITRE 4 : EFFET DES HUILES ESSENTIELLES SUR LE PARASITOÏDE DINARMUS BASALIS.....

Introduction.....

1. Toxicité aigue des huiles essentielles vis-à-vis de D. basalis.....



1.1. Effets des huiles essentielles sur les capacités parasitaires de <i>D. basalis</i> .....
1.2. Sensibilité des adultes de <i>D. basalis</i> aux concentrations non létales pour leur hôte.....
2. Résultats.....
2.1. Toxicité aigue des huiles essentielles vis-à-vis de <i>D. basalis</i> .....
2.2. Sensibilité des adultes de <i>D. basalis</i> aux concentrations non létales pour leur hôte.....
3. Discussion.....
4. Conclusion partielle.....
CHAPITRE 5 : EFFICACITÉ DES HUILES ESSENTIELLE DANS UN SYSTÈME DE STOCKAGE EXPÉRIMENTAL.....
Introduction.....
I. Importance de la quantité de graines traitées sur l'activité biologique des huiles essentielles.....
II. Application des huiles essentielles en stockage expérimental.....
2.1. Effet d'applications répétées d'huiles essentielles.....
- Lot 4 : sept (7) applications, au début et tous les 15 jours pendant 105 jours.....
2.2. Influence de la nature du récipient sur l'efficacité des huiles essentielles.....
2.3. Détermination du taux de germination des graines traitées à l'issue du stockage.....
III. Efficacité de poudres insecticides à base d' <i>O. americanum</i> vis-à- de <i>C. maculatus</i> .....
IV. Résultats.....
4.1. Importance de la quantité de graines traitées sur l'activité biologique des huiles essentielles.....
4.2. Effet d'applications répétées d'huiles essentielles.....
4.3. Influence de la nature du récipient sur l'efficacité des huiles essentielles.....
4.4. Taux de germination des graines traitées après 3 mois de conservation.....
4.5. Efficacité de poudres insecticides à base d' <i>O. americanum</i> vis-à- de <i>C. maculatus</i> .....
4.6. Discussion.....
4.7. Conclusion partielle.....
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....

## LISTE DES FIGURES

- FIGURE 1 : DÉGÂTS OCCASIONNÉS PAR LES BRUCHES APRÈS 4 MOIS DE STOCKAGE (SOURCE : ILBOUDO, 2008).....
- FIGURE 2 : ADULTES DE C. MACULATUS: FORME NON VOILIÈRE FEMELLE (A) ET MÂLE (B), FORME VOILIÈRE MÂLE ET FEMELLE (C) × 10 (SOURCE : ILBOUDO, 2009).....
- FIGURE 3: GRAINE DE NIÉBÉ INFESTÉE PAR C. MACULATUS. (× 10) (SOURCE : JALOUX, 2004).....
- FIGURE 4: ADULTES DE D. BASALIS MÂLE (♂) ET FEMELLE (♀)× 20 (SOURCE : JALOUX, 2004).....
- FIGURE 5: LES PLANTES AROMATIQUES DONT LES HUILES ESSENTIELLES ONT ÉTÉ EXTRAITES (SOURCE : ILBOUDO, 2008).....
- FIGURE 6: VARIATION DE LA RÉPONSE CONCENTRATION-MORTALITÉ CHEZ C. MACULATUS EXPOSÉ AUX 4 HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 7: SCHÉMA EXPLICATIF DU PROTOCOLE D'ISOLEMENT DES SOUCHES À PARTIR DE TRAITEMENTS AUX HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 8: SCHÉMA EXPLICATIF DE LA PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE DE MISE EN ÉVIDENCE DE LA PERSISTANCE DES HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 9: SCHÉMA EXPLICATIF DE LA PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE DE MISE EN ÉVIDENCE DE L'EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR LES HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 10: SCHÉMA EXPLICATIF DE LA PROCÉDURE EXPÉRIMENTALE DE MISE EN ÉVIDENCE D'UNE EXPOSITION PROLONGÉE À LA TEMPÉRATURE...

FIGURE 11: PERSISTANCE DES HUILES ESSENTIELLES EN STOCKAGE HERMÉTIQUE.....

FIGURE 12: EFFET DE L'EXPOSITION PONCTUELLE DE GRAINES TRAITÉES SUR LES ADULTES.....

FIGURE 13: EFFET D'UNE EXPOSITION PROLONGÉE DE GRAINES TRAITÉES AVEC *O. AMERICANUM* SUR LE NOMBRE D'ŒUFS DÉPOSÉS PAR LES FEMELLES DE *C. MACULATUS*.....

FIGURE 14: VARIATION DE LA RÉPONSE CONCENTRATION-MORTALITÉ CHEZ *DINARMUS BASALIS*.....

FIGURE 15: TAUX DE PARASITISME DE *D. BASALIS* EN PRÉSENCE DES HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 16: SENSIBILITÉ DES ADULTES *D. BASALIS* AUX CONCENTRATIONS NON LÉTALES POUR LEUR HÔTE.....

FIGURE 17: DISPOSITIF DE STOCKAGE EN ALUMINIUM.....

FIGURE 18: DISPOSITIF DE STOCKAGE EN PLASTIQUE.....

FIGURE 19: BOÎTES DE PÉTRI CONTENANT DES GRAINES EN GERMINATION.

FIGURE 20: IMPORTANCE DE LA QUANTITÉ DE GRAINES TRAITÉES SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES.....

FIGURE 21: TAUX DE GERMINATION DES GRAINES TRAITÉES.....

FIGURE 22: EFFICACITÉ DE POUDRES INSECTICIDES À BASE D'*O. AMERICANUM* VIS-À- DE *C. MACULATUS*.....

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques composés majoritaires et utilisations

**traditionnelles des 4 plantes aromatiques.....**

**Tableau 2 : Rendement des huiles essentielles utilisées.....**

*Tableau 3: CL50 et CL90 des huiles essentielles vis-à-vis des adultes de C. maculatus.....*

*Tableau 4: CL50 et CL90 des huiles essentielles vis-à-vis des œufs de C. maculatus.....*

**Tableau 5: Mortalité (%) des adultes issus de la souche non traitée (SNT) et des adultes provenant des souches traitées (ST) en fonction de la durée d'exposition aux quatre huiles essentielles.....**

**Tableau 6: Activité reproductrice des insectes de la souche non traitée (SNT) et des insectes des souches traitées (ST) aux quatre huiles essentielles.....**

*Tableau 7: Effet de l'exposition ponctuelle de graines traitées sur le nombre d'œufs déposés par les femelles de C. maculatus.....*

*Tableau 8: Effet d'une exposition prolongée de graines traitées avec O. americanum sur les adultes de C. maculatus.....*

*Tableau 9: Effet d'une exposition directe et ponctuelle d'O. americanum sur les adultes de C. maculatus.....*

*Tableau 10: CL50 et CL90 des huiles essentielles vis-à-vis des adultes de D. basalis.....*

**Tableau 11: Variation de l'Indice de Perforation (IP) des graines en fonction du nombre d'applications des huiles essentielles.....**

*Tableau 12: Variation du taux intrinsèque d'accroissement naturel (rm) en fonction du nombre d'applications des huiles essentielles.....*

**Tableau 13: Variation de l'Indice de Perforation (IP) en fonction de la nature du récipient.....**

*Tableau 14: Variation du taux intrinsèque d'accroissement naturel (rm) en fonction de la nature du récipient.....*

## RESUME

Au Burkina Faso, les graines de niébé en stockage subissent des dégâts considérables infligés par un insecte ravageur redoutable, *Callosobruchus maculatus*. Parmi les moyens de lutte envisagés, se trouvent les huiles essentielles. Ainsi, dans la présente étude, les huiles essentielles extraites de quatre plantes aromatiques, *Ocimum americanum* Sims, *Hyptis suaveolens* Poit., *Lippia multiflora* Moldenke et *Hyptis spicigera* Lam. ont été testées sur ce ravageur en vue d'optimiser leur emploi dans la protection du niébé stocké.

L'analyse de la toxicité aiguë de ces huiles essentielles vis-à-vis des formes externes, c'est-à-dire les stades de l'insecte se développant hors des graines, a révélé que les adultes sont plus sensibles que les œufs. En effet, les doses létales obtenues avec les différentes huiles essentielles sont plus faibles avec les adultes qu'avec les œufs.

L'observation de la toxicité à plus ou moins long terme sur *C. maculatus* a permis de noter que la sensibilité des insectes ayant subi la pression des huiles essentielles pendant huit (8) générations reste invariable. Par contre, certains paramètres biodémographiques varient comparativement à ceux de la souche non traitée.

L'étude des facteurs influençant la persistance des huiles essentielles renseigne qu'en situation hermétique, leur persistance est variable et *O. americanum* est l'huile la plus persistante avec 100% de mortalité jusqu'à quatorze (14) jours après le traitement. Cependant, lorsque les huiles sont appliquées en conditions chaudes, c'est-à-dire en régime thermopériodique 50 : 35°C ; 10 : 14h, on enregistre une perte de leur activité biologique seulement après deux (2) heures d'exposition.

L'évaluation des effets des huiles essentielles sur *Dinarmus basalis*, ectoparasitoïde des larves de *C. maculatus* montre que cet agent de lutte biologique est nettement plus sensible que son hôte.

En effet, ses capacités parasitaires diminuent en présence de ces produits. De même, l'exposition de *D. basalis* à des doses non létales pour *C. maculatus* engendre toujours une mortalité variant de 16 à 78% en fonction des huiles essentielles.

L'essai de stockage expérimental du niébé avec les huiles essentielles a permis de constater que leur efficacité ne dépend pas du nombre d'applications. Aussi, il ressort que l'efficacité de la conservation dépend de la nature des structures dans lesquelles les huiles essentielles sont appliquées. Les récipients en plastiques conviennent mieux que ceux en aluminium.

Les résultats obtenus indiquent la possibilité d'utilisation des huiles essentielles dans la protection des graines de niébé contre *C. maculatus* si les conditions d'optimisation de leur efficacité sont réunies. Cependant, la nocivité des huiles essentielles vis-à-vis du parasitoïde *D. basalis* pose le problème de leur utilisation dans un programme de lutte intégrée et nécessite la définition des conditions d'une combinaison harmonieuse des deux composantes de lutte.

*Mots clés* : huiles essentielles, *C. maculatus*, toxicité, stockage, niébé, persistance.

## INTRODUCTION GENERALE

L'agriculture occupe une place importante dans l'économie du Burkina Faso et mobilise à elle seule plus de 80% de la population. Parmi les spéculations produites, le niébé est la principale légumineuse alimentaire cultivée (Ouédraogo, 1991 ; Dabiré, 2001). L'Afrique fournit plus de la moitié de la production mondiale avec 3,36 millions de tonnes dont 70% provient de la sous région ouest africaine (Ntare, 1987) avec le Nigeria, le Niger et le Burkina Faso comme principaux producteurs (Jackai et Daoust, 1986 ; Nwokolo et Ilechukwu, 1996). Au Burkina Faso, la production du niébé, estimée à 436156 tonnes (D.G.P.S.A, 2007), pourrait être plus importante si les principales contraintes à la production sont levées (Dabiré, 2001). En effet, cette légumineuse subit en champs et en stockage les attaques de plusieurs insectes (Singh et Jackai, 1985 ; Jackai et Daoust, 1986 ; Ouédraogo et al., 1996 ; Dabiré, 2001). Cependant, de l'avis des producteurs, la contrainte majeure à l'exploitation du niébé est la difficulté de la conservation post récolte des graines. Au Burkina Faso, deux espèces de Coléoptères Bruchidae séminivores, *Bruchidius atrolineatus* Pic. et *Callosobruchus maculatus* Fab. ont été signalées (Ouédraogo et Huignard, 1981 ; Ouédraogo, 1991 ; Sanon et al., 2005). Les adultes apparaissent dans les cultures au début de la floraison et de la fructification du niébé et les femelles déposent leurs œufs sur les gousses vertes ou mûrissantes ou directement sur les graines si celles-ci sont disponibles (Ouédraogo et Huignard, 1981 ; Sanon et al., 2005). A la récolte, les gousses ou les graines portant déjà des œufs et des larves de bruches sont entreposées dans des structures de stockage où les insectes de la première génération, issus des cultures, émergent et se reproduisent. C'est précisément les larves dont tout le développement se déroule à l'intérieur des graines aux dépens des réserves cotylédonaire, qui occasionnent les dégâts et des pertes quantitatives et qualitatives (Ouédraogo et al., 1996 ; Ketoh et al., 1998 ; Sanon et al., 1998).

Ces pertes peuvent être considérables et sont estimées à plusieurs millions de dollars

par an (Caswell, 1961 ; 1981 ; Prevett, 1961 ; Huignard, 1985). L'essentiel des pertes est imputable à *Callosobruchus maculatus* qui est l'espèce la mieux adaptée à la vie dans les stocks grâce au polymorphisme imaginal observé avec cette espèce. En effet, *Bruchidius atrolineatus* ne présente qu'un nombre limité de générations (en général 2), et dès Janvier la plus part des adultes qui émergent dans les stocks sont en diapause reproductrice (Germain et al., 1987 ; Monge et al., 1988 ; 1989 ; Huignard et al., 1989 ; Glitho, 1990 ; Lenga, 1991). Ces insectes diapausants quittent rapidement les stocks pour des sites de diapause jusqu'alors mal connus ; ils n'ont donc qu'un impact limité sur la destruction des stocks. Il en est de même pour les insectes de la forme voilière de *Callosobruchus maculatus* qui apparaissent lorsque les graines sont trop dégradées et dont 96% des adultes sont diapausants dans les stocks (Zannou, 2000). Par contre, les formes non voilière, ne présentent pas de diapause et se maintiennent pendant la période de stockage du niébé en développant jusqu'à 8 générations (Sanon et Ouédraogo, 1998) lorsque aucune mesure de protection n'est prise, ces insectes peuvent entraîner la destruction complète des stocks de niébé au bout de quelques mois de conservation (Ouédraogo et al., 1996). Pour faire face à cette contrainte, les agriculteurs ont recours souvent à des méthodes simples et peu onéreuses comme l'utilisation de substances inertes (cendre, sable fin, argile...) et d'organes (feuilles, tiges, racines...) de plantes à propriétés insecticides ou insectifuges (Golob et Webley, 1980 ; Lucas, 1980 ; Zehrer, 1987 ; Maïga, 1987 ; Stoll, 1988 ; Van Huis, 1991 ; Dabiré, 1992 ; Nuto, 1995). Malheureusement, ces méthodes ont souvent une efficacité limitée dans le temps et ne s'appliquent qu'à des quantités réduites de graines. Au Burkina Faso, l'augmentation actuelle de la production du niébé pousse les paysans à adopter la lutte chimique (Dabiré, 2001).

Bien qu'efficaces, les produits chimiques insecticides utilisés sous forme de fumigants ou de poudres à mélanger directement avec les graines présentent souvent des



inconvénients vis-à-vis de l'environnement et de la santé humaine. De plus, ces produits génèrent des effets négatifs sur la couche d'ozone (WMO, 1995), et favorisent à terme le développement de la résistance des insectes (Bell et Wilson, 1995 ; Chaudhry, 1995) ainsi que la résurgence de souches de ravageurs très redoutées (Repetto, 1985 ; Kossou, 1987 ; Van Huis, 1991). Les inconvénients liés à l'emploi des pesticides de synthèse militent en faveur de la mise au point et de la vulgarisation d'alternatives efficaces à la lutte chimique. Dans cette perspective, plusieurs recherches se sont focalisées sur la lutte biologique à l'aide d'Hyménoptères ectoparasitoïdes de bruches (Sanon et al., 1998 ; Amévoïn, 1998 ; Amévoïn et al., 2007), la mise au point de variétés résistantes (Dabiré et al., 2004), l'utilisation des huiles essentielles (Ketoh et al., 2002 ; Séri-Kouassi et al., 2004 ; Sanon et al., 2006 ; Ngamo et al., 2007) et de méthodes écologiques. Actuellement, un regain d'intérêt est porté sur les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques dont certaines sont traditionnellement utilisées par les paysans pour protéger leurs stocks. Ce sont des biopesticides d'origine végétale qui ont prouvé leur efficacité en laboratoire contre de nombreux ravageurs de denrées stockées (Keita et al., 2001 ; Raja et al., 2001 ; Belmain et al., 2001 ; Murdock et al., 2003 ; Seri-Kouassi et al., 2004 ; Kellouche et Soltani, 2004 ). En raison de leur caractère volatil, les huiles essentielles agissent comme des fumigants (Don-Pedro, 1996a) et pourraient être utilisées dans le traitement de grands stocks sans avoir à déplacer les graines (Ketoh, 1998). Par ailleurs, ces phytoinsecticides présenteraient une faible rémanence dans les stocks traités (Ngamo et al., 2007) et une faible toxicité vis-à-vis des vertébrés (Attawish et al., 2005). Toutes ces qualités font de l'utilisation des huiles essentielles une alternative prometteuse de protection des stocks de niébé (Sanon et al., 2006 ; Ketoh et al., 2006). Cependant, les conditions de leur utilisation rationnelle et optimale restent à préciser.

Une des questions importantes qui se posent et qui a suscité nos recherches concerne l'utilisation pratique des huiles essentielles à grande échelle.

Nous avons entrepris toute une série d'investigations sur des huiles essentielles extraites de trois Lamiaceae, *Ocimum americanum* Sims, *Hyptis suaveolens* Poit., *Hyptis spicigera* Lam. et d'une Verbenaceae, *Lippia multiflora* Moldenke. Le choix de ces plantes se base sur leur utilisation traditionnelle par les producteurs de niébé, leur disponibilité dans la nature et la facilité d'extraction des huiles essentielles (Sanon et al., 2006). L'objectif global est d'apporter une contribution à l'optimisation de l'utilisation des huiles essentielles en protection des stocks de niébé contre *C. maculatus*, principal déprédateur de cette importante légumineuse.

Nos investigations ont cherché d'abord à déterminer l'efficacité des quatre huiles essentielles sur le ravageur. Dans cette optique, nous avons mesuré les réponses doses-mortalités des adultes et des œufs de *C. maculatus*. Les études antérieures ont, en effet, montré que ce sont surtout ces formes externes qui sont sensibles aux huiles essentielles (Ketoh et al., 2005 ; Sanon et al., 2006). Aujourd'hui, il n'y a que très peu de données sur la persistance des huiles essentielles dans un stock de graines conservées en conditions réelles. Or, les huiles essentielles font partie des composés naturels les plus complexes, les plus fragiles et les plus altérables extraits du monde végétal (Lobstein et al., 1983). Leur qualité peut également être affectée par certains facteurs climatiques notamment la température (Isman, 2000 ; Miresmailli, 2005). Il est donc possible que ces substances se dégradent rapidement et n'offrent qu'une protection limitée au cours du stockage. Nous avons alors analysé la rémanence des quatre huiles essentielles dans des stocks traités et conservés dans des dispositifs hermétiques.

Une autre préoccupation abordée dans cette première série d'investigations est le problème de l'effet des huiles essentielles à plus ou moins long terme sur le déprédateur.

Un des obstacles à la lutte contre les déprédateurs des denrées stockées est le développement de la résistance des insectes aux produits insecticides. En effet, selon Metcalf

(1994), plus de 500 espèces ont développé une résistance contre les pesticides de synthèse. Quelques cas de résistance aux toxines de *Bacillus thuringiensis* ont aussi été signalés (Rajamohan et al., 1998). La mise au point de produits à activité insecticide devrait donc aussi prendre en compte l'analyse de leurs effets sur les nuisibles à court, moyen ou long terme afin de réduire ou éviter la survenue de cas de résistance. Nous avons isolé au laboratoire une souche de *C. maculatus* qui s'est développé aux dépens d'huiles essentielles et nous avons analysé la sensibilité et le comportement reproducteur de la huitième génération.

La seconde série d'investigations a porté sur l'analyse des effets indésirables des huiles essentielles envers la faune auxiliaire associée aux Bruchidae ravageurs des stocks de niébé. En effet, plusieurs espèces d'Hyménoptères ectoparasitoïdes sont inféodées aux larves de bruches pendant la conservation du niébé (Monge et al., 1991). Parmi ces ennemis naturels, *Dinarmus basalis* est le meilleur agent de lutte biologique (Sanon et al., 1998) dont l'utilisation en combinaison avec les huiles essentielles pourrait être envisagée dans une démarche de protection intégrée. Ainsi, les huiles essentielles agiraient surtout sur les formes externes tandis que *D. basalis* compléterait cette action en parasitant les larves qui y auraient échappé (Ketoh et al., 2005). L'objectif des études entreprises ici est de déterminer la toxicité des huiles essentielles sur l'agent de lutte biologique ainsi que ses capacités de parasitisme en vue de contribuer à préciser les modalités de combinaison des deux composantes de lutte.

Enfin, l'étanchéité et la nature de la structure de conservation influencent l'efficacité de la protection avec les huiles essentielles (Ketoh, 1998).

Leur utilisation efficace à grande échelle nécessite donc de les adapter aux structures paysannes de conservation du niébé ou d'identifier des structures appropriées compatibles avec l'utilisation des huiles essentielles et pouvant être adoptées par les producteurs.

Les investigations menées ici ont permis de tester l'efficacité de différents récipients en aluminium et en plastique. Elles ont aussi permis de mener des tests à partir d'essais de

formulations des huiles essentielles en vue de les rendre moins volatiles.

## **CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

Dans ce chapitre, après avoir décrit la plante hôte, le niébé, son importance alimentaire

et économique, nous évoquerons la problématique de sa conservation en rappelant la biologie et le degré de nuisance de son principal ravageur avant de nous appesantir sur l'alternative de lutte proposée, les biopesticides d'origine végétale.

### **I. Le niébé, *Vigna unguiculata***

Le niébé est une plante annuelle autogame, présentant de grandes variabilités morphologiques en relation avec le nombre élevé de ses variétés (Smartt, 1976 ; Borget, 1989 ; Memento, 1991). Le port peut être buissonnant, érigé, semi érigé, prostré ou rampant. Les tiges de section circulaire, sont grêles, parfois cannelées et glabres. Les feuilles trifoliolées, ont une pilosité faible ou nulle, avec des stipules éperonnées à la base. Les folioles, ovales, aiguës, sont généralement entières, parfois lobées. Les fleurs, de couleur blanche, jaunâtre, bleu pâle rose ou violette, sont à l'extrémité d'un long pédoncule, formant des grappes axillaires. Les gousses, indéhiscentes, de forme cylindrique plus ou moins comprimée, voire aplatie, sont dressées par paire, formant un V. Les graines, au nombre de 8 à 20 par gousse et de forme ellipsoïde, plus ou moins arrondies, ont un tégument épais, de couleur blanche, blanc rosé, brune ou rosé.

Le niébé est une plante cultivée très ancienne, connue en Inde plusieurs années avant le christianisme (Ng et Marechal, 1985). La région d'origine du niébé semble être l'Afrique de l'Ouest, notamment la boucle du fleuve Niger (Faris, 1965) et il aurait été introduit en Inde à partir de l'Afrique de l'Est, notamment de l'Ethiopie (Mahon, 1981 ; Marechal et Baudoin, 1985) il ya très longtemps, au regard des contacts très anciens qui existent entre l'Est et l'Afrique (Purseglove, 1976). La systématique du niébé cultivé en Afrique de l'Ouest est la suivante (Marechal et al., 1978 ; Ouédraogo, 1978 ; 1991) :

Famille : Légumineuses

Sous famille : Fabaceae

Genre : *Vigna*

Espèce : *unguiculata*

Sous espèce : *unguiculata* Walp. Verdc.

### **1.1. Importance du niébé**

Le niébé joue un rôle très important dans l'alimentation en Afrique de l'Ouest. Ses graines sont riches en glucides (48% du poids sec) et surtout en protéines (25% du poids sec) constituées de la plupart des acides aminés essentiels, indispensables à la nutrition humaine, à l'exception toutefois des acides aminés soufrés (Smartt, 1976 ; Bressani, 1985). Le niébé peut donc constituer un complément nutritionnel intéressant pour les populations sahéliennes dont l'alimentation est surtout à base de céréales.

Les tiges et les feuilles, enroulées en bottes après la récolte des gousses et séchées sur les hangars donnent les fanes qui constituent du fourrage pour les animaux pendant la saison sèche où les pâturages sont rares.

Le niébé possède des caractéristiques agronomiques intéressantes. En effet, il peut survivre dans des sols pauvres, sa culture exigeant peu d'engrais à cause de son aptitude à réaliser la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (Smartt, 1976 ; Rachie, 1985). Cette légumineuse est donc recommandée dans les rotations et les associations de cultures.

Malheureusement tous les stades phénologiques du niébé subissent les assauts d'insectes ravageurs capables de compromettre sa production.

### **1.2. Les insectes ravageurs du niébé**

Tout au long de son cycle végétatif et reproducteur puis dans les stocks, le niébé est attaqué par des insectes, des maladies virales et fongiques et soumis à la concurrence des mauvaises herbes (Jackai et Daoust, 1986). Les insectes nuisibles au niébé peuvent être

classés comme suit (Singh et Allen, 1979 ; Ouédraogo, 1985):

### **1.2.1. Les insectes ravageurs du niébé en culture**

#### **1.2.1.1. Les insectes de la pré- floraison**

Ils regroupent essentiellement :

- Les Homoptères piqueurs- suceurs de sève, regroupant les Jassidae (*Empoasca* spp) et les Aphidae (*Aphis* spp). Ces insectes envahissent les plants de niébé en début du cycle de croissance (Singh et Van Emeden, 1979 ; Tottappilly et al., 1990).
- Les Coléoptères du feuillage, représentés par les Chrysomelidae (*Medythia quaterna* Fairmaire et *Oothea mutabilis* Sahlberg) dont les adultes sont d'excellents vecteurs du virus de la mosaïque jaune du niébé (Singh et Van Emeden, 1979 ; Singh, 1985 ; Singh et Jackai, 1985).
- Les larves de Lépidoptères consommatrices de feuilles représentées par des Noctuidae qui causent de sérieux dégâts aux tiges tendres, aux pédoncules et aux feuilles de niébé.
- Les thysanoptères du feuillage représentés par les Thripidae (*Sericothrips occipitalis* Hood) provoque une nécrose internervale et une déformation de la feuille (Singh, 1985).

#### **1.2.1.2. Les insectes de la floraison et post-floraison**

Ils sont constitués de :

- Les Thysanoptères des fleurs, représentés par les Thripidae (*Megalurothrips sjostedti*) qui entraînent la perte des fleurs (Singh et Van Emeden, 1979).

- Les Coléoptères des fleurs, il s'agit principalement de Meloïdae (*Mylabris* sp., *Mylabris biparta*) qui dévorent les fleurs de niébé (Singh et Van Emeden, 1979).
- Les foreuses de gousses, on distingue des larves de Lépidoptères (*Maruca vitrata*) et des punaises suceuses de gousses dont *Clavigralla tomentosicollis* est l'espèce la plus importante inféodée au niébé (Dabiré, 2001).

### **1.2.2. Les insectes ravageurs du niébé en stockage**

En Afrique de l'Ouest, les insectes qui se développent dans les systèmes de stockage aux dépens des graines de *Vigna unguiculata* sont constitués essentiellement par des bruches (Alzouma, 1987 ; Ouédraogo, 1991). Au Burkina Faso, *Callosobruchus maculatus* et *Bruchidius atrolineatus* sont les plus fréquemment rencontrés (Ouédraogo et Huignard, 1981 ; Ouédraogo, 1991 ; Sanon et al., 2005). Les infestations des gousses par les insectes ont lieu dans les cultures mais le développement des larves dans les cotylédons des graines se poursuit dans les stocks (Glitho, 1990 ; Ouédraogo et al., 1996 ; Sanon et al., 2006).

## **II. Les Bruchidae ravageurs du niébé**

### **2.1. Importance économique des bruches**

Les pertes occasionnées par les bruches sont estimées à plusieurs milliers de dollars par an (Huignard, 1985). Au moment de l'entreposage des récoltes, le taux d'infestation par les bruches est faible, généralement inférieur à 5% (Ouédraogo, 1991 ; Sanon et al., 2005). En absence de protection efficace, après 1 mois de conservation, ce taux atteint 30%, puis 80-100% en 5 mois de stockage (Nuto et Glitho, 1990 ; Seck et al., 1991 ; Ouédraogo et al., 1996 ; Van Alebeek, 1996). Les dégâts causés par les bruches sont variés et incluent des pertes quantitatives (perte de poids) et qualitatives (perforations, déjections d'insectes et



réduction du pouvoir germinatif).

En raison de sa présence permanente dans les stocks au contraire de l'espèce sympatrique *Bruchidius atrolineatus*, *Callosobruchus maculatus* est le principal déprédateur du niébé en stockage dans toute l'Afrique de l'Ouest. L'intérêt économique de cet insecte justifie donc son choix pour nos investigations.



**Figure 22 : Dégâts occasionnés par les bruches sur le niébé après 4 mois de stockage (source : Ilboudo, 2008)**

## **2.2. Description morphologique et position systématique de *C. maculatus***

### **2.2.1. Description morphologique**

*C. maculatus* est un petit Coléoptère de 2,8 à 3,5 millimètres de long. Le corps, de forme oblongue, est généralement rougeâtre et recouvert de poils blancs à jaunâtre (Ouédraogo, 1991). A l'émergence de l'adulte des graines, l'extrémité postérieure de l'abdomen dépasse légèrement les élytres (Ouédraogo, 1978). Une coloration différente des

élytres et du pygidium permet de distinguer le mâle de la femelle.

Il existe chez *Callosobruchus maculatus* un polymorphisme imaginal. Ce polymorphisme imaginal est induit pendant le développement embryonnaire et /ou post embryonnaire.

Il dépend des conditions de température et de teneur en eau des graines dans lesquelles a lieu le développement (Ouédraogo, 1991 ; Ouédraogo et al., 1991). Deux formes d'adultes ont été décrites et caractérisées par Utida (1954 ; 1972) ; Caswell (1960) et Ouédraogo (1978 ; 1991). Ces deux formes diffèrent par des caractères morphologiques, physiologiques et comportementaux.

Les adultes de la forme non voilière ont généralement un corps brun rougeâtre et ne se déplacent que par la marche. Les antennes des adultes de la forme non voilière sont plus longues que celles des adultes voiliers (Ouédraogo, 1991). Chez la femelle, les élytres portent 4 taches noires caractéristiques, 2 grandes au milieu, 2 petites à leurs extrémités postérieures. Le pygidium présente 2 taches noires séparées par une ligne pubescente recouverte de poils blancs. Chez le mâle, le prothorax, les élytres et le pygidium sont généralement recouverts de poils blancs. Le pygidium ne porte aucune tache noire. Pendant toute la saison sèche, les adultes de cette forme se maintiennent et se reproduisent sur les gousses et les graines stockées. Les adultes de la forme voilière émergeant des graines sont aptes au vol. Le corps à une coloration générale brun noir à gris noir. Chez la femelle, les élytres portent 4 grosses taches noires tandis que le prothorax et le pygidium sont recouverts de poils (Ouédraogo, 1991). Chez le mâle, les taches noires portées par les élytres sont en forme de faucille. Les taches situées vers les extrémités des élytres sont petites et diffuses. Les adultes voiliers sont en quiescence reproductrice à l'émergence des graines (A l'émergence, 1% des femelles de forme voilière sont reproductrices sexuellement actives ; 3% sont en quiescence reproductrice et 96% sont en diapause reproductrice (Zannou, 2000)). La quiescence est une adaptation à

des variations irrégulières de l'environnement entraînant des modifications physiologiques peu profondes (Tauber et al., 1981 ; 1984). Des travaux antérieurs ont montré que les adultes voiliers présentaient une véritable diapause reproductrice identique à celle observée chez *B. atrolineatus* (Glitho et al., 1996).

Cette forme quitte les stocks à l'approche et pendant la saison des pluies et est à l'origine de l'infestation des cultures de niébé (Sano-Fujii, 1984 ; Huignard et al., 1985).

### **2.2.2. Position systématique**

*Callosobruchus maculatus* fut décrit pour la première fois par Fabricius (1775) sous le nom de *Bruchus maculatus*. Il fut également répertorié sous plusieurs noms :

*Bruchus quadrimaculatus* (Fabricius, 1792), *Laria quadrimaculatus* (Bedel, 1901), *Pachymerus quadimaculatus* (Schilsky, 1905). Des études phylogénétiques récentes ont tendance à placer les bruches dans la famille des Chrysomelidae et dans la sous famille des Bruchinae (Sembène, com. pers., 2009).

Ordre : Coléoptères

Super famille : Phytophagoïdae

Famille : Chrysomelidae

Sous famille : Bruchinae

Genre : *Callosobruchus*

Espèce : *Callosobruchus maculatus*



C

**Figure 22 : Adultes de *C. maculatus*: forme non voilière femelle (A) et mâle (B), forme voilière mâle et femelle (C) × 10 (Source : Sanon, 2009).**

## **2.3. Biologie et stades de développement**

### **2.3.1. Biologie**

*Callosobruchus maculatus* est une espèce cosmopolite, polyvoltine, bien adaptée aux conditions de l'environnement et à celles des structures de stockage. Après l'accouplement, la femelle pond sur les gousses, de préférence mûres ou directement sur les graines dans les cultures ou dans les stocks. Hors mis le niébé, principale plante hôte (Weidner et Rack, 1984 ; Decelle, 1987), *C. maculatus* peut également se développer aux dépens de plusieurs espèces de légumineuses cultivées ou sauvages. La durée de développement est fonction des conditions climatiques prévalant au cours du stockage. L'éclosion de la larve a lieu 3 à 5 jours après le dépôt de l'œuf (Ouédraogo, 1978). La larve néonate, du type chrysomélien, perce le tégument et pénètre dans la graine. La suite du développement passe par 3 autres stades larvaires tous du type rynchophorien et par un stade nymphal duquel sortira la bruche adulte. La durée du cycle de l'œuf à l'adulte est variable en fonction des conditions climatiques et serait comprise entre 30 et 35 jours (Singh et Allen, 1979) et même au dessous de 20 jours en conditions de haute température et de faible humidité relative (Ouédraogo et al., 1996 ; Sanon et Ouédraogo, 1998). A la fin de la saison sèche, lorsque les graines sont fortement dégradées et que les variations climatiques annoncent le début de la saison des pluies, les individus de la forme voilière émergent dans les stocks (Ouédraogo, 1991).

### 2.3.2. Stades de développement

Le développement de *C. maculatus* comme celui de la plupart des Bruchidae passe par les stades suivants (Ouédraogo, 1978):

#### - L'œuf

Il est asymétrique et présente deux extrémités, une extrémité arrondie correspondant au pôle postérieur. On note à ce niveau la présence d'une protubérance appelée « respiratory tube » ou « funnel » (Wightman et Southgate, 1982 ; Credland, 1992) qui jouerait un rôle dans les échanges entre le milieu extérieur et l'intérieur de l'œuf. L'autre extrémité subconique correspondant au pôle antérieur. L'œuf est de couleur blanchâtre (**Figure 3**) et adhère à la graine grâce à un liquide émis par la femelle au moment de l'expulsion de l'œuf. L'incubation de l'œuf dure 3 à 5 jours et aboutit à la formation de la larve néonate.

#### - La larve de stade 1 (larve néonate ou L1)

C'est une larve de type chrysomélien apparaissant toujours à l'endroit de dépôt de l'œuf. Elle possède trois fines paires de pattes non fonctionnelles et une plaque prothoracique. Elle reste protégée à l'intérieur du chorion pendant 24 ou 48 heures, puis perfore le tégument de la graine en creusant une galerie dans l'épaisseur du cotylédon. Dès qu'elle pénètre dans la graine, elle mue.

#### - La larve de stade 2 (ou L2)

Elle est de type rynchophorien à corps blanchâtre. La tête sclérifiée porte une paire d'antennes articulées. Elle ne possède ni pattes, ni plaque prothoracique. En grossissant, elle continue de creuser la galerie et l'élargit en une première logette où intervient la mue.

#### - La larve de stade 3 (ou L3)

Elle est du même type que le stade précédent. Elle continue à agrandir la galerie en

une deuxième logette dans laquelle elle grossit considérablement et mue.

- La larve de stade 4 (ou L4)

Cette larve n'est différente des larves L2 et L3 que par la taille. Elle continue à grossir en creusant une troisième logette à laquelle elle donne une taille et une forme définitives. Cette logette est arquée et tapissée d'acide urique. Elle n'est séparée de l'extérieur que par une fine membrane tégumentaire de la graine. C'est le lieu de la nymphose.

- La nymphe (ou N)

La nymphe est logée dans la logette nymphale aménagée par la L4. Elle est d'abord blanchâtre et non scléifiée. Par la suite, les organes se sclérifient progressivement pour aboutir à l'imago. Ce dernier reste à l'intérieur de cette logette pendant 24 ou 48 heures avant d'émerger.

0100090000032a0200000200a20100000000a201000026060f003a03574d46430100000000  
0010053060000000001000000180300000000000018030000010000006c00000000000000  
000000350000006f0000000000000000000000ca2a00000a20000020454d460000010018030  
000120000000200000000000000000000000000000441200009f1a0000c6000000210100000  
003f050300f6660400160000000c00000018000000a00000010000  
00000000000000000000000009000000100000001b0a000091070000250000000c0000000e000080  
250000000c0000000e000080120000000c00000001000000520000007001000001000000a4ff  
ffff0000000000000000000000000000090010000000000004400022430061006c006900620072006  
9000  
000260060a8260010000000c4ab260044a9260052512d6  
4c4ab2600bca82600100000002caa2600a8ab260024512d64c4ab2600bca826002000000049  
643c66bca82600c4ab260020000000ffffff9c51c801d0643c66fff0a00fff0180fff01803f02

**Figure 22: Graine de niébé infestée par *C. maculatus*. (× 10) (Source : Jaloux, 2004)**

L'œuf de bruche est tout d'abord translucide (1) puis devient blanc (2) lorsque la larve néonate pénètre dans la graine. A la fin du développement larvaire, la prénymphe aménage une loge près de la surface, visible par transparence (3).



## **2.4. Les stratégies de lutte**

### **2.4.1. La conservation du niébé**

A maturité, les gousses de niébé sont récoltées manuellement à la fin de la saison des pluies. Elles subissent le plus souvent un séchage supplémentaire au soleil, ce qui peut accroître le niveau initial d'infestation par les bruches comme cela a été observé chez *Caryedon serratus* sur l'arachide (Robert, 1984).

La conservation se fait soit en gousses dans des greniers en banco (mélange d'argile et de paille hachée) ou en paille (tiges de *Pennisetum thyphoides* Burn. Ou d'*Andropogon gayanus*), soit en graines après écosage dans des jarres en argile cuite et dans des greniers en banco. Ces deux procédés sont utilisés au Burkina Faso (Dabiré, 1992).

En milieu paysan, on distingue les méthodes traditionnelles couramment utilisées pour la protection des stocks à savoir l'utilisation de substances inertes (sable fin, argile, cendre de bois...), l'introduction d'extraits ou de différentes parties de plantes à propriétés insecticides ou insectifuges. Les plantes les plus fréquemment utilisées au Burkina Faso sont *Cassia nigricans* à l'ouest, *Hyptis spicigera* Lam. (Labiées) à propriétés insectifuges et *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. (Capparidacées), à propriétés insecticides au centre (Ouédraogo, 1995). Au cours de la conservation, la plupart des agriculteurs protègent leurs stocks à l'aide de procédés variés en fonction de la taille du stock et de la forme de la denrée à stocker.

### **2.4.2. Les méthodes traditionnelles**

Elles consistent en :

- L'utilisation de substances inertes (cendre, sable fin, argile, sel, chaux éteinte,...) mais aussi d'huiles végétales et d'extraits ou d'organes de plantes supposées insecticides ou insectifuges

(Zehrer, 1987 ; Maïga, 1987 ; Van Huis, 1991 ; Dabiré, 1992 ; Nuto, 1995).

- L'utilisation de la fumée ou le séchage au soleil (Zehrer, 1987). La fumée et la chaleur semblent avoir une action physique, répulsive ou insecticide.
- Le stockage en gousses : le péricarpe des gousses agit comme une barrière physique contre la pénétration des larves néonates (Caswell cité par Van Huis, 1991).
- Le stockage hermétique : ce procédé entraîne la mort de *Callosobruchus maculatus* par asphyxie (Seck et Gaspar, 1992).

L'efficacité de ces méthodes est tributaire d'une bonne compréhension des mécanismes de base tels que la quantité de graines à stockées, la masse de substances inertes à utiliser et surtout le protocole de leur application. Pour le stockage hermétique, il faut entasser les graines de façon à bien remplir les espaces intergranaires et réduire la disponibilité de l'oxygène dans l'atmosphère du stockage. Certaines de ces méthodes font l'objet d'adaptation par la recherche scientifique en vue d'améliorer leur efficacité. C'est le cas par exemple du stockage hermétique à l'aide de sacs à triple fond de l'Institut de l'Environnement et de Recherche Agronomique (INERA) actuellement en vulgarisation à grande échelle au Burkina Faso.

Cette méthode est certes pratique, simple et efficace mais son application nécessite quelques précautions. Essentiellement basée sur la privation d'oxygène aux insectes, cette technologie est confrontée aux risques de perforation des sacs. En effet, dans l'environnement de stockage, les rongeurs, les objets pointus ainsi que les possibles mouvements de manutention sont autant d'obstacles susceptibles de provoquer des trous dans les sacs, les rendant ainsi accessibles à l'air et au développement des bruches. De plus, face au nombre de sacs nécessaires pour stocker de grande quantité de niébé, cette technologie est confronté au risque pour les paysans de ne pas racheter de nouveaux sacs et d'utiliser des sacs endommagés, ce qui entraînerait une perte d'efficacité.

#### **2.4.2. La lutte chimique**

L'ampleur des dégâts occasionnés par les insectes et surtout l'augmentation actuelle de la production du niébé, poussent souvent les paysans à adopter cette méthode de lutte qui consiste en l'application de produits chimiques de synthèse pour protéger leurs récoltes. C'est une méthode efficace mais qui peut générer de nombreux inconvénients. Selon Daxl et al. (1995), 1% seulement de la matière active du produit chimique atteint les organismes nuisibles et les 99% restants, souvent très toxiques, polluent l'environnement. En outre, leur utilisation est onéreuse et requiert une maîtrise des techniques de dosage. La lutte chimique est peu appropriée dans le contexte de la paysannerie africaine caractérisée par son faible niveau d'instruction et la faiblesse des revenus. Les insecticides de synthèse constituent également un danger pour la santé de l'utilisateur et du consommateur, étant à l'origine de nombreux cas d'intoxication aiguë et chronique.

L'utilisation répétée et intempestive des produits chimiques non appropriés peut entraîner le phénomène de tolérance ou de résistance des ravageurs aux insecticides (Naada, 1992 ; Daxl et al., 1995).

Les traitements chimiques sont souvent très dangereux pour les ennemis naturels qui sont des organismes utiles (Haines, 1984 ; Waage, 1992). L'élimination de ces organismes utiles par les insecticides peut conduire non seulement au phénomène de résurgence, c'est-à-dire à la réapparition du ravageur mais aussi à sa pullulation.

L'insuffisance d'efficacité de la plupart des méthodes traditionnelles, jointe aux préoccupations engendrées par la lutte chimique militent en faveur de la recherche d'alternatives, moins onéreuses et moins toxiques. Au nombre de ces nouvelles alternatives figurent la mise au point de variétés résistantes, la lutte biologique et l'utilisation des huiles essentielles.

#### **2.4.4. La résistance variétale**

Depuis plus d'une décennie, l'IITA (International Institut for Tropical Agriculture) au Nigeria et l'INERA (Institut d'Etudes et de Recherches Agronomiques) au Burkina Faso, cherchent à introduire des facteurs de résistance dans les variétés adaptées de niébé. Ofuya et Credland (1995) ont montré que la variété TVu 2027 présentait une résistance significative à *C. maculatus* en allongeant sa durée de développement et en réduisant sa fécondité. Malheureusement, la plupart des variétés partiellement ou modérément résistantes mises au point présentent des graines dont les caractéristiques ne sont pas toujours très bien appréciées par consommateurs (Singh et al., 1990 ; 1992). L'objectif des recherches actuelles au Burkina Faso est donc d'incorporer les gènes de résistance dans des variétés performantes et adaptées, déjà vulgarisées et appréciées des producteurs (Dabiré et al., 2004).

#### **2.4.5. La lutte biologique**

##### **2.4.5.1. Contrôle biologique et parasitoïdes de bruches**

Le contrôle biologique occupe une place de choix parmi les alternatives nouvelles de lutte. Il se définit comme étant l'utilisation d'organismes vivants (parasites, prédateurs, parasitoïdes et pathogènes) comme agents de régulation des populations des ravageurs. Trois modèles sont généralement utilisés en lutte biologique (Waage, 1992) : le contrôle biologique classique ou acclimatation d'un auxiliaire exotique, l'augmentation et la conservation d'ennemis naturels. Les travaux de laboratoire et de terrain conduits en zone sahélienne au Niger et au Burkina Faso et en zone guinéenne au Togo, au Bénin et en Côte d'Ivoire ont prouvé l'existence d'un cortège d'ennemis naturels inféodés aux bruches aussi bien dans les champs que dans les greniers. Il s'agit d'un parasitoïde oophage, *Uscana lariophaga*

(Hymenoptera : Trichogrammatidae) et de trois parasitoïdes larvophages *Dinarmus basalis* Rond. (Hymenoptera : Pteromalidae), *Eupelmus orientalis* Crw et *Eupelmus. vuilleti* Crw. (Hymenoptera : Eupelmidae) (Monge et Huignard, 1991 ; Monge et al., 1995 ; Sanon, 1997; Amevoin, 1998). Parmi ces parasitoïdes *Dinarmus basalis* a été identifié comme le meilleur agent de lutte biologique avec des performances parasitaires très intéressantes. Ainsi, lorsqu'il se développe seul en présence des bruches, il peut réduire considérablement les effectifs des populations du ravageur (Ouédraogo et al., 1996). Au Burkina Faso, une étude entièrement réalisée en conditions naturelles renseigne que des introductions régulières de *Dinarmus basalis* dans les greniers en début de stockage permettent un contrôle efficace des effectifs de *Callosobruchus maculatus* avec une réduction significative de 80-90% et une perte en poids inférieure à 13% (Sanon, 1998).

L'application de la lutte biologique à grande échelle est aujourd'hui tributaire de la mise au point d'une méthode de production de masse du parasitoïde *D. basalis* (Amevoin et al., 2007). Un autre intérêt de la lutte biologique est la possibilité de son utilisation dans une stratégie globale de protection intégrée des stocks de niébé. Ainsi, du fait de sa spécificité d'action et du stade cible (en l'occurrence les larves de bruches), on pourrait envisager de combiner l'introduction de parasitoïdes dans les greniers en complément de celle de substances allélochimiques comme les huiles essentielles qui sont surtout efficaces contre les adultes de bruches (Ketoh et al., 2005).

#### **2.4.5.1. Morphologie, systématique et biologie de *D. basalis***

Les adultes *D. basalis* sont de couleur noir brillant et présentent un dimorphisme sexuel net (**Figure 4**). Les mâles (2 à 2,5 mm) sont plus petits que les femelles (3 à 3,5 mm) et sont reconnaissables à la réserve séminale qui forme une poche claire visible à travers les segments abdominaux antérieurs transparents. Les femelles sont de couleur noire uniforme et leur abdomen est plus fusiforme. Mâles et femelles se déplacent en marchant mais sont

également capables de voler quand la température est convenable.

Décrit pour la première fois sous le nom d'*Entedon basalis* par Rondani en 1877, il fut ensuite répertorié comme *Bruchobius laticeps* (Rasplus, 1988) et confondu avec des espèces proches avant que Rasplus en 1989 ne révise et fixe sa position systématique et son nom actuels. Ainsi, la systématique de *Dinarmus basalis* se présentent comme suit:

Ordre : Hymenoptera

Sous-ordre : Apocrita

Super-famille : Chalcidoidea

Famille : Pteromalidae

Sous-famille : Pteromalinae

Genre : *Dinarmus* Ashmead 1904

Espèce : *basalis* Rondani 1877.



**Figure 22: Adultes de *D. basalis* mâle (♂) et femelle (♀) × 20 (Source : Jaloux, 2004)**

L'œuf de *D. basalis* de type centrolécithe, est de forme oblongue ( $600\mu\text{m} \times 150\mu\text{m}$ ), et légèrement courbé. Il ne possède pas de pédicelle. Dans les conditions d'élevage, l'éclosion intervient environ 30 h après la ponte. Le développement post embryonnaire

comprend cinq stades (Roger, 1984). Les trois premiers stades larvaires (larves L1, L2 et L3), de forme semblable, diffèrent par la taille qui croît rapidement. Les larves sont arquées, blanches, apodes et possèdent des mandibules sclérifiées brun noir. Comme chez tous les ectoparasitoïdes solitaires, le développement larvaire est précédé de l'élimination physique des éventuelles larves surnuméraires (Fisher, 1961). La pré nymphe se distingue par la différenciation des segments thoraciques.

La mue nymphale intervient environ 12 jours après la ponte en conditions contrôlées de 33 : 23°C, 12 : 12h ; 12 : 12h LD ; 50-70% RH. Les ébauches d'appendices imaginaires apparaissent et la nymphe de couleur ambre noircit, les yeux deviennent rouges. Le 14<sup>ème</sup> jour, quelques heures après la mue imaginaire, le nouvel adulte émerge de la graine, les mâles émergent en moyenne un jour avant les femelles (Gomez Alvarez, 1980).

#### **2.4.6. Les biopesticides d'origine végétale**

##### **2.4.6.1 Définition**

Un biopesticide se définit étymologiquement comme tout pesticide d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou de substances d'origine naturelle synthétisées par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la synthèse chimique. Cependant, pour certains auteurs, le terme de biopesticide doit être réservé aux agents biologiques de lutte ou de contrôle des insectes, comme les arthropodes entomophages, les champignons pathogènes et enfin les bactéries (Vincent et Coderre, 1992 ; Van Driesche et Bellows, 1996 ; Vincent, 1998). Même si cette définition très restrictive omet les produits issus du métabolisme des organismes biologiques comme les composés sémiocchimiques, il est cependant fondé étymologiquement d'appeler les molécules phytochimiques à caractère phytosanitaire des « biopesticides d'origine végétale » (Philogène et al., 2002). Avec le statut d' « insecticide idéal » c'est-à-dire spécifique, sélectif,

biodégradable et disponible, ces phytoproduits constituent une composante essentielle de la lutte intégrée. Ils doivent leur spécificité à leur nature, aux molécules issues du métabolisme secondaire des plantes. Ils sont synthétisés initialement pour la défense du végétal contre la pression d'un herbivore. Leur sélectivité tient de la variabilité des composés qui les constituent, mélange de composés chimiques de nature et de structures différentes, leur activité biologique étant liée à la structure de ces composés.

Leur biodégradabilité s'explique par la demi-vie assez courte de leurs composés. Ainsi, les huiles essentielles intervenant dans la lutte contre les ravageurs des denrées stockées peuvent être considérées comme des biopesticides d'origine végétale.

#### **2.4.6.2 Importance des biopesticides dans la gestion des ravageurs**

Face aux préoccupations engendrées par une agriculture soumise à une rentabilité économique, la lutte raisonnée ou intégrée est devenue un impératif incontournable. Les biopesticide d'origine végétale s'inscrivent dans cette démarche. En effet, selon Powell et Justum (1993), plusieurs facteurs sont de nature à imposer l'utilisation des biopesticides :

Tout d'abord, l'occupation d'une « niche environnementale » dans laquelle les biopesticides procurent une protection contre les rayons UV, la dessiccation et les températures extrêmes. Les biopesticides confèrent également un avantage de colonisation aux agents biologiques.

Aussi, l'occupation d'une « niche commerciale » dans laquelle les insecticides de synthèse sont inefficaces (cas de résistance) ou inacceptables (en agriculture biologique). Contrairement à la création de plantes transgéniques qui a suscité beaucoup de débats controversés, la mise au point des biopesticides d'origine végétale est beaucoup moins sujette à polémique. Leur emploi ne pose pas de problème d'éthique et les consommateurs sont



revendiquent de plus en plus des produits alimentaires sains. Dans ce contexte, les biopesticides d'origine végétale sont appelés à un avenir meilleur, car la demande en produits phytosanitaires sans danger, de faible rémanence et qualifiés de « produits verts » est actuellement en hausse.

#### **2.4.6.3 Difficultés liées à l'utilisation des biopesticides d'origine végétale**

Bien qu'il y ait un certain nombre de travaux scientifiques publiés sur les plantes susceptibles d'avoir une activité phytoprotectrice (Ketoh et al., 2005 ; Sanon et al., 2005 ; Sanon et al., 2006 ; Ngamo et al., 2007), la démarche industrielle n'est pas toujours réalisée.

Les principes actifs des plantes sont souvent isolés (Cannell, 1998) et leur effet protecteur sur des ravageurs a été souvent démontré (Ketoh, 1998). Cependant, cette extraction pose souvent quelques problèmes techniques en raison de leur nature chimique (Silva et al., 1998). Par ailleurs la formulation commerciale de ces principes actifs repose sur l'incorporation de synergistes afin d'améliorer au double plan de la puissance du produit et de sa durée d'action (Bernard et Philogène, 1993). L'identification de ces synergistes ainsi que la technologie de la formulation des biopesticides d'origine végétale en produits facilement utilisables ne sont pas encore réalisées.

Les expériences passées avec les insecticides de synthèse obligent à ne pas occulter les aspects de sécurité alimentaire, écologique et environnementale. Aussi, faut-il être vigilant, particulièrement sur les aspects de bioaccumulation dans les chaînes trophiques.

L'homologation se présente comme un véritable frein à la commercialisation de nouveaux insecticides végétaux. Ceci tient d'une part du fait que les systèmes d'homologation existants sont conçus pour l'examen et la réglementation d'insecticide de synthèse présentant une composition uniforme et contenant généralement une seule matière active. Il y a donc la difficulté qu'éprouvent les organismes de réglementation à évaluer l'efficacité et l'innocuité

pour la santé humaine et l'environnement de produits renfermant plusieurs matières actives dont la caractérisation chimique n'est pas toujours clairement établie et présentant une composition variable. D'autre part, il se pose le problème de protection de la technologie au cas où un produit végétal insecticide viendrait à voir le jour. Il est inconcevable qu'un produit naturel soit l'objet d'un brevet (Isman, 2002) d'où l'hésitation des fabricants à mettre au point de nouveaux produits si ils ne sont pas certains d'obtenir l'exclusivité du marché grâce à une protection conférée par les brevets.

En dépit de ces obstacles, l'utilisation des biopesticides d'origine végétale augure d'un lendemain meilleur et nous présenterons dans cette étude quelques résultats prometteurs obtenus avec les huiles essentielles.

#### **2.4.6.4 Caractéristiques chimiques et obtention des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des mélanges de substances aromatiques. Elles sont liquides, légères et volatiles. La composition chimique d'une huile essentielle dépend de la plante dont elle est extraite, de l'état de croissance de celle-ci, des conditions écologiques de développement et des traitements préalables éventuels.

Elles sont obtenues par divers procédés physiques (distillation à la vapeur d'eau, extraction au solvant...) à partir de plantes ou d'organes végétaux. Les procédés d'extraction les plus courants sont :

- l'hydrodistillation : Le matériel végétal est mélangé dans un ballon avec l'eau et porté à ébullition. La vapeur d'eau chargée de substances volatiles s'échappe et se condense à l'intérieur d'un réfrigérant. L'huile est recueillie avec l'eau dans un béccher avant d'être isolée et séchée sur du sodium anhydre.

- l'entraînement à la vapeur : Sur un ballon contenant de l'eau mise en chauffage, on monte un

alambic dans lequel on place la biomasse pesée. La vapeur d'eau traverse le matériel végétal en entraînant les produits volatils vers la colonne de condensation. La vapeur condensée est le mélange d'eau et de l'huile essentielle. Celle-ci est recueillie dans une burette contenant de l'eau distillée. L'huile est séparée de l'eau par décantation. Ce procédé a l'avantage d'améliorer la qualité de l'extrait en minimisant les altérations.

- la percolation : Dans cette technique, la vapeur d'eau générée est envoyée de haut en bas dans l'extracteur. Elle présente l'avantage d'être très rapide mais le distillat est chargé de substances non volatiles donnant ainsi des "essences de percolation".

- L'enfleurage est appliqué aux fleurs. Celles-ci sont mises en contact avec de la graisse absorbante qui se sature en essences au bout de quelques jours. La graisse enrichie en essences peut être utilisée en cosmétique. Les essences contenues dans la graisse sont également extraites avec de l'alcool.

L'extrait alcoolique avec les essences de fleurs est ensuite concentré par évaporation.

- L'extraction par micro-onde : Elle utilise une source de rayonnement micro-onde. Le matériel végétal est immergé dans un solvant perméable aux micro-ondes. Celles-ci provoquent un réchauffement de l'eau contenue dans le matériel végétal et par distension fait éclater les poches à essences. Les produits libérés sont dissous dans le solvant. Ce procédé est plus rapide que les systèmes classiques d'extraction et les huiles obtenues sont de bonne qualité.

## **CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES**

Dans ce chapitre, nous donnons des informations sur le matériel expérimental, biologique et les plantes aromatiques utilisés au cours de notre étude. Nous décrivons aussi les méthodes d'élevage des insectes et d'obtention des huiles essentielles que nous avons testées. Les procédures expérimentales retenues dans chaque type d'expériences seront décrites avec plus de précision dans les chapitres suivants.

### **I. Matériel expérimental, biologique et les plantes aromatiques**

#### **1.1. Matériel expérimental**

##### **1.1.1. Le matériel utilisé pour les tests de toxicité**

Le matériel utilisé dans la détermination de la toxicité des huiles essentielles vis-à-vis de *C. maculatus* est constitué de bocaux en verre transparents de contenance 1 litre munis de

couvercles métalliques étanches. Ces bocaux, achetés sur le marché local à Ouagadougou (Burkina Faso) sont destinés à recevoir les graines et les insectes ainsi que la charge d'huile qui est déposée sur du papier filtre Whatman préalablement collé à la paroi grâce à de la pâte à modeler.

### **1.1.2. Le matériel utilisé pour le test de stockage expérimental**

Ce matériel est de deux types :

- Des récipients en aluminium d'environ 6 litres de contenance en forme de demi-cylindre munis de couvercles étanches. Les graines sont mises à l'intérieur du récipient et un encensoir, pot en argile cuite à paroi perforée contenant du coton est placé sur les graines. La charge d'huile est ensuite déposée sur le coton avant la fermeture du couvercle.
- Des récipients en plastique de volume approximatif à celui du matériel précédent également munis de couvercles hermétiques. L'utilisation est identique que précédemment.

## **1.2. Matériel biologique**

### **1.2.1. Origine des graines de niébé utilisées pour les élevages et les expérimentations**

Les graines de niébé utilisées appartiennent à la variété « Moussa local », une variété locale cultivée en région centrale du Burkina Faso. Ces graines proviennent directement des champs après la récolte et n'ont pas subies de traitement à base d'insecticides. Elles ont d'abord été triées afin d'écarter celles portant des trous d'émergence de bruches ou des pontes avant d'être placées au congélateur à -18°C jusqu'au moment des tests pour inhiber toute infestation provenant des champs et aussi éviter toute infestation ultérieure au laboratoire. Les graines ayant fait un séjour d'au moins une semaine au congélateur sont considérées comme saines et peuvent être utilisées pour les expérimentations et les élevages.

### **1.2.2. Origine et élevages de *Callosobruchus maculatus***

Les adultes de *C. maculatus* utilisés dans notre étude proviennent d'une souche obtenue d'insectes émergeant de récoltes de niébé dans la région de Ouagadougou et maintenue au Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée depuis Octobre 2003. Chaque année, la souche était renouvelée par apport d'individus issus des nouvelles récoltes. Les élevages pour le maintien de la souche consistent à isoler régulièrement, selon les besoins, 50 couples d'insectes nouvellement émergés et à les placer dans des boîtes rectangulaires en plexiglas (L= 17 cm ; l= 11 cm et h= 4cm) contenant 200 grammes de graines saines de niébé. Après un séjour de 48 heures, les insectes sont retirés et les graines mises en incubation sur les pailles. A l'émergence, les descendants sont utilisés soit pour des tests soit pour infester des graines selon le même protocole afin de perpétuer la souche. Pour les essais, seuls les insectes de la forme non voilière sont utilisés.

### **1.2.3. La souche du parasitoïde, *Dinarmus basalis***

La souche de *D. basalis* a été obtenue de la même manière que celle de *C. maculatus* à partir des mêmes récoltes de niébé. Pour maintenir la souche au laboratoire, les adultes sont placés en présence de graines de niébé portant des larves de stade 4 de *C. maculatus*, hôtes préférentiels de *D. basalis*. En effet ce stade est le mieux indiqué pour l'obtention de parasitoïdes de bonne qualité (grande taille) avec un sexe ratio convenable (au moins autant de femelle que de mâles). Le stade de l'hôte est déterminé en fonction des conditions de développement (Ouédraogo et al., 1996). Pour les élevages, 30 couples de *Dinarmus basalis* sont mis dans les boîtes d'élevage, en présence de 100 grammes de graines de niébé hébergeant des larves de stade 4 de *C. maculatus*. Le contact dure 48 heures au cours desquelles les femelles pondent. Les insectes sont ensuite retirés puis les graines contenant des hôtes parasités ou non sont laissées sur les pailles. Elles sont ensuite suivies jusqu'à

l'émergence des adultes qui sont utilisés pour les tests et les élevages.

### 1.3. Les plantes aromatiques

Les huiles essentielles testées ont été extraites de trois espèces de Lamiaceae, *Ocimum americanum* Sims, *Hyptis suaveolens* Poit. et *Hyptis spicigera* Lam., et d'une Verbenaceae, *Lippia multiflora* Moldenke (**Figure 5**). Elles sont connues au Burkina Faso surtout pour leurs vertus médicinales (Nacoulma, 1996). A l'exception de *Lippia multiflora*, les trois autres sont aussi exploitées pour leurs propriétés insecticides par les paysans en protection des stocks de niébé et/ou dans les maisons pour la protection contre les moustiques.

Au cours de notre étude, les quatre plantes ont été récoltées dans la localité de Ouagadougou entre Octobre et Novembre, chaque année, de 2005 à 2008 pour en extraire les huiles essentielles.





**Figure 22: Les plantes aromatiques dont les huiles essentielles ont été extraites (Source : Ilboudo, 2008 ; Burkina Faso)**

**A: *O. americanum* ; B: *H. suaveolens*; C: *H. spicigera*; D: *L. multiflora***

Les caractéristiques morphologiques de ces plantes, la composition chimique de leurs



huiles essentielles ainsi que leurs utilisations traditionnelles en Afrique sont consignées dans le tableau 1.

**Tableau 14 : Caractéristiques morphologiques composés majoritaires et utilisations traditionnelles des 4 plantes aromatiques**

Plantes	Morphologie	Composants majoritaires	Utilisations traditionnelles
<i>O. americanum</i> Sims	Plante suffrutescente, presque glabre, de 30 à 40 cm de haut, mais pouvant atteindre 50 cm en culture. Tiges quadrangulaires, ramifiées et formant des boules compactes de teinte vert clair. Les feuilles denticulées, pétiolées, minces, ovales, cunées à la base, acuminées au sommet (Kerharo et Adam, 1974 ; Paton, 1992).	1,8-cinéole et cis, transpiperitol (Djibo et al., 2004 ; Bassolé et al., 2005).	Utilisation en pharmacopée (Menut & Valet, 1985) dans le traitement des parasitoses cutanées, des coliques, des tumeurs de l'estomac et des yeux. Utilisation des racines contre les venins de serpents (Oliver-Bever, 1986).
<i>H. suaveolens</i> Poit.	Plante à fort parfum poivrementhé de 1,5m de haut. Elle est pubescente, infrutescente, à nombreuses ramifications annuelles. Les fleurs sont bleuâtres, à calice de 8 mm avec 10 côtés et 5 lobes pointus (Kerharo et Adam, 1974).	1,8-cinéole et $\beta$ -caryophyllène (Peerzada, 1997)	Utilisée sous forme de tisane, d'infusion, de décocté ou de cataplasme pour le traitement des furoncles ou des affections cutanées (Ezzidine et al., 1990). Utilisée contre les indigestions, les coliques, la nausée, la flatulescence et les rhumatismes (Morton, 1963).
<i>L. multiflora</i> Moldenke	Plante dressée, anguleuse et pubescente, ramifiée, aux inflorescences vivaces par souche. Feuilles verticillées oblongues, à bord finement denté, à pubescence blanchâtre dessous. Epis terminaux ombelliformes, globuleux ou cylindriques (Kerharo et Adam, 1974).	thymol, p-cimène et acétate de thymyle (Nébié et al., 2002 ; Bassolé et al., 2003).	Utilisé dans le traitement des affections du foie, le manque d'appétit, l'anémie, la faiblesse nerveuse, le surmenage physique et intellectuel, le paludisme. utilisé contre les affections rhinopharyngées, la conjonctivite, les affections buccales, les entorses, les plaies et les brûlures.
<i>H. spicigera</i> Lam.	Plante pubescente, scabre, très parfumée, ligneuse à la base et atteignant plus d'un mètre de haut. Tiges simples ou ramifiées, quadrangulaires, vertes ou rougeâtres. Epis terminaux, compacts et dressés. Pousse dans les marécages et les zones à inondations temporaires (Kerharo & Adam, 1974).	$\beta$ -caryophyllène et $\alpha$ -pinène (Kini, 1993 ; Bélanger et al., 1994).	Utilisée en médecine traditionnelle Africaine (Garba et al., 1984) ou dans l'alimentation pour assaisonner les plats (Onayade et al., 1990).

## II. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Au moment de la pleine floraison, les quatre plantes étaient récoltées entières, à l'exception des racines. Les échantillons de plantes ainsi récoltés étaient soumis à un séchage sous serre à l'abri du soleil pendant 72 heures avant l'extraction des huiles essentielles.

Pour obtenir les huiles essentielles, les échantillons de plantes ont subi une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant 3 heures. Le rendement a été déterminé à partir du rapport de la quantité d'huile recueillie du cumul de 3 distillations sur la quantité de la biomasse, exprimé en pourcentage. Le rendement de toutes les huiles essentielles utilisées est faible et varie de 0,26 à 1,5% pour respectivement *Hyptis spicigera*, moins riche en huile essentielle et *Lippia multiflora*, plus riche en huile essentielle (**tableau 2**).

**Tableau 14 : Rendement des huiles essentielles utilisées**

Huiles essentielles	Rendement (%)
<i>Ocimum americanum</i>	0,76
<i>Hyptis suaveolens</i>	0,23
<i>Lippia multiflora</i>	1,50
<i>Hyptis spicigera</i>	0,26

## III. Analyse statistique

Pour la détermination des  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$ , les résultats des mortalités provoquées par les différentes concentrations d'huile essentielle sont transcrits et analysés par le logiciel WinDL32 version 4.6 du CIRAD-CA à partir du modèle probit-log de FINNEY (1971). L'analyse donne le pourcentage de mortalité dans l'échantillon témoin qui varie en fonction des bio-essais, ainsi que la valeur 0 pour les concentrations entraînant 0 et 100 % de mortalité après correction par Abbott. Un test d'ajustement du modèle aux données de Chi2 est fait. Lorsque les valeurs de Chi2 sont non significatives à 5%, alors le modèle est bon. Enfin,

l'analyse nous donne les valeurs de  $CL_{50}$  et de  $CL_{90}$ , avec leurs limites de confiance et les valeurs des pentes pour chaque huile essentielle. En effet, la  $CL_{50}$  ou dose létale 50 est la dose d'une substance provoquant la mort de 50 % d'un lot d'animaux d'expérience. Elle s'exprime en microlitre par litre ( $\mu\text{l/l}$ ). De même, la  $CL_{90}$  ou dose létale 90 est la dose d'une substance provoquant la mort de 90 % d'un lot d'animaux d'expérience. Elle s'exprime aussi en microlitre par litre ( $\mu\text{l/l}$ ). Plus un produit est efficace plus sa  $CL_{50}$  ou  $CL_{90}$  est basse.

Hormis les données obtenues à partir des tests de stockage expérimental pour la détermination de la qualité de la conservation par les huiles essentielles, les données recueillies sur les autres tests ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) suivie s'il en était besoin du test PLSD de Fisher au seuil de probabilité de 5% pour la séparation des moyennes statistiquement significatives.

# RESULTATS

## CHAPITRE 3 : TOXICITE AIGÛE ET CHRONIQUE ET IMPACT DE FACTEURS INFLUENCANT L'EFFICACITE DES HUILES ESSENTIELLES VIS-A-VIS DE *CALLOSOBRUCHUS MACULATUS*

### Introduction

Pour faire face aux conséquences nocives des produits chimiques de synthèse et proposer un procédé de lutte efficace et écologiquement sain, des scientifiques de différentes disciplines (entomologistes, chimistes, phytopathologistes et physiologistes) orientent depuis plusieurs années leurs activités vers la recherche d'alternatives à la lutte chimique classique. L'action insecticide et/ou insectifuge bien connue de certaines plantes aromatiques est suffisamment relayée dans la littérature (Golob et Webley, 1980 ; Lambert et al., 1985 ; Dabiré, 1992 ; Nuto, 1995 ; Boeke et al., 2004). En outre, des essais de toxicité conduits en laboratoire avec les huiles essentielles rapportent des toxicités variables en fonction des huiles essentielles utilisées, des espèces de ravageurs en présence mais surtout du stade de développement concerné par les tests (Ketoh, 1998 ; Keita et al., 2001 ; Raja et al., 2001 ; Belmain et al., 2001 ; Murdock et al., 2003 ; Seri-Kouassi et al., 2004 ; Kellouche et Soltani, 2004 ; Sanon et al., 2006). D'une façon générale et pour les insectes à développement intragranaire, les stades dont le développement se passe hors des graines sont les plus sensibles à l'effet des huiles essentielles (Glitho et al., 1997 ; Ketoh et al., 1998); les stades internes étant protégés par le tégument des graines sont moins affectés par les traitements (Dugravot et al., 2002 ; Sanon et al., 2002).

Ainsi, nous avons voulu déterminer la toxicité des 4 huiles essentielles sur les deux stades externes de *C. maculatus* à savoir les adultes et les œufs.

Ce choix est justifié car un contrôle efficace des adultes limiterait leur fécondité et par conséquent le nombre d'œufs, puis une gestion efficiente des œufs réduirait la pénétration larvaire et le taux d'infestation.

Les conséquences à moyen et long terme de traitements répétés à base d'huiles essentielles sur les insectes ne sont pas connues avec précision.

Les effets de tels traitements sur la sensibilité et le comportement reproducteur de souches d'insectes ont ainsi été examinés. En effet, sous la pression exercée par les phytoinsecticides, les insectes traités sont capables de développer des phénomènes de résistance qui pourraient se traduire par la mise en place de stratégies d'évitement des substrats de développement traités et par conséquent une baisse de l'activité reproductrice. Les phénomènes de résistance impliquent aussi fréquemment, l'intervention d'un mécanisme physiologique par l'élaboration d'enzymes de détoxification ou de séquestration des molécules toxiques pour les rendre inactives, d'où une meilleure survie et reproduction de l'insecte (Mouchès et al., 1990 ; Feschotte et Mouchès, 2000 ; Nyamador, 2009). Très peu de données sont disponibles sur le comportement à long terme des insectes soumis à la pression des substances insecticides d'origine végétale. Vu l'extraordinaire capacité d'adaptation des insectes aux variations de leur environnement et en raison de la survivance des mécanismes coévolutifs propres aux insectes, nous avons voulu comprendre le devenir d'insectes qui se seraient développés en situation de contact permanent avec les huiles essentielles. Pour ce faire, la sensibilité et les performances démographiques des descendants d'insectes exposés pendant longtemps aux huiles essentielles ont été comparées à celles d'insectes n'ayant subis aucun traitement.

Enfin, une gestion efficace des ravageurs, tel que *C. maculatus*, par les huiles essentielles devrait tenir compte de certaines de leurs caractéristiques comme leur volatilité et leur persistance en situation réelle de stockage.

En effet, les huiles essentielles sont très volatiles (Ngamo et al., 2007) et peu persistantes dans l'environnement (Don Pedro, 1996). Cette grande volatilité et cette faible persistance seraient fortement corrélées à certains facteurs climatiques dont le plus important est la température (Lobstein et al., 1983 ; Isman, 2000 ; Miresmailli, 2005).

Etant donné qu'une grande partie de la conservation du niébé se passe pendant la période chaude où les températures sont très élevées, nous avons déterminé la persistance de l'effet des huiles essentielles en situation hermétique de stockage et en conditions de thermopériode chaude. Les résultats de cette étude devraient permettre de rentabiliser l'emploi des biopesticides d'origine végétale par la détermination des conditions optimales de leur applicabilité.

## **I. Toxicité aigue des huiles essentielles vis-à-vis des adultes et des œufs de *C. maculatus***

### **1.1. Procédure expérimentale de détermination de la variation concentration-mortalité des adultes et de la toxicité aigüe des huiles essentielles vis-à-vis des adultes et des oeufs**

Cette étude a été menée dans les conditions ambiantes du laboratoire où la température minimale moyenne était de 24,19°C et la température maximale moyenne de 42,2°C. Dix (10) couples d'adultes de *C. maculatus* âgés de 2 jours étaient placés en présence de 50g de graines saines de niébé dans des bocaux en verre de contenance 1 litre. Au total, 10 doses croissantes de chaque huile essentielle: 0,05µl ; 0,1µl ; 0,2µl ; 0,5µl ; 1µl ; 2µl ; 5µl, 10µl, 15µl et 20µl ont été testées. La charge d'huile essentielle était déposée à l'aide d'une micropipette sur une rondelle de papier filtre Whatman collée à la paroi du bocal qui était refermé hermétiquement.

Chaque traitement comporte 4 répétitions avec en parallèle un traitement témoin sans application d'huile essentielle répété aussi 4 fois. Les insectes étaient maintenus dans les

bocaux en présence ou en absence d'huile essentielle pendant 24 heures à l'issue desquelles les insectes morts étaient dénombrés.

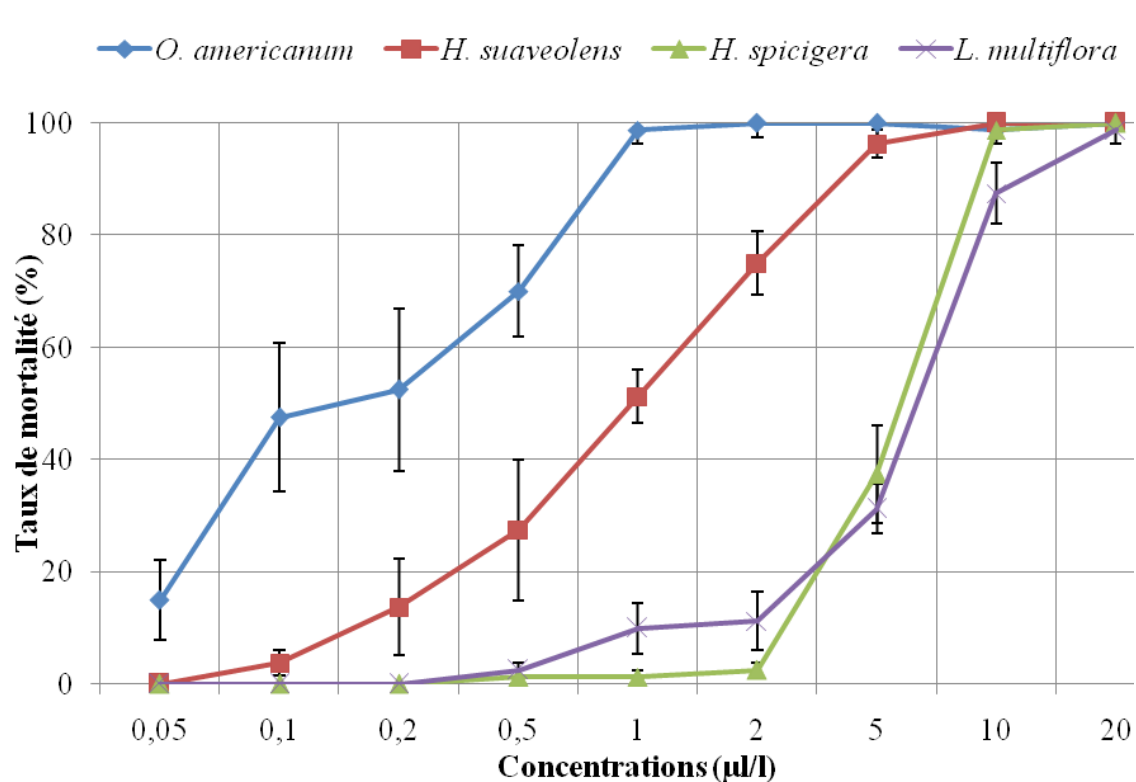
La détermination des doses létales sur les œufs a été effectuée dans les mêmes conditions et avec le même dispositif. Les différentes doses testées étaient : 5 ; 8 ; 10 ; 13 ; 15 ; 20 et 25 $\mu$ l. Vingt (20) œufs ont été isolés à partir de pontes sur des graines portant au plus 2 œufs et placés dans des bocaux contenant 50 grammes de graines saines en présence des huiles essentielles pendant 24 heures. Au bout de la période d'exposition, les graines étaient retirées et mises en incubation sur les pailles. La détermination du nombre d'œufs non éclos (œufs avortés) a été réalisée sous une loupe binoculaire de type « Leica Wild M3Z ». Ces œufs sont reconnaissables par leur aspect translucide dû à la non pénétration de la larve néonate dans la graine. Quatre répétitions par traitement ainsi qu'un témoin sans huile essentielle répété également 4 fois ont été constitués.

## **1.2. Résultats**

### **1.2.1. Variation de la réponse concentration-mortalité chez les adultes de *C. maculatus***

La mortalité des adultes de *C. maculatus* exposés à des doses croissantes d'huiles essentielles varie en fonction des plantes. Toutes les huiles essentielles utilisées entraînent une mortalité dose-dépendante (**Figure 6**). L'huile d'*O. americanum* est la plus toxique et tue tous les insectes traités à partir de 2 $\mu$ l. Celle extraite de *H. suaveolens* est la deuxième huile la plus efficace et entraîne la mortalité de tous les insectes traités à partir de 10  $\mu$ l. L'huile de *L. multiflora* a la plus faible activité adulticide, ne provoquant une mortalité totale qu'à la plus forte dose (20  $\mu$ l).

Ainsi, l'activité biologique des huiles essentielles vis-à-vis des adultes est non seulement liée à la plante d'où elles sont extraites mais aussi à la dose utilisée.



**Figure 22: Variation de la réponse concentration-mortalité chez *C. maculatus* exposé aux 4 huiles essentielles**

### 1.2.2. Toxicité aiguë des 4 huiles essentielles vis-à-vis des adultes et des œufs de *C. maculatus*

Les  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  diffèrent d'une huile essentielle à une autre vis-à-vis des adultes (**Tableau 3**). L'huile d'*O. americanum* est la plus toxique vis-à-vis des adultes avec les plus faibles  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  qui sont respectivement de 0,23 et de 0,71 µl/l. Elle est suivie respectivement de celles de *H. suaveolens* et de *H. spicigera*. L'huile de *L. multiflora* est la moins efficace vis-à-vis des adultes du ravageur. Pour ces 3 huiles, la  $CL_{50}$  varie de 1,30 à 6,44 µl/l et les  $CL_{90}$  de 2,84 à 11,07 µl/l. Les valeurs des pentes sont faibles et proches les unes des autres, ce qui montre que les populations d'insectes utilisées sont hétérogènes.

Les valeurs du  $\chi^2$  sont non significatives à 5% ( $p < 0,05$ ), témoignant du bon



ajustement du modèle d'analyse.

**Tableau 14: CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> des huiles essentielles vis-à-vis des adultes de *C. maculatus***

	<i>O. americanum</i>	<i>H. suaveolens</i>	<i>H. spicigera</i>	<i>L. multiflora</i>
Slope	4,64	1,43	0,96	0,47
CL <sub>50</sub> (µl/l) (L.C. 95%)	<b>0,23 a</b> (0,18-0,29)	<b>1,30 b</b> (1,13-1,52)	<b>5,53 c</b> (5,10-6,07)	<b>6,44 d</b> (5,80-7,18)
CL <sub>90</sub> (µl/l) (L.C. 95%)	<b>0,71 a</b> (0,60-0,87)	<b>2,84 b</b> (2,46-3,40)	<b>7,80 c</b> (7,08-8,90)	<b>11,07 d</b> (9,96-12,59)
χ <sup>2</sup>	68,80	82,93	67,81	119,28

CL : concentration létale

L.C : limites de confiance

Les moyennes d'une même ligne suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher p<0.05).

On note également une variation des valeurs des CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> sur les œufs en fonction des huiles essentielles. Cependant, elles sont plus élevées pour les œufs comparativement aux adultes. Les œufs semblent donc plus résistants à l'action des huiles essentielles que les adultes dans notre étude (**Tableau 4**). Les valeurs les plus élevées s'observent avec *H. suaveolens* qui est donc considérée comme celle présentant la plus faible activité ovicide. Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> d'*O. americanum* et celle de *L. multiflora* ne diffèrent pas significativement. Aussi il n'apparaît pas de différence entre la CL<sub>90</sub> d'*O. americanum* et celle de *H. spicigera*.

**Tableau 14: CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> des huiles essentielles vis-à-vis des œufs de *C. maculatus* (2006,**

	<i>O. americanum</i>	<i>H. suaveolens</i>	<i>H. spicigera</i>	<i>L. multiflora</i>
Pente	1,83	1,35	1,43	2,65
CL <sub>50</sub> (µl/l)	<b>16,09a</b>	<b>31,69b</b>	<b>20,56c</b>	<b>14,27a</b>
(95% L.C)	(14,02 - 19,25)	(23,54 - 57,68)	(18,27 - 24,10)	(12,05 - 17,56)
CL <sub>90</sub> (µl)	<b>80,62ab</b>	<b>281,26c</b>	<b>62,44a</b>	<b>110,87b</b>
(95% L.C)	(52,92 - 167,93)	(118,72- 1871,66)	(46,81 - 97,29)	(62,31- 351 ,01)
χ <sup>2</sup>	42,25	26,78	78,28	33,07

Les moyennes dans la même ligne suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement de façon significative (Test PLSD de Fisher p<0.05).

### 1.3. Discussion

L'activité biologique des huiles varie selon les plantes considérées. Cette différence d'action serait liée à la composition chimique des huiles essentielles. En effet, les huiles essentielles sont des mélanges de composés chimiques de nature et de fonctions différentes. On y distingue des hydrocarbures non terpéniques, des hydrocarbures non terpéniques oxygénés, des monoterpènes, des monoterpènes oxygénés, des sesquiterpènes et des sesquiterpènes oxygénés (Ketoh, 1998). Selon la littérature, la composition chimique des 4 huiles utilisées indique qu'elles sont riches en composés terpéniques. Ainsi, l'huile essentielle d'*Ocimum americanum* serait composée majoritairement de 1,8-cinéole et de cis, transpiperitol (Djibo et al., 2004 ; Bassolé et al., 2005). Celle de *Hyptis spicigera* contiendrait surtout du β-caryophyllène et du α- pinène (Kini, 1993 ; Bélanger et al., 1994) tandis

que *Hyptis suaveolens* aurait comme composés dominants du 1,8-cinéole et du  $\beta$ -caryophyllène (Peerzada, 1997). Quant à l'huile de *Lippia multiflora*, elle serait composée de thymol, de p-cimène et d'acétate de thymyle (Nébié et al., 2002 ; Bassolé et al., 2003).

C'est cette variabilité de constituants chimiques qui détermine la spécificité des huiles essentielles, même si l'intervention de synergistes à action potentialisatrice ou neutralisante d'enzymes de détoxification n'est pas à exclure (Regnault-Roger et al., 2002). L'activité biologique des huiles essentielles serait aussi en rapport d'une part avec les groupements chimiques fonctionnels présents dans l'huile, d'autre part, avec le chémotype de la plante concernée (Papachristos et al., 2004 ; Séri-Kouassi, 2004 ; Ngamo et al., 2007 ; Nyamador, 2009). Il faut noter que la même huile essentielle peut présenter différents chémotypes liés à la nature du ou des composants majoritaires. C'est le cas de *Lippia multiflora* dont trois chémotypes ont été trouvés au Togo. Il s'agit notamment du chémotype à linalol, du chémotype à p-cymène/thymol/acétate de thymyle et le chémotype à 1-8 cinéole avec une activité insecticide variable d'un chémotype à un autre (Koumaglo et al., 1996). Cependant *Lippia multiflora* du Burkina ne présente qu'un seul chémotype, celui à p-cymène (Nébié, 2006). Certains auteurs ont montré que les terpènes étaient à l'origine de l'efficacité des huiles essentielles (Ketoh et al., 2002) tandis que d'autres attribuent cette activité aux composés majoritaires. C'est le cas de la pipéritone, composé majoritaire extraite de *Cymbopogon schoenanthus* et testée sur *C. maculatus* (Ketoh, 1998). Dans notre étude, Les huiles essentielles qui ont été les plus toxiques vis-à-vis des adultes (l'huile d'*Ocimum americanum* et celle de *H. suaveolens*) sont toutess majoritairement constituées de 1,8-cinéole. On peut donc penser que ce composé monoterpénique soit responsable de l'activité biologique de ces huiles essentielles.

Il semble effectivement que les huiles essentielles les plus efficaces sont celles qui contiennent majoritairement des composés oxygénés monoterpéniques à fonction alcool,

cétone ou ester (Nébié, 2006). Toutes les huiles utilisées ont des concentrations létales 50 et 90 très faibles vis-à-vis des adultes, attestant leur efficacité en protection des stocks. Sur les œufs, l'efficacité des huiles essentielles est variable et l'huile de *Lippia multiflora* est la plus efficace. En effet, les huiles les plus toxiques sur les œufs sont celles extraites des plantes de type citral dont *Lippia multiflora* qui entraîne une dissolution du contenu ovulaire (Ketoh, 1998). Effectivement, les œufs traités avec *Lippia multiflora* dans cette expérience prennent un aspect trouble avec une coloration un peu rougeâtre.

Les valeurs des  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  montrent une sensibilité des adultes très supérieure comparativement à celle des œufs.

Ce résultat est en désaccord avec les données de la littérature. Une nette sensibilité aux huiles essentielles des œufs par rapport aux adultes a été signalée sur *Callosobruchus maculatus* (Glitho et al., 1998) et sur *Callosobruchus chinensis* (Schmidt et al., 1991). L'activité ovicide des huiles étant due à leur pouvoir pénétrant ou à leur toxicité directe, nous pouvons supposer que les huiles essentielles testées sont constituées de composés peu pénétrant et que leur effet ovicide serait uniquement dû à leur toxicité directe sur les œufs, d'où la tolérance observée avec ces stades de développement.

## **II. Toxicité chronique des huiles essentielles extraites de quatre plantes vis-à-vis de *C. maculatus***

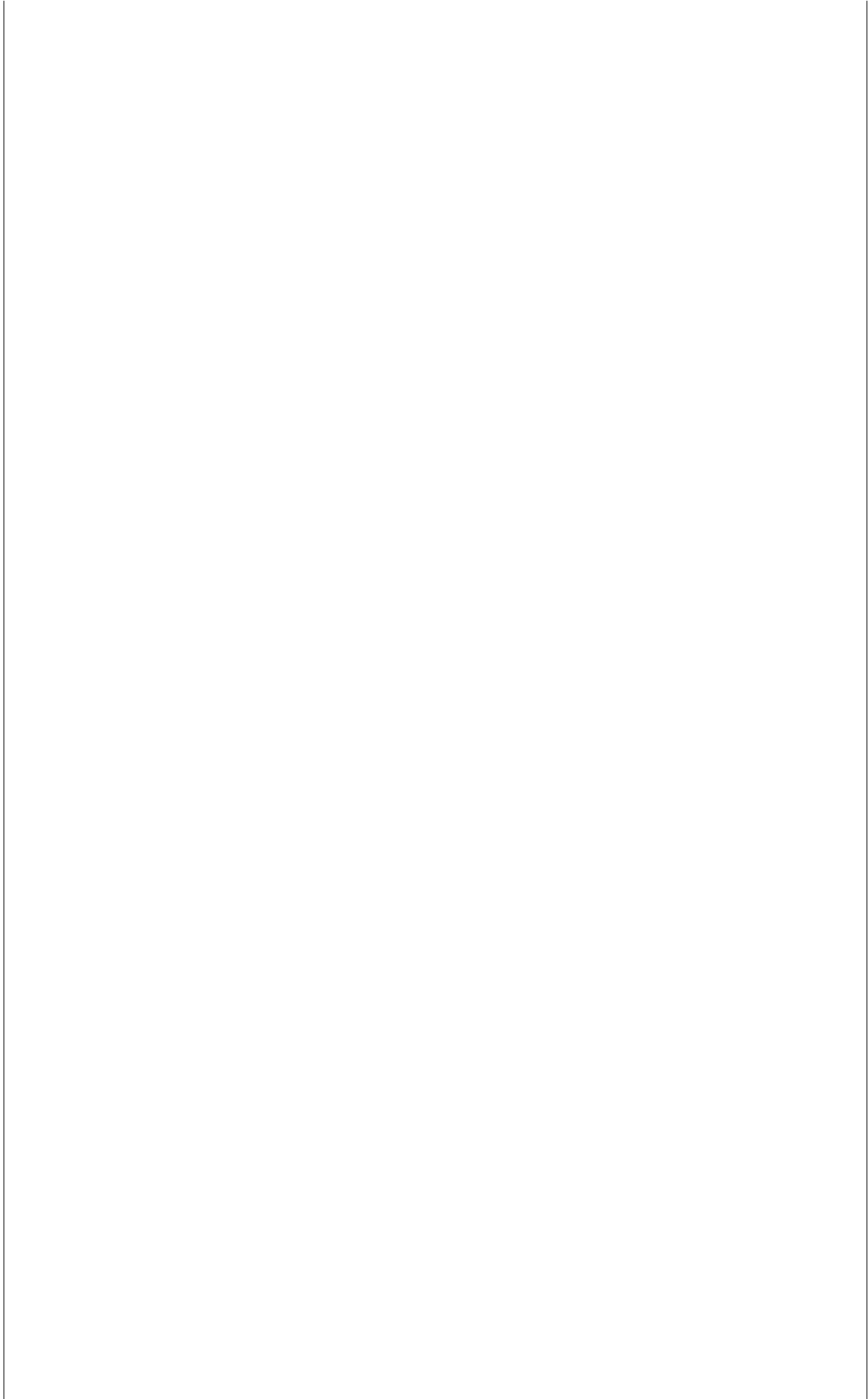
### **2.1. Obtention de descendants d'insectes exposés aux huiles essentielles des quatre plantes pendant huit générations**

Des traitements ciblés avec chacune des 4 huiles essentielles sur les œufs, les larves L1/L2, L3/L4 et les nymphes en cours de développement ont permis d'obtenir des souches d'insectes ayant une expérience avec ces huiles. Pour ce faire, des lots de 200 grammes de graines saines de niébé placés dans les boîtes d'élevage ont été infestés par 50 couples de *C.*

*maculatus* âgés d'au plus 2 jours.

Vingt quatre (24) heures après, les insectes sont retirés et les graines mises en incubation. Lorsque le stade approprié (œufs ou L1/L2 ou L3/L4 ou nymphes) est atteint, les lots de graines sont placés dans des bocaux en verre d'un litre de contenance où on applique 10 µl d'huile essentielle pendant 24h. Les graines sont ensuite retirées et replacées dans les boîtes d'élevage pour la poursuite du développement. Lorsque le traitement s'effectue entièrement sur tous les stades de développement (œufs, L1/L2, L3/L4 et nymphes) de l'insecte au cours d'une même génération, il n'ya aucune émergence d'insectes. Ainsi, par génération, un seul stade subit l'application des huiles essentielles.

A la première génération, seul le stade œuf a été traité. Les adultes issus de ces œufs traités ont été utilisés pour infester de nouvelles graines. Lorsque les larves évoluant dans ces graines atteignent le stade L1/L2, on applique encore l'huile essentielle et la même procédure est utilisée pour en ciblant les larves L3/L4 et les nymphes. Au total il y a eu 2 traitements sur les œufs frais, à la première et à la cinquième génération ; 2 traitements sur les L1/L2, à la deuxième et à la sixième génération ; 2 traitements sur les L3/L4, à la troisième et à la septième génération et enfin 2 traitements sur les nymphes, à la quatrième et à la huitième génération. Les insectes émergeant à l'issue des 8 générations constituent la souche traitée (ST). Les insectes n'ayant pas été exposés aux huiles essentielles constituent la souche non traitée (SNT)



**Figure 22: Schéma explicatif du protocole d'isolement des souches à partir de traitements aux huiles essentielles**

## **2.2. Etude comparée de la sensibilité des insectes provenant des souches traitées (ST) et des insectes issus de la souche non traitée (SNT) aux huiles essentielles**

Cette étude a pour but de déterminer si les insectes des souches traitées (ST) ont la même sensibilité aux huiles essentielles que ceux provenant de la souche non traitée (SNT) qui n'a jamais été en contact de ces huiles. Pour cela, nous introduisons dans des bocaux en verre de 1l de contenance, 50g de graines saines de niébé et 10 couples de *C. maculatus* de l'une ou l'autre souche. Chaque bocal reçoit une application de 20 µl d'huile essentielle avant d'être hermétiquement refermé.

L'expérience est répétée 4 fois avec chacune des 4 huiles essentielles. Les bocaux sont ouverts pour déterminer la mortalité des insectes après 3, 6, 12 et 24 heures d'exposition.

Cette mortalité est exprimée selon la formule d'Abbott (1925) :

$$M (\%) = \frac{\text{mortalité dans le traitement} - \text{mortalité dans le témoin}}{100 - \text{mortalité dans le témoin}} \times 100$$

M (%) : taux de mortalité

## **2.3. Etude comparée de l'activité reproductrice des insectes des souches traitées (ST) et des insectes de la souche non traitée (SNT)**

Dix (10) couples d'insectes nouvellement émergés étaient prélevés des souches traitées et de la souche non traitée et placés séparément dans une boîte de Pétri en présence de 10 graines saines renouvelées quotidiennement jusqu'à la mort des individus. Le nombre d'œufs déposés sur les graines était déterminé après la mort des individus, suivi de l'observation des éclosions 7 jours après.

Après le décompte des œufs éclos, les graines étaient conservées jusqu'à la fin des



émergences, puis le nombre de descendants dénombrés et sexés. A la fin de l'expérimentation, les traits d'histoire de vie tels que la durée de vie des femelles, la fécondité, le taux de survie larvaire (émergences) ainsi que la durée de développement ont été déterminés afin de calculer le taux intrinsèque d'accroissement naturel conformément à la formule de Howe's (1953) simplifiée par Boeke et al. (2004) :

$$r_m = \ln x / (t + 0,5p)$$

$r_m$  : Taux intrinsèque d'accroissement naturel ;

$x$  : Nombre d'insectes émergents ;

$t$  : Durée du développement ;

$p$  : durée de vie des femelles.

## 2.5. Résultats

### 2.5.1. La sensibilité des adultes de la souche non traitée (SNT) et des souches traitées (ST) aux huiles essentielles

La sensibilité des insectes est la même pour les adultes issus des souches traitées que pour ceux provenant de la souche non traitée lorsqu'on considère la même huile essentielle pendant la même durée d'exposition. À l'exception d'*O. americanum*, la sensibilité des insectes des deux types de souches augmente avec la durée d'exposition.

L'efficacité des huiles vis-à-vis des deux types de souches est maintenue pour toutes les huiles en 24 heures d'exposition (100% de mortalité), sauf *L. multiflora* (**Tableau 5**). Les huiles essentielles ne semblent donc pas induire de résistance au bout de 8 générations.

**Tableau 14: Mortalité (%) des adultes issus de la souche non traitée (SNT) et des adultes provenant des souches traitées (ST) en fonction de la durée d'exposition aux quatre huiles essentielles**

Huiles essentielles		Durée d'exposition			
	Souches	3h	6h	12h	24h
<i>O. americanum</i>	ST	78,75 ± 8,53 a	91,25 ± 2,5 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
	SNT	88,75 ± 8,53 a	97,5 ± 2,8 a	100 ± 0 a	100 ± 0 a
<i>H. suaveolens</i>	ST	25 ± 9,12 b	4,5 ± 16,5 b	87,5 ± 8,6 b	100 ± 0 a
	SNT	28,75 ± 12,5 b	55 ± 8,16 c	86,25 ± 8,5 b	100 ± 0 a
<i>L. multiflora</i>	ST	1,25 ± 0 c	2,5 ± 5 d	26,25 ± 4,7 c	43,75±14,3 b
	SNT	0 ± 0 c	3,75 ± 2,5 d	31,25 ± 8,5 c	51,25±11,0 b
<i>H. spicigera</i>	ST	0 ± 0 c	8,75 ± 6,2 d	55 ± 8,16 d	100 ± 0 a
	SNT	1,25 ± 2.5 c	12,5 ± 6.4 d	61,25±10,3 d	100 ± 0 a

Les moyennes dans la même colonne suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

### **2.5.2. Activité reproductrice des insectes de la souche non traitée (SNT) et des insectes des souches traitées (ST) aux quatre huiles essentielles**

La durée de vie des femelles est identique d'une souche traitée à une autre et ne diffère pas de celle de la souche non traitée. Les femelles des souches traitées à partir de *O. americanum*, de *H. suaveolens* et de *L. multiflora* pondent moins d'œufs par rapport aux femelles de la souche non traitée (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ). Cependant, pour les femelles de la souche traitée avec *H. spicigera* on ne note pas de différence avec la souche non traitée

(Tableau 6).

Le taux intrinsèque d'accroissement naturel ( $r_m$ ) estimé à partir des traits d'histoire de vie des insectes provenant des différentes souches montre que les souches traitées à base de l'huile essentielle de *O. americanum*, de *L. multiflora* et de *H. suaveolens* diffèrent de ceux issus de la souche non traitée qui ne présente cependant pas de différence avec la souche traitée par *H. spicigera*.

**Tableau 14: Activité reproductrice des insectes de la souche non traitée (SNT) et des insectes des souches traitées (ST) aux quatre huiles essentielles**

Souches	Traitées (ST)				Non traitée (SNT)
	<i>O. americanum</i>	<i>H. suaveolens</i>	<i>L. multiflora</i>	<i>H. spicigera</i>	Témoin
<b>Durée de vie des femelles (jours)</b>	6,5 ± 2,3 a	6 ± 0,81 a	6 ± 0,81 a	6 ± 0 a	7 ± 0,81 a
<b>Nombre d'œufs pondus</b>	170 ± 27,3 a	165,6 ± 14,3 a	173,7 ± 9,5 a	228,7 ± 15,8 ab	264,3 ± 19,2 b
<b>Nombre d'insectes émergés</b>	122,5 ± 12,4 a	142,5 ± 19,7 a	137 ± 78,4 a	195,5 ± 10 b	190 ± 3,5 b
<b>Durée de développement (jours)</b>	20,3 ± 2,06 a	19,6 ± 3,1 a	22,03 ± 0,9 a	21,1 ± 1,4 a	20,5 ± 0,2 a
<b>Taux de survie larvaire (%)</b>	73,3 ± 6,6 a	79,7 ± 3,7 a	78,7 ± 3,9 a	64,08 ± 18,2 a	68,6 ± 14,04 a
<b><math>r_m</math> (/jours)</b>	1,65 ± 0,31 a	1,83 ± 0,4 a	1,70 ± 0,27 a	2,08 ± 0,16 b	2,07 ± 0,11 b

Les moyennes dans la même ligne suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

## 2.6. Discussion

L'observation de la sensibilité des adultes issus de l'exposition aux huiles essentielles pendant huit (8) générations n'a pas permis dans nos conditions expérimentales de noter une

différence de sensibilité avec ceux n'ayant pas été exposés à ces huiles essentielles.

Par contre, la capacité de ponte des femelles issues des souches traitées avec certaines huiles s'en trouve affectée. Cette action des huiles essentielles sur la fécondité des femelles pourrait être une conséquence de l'exposition aux composants toxiques au cours du développement étant donné que la longévité des femelles est la même pour toutes les souches, traitées comme non traitée. Aussi, la perturbation de la physiologie des insectes induite par les huiles essentielles a souvent été rapportée. Ainsi, la rétention des ovocytes dans les oviductes inhiberait le contrôle du système gonadotrope sur la libération de l'hormone de ponte (Cassier et al., 1999 ; Séri-Kouassi, 2004).

A ce stade de la discussion, la question essentielle que nous nous posons est de savoir si les différences observées entre les souches traitées et la souche non traitée par rapport à certains paramètres biodémographiques permettent d'affirmer l'apparition d'une résistance. Toutefois, des études récentes rapportent que les femelles de *Frankliniella occidentalis* issues de souche résistante au spinosad pondent plus que celles de souche sensible (Bielza, 2008).

Aussi, une souche d'*Acanthoscelides obtectus* isolée seulement après 8 générations a pu développer une résistance vis-à-vis de l'huile essentielle de la lavande. Dans ce cas les femelles de la souche résistante présentaient un degré de résistance 8 fois supérieur à celles de la souche sensible et les mâles de la souche résistante, un degré de résistance 4 fois supérieur à ceux de la souche sensible (Papachristos et Stamopoulos, 2003). Il faut noter ici que ces auteurs ont confirmé l'existence de la résistance par l'implication du cytochrome P450 et du glutathion-S-transférase chez les individus de la souche résistante.

Dans les limites de nos conditions expérimentales, nous ne pouvons donc pas parler de résistance dans la mesure où les descendants obtenus des souches traitées ne présentent ni une meilleure survie, ni une meilleure fitness par rapport à ceux de la souche non traitée.

D'autres auteurs travaillant avec le malathion, ont signalé que de 17 à 37 générations

sont nécessaires à l'installation de la résistance (Assié et al., 2007).

Ainsi, la possibilité de survenue d'une résistance des bruches aux huiles essentielle n'est pas à exclure à long terme quand on sait que 16 générations par an peuvent se succéder comme cela a été observé au Togo (Glitho, Com. pers.). Concernant les huiles essentielles, il convient d'approfondir les investigations sur plusieurs générations et rechercher les enzymes impliquées dans les phénomènes de résistance telles que le carboxylestérase (Cao et al., 2007) ou le cytochrome P450 et le glutathion-S-transférase (Papachristos et Stamopoulos, 2003), avant de conclure quant à la possibilité ou non d'engendrer la résistance dans les populations de ravageurs traités.

## **2.7. Conclusion partielle**

Au cours de cette étude, nous avons pu déceler quelques différences, notamment au niveau de la fécondité et du taux intrinsèque d'accroissement naturel, entre les différents paramètres biologiques et démographiques des 2 types de souches. Selon Sawicky (1987), pour avoir une résistance, il faut une perte de sensibilité envers l'insecticide. Dans notre cas le fait que la sensibilité des insectes aux huiles essentielles soit maintenue sur les insectes isolés des souches soumises à la pression de ces mêmes huiles est un avantage qui milite en faveur de leur promotion dans la conservation post récolte des denrées alimentaires contre les ravageurs. Les huiles essentielles testées dans cette étude montrent un réel potentiel en protection des stocks. Cependant, le différentiel de toxicité entre les deux formes de l'insecte commande la prise en compte de la synchronisation du traitement avec le stade cible le plus sensible en vue d'optimiser l'efficacité des huiles essentielles.

Pour cela, un accent devrait être mis sur la gestion des formes externes facilement accessibles aux traitements à base de phytoinsecticides. Ceci entraînerait un gain économique et écologique en réduisant la quantité d'huile à utiliser. Dans une perspective de protection durable des stocks, il convient de comprendre et de maîtriser les effets de tels traitements à

long terme sur les insectes.

La conservation du niébé se déroule sur une longue période de l'année (Octobre à Mai) dont une partie en période chaude (Février à Mai) pendant laquelle les températures sont très élevées. Pourtant, les huiles essentielles sont instables, complexes et volatiles. Il est donc nécessaire de comprendre leur comportement en situation de température élevée, proche de celle des systèmes de stockage à certains moments de l'année et surtout leur persistance à l'intérieur de structures hermétiques.

### **III. Facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles vis-à-vis de *C. maculatus***

#### **3.1. Persistance de l'activité biologique des huiles essentielles en conditions naturelles**

Cette étude a été menée dans les conditions ambiantes du laboratoire où la température minimale moyenne était de 24.19°C et la température maximale moyenne de 42.2°C. Des lots de 50g de graines saines de niébé étaient placés séparément à l'intérieur de bocaux hermétiques en verre de contenance 1l chacun. Ces lots étaient ensuite répartis en deux séries de traitement. Dans la première série, les lots de graines étaient traités par l'application de 20µl de chacune des 4 huiles essentielles en 4 répétitions selon la procédure précédemment décrite. Pour chaque huile essentielle, il y avait 40 lots traités. Dans la seconde série, le même nombre de lots de graines renfermant la rondelle de papier filtre sans aucune application d'huile essentielle était constitué et servait donc de témoin.

A partir de la date d'application des huiles essentielles et toutes les 48 heures, 4 lots de graines traitées avec chaque huile essentielle ainsi que 4 lots témoins recevaient 10 couples de *Callosobruchus maculatus* âgés de 2 jours pendant 24 heures. A l'issue de ce temps, les bocaux étaient vidés pour le dénombrement des insectes morts. Cette opération était répétée jusqu'à la perte d'activité biologique de chaque huile essentielle (i. e. mortalité équivalente à

celle du témoin).

**Figure 22: Schéma explicatif de la procédure expérimentale de mise en évidence de la persistance des huiles essentielles**

### **3.2. Effets de l'exposition à un régime thermopériodique chaud sur l'activité biologique des huiles essentielles**

#### **3.2.1. Effets d'une exposition ponctuelle de graines traitées avec les huiles essentielles**

Des lots de 50g de graines saines de niébé étaient placés séparément à l'intérieur de bocaux hermétiques en verre de contenance 1litre chacun. Ces lots étaient ensuite répartis en deux séries de traitements. La première série, constituée de 4 lots en 4 répétitions chacun, était traité par l'application de chacune des 4 huiles essentielles. Cette première série était ensuite soumise à un régime thermopériodique de 50 : 35°C ; 10h : 14h pendant 2 jours dans une

étuve universelle. La seconde série comportait exactement les mêmes lots de traitements à la différence qu'ils étaient placés, après application des huiles essentielles sur la pailasse à la température ambiante du laboratoire (environ 25°C). Le traitement aux huiles essentielles consistait à introduire du coton imbibé de 20µl d'huile essentielle dans les lots de graines prévus à cet effet. A l'issue des 2 jours d'exposition à la chaleur, les lots de la première série étaient sortis de l'étuve puis refroidis pendant 2 heures. Au bout de ce temps, 10 couples d'adultes *C. maculatus* (âgés de 2 jours) étaient introduits dans chaque lot de graines provenant des 2 séries expérimentales, le tout maintenu dans les conditions ambiantes du laboratoire. Vingt quatre heures plus tard, les bocaux étaient vidés et leur contenu observé pour la détermination du nombre d'insectes morts et du nombre total d'œufs pondus sur les graines dans chaque cas. Les résultats de la première série étaient comparés à ceux de la deuxième.



**Figure 22: Schéma explicatif de la procédure expérimentale de mise en évidence de l'effet de la température sur les huiles essentielles**

### **3.2.2. Effets d'une exposition prolongée de graines traitées avec *O. americanum***

Cette expérience a été réalisée avec l'huile essentielle la plus active, celle d'*O. americanum*. Elle a consisté à considérer des lots de 50g de graines saines de niébé placées dans des bocaux hermétiques et disposés en 3 groupes. Chaque groupe comportait 4 lots (ou

répétitions) traités par application de 20 $\mu$ l d'huile essentielle et 1 lot témoin non traité répété également 4 fois. Ensuite, ces différents groupes étaient soumis au régime thermopériodique chaud de 50 : 35°C ; 10h : 14h pendant 2 jours (groupe 1), 6 jours (groupe 2) ou 12 jours (groupe 3) dans une étuve universelle. Après le passage à l'étuve, les lots de graines étaient refroidis pendant 2 heures et recevaient l'introduction de 10 couples d'adultes *C. maculatus* (âgés de 2 jours) dans les bocaux refermés hermétiquement et placés à la température ambiante du laboratoire (25°C en moyenne). Au bout de 24 heures, les bocaux étaient vidés pour la détermination du nombre d'insectes morts ainsi que du nombre total d'œufs pondus dans chaque cas. Ces résultats étaient comparés à ceux obtenus de tests sur des lots de graines ayant subi les mêmes traitements mais exposés à la température ambiante du laboratoire.

**Figure 22: Schéma explicatif de la procédure expérimentale de mise en évidence d'une exposition prolongée à la température**

### **3.2.3. Effets d'une exposition directe et ponctuelle d'*O. americanum***

En raison de sa plus grande activité biologique observée lors de tests préliminaires,

seule l'huile essentielle d'*Ocimum americanum* a été utilisée dans cette expérience. Celle-ci a consisté à prélever une quantité de 200µl de l'huile essentielle dans un flacon en verre hermétique et à l'exposer à un régime thermopériodique de 50 : 35°C ; 10h : 14h et ceci pendant 2 jours. L'activité biologique de cette huile préalablement chauffée était ensuite évaluée sur les adultes *C. maculatus*. Pour cela, 20µl de l'huile chauffée étaient prélevés et placés sur du coton qui était ensuite introduit dans chaque bocal contenant 50g de graines saines. Dix (10) couples d'adultes *C. maculatus* âgés de 2 jours étaient ensuite introduits dans chaque bocal pendant 24 heures. Après ce contact, les bocaux étaient vidés et les observations permettaient de dénombrer les insectes morts et les œufs pondus sur les graines. La même expérience était réalisée parallèlement en utilisant la même huile essentielle mais non chauffée, toujours en 4 répétitions.

### **3.3. Résultats**

#### **3.3.1. Persistance de l'activité biologique des huiles essentielles en conditions naturelles**

La sensibilité des adultes *C. maculatus* diminue avec le temps et en fonction de l'huile essentielle utilisée (**Figure 11**). Celle d'*O. americanum* est la plus persistante avec une activité insecticide de 100% 14 jours après son application. Par contre, à 18 jours, il n'y avait plus aucune activité insecticide, ce qui atteste d'une perte brusque de l'activité biologique de cette huile essentielle.

A la différence d'*O. americanum*, on note une décroissance progressive de l'activité insecticide des trois (3) autres huiles essentielles, ce qui témoigne d'une perte régulière de leur activité biologique au fil du temps.

L'huile la moins persistante est celle de *H. spicigera* dont l'activité insecticide décroît rapidement pour être nulle à partir du 10<sup>ème</sup> jour après traitement. Les 2 autres huiles

essentiels, celle de *H. suaveolens* et de *L. multiflora*, ont manifesté une persistance intermédiaire de respectivement 12 et 14 jours.

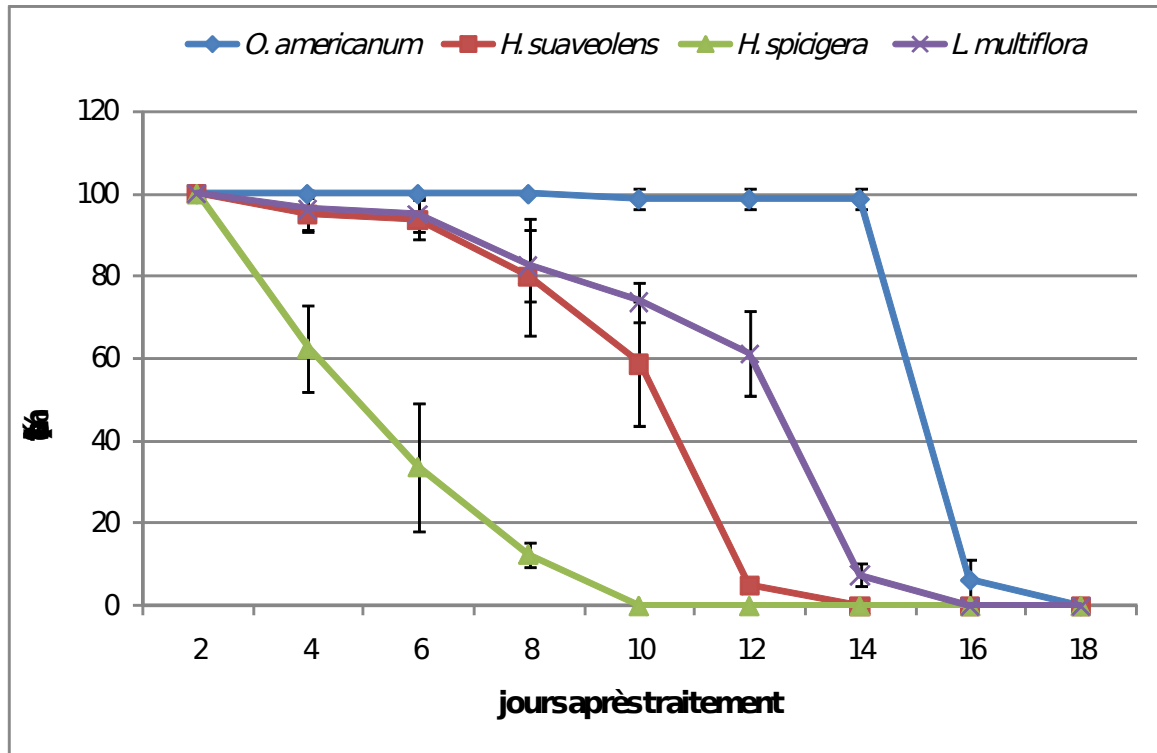
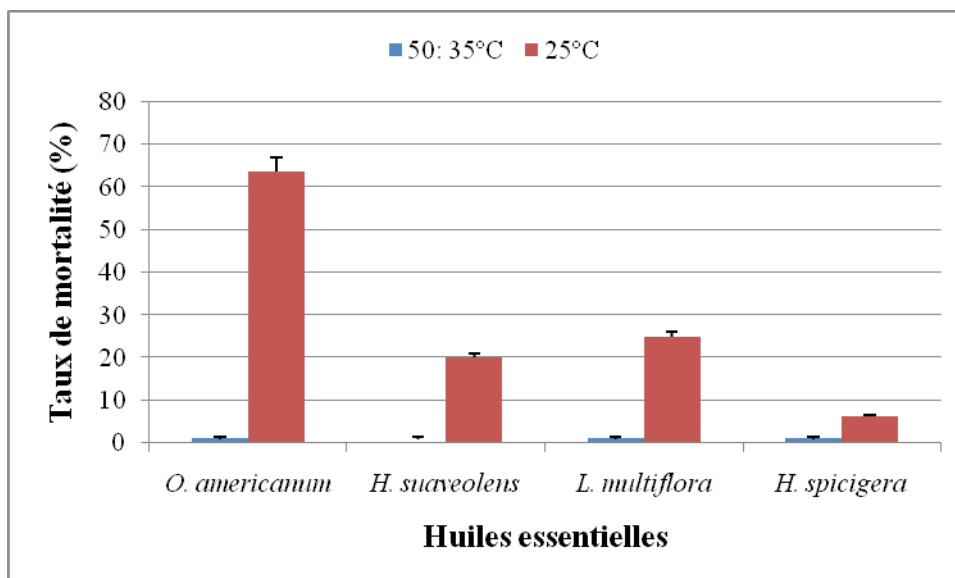


Figure 22: Persistance des huiles essentielles en stockage hermétique

### 3.3.2. Effets d'une exposition ponctuelle de graines traitées avec les huiles essentielles

La mortalité provoquée par les huiles utilisées en conditions ambiantes (25°C) est plus élevée que celle des huiles placées en conditions thermopériodiques chaudes (50 :35°C) (figure 12). La mortalité provoquée par les huiles à 50 : 35°C est très faible et quasi nulle. Elle est identique pour toutes les huiles en deux jours d'exposition. Cependant lorsque ces huiles sont utilisées à 25°C, on note une différence entre *O. americanum* et les autres (test PLSD de Fisher,  $p > 0.05$ ).



**Figure 22: Effet de l'exposition ponctuelle de graines traitées sur les adultes**

La perte d'activité insecticide en conditions chaudes se répercute sur l'activité de ponte des femelles. Les femelles pondent sur les graines traitées et exposées ou non en conditions chaudes. Cependant, Le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles lorsqu'elles sont en présence de graines traitées et exposées à 50 : 35°C est plus élevé que lorsqu'elles sont en contact des graines traitées et maintenues à 25°C sauf pour les graines traitées avec l'huile de *L. multiflora* (Tableau 7). Ainsi, certaines huiles essentielles comme celle de *L. multiflora*, même ayant perdu leur activité insecticide en conditions chaudes, peuvent néanmoins perturber la ponte des femelles.

**Tableau 14: Effet de l'exposition ponctuelle de graines traitées sur le nombre d'œufs**

### déposés par les femelles de *C. maculatus*

Huiles essentielles	50 : 35°C	25°C
<i>O. americanum</i>	149,25 ± 10,75 a	22,00 ± 2,16 d
<i>H. suaveolens</i>	155,00 ± 15,34 a	90,25 ± 11,47 c
<i>L. multiflora</i>	109,25 ± 16,02 b	74,75 ± 13,38 b
<i>H. spicigera</i>	181,50 ± 11,65 a	120,50 ± 16,41 c

Les moyennes situées dans la même ligne et suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

### 3.3.3. Effets d'une exposition prolongée de graines traitées avec *O. americanum*

Lorsque les graines traitées à l'huile d'*O. americanum* sont mises à 50 :35°C et à 25°C sur une période de 12 jours avant d'être présentées aux insectes, le taux de mortalité est significativement plus élevé à 25°C qu'à 50 :35°C au deuxième jour et au sixième jour (**Tableau 8**). Au douzième jour, aucune mortalité n'est observée dans les deux situations. La mortalité ne diffère pas entre 2 et 6 jours d'exposition à 50 :35°C, alors qu'à 25°C on note une différence entre ces deux durées d'exposition (test PLSD de Fisher,  $P > 0.05$ ). L'effet de la température sur l'effet adulticide d'*O. americanum* est donc indépendant de la durée d'exposition, l'huile perdant son activité biologique dès le deuxième jour.

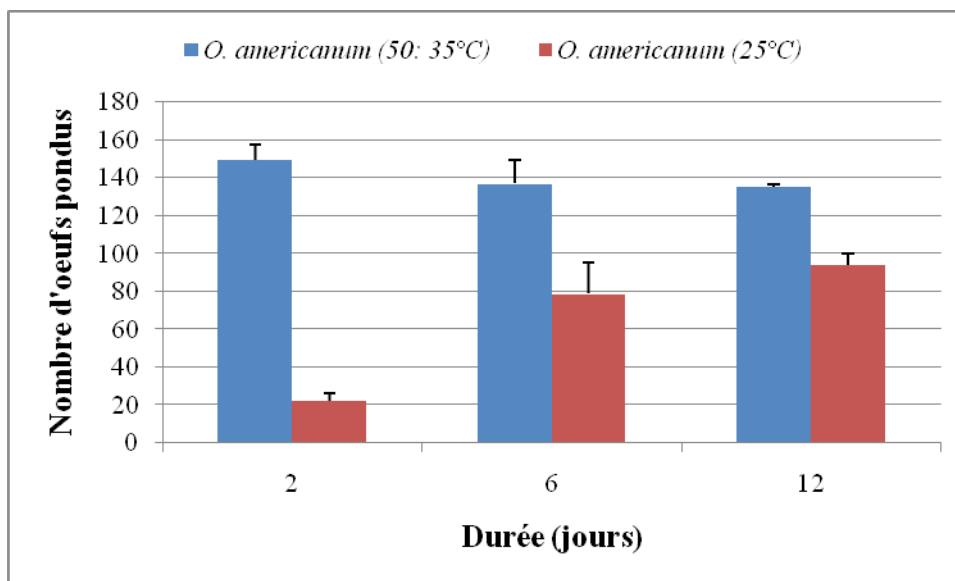
**Tableau 14: Effet d'une exposition prolongée de graines traitées avec *O. americanum* sur les adultes de *C. maculatus***

Taux de mortalité (% $\pm$ SD) après						
	2 jours d'exposition		6 jours d'exposition		12 jours d'exposition	
	Témoin (non traité)	Traitement HE	Témoin (non traité)	Traitement HE	Témoin (non traité)	Traitement HE
50:35°C 10h:14h	2,5 $\pm$ 1,4 b	63,7 $\pm$ 5,1 a	1,2 $\pm$ 1,2 b	3,7 $\pm$ 2,5 b	2,5 $\pm$ 1,4 b	0,00 $\pm$ 0,0 b
25°C	1,2 $\pm$ 1,2 b	100 $\pm$ 0,0 a	0,0 $\pm$ 0,0 b	100 $\pm$ 0,0 a	2,5 $\pm$ 1,4 b	100 $\pm$ 0,0 a

Les moyennes situées dans la même colonne et suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

La figure 13 montre que les insectes pondent aussi bien sur les graines traitées et exposées à 25°C que sur celles portées à 50 :35°C quelque soit la durée d'exposition. Cependant, le nombre d'œufs déposés par les femelles en conditions thermopériodiques chaudes (50 :35°C) est nettement plus élevé et diffère de celui déposé en conditions ambiantes (25°C). En conditions chaudes le nombre moyen d'œufs pondus au cours de chacune des 3 périodes d'exposition n'est pas significativement différent (Test PLSD de Fisher,  $P < 0,05$ ) alors qu'en conditions non chaudes, plus la période de contact des graines avec l'huile essentielle est longue, plus le nombre moyen d'œufs pondus augmente.





**Figure 22: Effet d'une exposition prolongée de graines traitées avec *O. americanum* sur le nombre d'œufs déposés par les femelles de *C. maculatus***

### **3.3.4. Effets d'une exposition directe et ponctuelle des adultes à l'huile essentielle d'*O. americanum* préalablement placée au régime thermopériodique 50 : 35°C ; 10 : 14h**

L'huile essentielle d'*O. americanum* préalablement exposée à des conditions thermopériodiques chaudes de 50 : 35°C a montré une activité biologique moins importante sur les insectes traités comparativement à la même huile maintenue en conditions thermopériodiques ambiantes (**Tableau 9**). En effet, la mortalité des adultes est significativement réduite par l'exposition aux conditions chaudes même si celle-ci est quand même de 62.5%, nettement supérieure à la mortalité naturelle (<4%).

**Tableau 14: Effet d'une exposition directe et ponctuelle des adultes à l'huile essentielle d'*O. americanum* placée à 50 : 35°C ; 10 : 14h**

	Taux de mortalité (% ± SD)
Témoin (non traité)	3,75 ± 2,50 c
50:35°C 10h:14h	62,50 ± 10,41 b
25°C	100,00 ± 0,00 a

Les moyennes situées dans la colonne et suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

### 3.4. Discussion

Les résultats obtenus montrent une différence de persistance de l'activité biologique des 4 huiles essentielles en conditions non contrôlées proches de celles observées généralement en début de stockage dans les zones sahéliennes de conservation du niébé. La différence de persistance peut être attribuée à une différence de composition chimique des 4 huiles essentielles comme cela a été suggéré par Ngamo et al. (2007) qui ont étudié la persistance de 3 huiles essentielles, *Annona senegalensis*, *Hyptis spicigera* et *Lippia rugosa* vis-à-vis de 4 ravageurs de denrées stockées dont *C. maculatus*. Ces auteurs estiment que les huiles les plus volatiles, riches en composés hydrogénés, sont moins persistantes que celles qui renferment des composés oxygénés. En effet, la vitesse d'oxygénation des composés hydrogénés serait plus rapide, ce qui induirait la perte de leur activité biologique (Kim et al., 2002). Nos résultats tendent à confirmer cette hypothèse car les 2 huiles les plus persistantes sont riches en composés oxygénés. Cependant, contrairement à nos résultats qui mettent en évidence une persistance relativement longue, Ngamo et al (2007) ont observé une perte totale

de l'activité insecticide des huiles essentielles testées, à l'exception de celle de *L. rugosa*, au bout de 24 heures.

Il convient cependant de souligner qu'au contraire de notre étude, celle de Ngamo et al (2007) a été réalisée dans des dispositifs non hermétiques (boîtes de Pétri) avec une dilution des huiles essentielles dans de l'acétone. On peut supposer que la volatilité n'explique pas à elle seule la perte d'activité biologique que nous avons observée dans des conditions hermétiques. De part leur composition chimique, les huiles essentielles pourraient se dégrader naturellement à des vitesses variables au cours du temps. Cette dégradation pourrait être accentuée sous l'influence de certains facteurs de l'environnement comme la température et la lumière (Lobstein et al., 1983 ; Isman, 2000 ; Miresmailli, 2005).

Lorsque les huiles essentielles sont appliquées en conditions de température élevée, leur activité adulticide diminue considérablement quelque soit l'huile essentielle utilisée. Ce résultat suggère que la température inhibe ou altère les composés chimiques des huiles essentielles responsables de leur toxicité. Ce résultat a rarement été démontré même si la dénaturation des huiles essentielle par la température est bien connue (Lobstein et al., 1983). L'effet de la température sur les huiles essentielles est indépendant de la durée d'exposition, la dénaturation des composés actifs en situation de température élevée se produirait immédiatement, ou tout au moins pendant les 48h après l'exposition.

Lorsque l'huile est chauffée avant d'être testée immédiatement, elle entraîne une mortalité plus faible que celle non chauffée, ce qui confirme l'hypothèse de dénaturation rapide de l'huile. Par ailleurs quand on compare la mortalité provoquée par l'huile d'*Ocimum americanum* directement chauffée (63%) à celle provoquée par cette même huile appliquée aux graines et exposée à la température chaude avant d'être utilisée pour le traitement 2 jours après exposition (2%), il apparaît une différence très nette. Ce constat pourrait être interprété par le mode opératoire. En effet, lorsque les graines traitées aux huiles essentielles sont

d'abord exposées à la température chaude avant d'être utilisées pour le test, elles pourraient absorber les composants actifs des huiles essentielles et ainsi exposer les insectes à de faibles résidus toxiques d'où la faible mortalité observée. Par contre, en cas d'application directe de l'huile préalablement chauffée, les graines n'ont pas le temps d'absorber les composants actifs, exposant du même coup les insectes à de forte dose d'huiles essentielles, d'où la forte mortalité constatée. Il est donc nécessaire d'analyser la composition chimique de l'huile chauffée et voir si elle diffère de celle non chauffée avant de tirer une conclusion quant à la perte de l'activité biologique due à la chaleur. Ainsi, les huiles essentielles étant utilisées en fumigation, il est permis de penser à leur dénaturation sous l'effet de la température élevée.

### **3.5. Conclusion partielle**

La détermination de la persistance des huiles essentielles en conditions naturelles proches de la réalité des conditions de stockage est un résultat novateur. C'est une information scientifique majeure pour l'optimisation des biopesticides d'origine végétale en ce sens qu'elle permettrait une utilisation pratique des huiles essentielle dans la protection post récolte. Nos investigations ont également, pour la première fois, mis en évidence l'influence de la température sur l'activité biologique des huiles essentielles vis-à-vis de *C. maculatus*.

Bien que préliminaires, ces résultats montrent cependant l'importance de la prise en compte des facteurs environnementaux pour optimiser l'utilisation des huiles essentielles. En effet, la thermopériode utilisée au cours de cette étude correspond à des conditions proches de celles rencontrées sur le terrain dans les greniers souvent exposés au soleil pendant les périodes de chaleur en zone sahélienne du Burkina Faso (soit en octobre-novembre, soit en mars-mai) (Sanon, 1998). Ainsi, les conditions optimales d'utilisation sur le terrain pourraient cibler les périodes où les températures sont relativement basses (décembre à janvier) pour initier le stockage avec les huiles essentielles afin de bénéficier d'une efficacité maximale et longue des huiles essentielles à même d'éradiquer le ravageur. Une des conditions d'efficacité serait

aussi le stockage dans des dispositifs hermétiques qui pourraient être maintenus à l'abri du soleil pour éviter ou minimiser les très fortes températures.

Des études plus précises sont nécessaires pour mieux cerner le rôle des facteurs environnementaux dans l'efficacité des huiles essentielles pour une conservation durable du niébé.

Dans une perspective de lutte intégrée intégrant harmonieusement l'emploi des huiles essentielles et l'introduction de parasitoïdes, les effets adverses des huiles essentielles doivent être analysés sur l'ennemi naturel du ravageur afin de déterminer des scénarii efficaces de combinaison de ces deux méthodes.

## CHAPITRE 4 : EFFET DES HUILES ESSENTIELLES SUR LE PARASITOÏDE

### *DINARMUS BASALIS*

#### **Introduction**

De nombreuses espèces d'hyménoptères parasitoïdes sont inféodées aux bruches dans les cultures de niébé et se développent en ectoparasitoïdes sur les larves de leurs hôtes. Des études réalisées au Burkina Faso (Ouédraogo et al., 1996) et au Togo (Zannou et al., 1995) ont montré que dans les stocks de niébé en milieu paysan, se trouvent à la fois des larves de *C. maculatus* en développement, parasitées ou non par *Dinarmus basalis*. En effet des études de terrain et de laboratoire ont identifié *D.basalis* comme le meilleur agent de contrôle biologique des populations de *Callosobruchus maculatus* (Sanon et al., 1998 ; Amevoïn, 1998). L'efficacité du contrôle dépend du taux de parasitisme initial, lorsque la pression parasitaire est forte au début du stockage, les effectifs de *C. maculatus* sont fortement réduits et les pertes limitées (Sanon et al., 1999). L'intérêt grandissant porté sur l'utilisation des huiles essentielles réside en leur capacité à inhiber efficacement les stades externes du ravageur et dans une moindre mesure les stades internes. Leur efficacité dans des situations réelles de stockage a été rarement démontrée (Sanon et al., 2002). En outre de nombreuses études antérieures révèlent que dans les mêmes conditions, les parasitoïdes sont plus sensibles que le ravageur (Huignard et al., 2002 ; Ketoh et al., 2005).

Convaincus du fait qu'aucune méthode de lutte ne peut à elle seule procurer une protection efficace et durable, nous avons, dans une perspective de lutte intégrée analysé la toxicité aigue et chronique ainsi que l'effet des doses sublétales des huiles essentielles sur *D. basalis*.

## **1. Toxicité aigue des huiles essentielles vis-à-vis de *D. basalis***

Cette étude a été menée dans les conditions ambiantes du Laboratoire d'Entomologie Fondamentale et Appliquée de l'Université de Ouagadougou où la température minimale moyenne était de 24.19°C et la température maximale moyenne de 42.2°C. Dix (10) couples d'adultes de *Dinarmus basalis* âgés de 2 jours étaient placés en présence de 50 grammes de graines saines de niébé mélangées à des graines renfermant des larves de stade 4 de *Callosobruchus maculatus* dans des bocaux en verre de contenance 1 litre. Au total, 7 doses croissantes de chaque huile essentielle: 0,1µl ; 0,3µl ; 0,5µl ; 1µl ; 2µl ; 3µl et 5µl ont été testées. La charge d'huile essentielle était déposée à l'aide d'une micropipette sur une rondelle de papier filtre Whatman qui était collée à la paroi du bocal refermé hermétiquement juste après. Dans chaque cas, il y avait 4 répétitions avec en parallèle un traitement témoin sans application d'huile essentielle répété aussi 4 fois. Les insectes étaient maintenus dans les bocaux en présence ou en absence d'huile essentielle pendant 24 heures à l'issue desquelles les insectes morts étaient dénombrés.

Les doses létales ( $DL_{50}$  et  $DL_{90}$ ) ont été déterminées par le modèle probit-log de Finney (1971).

### **1.1. Effets des huiles essentielles sur les capacités parasitaires de *D. basalis***

Des graines marquées contenant 20 larves de stade 4 de *Callosobruchus maculatus* (au plus 2 larves par graine) sont mélangées à 50g de graines saines de niébé et mises en présence de 10 couples de *Dinarmus basalis* âgés de 2 jours dans des bocaux en verre de contenance 1 litre. La dose unique de 5µl d'huile essentielle de chaque plante a été utilisée selon la même procédure d'application précédemment décrite. Quatre répétitions ainsi qu'un témoin sans application d'huile essentielle répliqué 4 fois sont constitués. L'exposition dure 24 heures puis les bocaux sont vidés. Les graines marquées sont isolées et gardées dans des boîtes de

Pétri puis suivies jusqu'à l'émergence des insectes.

Le nombre d'insectes des 2 espèces (*Dinarmus basalis* et *Callosobruchus maculatus*) qui émergent est noté quotidiennement jusqu'à la fin des émergences afin de déterminer le taux de parasitisme. Ce taux est le rapport entre le nombre de *D. basalis* émergés et celui de tous les insectes (*D. basalis* et *C. maculatus*).

$$P (\%) = \frac{\text{nombre de } D. basalis \text{ émergés}}{\text{nombre de } D. basalis + \text{nombre de } C. maculatus \text{ émergés}} \times 100$$

## 1.2. Sensibilité des adultes de *D. basalis* aux concentrations non létales pour leur hôte

Des bocaux en verre de contenance 1 litre contenant 50 grammes de graines saines de niébé ont été traités aux huiles essentielles et gardés pendant une période donnée correspondant au temps de rémanence de chaque huile essentielle déterminée dans le chapitre précédent. En rappel, les différentes durées au bout desquelles les huiles ne présentent plus d'effets létaux pour les bruches, hôtes des parasitoïdes sont de : 10, 14, 16 et 18 jours pour respectivement *H. spicigera*, *H. suaveolens*, *L. multiflora* et *O. americanum*.

A l'intérieur des bocaux, 20 µl d'huile essentielle est déposé sur du papier filtre collé à la paroi puis les bocaux sont refermés hermétiquement juste après. Quatre répétitions pour chaque huile essentielle ainsi qu'un témoin également répliqué quatre fois n'ayant pas reçu d'huile essentielle ont été réalisés. Les bocaux sont disposés sur la paille en conditions ambiantes du laboratoire.

Lorsque la durée équivalant à l'absence d'effets létaux d'une huile essentielle donnée est atteinte, les bocaux traités par cette dernière sont récupérés et 10 couples d'adultes de *D. basalis* âgés de 2 jours y sont introduits pendant 24 heures. A l'issue de ce séjour de 24 heures, les bocaux sont vidés et les insectes morts sont dénombrés. La mortalité observée est

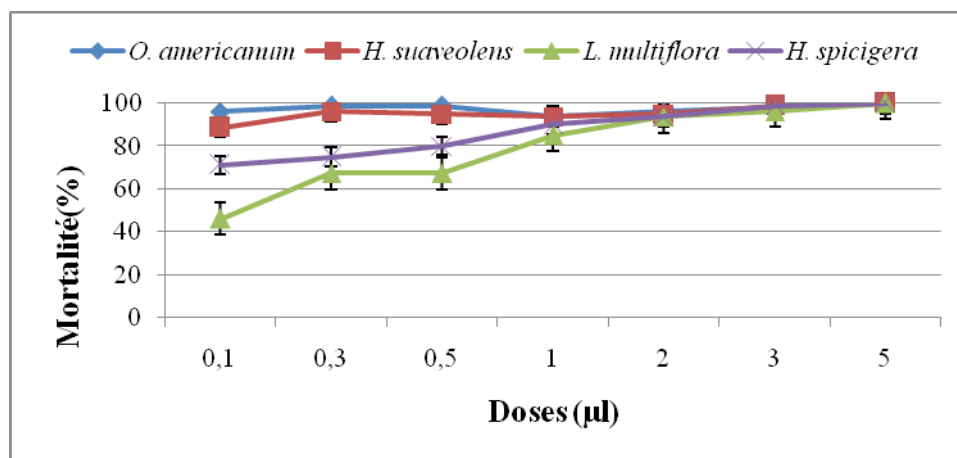


corrigée par la formule d'Abbott (1925).

## 2. Résultats

### 2.1. Toxicité aiguë des huiles essentielles vis-à-vis de *D. basalis*

La toxicité des huiles essentielles vis-à-vis des adultes de *D. basalis* varie en fonction des huiles essentielles (**Figure 14**). D'une façon générale, les adultes sont très sensibles à l'activité de ces substances végétales et on observe une mortalité supérieure à 60% pour toutes les huiles impliquées à partir de 0,3 $\mu$ l. Les 3 huiles les plus toxiques (*O. americanum*, *H. suaveolens* et *H. spicigera*) provoquent 100% de mortalité aux doses supérieures ou égales à 3 $\mu$ l. Pour les concentrations utilisées, seule l'activité de *H. spicigera* et celle de *L. multiflora* semblent concentration-dépendantes.



**Figure 22: Variation de la réponse concentration-mortalité chez *Dinarmus basalis***

Les  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  sont très faibles vis-à-vis des adultes de *D. basalis*. Les huiles essentielles d'*O. americanum* et de *H. suaveolens* ont une  $CL_{90}$  inférieure à 0,1 $\mu$ l et sont les plus toxiques vis-à-vis de *D. basalis* (**Tableau 10**). Quant aux huiles de *L. multiflora* et de *H.*

*spicigera*, elles ont des CL<sub>90</sub> sensiblement égales (test PLSD de Fisher, P>0,05) mais la CL<sub>50</sub> de *H. spicigera* est inférieure à celle de *L. multiflora* qui est donc la moins toxique vis-à-vis de *D. basalis*.

**Tableau 14: CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> des huiles essentielles vis-à-vis des adultes de *D. basalis***

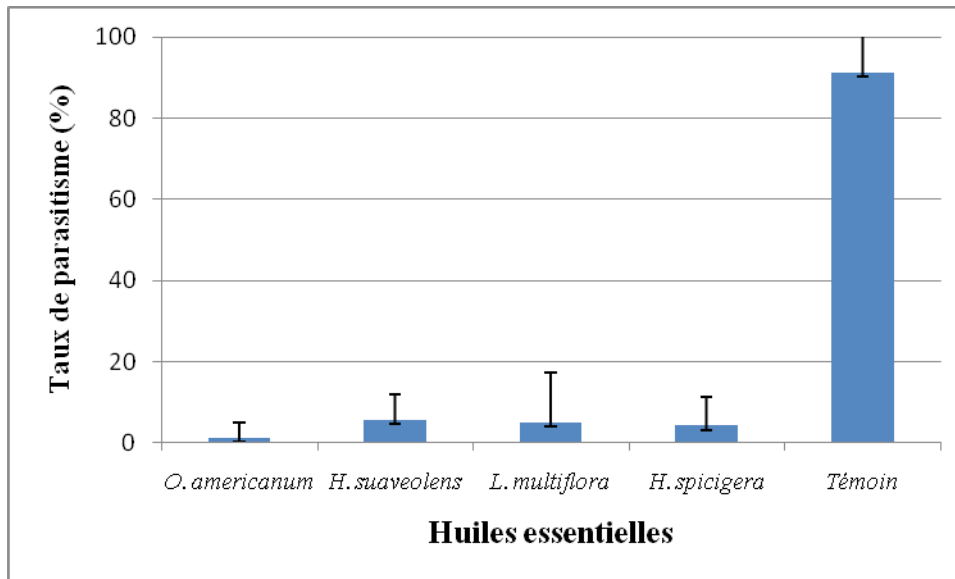
	<i>O. americanum</i>	<i>L. multiflora</i>	<i>H. suaveolens</i>	<i>H. spicigera</i>
Pente	-	1,04	-	1,32
CL <sub>50</sub>	< 0,1µl	<b>0,20 a</b>	< 0,1µl	<b>0,05 b</b>
L.C		(0,14 – 0,26)	-	(0,01 – 0,11)
CL <sub>90</sub>	< 0,1µl	<b>1,43 a</b>	< 0,1µl	<b>0,90 a</b>
L.C	-	(1,09 – 2,11)	-	(0,65 – 1,48)
χ <sup>2</sup>	-	p<0,05	-	p<0,05

CL : concentration létale

L.C. : limite de confiance

Les moyennes dans la même ligne suivies de lettres alphabétiques identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher p<0.05).

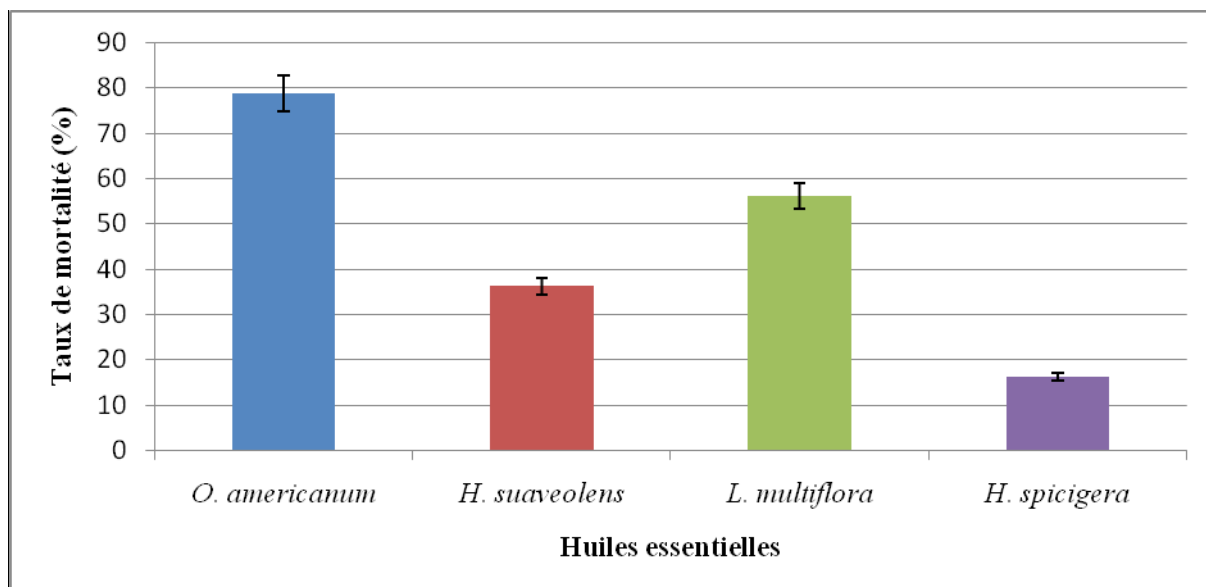
Le taux de parasitisme de *D. basalis* en présence des huiles essentielles est quasi nul et diffère significativement du témoin (p<0,05). Ce taux est identique pour l'ensemble des huiles essentielles utilisées (test PLSD de Fisher, p>0.05) (**Figure 15**).



**Figure 22: Taux de parasitisme de *D. basalis* en présence des huiles essentielles**

## **2.2. Sensibilité des adultes de *D. basalis* aux concentrations non létales pour leur hôte**

Lorsque les adultes de *D. basalis* sont placés dans à un milieu hermétique ayant été traité par les huiles essentielles, lorsque ces huiles ne présentent plus d'effets létaux sur les bruches, on remarque une mortalité des parasitoïdes qui varie de 16 à 78% en fonction des huiles essentielles (**Figure 16**). Les huiles les plus persistantes (l'huile d'*O. americanum* et celle de *L. multiflora*) sont également celles qui manifestent une activité toxique chronique élevée vis-à-vis de *D. basalis*. Ainsi, les résidus d'huiles essentielles présents en milieu hermétique sont capables de manifester une toxicité variable sur les parasitoïdes adultes.



**Figure 22: Sensibilité des adultes *D. basalis* aux concentrations non létales pour leur hôte**

### 3. Discussion

Bien que la toxicité des huiles essentielles soit variable vis-à-vis des adultes de *C. maculatus*, le parasitoïde est très sensible à l'action des composés actifs de toutes les huiles essentielles testées. En effet la comparaison des  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  révèle que le parasitoïde est plus sensible que le ravageur *C. maculatus*. Des résultats antérieurs obtenus avec deux composés soufrés renseignent que le ravageur et son parasitoïde présentent la même sensibilité vis-à-vis du méthylisothiocyanate (Sanon et al., 2002), alors que face au diméthylsulfide, le parasitoïde est plus sensible que son hôte (Dugravot et al., 2002). Aussi Ketoh et al. (2005) rapportent une sensibilité plus grande de l'ennemi naturel *D. basalis* par rapport à l'hôte *C. maculatus* à l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*.

Lorsque les huiles essentielles sont utilisées dans un milieu contenant des hôtes *C. maculatus* mélangés à des graines saines, le taux de parasitisme par *D. basalis* est réduit considérablement.

Ce résultat pourrait s'expliquer par la mortalité précoce des parasitoïdes qui ne leur

permet pas de rechercher, de trouver et de déposer les œufs sur leurs hôtes.

Les résidus d'huiles essentielles présents en milieu hermétique agissent sur les adultes de *D. basalis* à des degrés divers en fonction des huiles et de la durée d'exposition.

#### **4. Conclusion partielle**

Ces résultats mettent en exergue la problématique de mise en œuvre d'une lutte intégrée contre *C. maculatus*. La grande sensibilité du parasitoïde aux composés actifs des huiles essentielles se présente comme un frein à l'exploitation simultanée des huiles et des parasitoïdes. Les résultats obtenus démontrent clairement l'impossibilité d'une utilisation simultanée des huiles et des parasitoïdes dans le contrôle des populations de *C. maculatus*. Cependant, les effets létaux sur les parasitoïdes provoqués par les résidus des huiles essentielles lorsqu'elles ne présentent plus de toxicité vis-à-vis de l'hôte pourrait être un indice déterminant dans une approche de lutte intégrée. En effet, cela permet de garantir le succès du contrôle en définissant les moments propices à l'application des huiles essentielles et à l'introduction des parasitoïdes.

L'idéal, pour une utilisation intégrée des huiles essentielles combinée à l'introduction des parasitoïdes consisterait en un traitement différé. D'abord une introduction des parasitoïdes qui élimineront les stades de développement avancés du ravageur et au bout de six jours, lorsque les parasitoïdes n'auront plus de bonnes performances de parasitisme, on applique les huiles essentielles qui vont agir sur les œufs, les larves moins âgées et éventuellement sur les adultes qui vont émerger par la suite.

Afin de répondre aux attentes des producteurs en quête de moyens performants et efficaces de conservation de leurs stocks, nous nous sommes proposé d'étudier l'efficacité des huiles essentielles en stockage expérimental.

## **CHAPITRE 5 : EFFICACITÉ DES HUILES ESSENTIELLE DANS UN SYSTÈME DE STOCKAGE EXPÉRIMENTAL**

### **Introduction**

Les graines de niébé sont généralement stockées dans des structures variées en fonction des conditions climatiques, de la nature des matériaux disponibles et de l'héritage socioculturel des populations (Alzouma, 1997). Les systèmes de stockage rencontrés en milieu paysan sont généralement semi-hermétiques (greniers en banco ou en paille, jarres en argile cuite) et ne sont donc pas compatibles avec l'utilisation des huiles essentielles qui sont

très volatiles. Néanmoins, on trouve des fûts hermétiques soit en plastique ou en métal pour le stockage de quantité importante de graines. Ces récipients se prêtent mieux à l'emploi des huiles essentielles. Il serait donc intéressant de connaître l'influence du volume du stock sur l'efficacité des huiles afin de prévoir pour un stock donné, le volume d'huile essentielle nécessaire au traitement. Par ailleurs, une des approches dans la gestion des ravageurs par les substances d'origine naturelle repose sur une stratégie permettant de trouver des formulations stables applicables en milieu paysan (Keita et al., 2001).

Les huiles essentielles sont constituées de composés chimiques qui sont altérables soit au cours de leur conservation soit au cours de leur utilisation. En effet, la nature du récipient qui les contient peut avoir un effet dénaturant sur elles. Il est donc conseillé de les conserver dans des récipients en verre ou en acier inoxydable de faible volume (Lobstein et al., 1983).

La nature volatile des composés actifs des huiles essentielles est perçue comme l'un des obstacles majeurs à leur utilisation en milieu réel.

Ainsi, pour régler cette question de volatilité et résoudre le problème de leur stabilité, nous avons, après avoir étudié l'impact de la taille du stock sur l'efficacité des huiles, cherché à déterminer, d'une part, l'efficacité de formulations poudreuses à base de l'huile essentielle d'*O. americanum* sur *C. maculatus*, d'autre part, à analyser l'efficacité réelle des huiles essentielles dans deux structures différentes en conditions de stockage proches de la réalité. A l'issue de la conservation, nous avons testé la possibilité de germination des graines.

L'optimisation de l'efficacité des huiles essentielles passe par l'identification d'une structure et d'une formulation susceptibles de garantir leur qualité et leurs propriétés chimiques intactes sur une période assez longue sans compromettre la capacité germinative des graines.

## **I. Importance de la quantité de graines traitées sur l'activité biologique des huiles essentielles**

A l'intérieur de bocaux en verre d'un litre de contenance chacun, on dispose 7 lots différents de graines: 50 ; 75 ; 100 ; 125 ; 150 ; 175 et 200g. Ces lots ont été répliqués 4 fois pour chaque traitement. Aussi 4 répétitions de chaque lot ont été constituées pour servir de témoin. 10 couples d'adultes de *C. maculatus* âgés de 2 jours y sont introduits. Le traitement a consisté en l'application de la dose unique de 20 µl de chaque huile essentielle sur du papier filtre Whatman collé à la paroi des bocaux. L'exposition dure 24 heures à l'issue desquelles les bocaux sont vidés et le nombre d'insectes morts a été noté. Le taux de mortalité a été déterminé en utilisant la formule d'Abbott (1925).

## **II. Application des huiles essentielles en stockage expérimental**

### **2.1. Effet d'applications répétées d'huiles essentielles**

Cette expérimentation a été menée en conditions ambiantes du laboratoire entre Avril et Juillet avec de fortes variations thermiques (24° minimale et 43° maximale). Des récipients en aluminium de 8 litres de contenance ont été utilisés. Chaque récipient contient 3 kilogrammes de graines saines de niébé mélangées à des graines infestées portant 50 œufs frais, 50 larves des stades 1 et 2, 50 larves des stades 3 et 4 et 50 nymphes de *C. maculatus*. Ce mélange vise à simuler le niveau d'infestation initiale par les bruches qui, dans nos conditions, est inférieur à 5% selon les années et les variétés de niébé utilisées (Ouédraogo, 1991 ; Sanon et al., 2005). La quantité utilisée ici tient du fait que nous avons voulu, en travaillant dans des conditions hermétiques idéales, déterminer la dose adéquate avant de



passer en station où de grandes quantités seront utilisées. De plus, ceci nous permettra faire des comparaisons avec les données de la littérature puisse que ailleurs d'autres auteurs ont déjà utilisé la même quantité. Pour le traitement aux huiles essentielles, une dose unique de 1,2 ml d'huile essentielle définie par extrapolation à partir des résultats antérieurs qui indiquent la dose de 20µl/l comme la dose commune à toutes les huiles susceptible d'entraîner 100% de mortalité parmi les adultes dans un stock de 50 grammes a été utilisée à chaque application. Quant au témoin, aucune application d'huile essentielle n'a été effectuée. Un témoin insecticide a été réalisé et a consisté à traiter les graines avec un insecticide de synthèse, l'actellic super (cyperméthrine + pyrimiphos méthyl). La dose d'huile essentielle est déposée sur du coton placé dans un encensoir en argile cuite. Pour l'actellic super, la dose prescrite est de 50g de poudre insecticide pour 100 kg de graines. Le dispositif ainsi obtenu est hermétiquement refermé à l'aide de cire formée de coton et de bougie fondue.

Tous les traitements ont été répétés 3 fois.

Le stockage a duré 4 mois avec les modalités suivantes d'application des huiles essentielles :

- Lot 1 : une (1) seule application au début du stockage ;
- Lot 2 : deux (2) applications, au début et 15 jours plus tard ;
- Lot 3 : trois (3) applications, au début, 15 et 30 jours plus tard ;
- Lot 4 : sept (7) applications, au début et tous les 15 jours pendant 105 jours.



Réceptient avec graines, encensoir et coton



réceptient final destiné au stockage

**Figure 22: Dispositif de stockage en aluminium**

## **2.2. Influence de la nature du réceptient sur l'efficacité des huiles essentielles**

Cette expérience a été effectuée à la même période et dans les mêmes conditions que la précédente mais sur une durée de 3 mois de Mai à Juillet. 2 types de réceptients ont été utilisés, les réceptients en aluminium décrits ci-dessus et des réceptients en plastique. Dans chaque réceptient, on trouve le même contenu que dans l'expérience précédente (même quantité de graines et même niveau d'infestation) avec un traitement identique. Les réceptients en plastique ont d'abord été recouverts de sachets plastiques maintenus par des bracelets avant de recevoir les couvercles. Trois (3) huiles essentielles ont été utilisées dans chaque type de réceptient en 3 répétitions en plus d'un témoin sans huile essentielle répété aussi 3 fois.



Récipient contenant des graines et l'encensoir avec du coton destiné à recevoir l'huile



couverture de l'ouverture avec du sachet plastique maintenu avec un bracelet



Dispositif final pour le stockage

**Figure 22: Dispositif de stockage en plastique**

Pour ces deux tests les paramètres qui ont été retenus étaient l'indice de perforation et le taux d'accroissement intrinsèque des bruches conformément aux formules suivantes :

- L'indice de perforation dû à la sortie d'insectes adultes de la graine noté IP qui renseigne sur l'efficacité du traitement par rapport au témoin. Cet indice a été déterminé d'une part pour les graines portant un seul trou d'émergence, d'autre part pour les graines portant plus d'un trou d'émergence sur un échantillon de 100 graines prélevées au hasard dans chaque récipient (soit au total 3 lots de graines de 100g) à partir de la formule suivante (Ketoh, 1998):

IP (Indice de Perforation) =

010009000003040c000000004207000000004207000026060f007a0e574d4643010000000000

01007f310000000001000000580e000000000000580e0000010000006c000000000000000000

0000470000001d0000000000000000000000e0900002104000020454d4600000100580e000

00c00000001005000000040000c4010000690100000

0000000000000000000000000000000000e3e306001c830500460000002c00000020000000454d462b014001

001c000000100000000210c0db01000000600000006000000046000000a4030000980300004

54d462b224004000c0000000000000001e4009000c00000000000000244001000c0000000000

0003040020010000000040000000000803f214007000c0000000000000008400005f0020000e

40200000210c0db0100100000089504e470d0a

1a0a0000000d49484452000000480000001e08020000000058cffa000000017352474200aece1

ce9000000097048597300000ec400000ec401952b0e1b0000026a494441545847ed58bb91833

01015eec1044e2e66a0011760d2ebc1631ac0c935611a80262ef340014e1dc0103b710045702b  
091002f1311f1dbe394578d10abdfdbcd5926519fa8b6bd30e2a0dce0a5be7207d2ffce0b1f69  
5f8b6ed27f87de8a2fca953613d2f3b3cc63948dfbbce2379239f0d0516dd2cfb4305609147c273  
f591d90bcc31550cc488fdafc31660ddf6243235f33b5ab5ff7a811599750158287dc69641705a2  
87eae9a4d7a81d5dde286942092e36e518f114e6e047cc9d41e1f2f02792725d2ab57e91078b22  
99c9d0b81831b5fa6d48ca861d913ff8bc9d1ec97121f085f2c7ccd36b06a2250c226e42a0c16b  
03358fd11cb5f0ec591f1a77ffab1a1540308a24735b5234edd412bbd5f1d4acc64a91fb673bd43  
9ab7c8650143dbc32574817928368a2acc4efa20507853f27090b62bcd0dd698854d616b9346  
07035fd04b96119e720f05413f9c90ba806c32f376e2aede09c8f2d37c1d834d38cfd84948f090b  
2a8f50bb906f16228f962b43df02a5ded74cf5e5d60592aa5e3b49cab5c91702263a167371ce73  
a46a3469b2aad5cd8a95b71c2b967259749f09efd985ad6286022fa3f8461d6343487ea624607c  
ad292eda5ac78a025d6f0f8879c8aa79bb2947c54e51a5ef09d3f2b411ba8b6700786ce83429b2  
af4037f4e968facb8bab6353a6c95c37f28ceb04129f4f950336659a24ba4f0fe61998e05ee6f2f9  
00952791502c7e516e09ddb285c60f7c2af1f9d4d0edec6b654627f558e734095d1e9dc0ca7f76













0000001e0000002900aa000000000000000000000000803f000000000000000000000803f000000  
00220000000c000000ff  
ffffff460000001c00000010000000454d462b024000000c0000000000000000e0000001400000  
00000000010000000140000000400000003010800050000000b0200000000050000000c021e  
004800030000001e00040000000701040004000000070104008d040000410b2000cc001e0048  
00000000001e0048000000000028000000480000001e000000010008000000000000000000  
000000000000000001a0000000000000000000000000000ffff00eaffff000072ba00ba720000ffffea0072  
72ba00ffeaba00009bd400eaba72009bd4ff00d49b0000ffd49b0072baea00ead4d40072000000  
d4ffff0000009b009b000000fffd400baeaff00ba7272000000720072007200baba7200babad40  
001  
010  
101  
010  
101



01010101010101020607010809010101010101010101010d0901010101020607010809011905010  
101  
01010101030000000405010101010101010101010101010102030000000405010101010101010  
101  
010d0b0  
1010101011415050101010101101100000f070101010d00000c010101010d00000c01010101010  
1020309010101  
14160c01010101010101010804050101010a040510110c01010a040510110c0101010101010101  
011011090114160c010  
10101010101010d0405010102030c01010d040502030c01010d040501010101010101010101  
011011181109010101010  
10101010d040501011417070101141707141707010114170700000000000000000000000  
000000000000000000000000000000000001010101010101011011090101010101010101010  
1010d040501010a1213010114160c0a1213010114160c0101010101010101010101010101010101010





si  $IP > 50\%$  le traitement n'est pas efficace ;

si  $IP = 50\%$ , il ya autant de dégâts dans l'essai que dans le traitement.

- Le taux d'accroissement naturel intrinsèque noté  $r$  qui exprime l'évolution du potentiel reproducteur des insectes au cours du stockage dont la formule est :

$$r_m = \frac{\ln(N_{t+1}) - \ln(N_t)}{\Delta t}$$

010009000003040400000000d40200000000d402000026060f009e05574d4643010000000000  
0100d9c600000000010000007c050000000000007c050000010000006c000000000000000000  
0000080000001d00000000000000000000003d0100002104000020454d46000001007c05000  
00c0000000100000000000000000000000000000005000000040000c40100006901000000  
00000000000000000000e3e306001c830500460000002c00000020000000454d462b014001  
001c000000100000000210c0db01000000600000006000000046000000ec010000e001000045  
4d462b224004000c000000000000001e4009000c0000000000000244001000c00000000000  
003040020010000000040000000000803f214007000c0000000000000008400005380100002c  
0100000210c0db01000100000089504e470d0a1a  
0a0000000d49484452000000090000001e08020000007120a364000000017352474200aece1c  
e9000000097048597300000ec400000ec401952b0e1b000000b349444154384f63fcfff3f030e





1010101010101010107d3110101010101010101180200010101010101010101000000051200  
0c0101010101e3a59b050607110701010101005840011004010101010101202600010b0c0101  
010101018c2206080e00000f0101010100000001050607010101010118020001010101010101  
0101000000010101010101010101202600010101010101010101000000010101010101010  
100000001010101010101010100000001010101010101010100000000000000000000001010100  
0000010101010101010101c02006010101010101010101c020060101010101010101010100000  
00101010101010101010000000b00000c01010101010000000108090a010101010100000001  
05060701010101010000000101020d010101010100000001010b0c010101010100000001010  
8090a0101010100000001010506070101010100000001010203040101010100000001010101  
0101010101cc01004c000000640000000000000000000000000080000001d0000000000000000  
00000090000001e0000002900aa0000000000000000000000000000000000803f000000000000000000000803  
f00220000000c0  
00000ffffffff460000001c00000010000000454d462b024000000c000000000000000000e0000001  
4000000000000000010000000140000000400000003010800050000000b020000000005000000



000040092900aa0000000000000001e00090000000000040000002701ffff030000000000<sup>ln</sup> 010  
00900000352050000000009203000000009203000026060f001a07574d464301000000000010  
0c112000000001000000f806000000000000f8060000010000006c0000000000000000000000  
0100000001d0000000000000000000000570200002104000020454d4600000100f80600000c0  
000000100000000000000000000000000005000000040000c401000069010000000000  
00000000000000000e3e306001c830500460000002c00000020000000454d462b014001001c  
000000100000000210c0db01000000600000006000000046000000480200003c020000454d4  
62b224004000c000000000000001e4009000c00000000000000244001000c00000000000003  
040020010000000040000000000803f214007000c00000000000000084000059401000088010  
0000210c0db01000100000089504e470d0a1a0a0  
000000d49484452000000110000001e080200000045596278000000017352474200aece1ce90  
00000097048597300000ec400000ec401952b0e1b0000010f49444154384fed943d0e823014c7  
1fde010716678303ab17206edec1c40bd4c55378817210520ec0cad0c699c5a11c025ffb2a08d5  
04135c8c6f7ab4efcffb687f0ddab6850f6d318e5759809629bb3ef8e82331cfd0b4e08c0113da2

c6bc1b8a47dc9c1b9f0422234ee9348721b87d22e0b979e86a29c487297cfa81e6e3bee4795b08  
d01e2bd80bc5237d825a1cda0ebce85914695d7d5d2c484c90ed24d0a114954795ca3db148519  
ce733f58119adfb4add5189517cc713e13ced73bd32f6906fde0a59990067e6d06b3ccfa2d734d  
713a158d9deb64e6fa40afb6a6aa57e703bfe495f9a7aed7060d82dc013f66c1821285f196441d1  
ac813634409789ad999538a9ea34f987334feef1bc01dfa91500e7f4f5e8c0000000049454e44ae  
42608200000840010824000000180000000210c0db01000000030000000000000000000000  
00000001b40000040000000340000000100000002000000000000bf000000bf000088410000f  
04103000000000000b3000000b3ffff8741000000b3000000b3ffffef412100000008000000620  
000000c00000001000000150000000c00000004000000150000000c00000004000000510000  
004c030000000000000000000000000000100000001d000000000000000000000000000000000001  
10000001e00000050000000a4000000f400000058020000000000002000cc00110000001e000  
00028000000110000001e000000010008001f0000000  
0000000000000000fffff009bd4ff00d49b0000d4ffff0000009b009b000000ffffd400eaffff00729  
bba0072007200ffeaba0072baea00ffd49b009b009b00baeaff00eaba9b00009bd400eaba72009b



708191a1001011b0b01010000000101010101020d0215161718010c12010100000001010101  
010f1011120113070f14000003000000010101010108090a0b010c0d01040e0701cc01000101  
0101010200030104050607010101010000030101010101010101010101010101010101010100000  
04c000000640000000000000000000000100000001d00000000000000000000000110000001e  
0000002900aa00000000000000000000000000803f0000000000000000000000803f0000000000000  
000220000000c000000ffffff4600  
00001c00000010000000454d462b02400000c000000000000000e000000140000000000000  
01000000014000000400000003010800050000000b020000000005000000c021e00110003  
0000001e00040000000701040004000000070104008b010000410b2000cc001e00110000000  
001e0011000000000028000000110000001e0000000100080000000000000000000000000000  
00000001f0000000000000000000000000ffffff009bd4ff00d49b0000d4ffff0000009b009b000000f  
fffd400eaaffff00729bba0072007200ffeaba0072baea00ffd49b009b009b00baeaaff00eaba9b0000  
9bd400eaba72009b9bd40000007200ba720000d4ffea00ba729b00ffffea007272ba00bad4ba00  
729bd400babaea00d4ffd400ffd4d400013c6bb901010





040e0701cc0100010101010101020003010405060701010101000003010101010101010101010

10101010101010000000c00000040092900aa000000000000001e0011000000000040000002

avec :  
701ffff0300000000000

t = durée du stockage ;

Nt = effectif des insectes après le temps t de stockage ;

Ni = effectif initial des insectes au début du stockage.

### 2.3. Détermination du taux de germination des graines traitées à l'issue du stockage

A l'issue de la conservation, des graines provenant des récipients plastiques ont été utilisées pour vérifier leur pouvoir de germination. Ainsi, 35 graines ont été prélevées dans chaque traitement et disposées sur du papier filtre Whatman imbibé d'eau et tapissé à l'intérieur de boîtes de Pétri. Après 48 heures, les graines germées ont été comptées. La germination est marquée par la poussée de la radicule de la graine. Le taux de germination est donné par la formule suivante :

$$G (\%) = \frac{\text{Nombre de graines germées}}{\text{Nombre de graines testées}} \times 100$$

G (%) = taux de germination



**Figure 22: Boîtes de Pétri contenant des graines en germination**

### **III. Efficacité de poudres insecticides à base d'*O. americanum* vis-à- de *C. maculatus***

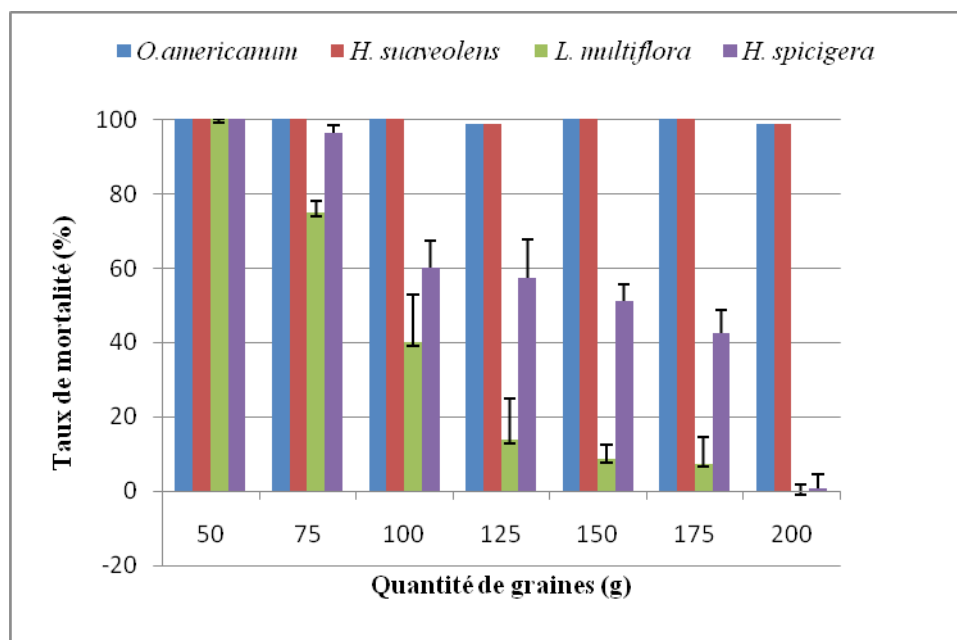
Trois (3) supports différents à savoir l'amidon, la gomme arabique et la terre diatomée ont servi d'adjuvants à la formulation des poudres insecticides à base de l'huile essentielle d'*O. americanum*. Ces poudres ont été testées sur les adultes de *C. maculatus*. 3 doses ont été utilisées, 1 ; 1,5 ; et 2 grammes. Chaque poudre a été mélangée avec 500 grammes de graines saines dans des bocaux en verre de contenance 1 litre. 10 couples d'adultes de *C. maculatus* ont été introduits dans les bocaux qui étaient ensuite hermétiquement refermés. Après une exposition de 24 heures, les bocaux sont vidés et tamisés et le nombre d'insectes morts a été noté. 4 répétitions par poudre ainsi que pour le témoin constitué des poudres seules et aussi pour le témoin absolu sans huile essentielle et sans poudre ont été réalisées. Le témoin était

constitué de chaque poudre brute sans ajout d'huile essentielle. Le taux de mortalité a été estimé en utilisant la formule d'Abbott (1925).

#### IV. Résultats

##### 4.1. Importance de la quantité de graines traitées sur l'activité biologique des huiles essentielles

Lorsque les huiles essentielles sont appliquées sur des quantités croissantes de graines, leur efficacité diffère d'une huile à l'autre (**Figure 20**). La quantité de graines utilisées influence l'efficacité de certaines huiles essentielles notamment celles de *L. multiflora* et de *H. spicigera* pour lesquelles aucune mortalité n'est observée à 200g. Quant à *O. americanum* et *H. suaveolens*, la mortalité reste maximale et absolue quelque soit la quantité de graines. *L. multiflora* et *H. spicigera* ont donc une efficacité quantité-dépendante.



**Figure 22: Importance de la quantité de graines traitées sur l'activité biologique des huiles essentielles**

#### 4.2. Effet d'applications répétées d'huiles essentielles

Le lot 1 ayant reçu une seule application et maintenu hermétiquement pendant 4 mois a conduit à un phénomène de floculation des graines dans tous les récipients traités à l'exception des témoins. Ce lot n'a donc pas été pris en compte dans les résultats. Les indices de perforation calculés à partir des graines portant seulement 1 trou d'émergence et des graines portant plus d'un trou sont inférieurs à 50% dans tous les traitements. Les applications répétées d'huiles essentielles n'influencent donc pas la qualité de la conservation (Tableau 11).

**Tableau 14: Variation de l'Indice de Perforation (IP) des graines en fonction du nombre d'applications des huiles essentielles**

Traitement	Lots	Indice de Perforation des graines à 1 trou (%)	Indice de Perforation des graines à plus d'un trou (%)
<i>O. americanum</i>	Lot2	42,45	32,67
	Lot3	29,39	12,71
	Lot4	39,99	30,4
<i>L. multiflora</i>	Lot2	42,06	33,96
	Lot3	40,84	28,46
	Lot4	41,66	17,59
<i>H. spicigera</i>	Lot2	45,79	43,71
	Lot3	40,84	22,55
	Lot4	43,61	32,67
Témoin (Actélic)	-	15,15	4,61
Témoin absolu	-	-	-

Le taux intrinsèque d'accroissement naturel varie en fonction des huiles essentielles et

pour certaines huiles essentielles, en fonction du nombre d'applications. En effet, tous les lots traités avec *H. spicigera* ne diffèrent pas du témoin (test PLSD de Fisher,  $p < 0,05$ ), alors que le lot 3 de *O. americanum* qui a reçu 3 applications et le lot 2 de *L. multiflora* avec 2 applications diffèrent significativement du témoin (**Tableau 12**). Cependant, l'insecticide de synthèse utilisé (actélic super) réduit considérablement la population de l'insecte. Les lots 4 de tous les traitements qui ont subi 7 applications d'huile essentielle ne diffèrent pas du témoin, ce qui signifie que le nombre d'applications n'influence pas l'évolution des effectifs de *C. maculatus*.

**Tableau 14: Variation du taux intrinsèque d'accroissement naturel ( $r_m$ ) en fonction du nombre d'applications des huiles essentielles**

Traitement	Lots	Effectif initial	Effectif final	$r_m$
<i>O. americanum</i>	Lot2	200	4864,66 ± 2577,42	0,76 ± 0,13 <b>a</b>
	Lot3	200	3310 ± 1521	0,67 ± 0,12 <b>b</b>
	Lot4	200	6647,66 ± 2006,68	0,86 ± 0,07 <b>a</b>
<i>L. multiflora</i>	Lot2	200	2970,66 ± 892,74	0,66 ± 0,07 <b>b</b>
	Lot3	200	5132,33 ± 941,01	0,80 ± 0,04 <b>a</b>
	Lot4	200	3905,66 ± 1067,47	0,73 ± 0,07 <b>a</b>
<i>H. spicigera</i>	Lot2	200	6684 ± 1063	0,87 ± 0,04 <b>a</b>
	Lot3	200	6684 ± 1063	0,76 ± 0,07 <b>a</b>
	Lot4	200	5014,33 ± 1118,10	0,80 ± 0,06 <b>a</b>
<b>Témoin (Actélic)</b>	-	200	94 ± 16,08	-0,16 ± 0,04 <b>c</b>
<b>Témoin absolu</b>	-	200	6789 ± 2614,30	0,86 ± 0,10 <b>a</b>

Les moyennes situées dans la même colonne et suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement de façon significative (Test PLSD de Fisher  $p < 0,05$ ).

#### 4.3. Influence de la nature du récipient sur l'efficacité des huiles essentielles

Lorsque les huiles essentielles sont employées dans des structures de stockage de nature différente (récipients en aluminium et récipients en plastique), on note une différence dans l'efficacité de la conservation en fonction du récipient (**Tableau 13**). Les valeurs de l'indice de perforation les plus faibles sont obtenues dans les récipients en plastique en ce qui concerne les graines portant 1 trou d'émergence. Ainsi, en condition hermétique, la toxicité des huiles essentielles vis-à-vis des insectes semble liée à la nature de la structure de stockage.

**Tableau 14: Variation de l'Indice de Perforation (IP) en fonction de la nature du récipient**

Traitements	Récipients	Indice de Perforation des graines à 1 trou (%)	Indice de Perforation des graines à plus d'un trou (%)
<i>O. americanum</i>	Aluminium	51,26	51
	Plastique	32,63	19,95
<i>L. multiflora</i>	Aluminium	39,99	39,67
	Plastique	34,64	47,39
<i>H. spicigera</i>	Aluminium	38,05	27
	Plastique	35,91	37,52
Témoin	Aluminium	-	-
	Plastique	-	-

Le taux d'accroissement des populations qui évoluent dans les récipients en aluminium est statistiquement plus élevé que celui dans les récipients plastiques. Pour les témoins il n'y a pas de différence significative (**Tableau 14**). Lorsqu'on considère tous les traitements effectués dans les récipients plastiques, on n'observe aucune différence en fonction des huiles essentielles.

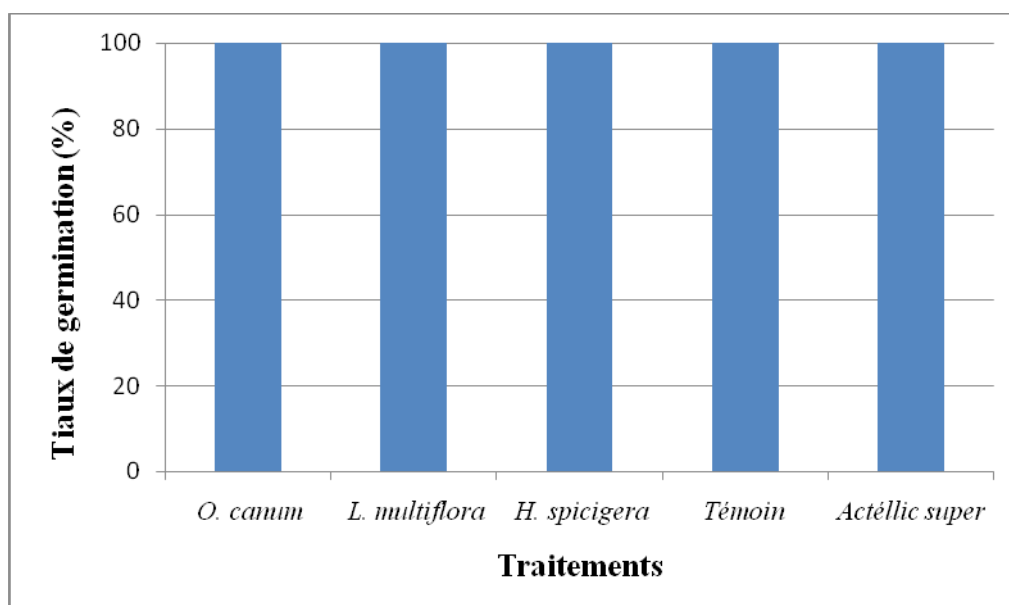
**Tableau 14: Variation du taux intrinsèque d'accroissement naturel ( $r_m$ ) en fonction de la nature du récipient**

Traitements	Récipients	Effectif initial	Effectif final	$r_m$
<i>O. americanum</i>	Aluminium	200	5067 ± 1641,39	1,05 ± 0,11 <b>a</b>
	Plastique	200	628,33 ± 161,42	0,37 ± 0,08 <b>c</b>
<i>L. multiflora</i>	Aluminium	200	2237,33 ± 1375,64	0,72 ± 0,29 <b>b</b>
	Plastique	200	720,33 ± 105,45	0,42 ± 0,05 <b>c</b>
<i>H. spicigera</i>	Aluminium	200	2342,33 ± 1595,99	0,74 ± 0,29 <b>b</b>
	Plastique	200	632 ± 195,82	0,37 ± 0,09 <b>c</b>
Témoin	Aluminium	200	5383,33 ± 3960,56	1,03 ± 0,22 <b>ab</b>
	Plastique	200	1022,33 ± 274,20	0,53 ± 0,08 <b>cb</b>

Les moyennes situées dans la même colonne et suivies de lettres identiques ne diffèrent pas statistiquement (Test PLSD de Fisher  $p < 0.05$ ).

#### 4.4. Taux de germination des graines traitées après 3 mois de conservation

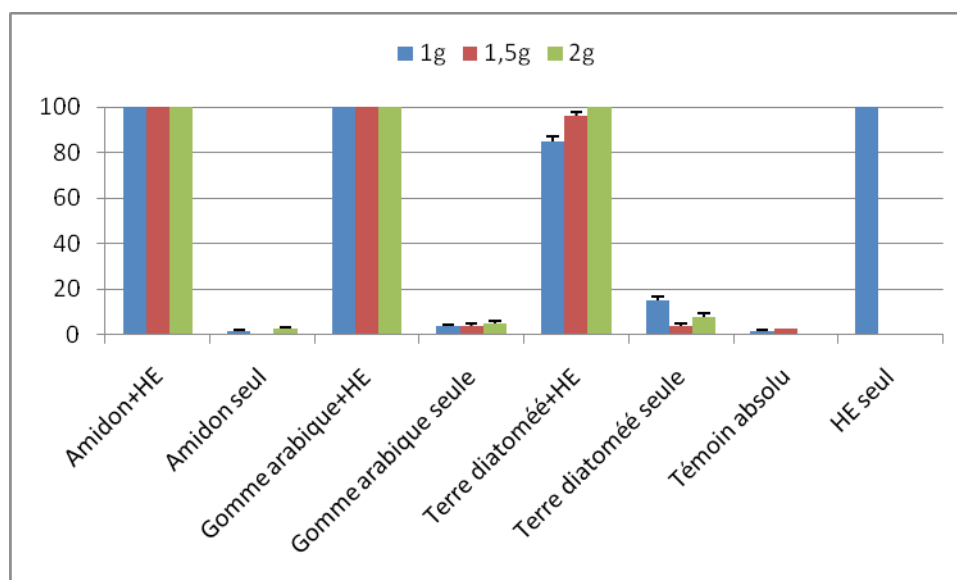
Le taux de germination des graines traitées par toutes les huiles est identique à celui du témoin et à celui de l'insecticide de synthèse utilisé (test PLSD de Fisher,  $p < 0,05$ ).



**Figure 22: Taux de germination des graines traitées**

#### 4.5. Efficacité de poudres insecticides à base d'*O. americanum* vis-à- de *C. maculatus*

Deux formulations poudreuses, celles de l'amidon et de la gomme arabique provoquent 100% de mortalité à toutes les doses utilisées. La terre de Diatomée entraîne 85, 96 et 100% de mortalité respectivement à 1, 1,5 et 2 grammes. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les 3 formulations insecticides d'une part, d'autre part, entre les trois formulations et l'huile brute utilisée à la même dose sur du papier filtre (**Figure 22**). Par contre, entre les formulations et leurs témoins, la différence est significative (test PLSD de Fisher,  $p < 0,05$ ). La mortalité observée dans les poudres seules (témoins) est très faible et ne diffère pas d'un support à l'autre.



**Figure 22: Efficacité de poudres insecticides à base d'*O. americanum* vis-à- de *C. maculatus***



#### 4.6. Discussion

On peut distinguer deux types d'huiles en fonction de la quantité des graines traitées. Les huiles dont l'efficacité est quantité-dépendante et celles dont l'efficacité ne dépend pas de la quantité de graines. D'après Delobel et Malonga (1987), l'efficacité des plantes insecticides est relative. Elle dépend de la quantité de graines à stocker et de la toxicité réelle de ces plantes. Ainsi les huiles à efficacité quantité-dépendante pourraient être considérées comme comportant des constituants chimiques qui présentent un degré d'absorption par les graines très élevé. Cette absorption expose alors les insectes à de faibles quantités de composés actifs et conséquemment à une mortalité réduite (Sanon et al., 2002). Le mécanisme d'absorption des composés a été analysé par Huignard et al. (2002) qui ont révélé que les composés terpéniques pénètrent moins que les composés soufrés et que pour une même huile essentielle certains composés pénètrent mieux que d'autres.

Quelque soit le nombre d'applications, toutes les huiles essentielles utilisées assurent une protection efficace des stocks en 4 mois de conservation ( $IP < 50\%$ ). Nous ne disposons pas d'arguments scientifiques pour expliquer la floculation des graines constatée dans le lot 1 avec toutes les huiles essentielles, mais nous émettons l'hypothèse que cela soit lié à des champignons dont l'apparition et le développement sont favorisés à un moment donné par la présence. En outre dans ces lots nous avons pu observer des champignons mais nous n'avons pas pu les identifier. L'analyse du taux d'accroissement des bruches révèle que le nombre d'application d'huile n'est pas déterminant dans la fluctuation des effectifs du ravageur.

Des travaux semblables indiquent que la qualité de la conservation est indépendante du nombre d'application mais dépend du volume d'huile utilisée (Ketoh, 1998).

Contrairement à notre cas où l'évolution des effectifs en 4 mois ne diffère pas

significativement avec le témoin avec *Hyptis. spicigera* et dans certains lots, l'étude de Ketoh (1998) révèle une réduction sensible des effectifs. Il faut noter que dans ce le vidage des structures se faisait périodiquement jusqu'à la fin du stockage.

Même si les indices de perforation obtenus en application répétées d'huiles essentielles sont intéressants, il faut cependant reconnaître que la croissance et le développement des populations ne donne pas une garantie de protection des stocks. Pour résoudre ce problème, les applications doivent être synchronisées avec l'apparition des stades externes qui sont plus sensibles ou envisager une application sur tous les stades de développement au cours de la première génération. Ceci donnerait des résultats satisfaisants car comme nous l'avons souligné dans le chapitre 3 sur la sélection des souches, lorsque tous les stades de développement sont traités aux huiles essentielles, il n'y a pas d'émergence.

La qualité de la conservation dépend de la structure considérée. Dans nos conditions expérimentales, les seaux plastiques sont les meilleures structures pour la conservation longue durée des graines de niébé. Une étude similaire conduite au Togo sur une structure en verre (étanche) et sur un grenier en argile cuite (moins étanche) a révélé que le verre convient le mieux à l'application des huiles essentielles en conservation longue durée (Ketoh, 1998).

Dans notre cas toutes les deux structures sont étanches mais leur efficacité est variable. L'inadaptation de l'aluminium en conservation pourrait s'expliquer par des interactions chimiques entre la matière c'est-à-dire l'aluminium qui est un corps chimique oxydable et les composés chimiques des huiles essentielles. Ces interactions s'elles existent sont susceptibles de dénaturer la chimie des huiles essentielles et les rendre moins efficaces. Pour éviter ces interactions, la conservation des huiles essentielles doit se faire dans des structures appropriées (Lobstein et al., 1983).

Des tests plus spécifiques sont nécessaires afin de comprendre, le comportement des composés chimiques des huiles essentielles en rapport avec la nature de la matière.

Le stockage longue durée à base d'huiles essentielles devrait donc prendre en compte la nature de la structure de conservation.

La conservation des graines de niébé à base d'huiles essentielles sur une période de 3 mois n'altère pas le pouvoir germinatif des graines. Ce résultat est en conformité avec ceux d'autres auteurs obtenus avec des huiles essentielles ou avec des broyats de plantes aromatiques (Ketoh, 1998 ; Dabiré et al., 2008).

Les formulations poudreuses à base d'*Ocimum americanum* ont présenté une efficacité dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus*. L'efficacité de la poudre ne dépend pas du support utilisée. La toxicité de poudres insecticides à base de kaolin et des huiles d'*Ocimum americanum* et d'*Ocimum basilicum* et de *Hyptis spicigera* a été rapportée sur le même ravageur. Ces auteurs ont aussi prouvé que ces poudres empêchent la ponte des femelles (Kéita et al., 2000). L'efficacité des poudres insecticides pourrait s'expliquer par le contact avec le ravageur étant donné que les huiles essentielles agissent aussi par contact (Gakuru et Foua-bi, 1995 ; 1996).

#### **4.7. Conclusion partielle**

Au terme de cette étude, il ressort que les huiles essentielles utilisées en fumigation sont susceptibles de contrôler les populations de *C. maculatus* en stockage expérimental. Des structures hermétiques de grande taille pouvant contenir de grande quantité existent en milieu paysan pour le stockage du niébé. Leur utilisation dans la conservation est donc possible avec les huiles essentielles mais le choix de l'huile doit prendre en compte la variation de son efficacité avec l'importance du stock.

Les huiles dont l'efficacité est indépendante de la taille du stock devraient être préconisées. Quant aux huiles dont l'efficacité est quantité-dépendante le choix de la dose

devrait se faire en tenant compte de la quantité de graines à traitées.

La toxicité des formulations poudreuses obtenues à partir de l'huile essentielle qui a été démontrée est d'un grand apport dans la lutte contre *Callosobruchus maculatus*. En effet, ces poudres insecticides sont plus stables que les huiles essentielles brutes et favorisent le mode d'action par contact. Ainsi, la présence de ces poudres dans les stocks permettrait la gestion aussi bien des formes présentes au moment du traitement et éventuellement des individus qui y émergeront plus tard. De plus, ces formulations sont plus appropriées au traitement des stocks car elles ne nécessitent ni de dosage, ni de matériel spécifiques comme les huiles brutes. La détermination de la persistance de ces poudres permettrait d'optimiser leur action.

L'étanchéité du système de stockage n'est pas une condition suffisante à l'application des huiles essentielles. C'est en cela que l'identification du type de structure propice à l'emploi des huiles essentielles est un renseignement important et exploitable en conservation longue durée. Ainsi, avec les fûts plastiques déjà connue en milieu paysan, leur utilisation combinée avec les huiles essentielles serait facile et donnerait des résultats encore plus satisfaisants.

## **CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES**

Les dégâts causés par les insectes sur les récoltes et les cultures sont immenses et compromettent sérieusement la disponibilité alimentaire. Le contexte mondial actuel caractérisé par une tendance universelle de promotion du développement durable, impose aux chercheurs ainsi qu'aux décideurs, des choix de stratégies à même de garantir la sécurité alimentaire. Pour leur part, les chercheurs explorent depuis plus de deux décennies de nouvelles alternatives de lutte contre les ravageurs des denrées stockées. Parmi ces alternatives, l'emploi des biopesticides d'origine végétale répond à cet impératif. Ce sont des substances naturelles écologiquement saines et économiquement accessibles avec une efficacité prouvée sur de nombreux ravageurs. Les expérimentations conduites dans cette étude avec les huiles essentielles suggèrent la possibilité de leur utilisation en protection des stocks de niébé. Leur toxicité aigue sur les formes externes du ravageur permet de réduire en début de stockage l'intensité de l'infestation. En outre, la grande sensibilité des insectes vis-à-vis de ces substances est un facteur déterminant dans leur application. De faibles doses entraînent de très bons résultats à l'inverse des pesticides de synthèse, utilisés en grande quantité et qui sont à l'origine de nombreux effets indésirables connus. Aussi, les biopesticides offrent une économie d'énergie un atout écologique liés à la récolte des plantes aromatiques ainsi qu'une disponibilité plus grande due à l'existence de nombreuses espèces de plantes aromatiques tropicales. Pour plus d'efficacité, il est souhaitable d'établir une synchronisation entre le traitement et le stade cible sensible.

La pression exercée par les huiles essentielles sur des populations d'insectes n'a pas permis à long terme de déceler une résistance quelconque mais de légères variations au niveau de certains paramètres démographiques avec quelques huiles essentielles. Ce résultat qui semble annoncer le point de départ d'un processus de résistance mérite d'être approfondi.

La dénaturation des huiles essentielles par la chaleur est un résultat nouveau rarement démontré et requiert une attention particulière dans l'emploi de ces produits végétaux surtout

en zone tropicale caractérisée par de forte température à certains moments de l'année. Par ailleurs, la persistance relativement faible des huiles essentielles à l'intérieur de structure hermétique milite en faveur de leur utilisation et de leur vulgarisation dans la protection des stocks. En effet de tels produits, moins persistants et biodégradables polluent peu l'environnement et contaminent moins les chaînes trophiques à la différence des pesticides de synthèses très persistants.

Cependant l'hyperensibilité des auxiliaires de lutte notamment les parasitoïdes se présente comme un frein à l'emploi des huiles essentielles car incompatible avec la lutte biologique. Heureusement, le scénario qui consiste à alterner l'introduction de parasitoïdes et l'application d'huiles essentielles et vice versa révèle une possibilité de combinaison des deux méthodes (Ketoh, 2005).

Enfin pour une conservation longue durée des stocks de niébé avec les huiles essentielles, un certain nombre de conditions sont requises. D'abord il faut une adéquation entre la quantité de graines à stockées et la dose à appliquer. Certaines huiles sont quantité-dépendantes et le volume du stock influence leur efficacité. Etant donné que le caractère répulsif des huiles dépend de leur concentration dans le milieu, une présence quasi permanente ou à la limite lors des émergences d'adultes est nécessaire pour réduire les dégâts. Un accent particulier doit être accordé au choix de la structure de stockage. Elle doit être étanche, chimiquement compatible avec les substances actives des huiles essentielles.

Sans nul doute, l'utilisation des huiles essentielles comme biopesticides dans la lutte phytosanitaire représente une stratégie particulièrement adaptée aux préoccupations actuelles de l'humanité. La plupart des plantes aromatiques poussent de façon spontanée dans diverses zones agro écologiques et peuvent être domestiquées ce qui justifie leur disponibilité.

Cette étude n'a pas permis de cerner toutes les conditions d'une utilisation optimale et sécurisée des huiles essentielles. Ainsi, à l'avenir nous ambitionnons investiguer sur :

- La persistance des formulations poudreuses insecticides testées afin de mettre à disposition du monde paysan des insecticides plus stables et faciles d'utilisation plus persistants et applicables à l'intérieur de systèmes de stockage plus variés ;
- L'expérimentation en milieu réel de stockage avec des stocks de grand volume combinant l'introduction de parasitoïdes et l'application d'huiles essentielles pour permettre de poser véritablement les bases d'une gestion intégrée des ravageurs du niébé. On pourrait cibler les fûts plastiques utilisés par les paysans et définir un scénario d'application des huiles en tenant compte de la persistance des effets de leurs résidus dans les fûts. Ce système de lutte intégrée permettrait une gestion efficace de tous les stades de développement du ravageur. Les parasitoïdes s'attaqueront aux larves et aux nymphes et les huiles agiront sur les adultes et les œufs.
- L'identification de synergistes qui permettront de potentialiser l'activité biologique des huiles essentielles et de retarder le cas échéant l'apparition de la résistance. En effet, parmi les composés qui constituent les huiles essentielles, il n'est pas exclu que certains d'entre eux, présent en faible quantité agissent comme des synergistes, particulièrement en empêchant l'activité des enzymes de détoxification des insectes (Regnault-Roger et al., 2002). C'est le cas du PBO (pipéronylbutoxyde), synergiste utilisé avec beaucoup d'insecticides et qui agit sur le système PSMO (polysubstrat monoygénase) et renforce ainsi l'efficacité des insecticides qu'il accompagne. L'isolement des composés des huiles essentielles se fait par fractionnement par chromatographie sur colonne et la séparation est guidée par chromatographie sur couche mince et par chromatographie en phase gazeuse.
- La réalisation de tests de qualité des graines conservées avec les huiles essentielles en vue d'établir leur innocuité ou leur toxicité vis-à-vis des mammifères. Il s'agira ici de faire des tests de résidus pesticides en utilisant la technique de la chromatographie

pour déceler des substances chimiques étrangères qui apparaîtront dans les graines traitées et conservées pendant longtemps.

- La poursuite des recherches sur les effets à long terme sur les insectes soumis aux huiles essentielles afin de comprendre et éventuellement maîtriser les mécanismes mis en jeu par les insectes pour résister à ces traitements.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abbott W.W., 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of*



*Economic Entomology*, 18, 265-267.

- Alzouma I., 1987.** Reproduction et développement de *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) (Coleoptera: Bruchidae) aux dépens des cultures de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Légumineuse: Papilionacée) dans un agrosystème sahélien au Niger. *Thèse de doctorat*, Univ. de Tours, 162p.
- Amevoïn K., 1998.** Activités reproductrices et réponses comportementales de *Dinarmus basalis* (Rond.) et de *Eupelmus vuilleti* (Craw.) en présence de leur hôte *Callosobruchus maculatus* (Fab.) en zone Guinéenne au Togo. *Thèse de doctorat de troisième cycle*, Univ. du Bénin, Lomé (Togo), 152p.
- Amevoïn K., Sanon A., Apossaba M. & Glitho I.A., 2007.** Biological control of bruchids infesting cowpea by the introduction of *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae) adults into farmers' stores in West Africa. *J. of Stored Prod. Res.* **43**: 240-247.
- Assié L.K., Francisa F., Genglerb N. & Haubrugean E., 2008.** Response and genetic analysis of malathion-specific resistant *Tribolium castaneum* (Herbst) in relation to population density. *Journal of Stored Products Research* **43** (2007) 33–44.
- Attawish A., Chivapat S., Chavalittumrong P., Phadungpat S., Bansiddhi J. & Chaoral B., 2005.** Chronic toxicity study of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. in rats. *J. Sci. Technol.* **10** : 1027-1036.
- Bassolé I.H.N., Ouattara A.S., Nébié R., Ouattara C.A.T., Kaboré Z.I. & Traoré S.A., 2003.** Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry* **62**: 209-212.
- Bassolé I.H.N., Nébié R., Savadogo A., Ouattara C.T., Barra N. & Traoré S.A., 2005.** Composition and antimicrobial activities of the leaf and flower essential oils of *Lippia chevalieri* and *Ocimum canum* from Burkina Faso. *African journal of biotechnology* vol.
- Bélanger A., Dextraze L., Nacro M., Samaté A.D., Colling G, Garneau F.X. & Gagnon G., 1994.** Compositions chimiques d'huiles essentielles de plantes aromatiques du Burkina Faso. Actes des 13<sup>ème</sup> journées internationales des Huiles essentielles. Digue-les-Bains, France, pp. 300-305.
- Bell C.H. & Wilson S.M., 1995.** Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *J. Stored Prod. Res.* **31**: 199-205.
- Belmain S.R., Neal G.E., Ray D.E. & Golob P., 2001.** Insecticidal and vertebrate toxicity associated with ethnobotanicals used as post-harvest protectants in Ghana. *Food and Chemical Toxicology*, **39** (3): 287-291.

- Bernard B.C. & Philogène B.J.R., 1993.** Insecticide synergists: role, importance and perspectives. *J. Toxicol. Env. Health*, **38**: 199-223.
- Bielza P., Quinto V., Gra'Valos C., Abella'N J. & Ferna'Ndez E., 2008.** Lack of fitness costs of insecticide resistance in the Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae). *J. Econ. Entomol.* 101 (2): pp 499-503.
- Boeke S.J., Baumgart I.R., Van Loon J.J.A., Van Huis A., Dicke M. & Kossou D.K., 2004.** Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research* **40** (2004) 423–438.
- Borget M., 1989.** Les légumineuses vivrières tropicales. G. P. Maisonneuve et Larose ACCT,
- Bressani R., 1985.** Nutritive value of cowpea. Pp 40-42. In : Cowpea research, production and utilization. Singh S. R. and Rachie K. O. (eds.). Clairafrique. Dakar. Livre Africain. 659p. pp. 40-42.
- Cannell J.P., 1998.** *Natural products isolation*. Humana Press, Totowa, New Jersey
- Cao C.W., Zhang J., Gao X.W., Liang P. & Guo H.L., 2008.** Overexpression of carboxylesterase gene associated with organophosphorous insecticide resistance in cotton aphids, *Aphis gossypii* (Glover). *Pesticide Bioch. and Physiol.* **90**: 175-180.
- Cassier P., Lafont R., Deschamps M. & Soyeux D., 1997.** La reproduction des invertébrés : Stratégies, modalités et régulation ; Intérêt fondamental et appliqué. Ed. Masson, 354 p.
- Caswell G.H., 1960.** Observations on an abnormal form of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Bull. Ent. Res.*, **50**: 671-680.
- Caswell G.H., 1961.** The infestation of cowpeas in the Western region of Nigeria. *Trop. Sci.* **3**: 154-158.
- Caswell G.H., 1981.** **Damage to stored cowpea in the northern part of Nigeria.** *Samaru Journal of agricultural Research* **1**: 11-19.
- Chaudhry M.Q., 1995.** Molecular biological approaches in studying the gene (s) that confer phosphine resistance in insects. *J. Cell. Biochem. Suppl.* **21A**, 215.

- Credland P.F., 1992.** The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *J. Stored Prod. Res.*, **28** (1): 1-9.
- Dabiré C., 1992.** Les méthodes traditionnelles de protection des stocks de niébé au Burkina Faso. *Sahel PV-Info*, **42**: 7-13.
- Dabiré C., 2001.** Etude de quelques paramètres biologiques et écologiques de *Clavigralla tomentosicollis* STAL., (Hemiptera : Coreidae) punaises suceuses des gousses du niébé (*Vigna unguiculata* (L.)) dans une perspective de lutte durable contre l'insecte au Burkina Faso. *Thèse de Doctorat d'état*, Université de Cocody, 179 p.
- Dabiré C., Sanon A. & Drabo I., 2004.** Evaluation de lignées de niébé en ségrégation pour la résistance aux bruches. *Annales des sciences Agronomiques du Benin*, Vol (**5**).
- Dabiré C.L.B., Niango M.B., & Sanon A., 2008.** Effects of crushed fresh *Cleome viscosa* L. (Capparaceae) plants on the cowpea storage pest, *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae). *International Journal of Pest Management*, **54**: 319-326.
- Daxl R., Kaserlingk N.V., Klein-Koch C., Link R. & Waibel H., 1995.** La lutte intégrée contre les ennemis des cultures: un memento. GTZ, Eschborn, 135p.
- Decelle J.E., 1987.** Les Coléoptères Bruchidae nuisibles aux légumineuses alimentaires cultivées dans la région afrotropicale. In « les légumineuses alimentaires en Afrique ». colloque, Niaey, Montmagny, pp. 188-200.
- Delobel A. & Malonga P., 1987.** Insecticidal properties of six plants materials against *Careyon serratus* (Ol.). *Journal of Stored Products Research* vol. 23, pp. 173-174.
- DGPSA, 2007.** Direction Générale de la Production et des Statistiques Agricoles (Ministère de l'Agriculture, de l'Hydraulique et des Ressources Halieutiques), Burkina Faso. Campagne agricole 2006-2007.
- Djibo A.K., Samaté A.D., & Nacro M., 2004.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. canum* Sims du Burkina faso. *R.C Chimie* 7: 1033-1037.
- Don-Pedro K.N., 1996a.** Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citruspeel essential oils. *Pesticide Science*, 46, 71-78.
- Dugravot S., Sanon A., Thibout E. & Huignard J., 2002.** Susceptibility of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to Sulphur-Containing Compounds: Consequences on Biological. *Environmental Entomology* 31 (**3**) : 550-557.
- Ezzidine A. & Fall I.L.O., 1990.** Activité antibactérienne des feuilles et fines tiges de *Hyptis suaveolens* Poit., Bull. Méd. Trad. Pharm., 4 (2), 129-159.

- Faris D.G., 1965.** The Origin and evolution of the cultivated forms of *Vigna sinensis*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*. 7: pp. 433-452.
- Feschotte C. & Mouchès C., 2000.** Recent amplification of miniature inverted-repeat transposable elements in the vector mosquito *Culex pipiens*: characterization of the Mimosin family. *Gene*, **250**: 109-116.
- Finney D. J., 1971.** Probit analysis, 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge University Press, New York, 333 p.
- Gakuru, S. & Foua-Bi, K. (1995).** Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus orizae* L.). *Tropicicultura* 13, 4: 143-146.
- Gakuru, S. & Foua-Bi, K. (1996).** Effet d'extraits de plantes sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab.) et le charançon du riz (*Sitophilus orizae* L.). *Cahiers Agriculture*; vol. 5. 1 : 39-42.
- Garba M., Ikhiri K. & Saadou M., 1985.** La pharmacopée au Niger, CELHTO/P/1, Niamey, Mai 1984.
- Germain J.F., Monge J.P. & Huignard J., 1987.** Development of two bruchid populations *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) and *Callosobruchus maculatus* (Fab.) infesting stored cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.) pods in Niger. *J. Stored Prod. Res.* **23** (3): 157-162.
- Glitho I.A., 1990.** Les bruchidae ravageurs de *Vigna unguiculata* Walp. En zone Guinéenne. Analyse de la diapause chez les mâles de *Bruchidius atrolineatus* (Pic.). *Thèse de doctorat*, Univ. de Tours, 100p.
- Glitho I.A., Tchamoou K.S. & Tchokossi E., 1995.** Essai de lutte biologique contre *Callosobruchus maculatus* Fab., Coléoptère Bruchidae déprédateur du niébé (*Vigna unguiculata* Walp.) 15<sup>ème</sup> conférence du WASA, 18-22 Septembre, 1995, Cape Coast, Ghana.
- Glitho I.A. & Amevoïn K., 1996.** Compétition interspécifique entre deux parasitoïdes sympatriques, *Dinarmus basalis* Rond. (Pteromalidae) et *Eupelmus villeti* Craw. (Eupelmidae) et leur rôle dans le contrôle des populations de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae) en zone Guinéenne. *Ann. Univ. Bénin, Sér. Sciences, Tome XII* : pp. 183-192.
- Glitho I.A., Ketoh G.K., & Koumaglo H.K., 1997.** Effets de quelques huiles essentielles sur l'activité reproductrice de *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae). *Ann. Univ. de Ouagadougou, Séries B*, **5**: 175-184.
- Glitho A.I., Nuto Y., Attoh A. Sabena B. & Konou K., 1998.** Ecologie et biologie de la reproduction et du développement des Bruchidae parasites des légumineuses alimentaires

- cultivées au Togo et au Bénin. Rapport "ABN" 63 p.
- Golob P. & Webley D., 1980.** The used of plants and minerals as traditional protectants of stored products. *Rép. Trop. Prod. Inst.* G 138, Vi + 32 pp.
- Gomez Alvarez L.E., 1980.** Etudes de quelques aspects de la biologie d'un Chalcidien *Dinarmus basalis* (Rondani) nécessaires à l'étude du taux sexuel. *Thèse de Doctorat*, Tours, 88 p.
- Haines C.P., 1984.** Biological methods for integrated control of insect and mites I tropical stored products. The use of predators and parasites. *Trop. Stored Prod. Res.*, **9** : 109-117.
- Howe, R.W., 1953.** The rapid determination of the intrinsic rate of increase of an insect population. *Ann. Appl. Biol.* **40**, 134–151
- Huignard J., 1985.** Importance des pertes dues aux insectes ravageurs des graines: problèmes posés par la conservation des légumineuses alimentaires, source de protéines végétales. *Cah. Nutr. Diét.* **XX**, 3: 193-199.
- Huignard J., Leroi B., Allzouma I. & Germain J.F., 1985.** Oviposition and development of *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in *Vigna unguiculata* (Walp.) cultured in Niger. *Insect Sci.*, **6**: 691-699.
- Huignard J., Monge J.P. & Germain J.F., 1989.** Influence of thermoperiodic variations on the induction of the reproductive diapause of *B. atrolineatus*. In "regulation of insect reproduction IV" pp. 197-207. M. Tonner et al. Eds Academia Praha Publ.
- Huignard J., Dugravot S., Ketoh K.G., Thibout E. & Glitho I.A., 2002.** Utilisation de composés secondaires des végétaux pour la protection des graines d'une légumineuse, le niébé. Conséquences sur les insectes ravageurs et leurs parasitoïdes. In « Biopesticides d'origine Végétale », pp. 133-149.
- Isman M.B., 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, **19**:603-608.
- Isman M.B., 2002.** Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique. In " Biopesticide d'origine végétale". Edition Tec & Doc, pp.301-311.
- Jackai L.E.N. & Daoust R. A., 1986.** Insect pests of cowpeas. *Annual review of entomology*, **31**, 95-119.
- Jaloux B., 2004.** La discrimination interspécifique par *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera: Eupelmidae) des hôtes parasités par *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae). *Thèse de Doctorat*. Univ. François Rabelais de Tours. 213 p.
- Kossou K.D., 1997.** Les insecticides naturels: une composante non négligeable dans la lutte intégrée contre les ravageurs post-récolte. "Actes du premier colloque international du

- réseau africain de recherche sur les bruches", Lomé (Togo), du 10 au 14 Fév. 1997.
- Ketoh K., 1998.** Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus*. *Thèse de Doctorat*, Université du Bénin, Lomé (Togo)
- Ketoh G.K., Glitho I.A., Nuto Y. & Koumaglo K.H., 1998.** Effets de six huiles essentielles sur les oeufs et les larves de *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: bruchidae). *Revue CAMES, Sciences et Médecine* **00**: 16-20.
- Ketoh G.K., Glitho A.I. & Huignard J., 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. *J. Econ. Entomol.*, **95** (1):174-82.
- Ketoh K.G., Koumaglo H.K. & Glitho I.A., 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, **41**, 363-371.
- Ketoh K.G., Koumaglo H.K. and Glitho I.A. & Huignard J., 2006.** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia*, **77**: 506-510.
- Keita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Rasmuswamy S. & Belanger A., 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. of Stored Products Research*, **36**, 355-364
- Keita S.M., Vincent C., Schmidt J.P., Arnason J.T., & Belanger A., 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, **37** (4): 339-349.
- Kellouche A. & Soltani N., 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *International Journal of Tropical Insect Science*, **24** (1): 184-191.
- Kerharo & Adam J.G., 1974.** La pharmacopée sénégalaise traditionnelle: plantes médicinales
- Kini F.B., 1993.** Contribution à l'étude phytotoxique des plantes médicinales du Burkina Faso.
- Koumaglo H.K., Akpangana K., Glitho A.I., Garneau F.X., Gagnon H., Jean F.I., Moudachirou M. & Addae-Mensah I., 1996.** Geranial and neral, major components of *Lippia multiflora* Moldenke leaf oil. *J. Essent. Oil Res.*, **8**: 237-240.

- Lambert J.D.H., Gale J., Arnason J.T. & Philogène, B.J.R. (1985).** Bruchid control with traditionally used insecticidal plants *Hyptis spicigera* and *Cassia Nigricans* *Insect Sci. Applic.* 6, 2 : 167-170.
- Lenga A., 1991.** La diapause reproductrice chez *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) : Conséquences physiologiques et évolutives. Analyse de la variabilité des réponses aux facteurs inducteurs de la diapause. *Thèse de doctorat*, Univ. François Rabelais, Tours, 110p.
- Lobstein A., Frey M.L. & Anton R., 1983.** Altération et conservation des huiles essentielles. *Ann. Pharm. Franç.*, 41 (1): 69-75.
- Lucas (DE) Y., 1980.** Les aléas post-cultureux , dans « conservation des denrée alimentaires cultivées en climat chaut et humide » Acte colloque International de technologie Yaoundé(Cameroun) du 5-10 Novembre 1979, p.29-44.
- Maïga S.D., 1987.** Inventaires des méthodes traditionnelles de conservation du niébé (*Vigna unguiculata*) au Niger. In "Légumineuses alimentaires en Afrique". Colloque, Niamey, Montmagny, pp. 274-280.
- Mahon C.C., 1981.** L'origine des plantes cultivées. Collection écologique appliquée et sciences de l'environnement. Masson Paris 182 p.
- Marechal R. & Baudoin J.P., 1985.** Generic diversity in *Vigna*. In « Cowpea research, Production and Utilization ». Singh S.R. and Rachie K.O. (eds). pp. 3-9.
- Marechal R., Mascherpa J.M. & Stainer F., 1978.** Etude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces de genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique. *Boissiera* 28 : 1-273.
- Memento de l'Agronome, 1991.** Le niebé. Quatrième édition. Collection Techniques Rurales en Afrique. pp. 851-853.
- Metcalf R.L., 1994.** Insecticides in pest management. In "Metcalf R.L. et Luckmann W.H., 1994. Introduction to insect pest management, 3<sup>ème</sup> edition; Wiley, New York, 245-314.
- Miresmailli S. 2005.** Assessing the efficacy and persistence of a rosemary oil-based miticide/insecticide for use on greenhouse tomato. Ms Sc., University of British Colombia.
- Monge J.P. & Germain J.F., 1988.** Analyse des stimulations issues de la plante hôte influençant la recherche d'un substrat de ponte et induisant la ponte de *Brichidius atrolineatus* (Pic) (Coleoptera : Bruchidae) : Importance des conditions expérimentales. *Insect Sci. Applic.* 9 (1): 89-94.
- Monge J.P., Lenga A. & Huignard J., 1989.** Induction of reproductive diapause in

- Bruchidius atrolineatus* during the dry season in sahelian zone. *Entomol. Exp. Appl.* **53**: 95-104
- Monge J.P. & Huignard J., 1991.** Population fluctuations of two bruchids species *Calosobruchus maculatus* Fab. and *Bruchidius atrolineatus* Pic. (Coleoptera, Bruchidae) and their parasitoids *Dinarmus basalis* Rond. and *Eupelmus vuilleti* (Crf) (Hymenoptera, Pteromalidae, Eupelmidae) in a storage situation in Niger. *J. of African Zool.*, **105**, 187-196.
- Monge J.P. & Huignard J., 1991.** Population fluctuation of two bruchid species *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Bruchidius atrolineatus* (Pic.) and their parasitoids *Dinarmus basalis* (Rondani) and *Eupelmus vuilleti* (Crawford) (Hymenoptera, Pteromalidae, Eupelmidae) in a storage situation in Niger. *J. Afr. Zool.*, **105**: 187-196.
- Monge J.P., Dupont P. Idi A. & Huignard J., 1995.** The consequences of interspecific competition between *Dinarmus basalis* (Rond) (Hymenoptera: Pteromalidae) and *Eupelmus vuilleti* (Crf) (Hymenoptera: Eupelmidae) on the development of their host populations. *Acta Oecologia*, **16**: 19-30.
- Morton J. K., 1963.** Flora of west Africa, 2, 162 p.
- Mouchès C., Paulin Y., Agarwal M., Lemieux L., Herzog M., Abadon M., Beysat-Arnaouty V., Hyrien O., Robert de Saint Vincent B., Georghiou G. P. & Pasteur N., 1990.** Characterization of amplification core and esterase B1 gene responsible for insecticide resistance in *Culex*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**: 2574-2578.
- Murdock L.L., Seck D., Ntoukam G., Kitch L., & Shade R.E., 2003.** Preservation of cowpea grain in sub-Saharan African-Bean/Cowpea CRSP contributions. *Field Crops Research*, 82 (2-3): 169-178.
- Naada N., 1992.** Les insectes rebelles. L'Hebdo du 16 Avril 1992, pp. 33-35.
- Nacoulma O.G., 1996.** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse d'Etat, Univ. Ouaga, Tome I, 320 p., Tome II, 261 p.
- Nébié R.C.H., Sérémé A., Bélanger A., Yaméogo R. & Sib S.F., 2002.** Etude des plantes aromatiques du Burkina Faso. Caractérisations chimique et biologique des Huiles Essentielles de *Lippia multiflora* Moldenke ; *J. Soc. Ouest Afr. Chim.* **13**, 27-37.
- Nébié R.C.H., 2006.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso. Production, composition chimique, propriétés insecticides. *Thèse de Doctorat d'état*. Université de Ouagadougou, 175 p.
- Ng N.Q. & Marechal R., 1985.** Cowpea taxonomy, origin and germplasm. In: "Cowpea Research, Production and Utilization". Singh S.R. and Rachie K.O. (eds). pp 11-21.



- Ngamo T.S.L., Ngatanko I., Ngassoum M.B., Mapongmestsem P.M. & Hance T., (2007).** Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests. *African Journal of Agricultural research*, **2**(4): 173-177.
- Ntare B., 1987.** Les recherches effectuées à l'Institut International d'Agriculture Tropicale (IITA) sur l'amélioration de niébé (*Vigna unguiculata*). In « le légumineuse alimentaires en Afrique ». colloque, Niamey, Montmagny, pp. 59-65.
- Nuto Y., 1995.** Synergistic action of co-occurring toxins in the root bark of *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Rutaceae) against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *PhD Thesis*, Syracuse, N. Y., 107p.
- Nuto Y. & Glitho I.A., 1990.** De rapports entre les Bruchidae déprédateurs de légumineuses alimentaires cultivées au Togo et leurs plantes-hôtes. *Actes des journées scientifiques de l'UB, II* : 313-325.
- Nwokolo E. & Ilechukwu S.N., 1996.** Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). In "Nwokolo E. and Smart J. (eds), *Foot and feed from legumes and oilseeds*". Chapman & Hall, London, 229-242.
- Nyamador S.W., 2009.** Influence des traitements à base d'huiles essentielles sur les capacités de reproduction de *Callosobruchus subinnotatus* Pic. et de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) : mécanisme d'action de l'huile essentielle de *Cymbopogon giganteus* Chiov. *Thèse de Doctorat*, Univ. Lomé, Togo, 174 p.
- Ofuya T.I. & Credland P.F., 1995.** Responses of three populations of the seed beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), to seed resistance to in selected varieties of cowpea, *Vigna unguiculata* (Walp.). *J. of Stored Prod. Res.*, **31** (1): 17-27.
- Oliver-Bever B., 1986.** Medicinal plants in tropical West Africa, first edition, Cambridge, University Press, London.
- Onayade O.A., Looman A., Sheffer J.J.C. & Baerheim Svendsen A., 1990.** Composition of the herb essential oil of *Hyptis spicigera* Lam., *Flavour and Fragrance Journal*, **5**: 101-105.
- Ouédraogo A.P., 1978.** Etude de quelques aspects de la biologie de *Callosobruchus maculatus* (Fab.), Coléoptère Bruchidae et de l'influence des facteurs externes stimulants (plante hôte et Copulation) sur l'activité reproductrice de la femelle. *Thèse de 3<sup>e</sup> cycle*, Toulouse 101 p.
- Ouédraogo A.P., 1985.** Etude de la densité et de la dynamique des populations d'insectes rencontrés sur sept variétés de niébé (*Vigna unguiculata* Walp.) au Burkina Faso. In

- « Col. Int. sur les Légumineuses Alimentaires en Afrique ». Niamey, Montmagny, pp. 179-187.
- Ouédraogo A.P., 1991.** Le déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* (Fab.), Coléoptère Bruchidae. Importance des facteurs climatiques sur l'évolution des populations de ce Bruchidae dans un système expérimental de stockage des graines de *Vigna unguiculata* (Walp.). *Thèse de doctorat d'Etat*, 117p.
- Ouédraogo A.P., 1995.** La bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae). Guide phytosanitaire des cultures du Burkina Faso. pp. 100-101.
- Ouédraogo A.P., Monge J.P. & Huignard J., 1991.** Importance of temperature and seed water content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Entomol. Exp. Applic.*, **59**: 59-66.
- Ouédraogo P.A. & Huignard J., 1981.** Polymorphism and ecological reaction in *Callosobruchus maculatus* in Upper Volta. *Series entomologica*, 19: 175-184.
- Ouédraogo P.A., Sou S., Sanon A., Monge J P., Huignard J., Tran M.D. & Credland P.F., 1996.** Influence of temperature and humidity on populations of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two zones of Burkina Faso. *Bull. of Entom. Res.*, 86: 695-702.
- Papachristos D.P. & Stamopoulos D.C., 2003.** Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research* **39**: 433-441.
- Papachristos D.P., Karamanoli K.I., Stamopoulos D.C. & Menkissoglu-Spirodi U., 2004.** The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say.). *Pest Manag. Sci.*, **60**: 514-520.
- Paton A., 1992.** A synopsis of *Ocimum americanum* L. (Labiatae) in Africa, *Kew Bull.*, **47** (3), 403-435.
- Peerzada N., 1997.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Hyptis suaveolens*. *Molecules*, **2**: 165-168.
- Philogène B.J.R., Regnault-Roger C. & Vincent C., 2002.** Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. In « Biopesticide d'origine végétale ». éditions TEC et DOC., France, EMD S.A.S. pp. 1-16.
- Powell K.A. & Justum A.R., 1993.** Technical and commercial aspects of biocontrol products. *Pesticide Science*, **37**: 315-321.

- Prevett P.F., 1961.** Field infestation of cowpea (*Vigna unguiculata*) pods by beetles of the families Bruchidae and Curculionidae in northern Nigeria. *Bull. Ent. Res.*, **52**: 535-545.
- Purseglove J.W., 1976.** The origin and migration of crops in tropical Africa. In "Harlan J.R., De Wet J.M. and Stemler A.B.L." (eds). Origin of African plant domestication. The Hague, Mouton Publishers, 291-309.
- Rachie K.O., 1985.** Introduction. In "Cowpea research, production and utilization". Singh S. R. and Rachie K. O. (eds.). *John Wiley and sons*.
- Raja N., Albert S., Ignacimuthu S. & Dorn S., 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, **37** (2): 127-132.
- Rasplus J.Y., 1988.** La communauté parasitaire des Coléoptères séminivores de Légumineuses dans une mosaïque forêt savane en Afrique de l'ouest (Lamto, Côte d'Ivoire). *Thèse de Doctorat*, Paris XI. 437 pages.
- Rasplus J.Y., 1989.** Révision des espèces afrotropicales du genre *Dinarmus* Thompson (Hymenoptera : Pteromalidae). *Ann. Soc. Ent. Fr.*, **25**: 135-162.
- Regnault-Roger C., Philogène B.J. & Vincent C., 2002.** Biopesticides d'origines végétales. Tec & Doc Eds. Paris, 337p.
- Repetto R., 1985.** Paying the price: pesticide subsidies in developing countries. World resources institute publication. Holmes USA, 27p.
- Robert P., 1984.** Contribution à l'étude de la bruche de l'arachide : *Caryedon serratus* (Col : Bruchidae) sur ses différentes plantes hôtes. *Thèse de doctorat de troisième cycle*, Tours. 122p.
- Roger P., 1984.** Contribution à l'étude du développement larvaire de *D. basalis* Ashmead (Hymenoptera: pteromalidae) parasitoïde de *C. maculatus* (Coleoptera: Bruchidea). *Diplôme d'Etude Approfondies*, Tours, 30p.
- Sanon A., 1997.** Contribution à l'étude du contrôle biologique des populations de bruchidae ravageurs de graines de Niébé (*V. unguiculata* Walp.) au cours de leur stockage au Burkina Faso. *Thèse de Doctorat troisième cycle*. Université de Ouagadougou 162 p.
- Sanon A. & Ouédraogo P.A., 1998.** Etudes de variations démographiques de *Callosobruchus maculatus* (F.) et de ses parasitoïdes, *Dinarmus basalis* (Rond.) et *Eupelmus vuilleti* (Crawf.), sur le niébé dans une perspective de lutte biologique. *Insect Sci. Applic.*, **3**: 241-250.
- Sanon A., Ouédraogo A.P., Tricault Y., Credland P.F. & Huignard J., 1998.** Biological

- control of bruchids in cowpea stores by release of *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) adults. *Environmental Entomology* **27**:717-725.
- Sanon A., Garba M., Auger J. & Huignard J., 2002.** Analysis of the insecticidal activity of methylisothiocyanate on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environ. Entomol.*, **38**: 129-138.
- Sanon A., Gauthier N. & Huignard J., 1999.** Compétition interspécifique entre deux espèces de parasitoïdes de larves de Bruchidae, *Eupelmus vuilleti* et *Dinarmus basalis*. Importance de la densité et de la qualité des hôtes sur le succès parasitaire des deux espèces. *Ann. Soc. Entomol.*, **35**: 421-426.
- Sanon A., Dabire C., Ouédraogo A.P. & Huignard J., 2005.** Contrôle biologique des populations de *Callosobruchus maculatus* F. (Coléoptère : Bruchidae) par deux espèces sympatriques de parasitoïdes, *Dinarmus basalis* Rond. et *Eupelmus vuilleti* Crw. *Belgian Journal of Entomology*, **7**, pp. 57-69
- Sanon A., Ilboudo Z., Dabiré B.L.C., Nébié C.H R., Dicko O.I., & Monge J-P., 2006.** Effects of *Hyptis spicigera* Lam. (Labiatae) on the behaviour and development of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae), a pest of stored cowpeas. *International Journal of Pest Management*, **52** (2): 117-123.
- Sano-Fujii I., 1984.** Effect of bean water content on the production of active form of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Research*, **20** (3): 153-161.
- Sawicky R.M., 1987.** *Definition, detection and documentation of insecticide resistance*. In: “Combating resistance to xenobiotics”, Ford M.G., Holloman D.W., Khambay B.P.S. & Sawicki R.M. (Eds), Ellis Horwood, Chicester, UK, pp. 105-117.
- Schmidt G.H., Risha E.M. & El-Nahal A.K.M., 1991.** Reduction of progeny of some stored product coleoptera by vapours of *Acorus calamus* oil. *Journ. of Stored Product research*, **27**: 121-127.
- Seck D., Sidibé B., Haubruge E. & Gaspar Ch., 1991.** La protection de stocks de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en milieu rural : utilisation de différentes formulations à base de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) provenant du Sénégal. *Méd. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.*, **Vol. 56**, n° 3b, pp. 1217-1224.
- Seck D. & Gaspar C., 1992.** Efficacité du stockage du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en fûts métalliques hermétiques comme méthode alternative de contrôle de *Callosobruchus maculatus* F. (Col. Bruchidae) en Afrique sahéenne. *Med. Landbouww.*

*Univ. Gent.*, **57** (3a): 751-758.

- Seri-Kouassi B.P., Kanko K., Aboua L.R.N., Bekon K.A., Glitho A.I., Koukoua G. & N'Guessan Y.T., 2004.** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F., 2004. *Comptes Rendus Chimie*, **7**, 1043-1046.
- Silva G.L., Lee I.S. & Kinghorn A.D., 1998.** Special problems with the extraction of plants. In "Cannell J.P.". *Natural products isolation*, Humana Press, Totowa, New Jersey, pp. 343-363.
- Singh S.R. & Allen D.J., 1979.** Les insectes nuisibles et les maladies du Niébé. Manuel n°2, IITA, 113 P.
- Singh S.R. & Van Emeden H.F., 1979.** Insect pest of grain legumes. *Annual Review of Entomology*. **24**: 255-278.
- Singh S.R., 1985.** Grain legume entomology. IITA, Ibadan. Nigeria. pp. 15-29.
- Singh S.R. & Jackai L.E.N., 1985.** Insects pests of cowpeas in Africa. Their life cycle, economic importance and potential control. In "*Cowpea Research, Production and Utilization*". Singh S.R. et Rachie K.O. (eds) pp. 217-231.
- Singh S.R., Jackai L.E.N., Dos Santos J.H.R. & Adalla C.B., 1990.** Insect pests of cowpeas. In "Singh S.R. (eds), *Insect Pests of Tropical Food Legums*". John Wiley and sons, Chichester, pp. 43-89.
- Singh S.R., Jackai L.E.N., Thottappilly G., Cardwell K.F. & Myers G.O., 1992.** Status of reaserch on constraints to cowpea production. In "Thottappilly G., Monti L.M., Mohan Raj D.R. and Moore A.W. (eds), *Biotechnology: Enhancing Reaserch on Tropical Crop in Africa*". CTA/IITA, Ibadan, pp. 21-26.
- Smartt J. (1964)** - Pulses in human nutrition. pp 96-104. In: *Tropical pulses*. Longman, London Publ.
- Stoll G., 1988.** Protection naturelle des végétaux en zones tropicale. CTA- AGRECOL. Ed. Joseph Margraf, ISBN, 3. 8236-1114-3, 89p.
- Tauber M.J. & Tauber C.A., 1981.** Insect seasonal cycles: genetics and evolution. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **12** : 281-308.
- Tauber M.J., Tauber C.A. & Masaki S., 1984.** Adaptation to hazardous seasonal conditions: dormancy, migration and polyphemism. In "*Ecological Entomology*", Huffaker C.B. and Raab R.L. (eds)" Wiley, New York, pp. 149-183.
- Utida S., 1954.** « Phase » dimorphism observed in the laboratory population of the cowpea weevil *Callosobruchus quadrimaculatus* JAP. (Coleoptera: Bruchidae). *J. Applic. Zool.*,

18: 161-168.

- Utida S., 1972.** Density-dependent polymorphism in the adult of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* **8** : 111-126.
- Van Alebeek F.A.N., 1996.** Foraging behavior of the egg parasitoid *Uscana lariophaga*. Towards biological control of bruchid pests in stored cowpea in West Africa. *Doctorat Thesis*, Wageningen Agriculture University, Wageningen, 176 p.
- Van Driesche R.G. & Bellows T.S., 1996.** Biological control, Chapman & Hall, New York.
- Van Huis A., 1991.** Biological methods of bruchid control in the tropics: a review. *Insect science and its application*, 12: n°1/2/3/, pp. 87-102.
- Vincent C. & Coderre D., 1992.** La lutte biologique. Gaëtan Morin Editeur (Montréal) et Tec & Doc Lavoisier, Paris
- Vincent C., 1998.** Les biopesticides. *Antennae*, **5** : 7-29.
- Waage J.K., 1992.** Introduction à la lutte biologique contre les insectes nuisibles. In “Manuel de lutte biologique”, tome 1, Markham R.H., Wodageneh A. et Agboola S. (eds), David, California, pp. 16-21.
- Weidner H. & Rack G., 1984.** Table de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds. GTZ (Ed.), Eschborn, pp. 83-89.
- Wightman J.A. & Southgate B.J., 1982.** Egg morphology host and probable regions of origin of the bruchids (Coleoptera: Bruchidae) that infest stored pulses. An identification aid. *New Zeland Journ. Exp. Agric.*, **10**: 95-99.
- WMO, 1995.** Scientific assessment of ozone depletion: World Meteorological Organization global ozone research and monitoring project. Geneva, report No 37 WMO Switzerland.
- Zannou E.T., 1995.** Observation des pontes de bruches et de leurs hyménoptères parasitoïdes oophages dans un système de culture de niébé *Vigna unguiculata* (L.) Walp. au sud du Bénin. *Mémoire de D.E.A*, Université de Lomé, 39 p.
- Zehrer W., 1987.** Méthodes traditionnelles de stockage du niébé (*Vigna unguiculata*) au Togo. In « les légumineuses Alimentaires en Afrique ». Colloque, Niamey, Montmagny, pp. 296-299.