

UNIVERSITE DE NGAOUNDERE

\*\*\*\*\*

FACULTE DES SCIENCES

\*\*\*\*\*

THE UNIVERSITY OF NGAOUNDERE

\*\*\*\*\*

FACULTY OF SCIENCE

\*\*\*\*\*



DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES

*DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES*

**Bioactivité des terres de diatomées et des poudres de neem à l'égard de bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (FAB) (Coleoptera : Bruchidae)**

MEMOIRE (2011 )

Présenté et soutenu publiquement le 16 Mars 2011

Par :

**YOUNOUSSA LAME**

(Licencié en Biologie et Physiologie Animales)

Matricule : 04I214FS

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie des Organismes Animaux

Devant le jury d'examen composé de:

Pr NJINTANG YANOU N.

Président, U.N., Maître de Conférences

Pr NUKENINE E. N.

Directeur, U.N., Maître de Conférences

Dr DJONKA

Examineur, U.N., Chargée de cours

Année académique: 2009-2010

## **DEDICACE**

Je dédie ce travail à:

- mon feu-père LAME SOULEYMANOU ;
- ma mère SAYAOU TEBAYA ;
- ma grande sœur MAMMA. Qu'ils trouvent à travers ce modeste travail, satisfaction pour les sacrifices et le soutien dont ils m'ont toujours fait preuve.

## AVANT-PROPOS

Le présent travail a été effectué en vue de l'obtention de Master en Biologie des Organismes Animaux. Il s'est déroulé dans le laboratoire de Biologie de la Faculté des Sciences de l'Université de Ngaoundéré et le laboratoire de Physico-chimie de l'E.N.S.A.I. (Université de Ngaoundéré).

Cette étude est une collaboration entre Federaal Research Centre for Cultivated Plants-Julius Kühn-Institut, Institute for Ecological Chemistry, Plants Analysis and Stored Product Protection Berlin, Germany (Dr C. ADLER) et l'Université de Ngaoundéré (Pr E. N. NUKENINE).

Je remercie DIEU tout puissant pour la santé, la force et le courage qu'il m'a accordé au cours de mes travaux.

Je remercie sincèrement et profondément mon encadreur le Pr. E. N. NUKENINE pour ses efforts consentis pour mon encadrement, sa disponibilité permanente, son attention particulière à mes moindres difficultés, ses conseils, ses encouragements et surtout sa grande rigueur scientifique qui a largement contribué et facilité l'élaboration de ce travail.

J'exprime également ma gratitude :

- à tous les enseignants et personnels de la Faculté des Sciences pour leur contribution à ma formation académique ;

- au Pr. NDJOUENKEU R. pour avoir permis l'accès au laboratoire de Physico-chimie de l'E.N.S.A.I ;

- à M. BIANZI Pierre pour ses conseils, son aide en documentation et son entière disponibilité au laboratoire de Physico-chimie de l'E.N.S.A.I ;

- à M. TOFEL HAMAN et M.WINI GOUDOUNGOU pour leurs suggestions, leur disponibilité et leur aide dans la documentation;

- à M. GOUATANG YAYA Guillaume qui était là toujours présent pour son apport moral, matériel, ses encouragements et ses conseils durant tout mon cursus universitaire ;

- à mon grand frère DAIROU LAME et sa femme ASTADJAM pour leurs conseils et leur aide financière ;

- à mon grand frère DICKO MOUSSA pour ses encouragements, ses conseils et son aide financière;

- à Mme. HAMAN né KALNE HADJIDJATOU pour ses encouragements, ses conseils et son aide financière durant tout mon parcours académique à l'Université;

- à Mme KOUNGOU né BEBE pour ses encouragements, ses conseils et son aide financière ;

- à mon grand frère AMINOUE LAME pour sa disponibilité, ses encouragements et ses conseils;

- à mes frères et sœurs : OUSMANOU. L, PITTI Lamé, Feu DJANATOU, FAÏDE, DJEBBA L, WALTA Celine, ALIOUM SOUNOU, pour leurs encouragements et conseils ;

- à la famille YAYA GOUATANG à Maroua, la famille BOUBAKARY à Kaélé, la famille TEBAYA à Mboursou et la famille LAME de la chefferie du canton de Midjivin pour leurs accueils, amours et encouragements ;

- à mon neveu BOUITOUKOA BOUKAR pour son conseil et ses encouragements ;

- à mes amis (BOUBA GRONG, ZOURMBA Mathieu, PALE Simon, OMAM, OUME, DOBA, DANZABE) et mes voisins(es) (MASSALE, TEMWA, TCHAWÉ, DAZECK, PAGOU, NGARBA, DAOUDA et ALIMA) pour leurs encouragements et soutien moral ;

- à mes camarades de laboratoire (HOULI KAOUTOUIING Gabriel, FOTSO Gabriel, DANGA YINYANG et TCHINATALE PRATALE) et tous mes camarades de promotion pour cet encouragement au travail ;

- à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail et dont les noms ne figurent pas.

## SOMMAIRE

Titres	Pages
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	viii
<b>LISTE DES PLANCHES.....</b>	ix
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	x
<b>LISTE DES TABLEAUX.....</b>	xi
<b>RESUME.....</b>	1
<b>ABSTRACT.....</b>	2
<b>INTRODUCTION.....</b>	3
<b>CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE.....</b>	5
1.1- Le niébé ( <i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp. (Fabaceae)) .....	5
1.1.1- Origine et distribution.....	5
1.1.2- Position systématique.....	5
1.1.3- Synonymies et noms communs.....	5
1.1.4- Description.....	6
1.1.5- Ecologie.....	7
1.5.6- Importance et utilisation du niébé.....	7
1.1.6- Importance de stockage du niébé.....	7
1.2- Contraintes liées au stockage du niébé.....	8
1.2.1- L'insecte: <i>Callosobruchus maculatus</i> (FAB) (Coleoptera: Bruchidae).....	8
1.2.1.1- Origine, distribution et synonymie.....	8
1.2.1.2- Position systématique (Taxonomie).....	8
1.2.1.3- Morphologie .....	9
1.2.1.4- Biologie et écologie.....	11
1.2.1.5- Dégâts et importance de <i>C. maculatus</i> sur le niébé.....	12
1.2.2- Les microorganismes.....	13
1.2.3- Les rongeurs.....	13
1.3- Méthodes de lutte contre le bruche du niébé <i>C. maculatus</i> .....	14
1.3.1- Techniques traditionnelles.....	14
1.3.2- Lutte physique.....	15

1.3.3- Lutte chimique.....	16
1.3.4- Lutte biologique.....	17
1.3.5- La résistance variétale.....	18
1.3.6- L'utilisation des plantes.....	19
1.3.6.1- Le neem ( <i>Azadirachta indica</i> ).....	21
1.3.6.1.1- Généralités sur le neem.....	21
1.3.6.1.2- Usage comme pesticide naturel.....	21
1.3.7- Utilisation des terres de diatomées.....	22
1.3.7.1- Généralités sur les terres de diatomées.....	22
1.3.7.2- Utilisation comme insecticide.....	22
1.3.8- Lutte intégrée.....	23
1.4- La germination.....	23
<b>CHAPITRE 2 : MATERIELS ET MÉTHODES.....</b>	<b>25</b>
2.1- Matériel végétal.....	25
2.1.1- Le niébé : <i>Vigna unguiculata</i> F. Walp.....	25
2.1.2- Le neem : <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	25
2.2- Matériel animal.....	25
2.3- Les poudres commerciales.....	26
2.4- Bioessais.....	28
2.4.1- Evaluation de la toxicité des produits insecticides sur <i>C. maculatus</i> .....	28
2.4.2-Evaluation de l'effet des poudres insecticides sur la production de la première descendance.....	28
2.4.3- Evaluation de l'effet des produits insecticides sur la croissance de la population de <i>C. maculatus</i> et les dégâts des grains.....	29
2.4.4- Evaluation du pouvoir germinatif des graines traitées avec les poudres insecticides et infestées par <i>C. maculatus</i> après stockage.....	29
2.5- Analyse des données.....	30
<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS.....</b>	<b>31</b>
3.1 - Toxicité des terres de diatomées et des poudres de neem sur les adultes de <i>C.</i> <i>maculatus</i> .....	31
3.1.1- Mortalité.....	31
3.1.2- Relation entre dose de produit et taux de mortalité de <i>C. maculatus</i> .....	33

3.2 - Effet des terres des diatomées et des poudres végétales sur la production de la première descendance.....	34
3.3- Croissance de population de <i>C. maculatus</i> et dégâts .....	37
3.3.1- Réduction de la croissance de population.....	37
3.3.2- Réduction des perforations des grains.....	37
3.3.3- Réduction des pertes.....	37
3.4- Pouvoir germinatif post-stockage des grains traités.....	38
<b>CHAPITRE 4 : DISCUSSION.....</b>	<b>43</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>48</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>55</b>

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**DDT:** Dichloro-Diphényl-Trichloréthane

**ENSAI:** Ecole Nationale des Sciences Agro-industrielles

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

**HR:** humidité relative.

**IITA :** International Institut of Tropical Agriculture

**IRAD:** Institut de Recherches Agricoles pour le Développement

**PAN Africa:** Pesticide Action Network for Africa

**t :** température.

**g/kg :** gramme par kilogramme

## LISTE DES PLANCHES

Planches	Pages
1 : Les produits insecticides utilisés. ....	27
2 : <b>A</b> = Bocaux de 900 ml contenant des bruches et du niébé traité avec les différents produits ; <b>B</b> = Matériels de manipulation, <b>C</b> = balance, <b>D</b> = tamis.....	27

## LISTE DES FIGURES

Figures	Pages
1 : Gousses et grains du niébé.....	6
2 : <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775) .....	10
3 : Cycle de développement de <i>C. maculatus</i> .....	12
4 : Mortalités cumulées corrigées (%) (moyenne $\pm$ erreur standard) induites par les produits du neem et des terres de diatomées <i>sur</i> les adultes de <i>C. maculatus</i> après 1, 3 et 7 jours d'exposition dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 0,96^\circ\text{C}$ ; HR. $\approx 74 \pm 2\%$ ) .....	32
5 : Nombre de bruches morts et des bruches vivants (moyenne $\pm$ erreur standard) dans les grains du niébé traités avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; HR. $\approx 71 \pm 2\%$ ).....	39
6 : Pourcentage de grains perforés (moyenne $\pm$ erreur standard) après quatre mois de stockage après traitement avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; HR. $\approx 71 \pm 2\%$ ).....	40
7 : Pourcentage de pertes massiques (moyenne $\pm$ erreur standard) après quatre mois de stockage après infestation et traitement avec les terres de diatomées et les poudres de neem dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; HR. $\approx 71 \pm 2\%$ ).....	41
8 : Taux de germination (moyenne $\pm$ erreur standard) des grains infestés par les bruches et traités avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1^\circ\text{C}$ ; HR. $\approx 71 \pm 2\%$ ).....	42

## LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Pages
1: Ennemis naturels de <i>C.maculatus</i> .....	18
2: Quelques plantes et dérivés végétaux utilisés contre les insectes des denrées stockées .....	20
3 : Dose létale des quatre poudres insecticides causant 50% (DL <sub>50</sub> ) et 95% (DL <sub>95</sub> ) de mortalité de <i>C.maculatus</i> à 1, 3, 7 jours d'exposition dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 24 \pm 1,2$ °C ; HR. $\approx 75 \pm 2,8\%$ ).....	35
4 : Production de la progéniture (moyenne $\pm$ erreur standard) en <i>F1</i> de <i>C. maculatus</i> dans les grains traités par les produits de neem et des terres de diatomées dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 24 \pm 1,2$ °C ; HR. $\approx 75 \pm 2,8\%$ ).....	36

## RESUME

La bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* F. est un ravageur qui occasionne de sérieux dégâts au niébé stocké dans les régions tropicales et l'utilisation des insecticides chimiques de synthèse est largement répandue pour limiter les dégâts de ce dernier. Pour réduire l'exposition des organismes non-ciblés aux insecticides dangereux et le développement de la résistance des insectes aux pesticides, des méthodes alternatives sont exigées. En conséquence, l'efficacité de la poudre des feuilles de neem, la poudre de grains de neem, deux formulations commerciales des terres de diatomées (SilicoSec et FossilShield), ainsi que l'insecticide commercial organophosphoré, le Malagrain (Malathion 5%), recommandé pour la protection des denrées stockées au Cameroun ont été évaluées sur *C. maculatus* au laboratoire. Les produits de neem (0 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 20g/kg), des terres diatomées (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 et 2g/kg) et le Malagrain à la dose recommandée (0 ; 0,5g/kg) ont été mélangés avec les grains du niébé pour évaluer la mortalité des bruches, la production de la première descendance, la suppression de la croissance de la population, la réduction de la perforation des grains et les pertes massiques des grains. Tous les produits utilisés ont causé une mortalité significative des bruches. Seulement le Malagrain (0,5g/kg), le SilicoSec (1,5g/kg) et le FossilShield (2g/kg) ont causé la mortalité complète des bruches, et ceci dans 1, 7 et 7 jours, respectivement. La dose maximale (20g/kg) de la poudre des grains de neem et des feuilles de neem a occasionné les mortalités maximales de 76% et 60% des bruches, respectivement en 7 jours d'exposition. Les valeurs DL<sub>50</sub> en 3 jours étaient 0,4 ; 0,4 ; 14,6 et 53,2g/kg pour SilicoSec, FossilShield, poudre des grains de neem et la poudre des feuilles, respectivement. Seule le Malagrain a complètement supprimé la production de la descendance. Cependant, les quatre autres produits ont considérablement réduit la production de la première descendance, presque complète avec la poudre des grains de neem et le SilicoSec aux doses maximales (2g/kg). Toutes les doses des cinq produits utilisés ont causé une suppression significative de la croissance de la population de *C. maculatus* et aucune bruche n'a été enregistrée pour tous les cinq produits aux doses maximales, sauf que 14 et 4 bruches ont été enregistrés dans les grains traités avec la poudre des feuilles de neem et du FossilShield. Indépendamment des grains traités avec la poudre des feuilles de neem qui a enregistré une perte significative en poids, toutes les autres poudres étaient tout à fait efficaces avec une perte nulle dans les grains traités avec Malagrain, SilicoSec et poudre des grains de neem aux doses maximales. Les graines traitées avec les produits utilisés ont considérablement perdu leur pouvoir germinatif, qui croît avec l'augmentation des doses, excepté la poudre des grains de neem où on a observé une tendance opposée. Dans l'optique de promotion d'un développement durable et de protection de l'environnement, les terres de diatomées pourraient être considérées comme l'insecticide adéquat pouvant substituer les produits chimiques de synthèse comme le Malagrain. Au Cameroun et plus précisément dans les régions du Nord et de l'Extrême-Nord où l'agriculture est à dominance de subsistance et la végétation urbaine est constituée en grande partie des neems, les produits de neem pourraient être appliqués pour préserver le niébé des attaques de bruches.

**Mots clés :** terres de diatomées, toxicité, produits de neem, niébé, *Callosobruchus maculatus*

## ABSTRACT

The cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* F. is a very serious storage pest of cowpea across the tropical world and the use of chemical synthetic residual insecticides are widely used for its control. To reduce non-target exposure to hazardous insecticides and to curb resistant development, alternative controls are required. Accordingly, the effectiveness of neem leaves powder, neem seeds powder, two commercial diatomaceous earth formulations (SilicoSec and FossilShield), as well as the commercial organophosphate insecticide, Malagrain (Malathion 5%) which is registered for use in stored grain protection in Cameroon were evaluated on *C. maculatus* F. in the laboratory. The neem products (0, 2.5, 5, 10 and 20g/kg) and diatomaceous earths (0, 0.5, 1, 1.5 and 2g/kg) were admixed with grains at five rates while the recommended dose (0, 0.5g/kg) of malathion was used, for the assessment of weevil mortality, first progeny production, population suppression, grain perforation and grain weight loss. All the tested products caused significant mortality of the weevil. Only Malagrain (0.5g/kg), SilicoSec (1.5g/kg) and FossilShield (2g/kg) achieved complete mortality of the weevil, and this within 1, 7 and 7 days, respectively. The highest tested dosage (20g/kg) of neem seeds powder and neem leaves powder caused maximum mortality to *C. maculatus* of 76% and 60%, respectively, within 7 days of exposure. Three-day LD<sub>50</sub> values were 0.4, 0.4, 14.6, and 53.2g/kg for SilicoSec, FossilShield, neem seeds powder and neem leaves powder, respectively. Only Malagrain completely suppressed *F<sub>1</sub>* progeny production. However, all the tested treatments of the other four products greatly reduced progeny production, with neem seeds powder and SilicoSec almost causing complete suppression of the first progeny production at their highest tested dosage. All the tested dosages of the five products caused significant suppression of weevil population growth and no weevil population was recorded for all the five products at the highest tested dosage, although 14 and 4 live weevils were recorded in grains treated with the highest dosage of neem leaves powder and FossilShield. Apart from the grains treated with neem seeds powder which recorded significant weight loss and, all the other powders were quite effective in preventing grain weight loss, with no loss of weight in the grain treated with Malagrain, SilicoSec and neem seeds powder at the highest dosage. Similar trends were recorded for percent grain perforated. All the products considerably reduced grain germination losses, which increased with ascending dosages, except for neem seed powder where the opposite trend was observed. With a view to promotion of a durable development and environmental protection, diatomaceous earth could be regarded as adequate insecticide being able to substitute the chemicals of synthesis like Malagrain. To Cameroon and more precisely in the areas of North and Far-North where agriculture is with predominance of subsistence and the urban vegetation is mainly made up of the neems, neem products could be applied to preserve cowpea of the attacks of beetles.

**Key words:** diatomaceous earth, toxicity, neem products, cowpea, *Callosobruchus maculatus*

## INTRODUCTION

Légumineuse à graine, le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) occupe une place importante dans l'alimentation de nombreuses régions du monde (Diaw, 1999). Il constitue la plus importante légumineuse à graine cultivé en Afrique tropicale à cause de sa valeur énergétique et sa richesse en protéines (Ndiaye, 1996). En plus de ses qualités nutritionnelles, il améliore la fertilité des sols par sa capacité de fixer l'azote atmosphérique (Adeoti *et al.*, 2002); ses feuilles sont consommées comme légumes par les hommes et servent de fanes pour nourrir les bétails en saison sèche dans la zone sahélienne (Tarawali *et al.*, 1997).

A l'échelle mondiale, 3,7 millions de tonnes de niébé sont produits annuellement, 70% de cette production proviennent de l'Afrique de l'ouest et du Centre dont le Nigeria occupe à lui seul, 66% de la production et 1% pour le Cameroun (PICS, 2008). Parmi les légumineuses consommées dans la partie Nord-Cameroun, le niébé vient en deuxième position après l'arachide (Ndjouenkeu *et al.*, 2010). Cette légumineuse est cultivée essentiellement dans six régions du pays (Extrême-Nord (81%); Nord (18%); et moins de 1% dans l'Adamaoua, le Littoral, le Nord-Ouest et le Sud-Ouest (AGRI-STAT, 2009). Dans les pays sahéliens, où la saison sèche dure la majeure partie de l'année, la nécessité de stockage des récoltes est une question de survie (Mikolo *et al.*, 2007) car il rend possible la disponibilité quasi permanente des denrées sur les marchés et assure les semences pour les campagnes à venir (Ngamo & Hance, 2007).

Cependant, il se pose un problème de conservation par les paysans car les grains subissent d'énormes dégâts causés par les coléoptères Bruchidae. Parmi les espèces de Bruchidae déprédatrices du niébé, *Callosobruchus maculatus* F. est la plus nuisible. Au Cameroun, après neuf mois de conservation, *C. maculatus* F. peut entraîner la perte totale de la récolte (Bell, 1994). Les dégâts occasionnés par cette bruche réduisent non seulement le poids, la valeur nutritive et marchande de la denrée mais aussi une perte ou réduction du pouvoir germinatif des grains (Illiassa.,2004 ; Demissie *et al.*, 2008).

Face à ces pertes post-récolte, différentes méthodes de lutte ont été mises au point. Il s'agit entre autres, de la lutte chimique, de la lutte biologique, de l'utilisation de substances biocides végétales, de méthodes physiques et enfin de la résistance variétale (Deguine et Diaw, 1999 ; Ferron, 2004). Selon Isman (2006) et le PAN Africa (2003), les insecticides chimiques de synthèse sont les plus utilisés de façon abusive et impropre dans la plupart des pays africains. Mais, ces pesticides de synthèse bien qu'efficaces provoquent non seulement

des problèmes de résistance chez les insectes ravageurs et la destruction des organismes utiles mais, entraîneraient aussi des effets nocifs sur l'environnement et la santé humaine, des problèmes de disponibilité et de coût (Aïssata, 2009).

Dans l'optique de promotion d'un développement durable et de protection de l'environnement, des méthodes alternatives de contrôle, qui soient peu coûteuses et efficaces, faciles à adopter pour les producteurs du Tiers Monde sont préconisées. Pour cela, de nombreux additifs naturels comme certaines plantes locales, certains minéraux et huiles semblent être efficaces dans la lutte contre les insectes présents dans les denrées stockées (De Groot, 2004). Au Cameroun, la poudre des grains de neem et deux formulations des terres de diatomées (FossilShield et SilicoSec) ont révélé leur efficacité insecticide sur *Sitophilus zeamays* (Nukenine *et al.*, 2010 ; Goudoungou, 2010 ; Tofel, 2010). Dans ce pays, peu de recherches ont été menées sur le neem dans la protection des récoltes contre les insectes ravageurs du niébé. Or, cette plante a prouvé son efficacité insecticide et sa faible toxicité pour l'homme dans plusieurs pays de l'Afrique de l'Ouest, du Centre et en Asie (Isman, 2002). De même, les terres de diatomées sont utilisées dans les denrées entreposées pour le contrôle des infestations des insectes à cause de leur longue remanance, efficaces à faible dose et sont moins toxiques à l'égard des vertébrés (Haubruge *et al.*, 2000). Avec la disponibilité de neem dans les régions du Nord et de l'Extrême-Nord du Cameroun et les avantages des terres de diatomées cités précédemment, ces produits pourraient constituer une alternative pour la conservation des denrées stockées comme le niébé s'ils sont testés dans notre pays.

L'objectif principal de ce travail est de contribuer à la réduction des pertes dues à l'attaque du ravageur du niébé en stockage par l'utilisation des substances moins toxiques.

Spécifiquement, il s'agit de:

- Déterminer l'effet des terres de diatomées et des poudres de neem sur la mortalité de *C. maculatus* ;
- Evaluer l'effet des terres de diatomées et des poudres de neem sur la production de la progéniture  $F_1$  de *C. maculatus* ;
- Déterminer l'effet de ces produits sur la suppression de la croissance de population de *C. maculatus* et la réduction de dégâts causés par ce dernier;
- Evaluer le pouvoir germinatif post-stockage des graines protégées par les terres de diatomées et les poudres végétales après quatre mois de stockage.

# CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

## 1.1- Le niébé : *Vigna unguiculata* (L) WALP (Fabaceae).

### 1.1.1- Origine et distribution

Le niébé semble trouver son point de départ en Afrique Occidentale, et très vraisemblablement au Nigeria où les espèces sauvages et adventices pullulent dans les savanes et les forêts (IITA, 1982). Au Cameroun, Pasquet et Fotso (1994) ont dénombré une centaine de cultivars au vue de la forme des grains et des gousses.

Dans le monde, 70% de la production du niébé provient de l'Afrique de l'ouest et du Centre dont le Nigeria occupe à lui seul, 66% de cette production (PICS, 2008).

Répresentant 1% de la production Africaine, le niébé est cultivé préférentiellement dans 6 régions du Cameroun: Extrême-Nord (81%), Nord (18%) ; Adamaoua ; Littoral ; Nord-Ouest et Sud-Ouest (AGRI-STAT, 2009).

### 1.1.2- Position systématique

*V. unguiculata* est un dicotylédons appartenant à l'ordre des Fabales, à la super-famille des Légumineuses, famille des *Fabaceae*, tribu *Phaseoleae* (Camara, 1997). Le genre *Vigna* comprend 160 espèces dont six (6) seulement sont cultivées parmi lesquelles le niébé (*V. unguiculata*, *V. sinensis* etc...).

Les principales variétés améliorées du niébé cultivées au Cameroun sont : variété BR1 qui est la plus adoptée (31%) suivie par la Lori Niébé (10%). Les variétés Meringue, TVX3236 et BR2 sont cultivées par 8, 7 et 6% des paysans respectivement. Les trois autres variétés (GLM93, CRPS niébé et VYA) sont cultivées chacune par moins de 5% des paysans (Nkanleu *et al*, 2003).

### 1.1.3- Synonymies et noms communs

Le niébé *V. unguiculata* est connu sous le nom de *Dolichos sinensis* L., *Dolichos bifloris* L., *Vigna sinensis* L., *V. Sarra* ex Hank, *V. baoulensis* A. chev (Diaw, 1999).

En Français, on le désigne sous le nom de Dolique ou haricot indigène, en anglais : Cowpea, Cowderpea, Southernpea, black eyed pea. Ses noms vernaculaires sont : niébé en fulfuldé, hadignung en guiziga.

#### 1.1.4- Description

Le niébé est une plante annuelle, herbacée autogame. Toutefois, il présente un taux d'allogamie variant entre 0,2 et 2%. C'est une espèce diploïde avec  $2n = 22$  chromosomes de petite taille comme chez la plupart des espèces de Phaseoleae (Charrier *et al*, 1997). L'architecture de la plante est très variable selon les génotypes, les conditions de température et de photopériode. On distingue en effet des formes érigées et des formes rampantes ou volubiles. Les racines portent des nodules qui renferment des bactéries fixatrices d'azote. La fixation de l'azote atmosphérique est considérée comme satisfaisante (Fery, 1985).

L'inflorescence toujours axillaire, est formée d'un pédoncule mesurant 10 à 30 cm, au bout duquel se trouve le rachis dont chaque nœud porte une paire de fleurs et un bourrelet nectaires extrafloraux. Les fleurs papilionacées sont de grandes tailles. Les croisements sont faciles à réaliser (Fery, 1985).

Les gousses et les graines du niébé (Figure 1) ont des caractéristiques très diversifiées chez les formes cultivées et sont largement utilisés pour décrire les cultivars (Pasquet & Fotso, 1994). La gousse de niébé comporte 8 à 20 graines ovoïdes, réniformes, lisses ou ridées (Diaw, 1999).

La graine a une forme ovale dont le tégument est coloré par le gène C (*general color factor*) associé aux gènes contrôlant les types de pigments (anthocyanine acide, basique et la mélanine) (Fery, 1985).



**Figure1** : Gousses et grains du niébé (réalisée par Younoussa)

### **1.1.5- Ecologie**

Le niébé est une plante herbacée tropicale thermophile puisqu'il se développe dans les conditions de chaleur et de luminosité intense. Il requiert tout au long de son développement une température oscillant entre 25 et 28°C et une pluviométrie de 750mm à 1000mm (Anochili, 1978). Au-delà de cette amplitude, précisément entre 32 et 35°C, on note une chute des fleurs et des gousses (Diaw, 1999). Le niébé vit bien dans les sols profonds et biens drainés et est tolérant à la sécheresse ainsi qu'à la salinité du sol. Il peut se développer sous des conditions environnementales variées, sur des sols pauvres en azote. Il peut être cultivé soit seul, soit en association avec d'autres cultures. Le niébé s'adapte bien aux zones tropicales sèches à faible pluviométrie (300-600 mm) et n'est pas très exigeant en sol, mais croît de préférence sur les sols sablo-limoneux bien drainés (Diaw, 1999).

### **1.1.6- Importance et utilisation du niébé**

Le niébé *V. unguiculata* occupe une place importante dans la zone soudano-sahélienne et guinéenne (Isubikalu *et al.*, 2000). Il constitue la plus importante légumineuse à graine cultivée en Afrique Tropicale (Diaw, 1999). Il contient 3400 calories et 230g de protéine par Kg, soit deux fois plus que le mil et le sorgho (Ndiaye, 1996). En effet, le niébé se caractérise surtout par sa richesse en protéines (24-28%) et autres constituants comme l'eau 11%, les hydrates de carbone 56,8%, les lipides (1,3%), les fibres (3,9%), les cendres (3,6%), la vitamine A (32,42UI /100g), la vitamine D (26- 78,02ug/100g) et la vitamine E (3,07-5,07 mg/100g); les grains de niébé contiennent aussi du calcium (90mg/100g) du fer (6-7mg/100g), de l'acide nicotinique (2mg/100g), de la thiamine (0,9mg/100g) (IITA, 1982). Mais il est pauvre en lysine (Oyenuga, 1968; IITA, 1975).

En plus de ses qualités nutritionnelles, le niébé est peu exigeant en engrais et tolérant à la sécheresse. Il améliore la fertilité des sols de par sa capacité de fixer l'azote atmosphérique (Adeoti *et al.*, 2002). Dans plusieurs pays, le niébé est passé d'une culture de subsistance à une culture de rente assez importante (Tarawali *et al.*, 1997). De plus, les feuilles sont consommées comme légumes par les hommes et servent de fanes pour nourrir les bétails en saison sèche dans la zone sahélienne (Tarawali *et al.*, 1997).

### **1.1.7- Importance de stockage du niébé**

L'historique de stockage relève du néolithique quand l'homme a cessé d'être nomade. Suite à l'augmentation des rendements agricoles grâce à la technologie moderne et des charges des ménages, la nécessité de stockage s'est fait sentir. De plus dans les pays sahéliens

où les déséquilibres de précipitations périodiques et une longue durée de la saison sèche sont observés, le stockage est une question de survie (Mikolo *et al* 2007). Il permet d'assurer la régularité de l'approvisionnement des familles ou des marchés jusqu'à la prochaine récolte et d'apporter une plus-value aux agriculteurs en période de forte demande (Ntsam, 1989). Le stockage assure également les semences pour les campagnes agricoles à venir (Ngamo & Hance, 2007).

## 1.2- Contraintes liées au stockage du niébé

Selon paramètres climatiques (température et l'humidité), les légumineuses et les céréales entreposés subissent d'énormes dégâts suite aux attaques d'une diversité de ravageurs dans les régions tropicales et intertropicales (Gakuru & Foua-Bi, 1996). Les agents majeurs de déprédations du niébé stocké dans la partie septentrionale du Cameroun sont : l'insecte (*C. maculatus*), les microorganismes et les rongeurs.

### 1.2.1- L'insecte : *Callosobruchus maculatus* (FAB) (Coleoptera : Bruchidae)

#### 1.2.1.1- Origine distribution et synonymie

Son origine n'est pas bien connue, mais Decelle (1981) pense que cette espèce serait originaire d'Afrique. Elle existe sur tous les continents, excepté l'Antarctique. Selon Credland (1990), 20 espèces se développent aux dépens des plantes cultivées et sont devenues des ravageurs d'importance économique. En Afrique tropicale, 16 espèces de bruches sont rencontrées sur les graines de légumineuses alimentaires cultivées (Decelle, 1987).

La bruche du niébé (*C. maculatus* F.) communément appelée bruche à 4 tâches ou bruche maculée comprend d'autres synonymies : *Bruchus quadrimaculatus*, *Bruchidius maculatus*, *B. ornatus*, *B. ambiguus*, *B. simatus*. Les anglo-saxons l'appelle Cowpea Weevil (Diaw, 1999).

#### 1.2.1.2- Position systématique (Taxonomie)

L'espèce fût décrite pour la première fois par Fabricius en 1775. Sa position systématique a été reprecisée par Weider & Rack, 1984; Delobel & Tran, 1993 comme suit:

- Corps métamerisé dont à chacune des métamères correspond une paire d'appendice articulée, le tégument est chitineux, le développement se fait par mue..... Embranchement des **Arthropodes**.
- Présence d'une paire d'antennes et une paire de mandibules.....Sous-Embranchement des **Mandibulates**.

- Corps divisé en trois tagmes; tête, thorax, abdomen. Trois paires de pattes (hexapode), une paire antennes, une paire de mandibules.....Classe des **Insectes**.
- Ailes antérieures indurées (élytres), recouvrant tout ou partie de l'abdomen; ailes postérieures repliées et cachées au repos sous les ailes antérieures ou absentes..... **Ordre des Coléoptères**.
- Corps ovoïde ou élyptique, tête dissimulée et prolongée en un "bec" court et large, absence de rostre, antennes sans massues parfois pectinées, abdomen souvent découvert, couleur brune noire..... **Famille des Bruchidae**.
- Fémur postérieure avec une dent aux bords ventraux interne et externe, partie médiane lobée du bord postérieur du pronotum boursouflée avec un sillon longitudinal et une incision postérieure; le plus souvent recouverte d'une pubescence beaucoup plus claire que le reste de ce tergite.....**Genre *Callosobruchus***.
- Antennes non dentées, jaune-brune à leur base, crenelées à partir du cinquième article. Les élytres sont bruns avec quatre taches noires arrondies plus ou moins étendues et situées latéralement. Le pronotum est noir avec soies éparses et dorées. La pubescence blanche du lobe basal du pronotum est réduite et triangulaire. Existence chez les femelles de deux formes physiologiquement et morphologiquement bien distinctes..... **Espèce *maculatus***.

### 1.2.1.3- Morphologie

*Callosobruchus maculatus* (F.) (Figure 2) est caractérisé par un prothorax plus court, rouge sombre ou noir avec de vagues dessins de pubescence pâle, côtés du pronotum convexes. Les mâles se distinguent aisément des femelles par leur dernier segment abdominal émarginé pour recevoir l'apex du pygidium plus convexe. Leurs antennes sont généralement plus longues, plus dentées et parfois pectinées, leurs yeux sont souvent gros (Diaw, 1999). Une autre caractéristique de *C. maculatus* est l'existence de deux formes qui se distinguent tant par la coloration de leurs élytres, leur aptitude au vol et leur fécondité (Utida, 1981).

- la forme non voilière ou normale est caractérisée par un pygidium pigmenté chez la femelle et peu tacheté chez le mâle. Les individus ayant cette forme ont un muscle alaire atrophié et par conséquent, ils sont incapables de voler (Ouedraogo, 1991). Selon les études, la fécondité moyenne varie entre 100 œufs par femelle (Glitho *et al.*, 1988) ; 60-90 œufs (Delobel & Tran, 1993) et 91,2 œufs par femelle (Akpovi, 1993). Les individus sont inféodés

au stock de niébé et ont une longévité faible (6-12 jours à 30°C) (Delobel & Tran, 1993). Les adultes de cette forme sont toujours reproducteurs ;

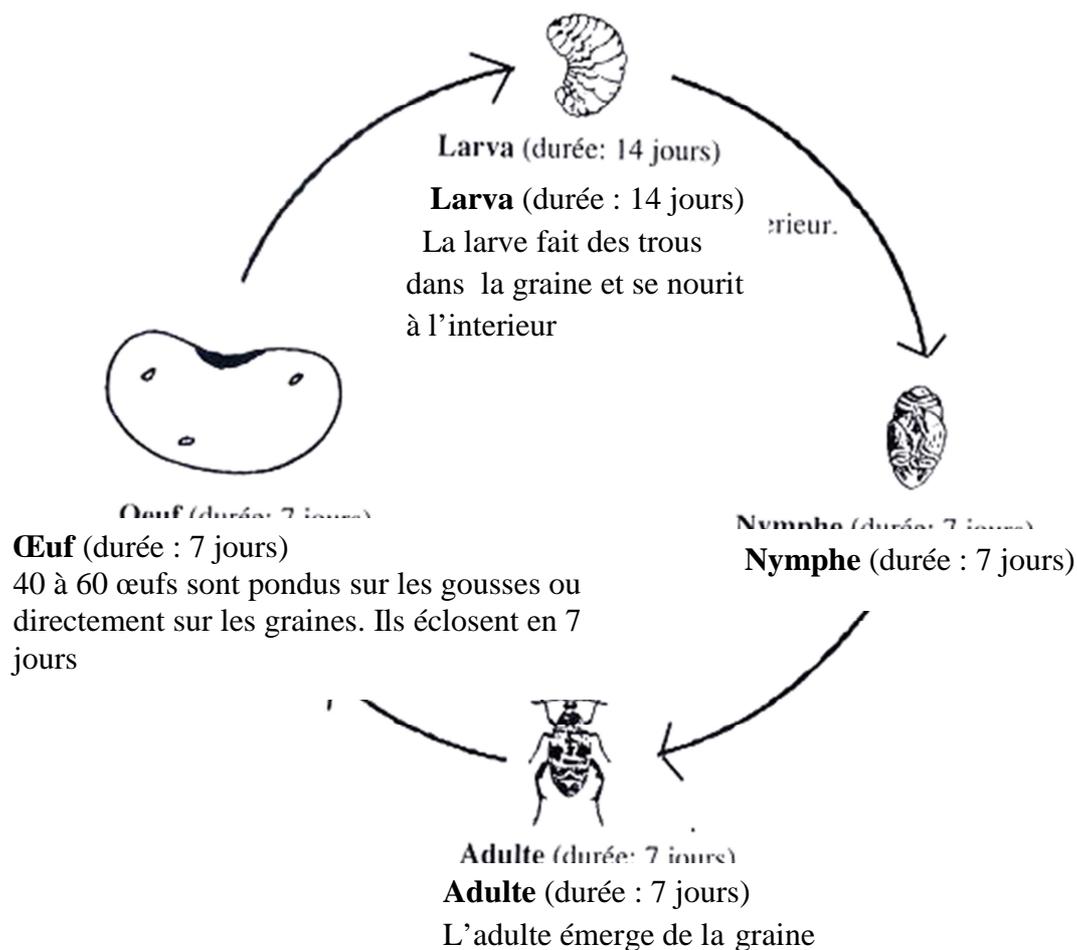
- la forme voilière ou active a un abdomen clair chez la femelle et les élytres sont tachetés chez le mâle. Les individus de cette forme sont caractérisés par une faible fécondité (deux œufs en moyenne par femelle) ; leur descendance est constituée des individus non voiliers (Glitho *et al.*, 1988). La longévité est d'environ un mois à 30°C (Delobel & Tran, 1993). La teneur en eau des graines, la température, l'humidité relative influencent l'apparition de cette forme en élevage de masse. En effet, une forte proportion d'adultes voiliers émergent des graines de niébé lorsque la température est de 30,2°C, l'humidité relative 80% et la teneur en eau 13-15% (Monge & Ouédraogo, 1990 ; Ouédraogo *et al.*, 1990). En outre, au cours de ses travaux, Tchokossi (1995) a constaté que l'apparition des voiliers est précédée par l'augmentation du nombre de larves par graine dont l'activité entraîne l'élévation de la température et de la teneur en eau des graines.



**Figure 2 :** *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (PICS, 2008)

#### 1.2.1.4- Ecologie et biologie

La plante hôte la plus fréquente de *C. maculatus* est *Vigna unguiculata* L. Walp. En Afrique, elle a été obtenue des graines de *Vigna radiata* (*Phaseolus aureus*), de *Vigna* (*Voandzeia*) *subterranea*, de *Vigna angularis* (*Phaseolus angularis*), de *Murotyloma geocarpum* (*Kerstingiella geocarpum*), de *Cajanus cajan* et même d'une césalpiniacée (*assia occidentalis*) (Delobel et Tran, 1993). Le cycle de développement de *C. maculatus* (Figure 3) est fonction de la température et de l'humidité relative du milieu. Selon Delobel et Tran (1993), les conditions optimales de développement se situent à 30°C et 70% d'humidité relative. L'étude de deux espèces de *Callosobruchus* (*rhodesianus* et *maculatus*) révèle une fécondité plus élevée sur *C. maculatus* avec une production importante d'œufs à 30°C (Giga & Smith, 1987). Les femelles sont réceptives dès l'émergence. La fécondité varie entre 70 et 100 œufs par femelle. La ponte est déclenchée chez la femelle gravide par un stimulus de nature chimique présent dans le tégument de la graine (Delobel & Tran, 1993). Les femelles déposent généralement leurs œufs directement sur une surface lisse les gousses ou les graines de préférence (Decelle, 1981). La larve néonate qui émerge de l'œuf (5 à 10 après l'oviposition) se distingue alors des autres stades larvaires par des structures particulières qui l'aident à sortir de l'œuf (Johnson, 1981; Delobel & Tran, 1993 ; Daly *et al.*, 1998). Elle est en outre très mobile, et elle peut percer des téguments très épais et durs de façon à pénétrer dans les graines et peu de temps après être entrée dans la graine, la larve du premier stade (L1) mue (Kergoat., 2004). Les stades larvaires suivants sont apodes et se développent dans la graine. Plusieurs larves de la même espèce peuvent se développer dans une même graine : De Luca (1967) trouve ainsi jusqu'à 36 larves d'*Acanthoscelides obtectus* dans une seule graine de haricot. En général, le dernier stade larvaire se nymphose à l'intérieur de la graine consommée (après avoir préparé un orifice de sortie). Après son émergence, l'imago est en mesure d'amorcer un nouveau cycle de vie. Il peut alors y avoir des différences notables dans le mode de vie des adultes selon les espèces considérées. En général, les adultes se nourrissent peu et ne consomment qu'un peu de pollen et de nectar (Johnson, 1981). Cette consommation de pollen a néanmoins un rôle essentiel chez certaines espèces, car elle permet la maturation des organes reproducteurs mâles et femelles (Huignard *et al.*, 1985).



**Figure 3** : Cycle de développement de *C. maculatus* (PICS, 2008)

### 1.2.1.5- Dégâts et importance de *C. maculatus* sur le niébé

*Callosobruchus maculatus* exerce une pression permanente sur les légumineuses ; cette menace est due à sa grande polyphagie et sa faculté d'adaptation à des régions climatiques variées (Utida, 1981). L'adulte de *C. maculatus* ne cause pas directement de dégâts sur le niébé au champ ni en stock ; les individus mâles et femelles vivent des grains de pollen et de nectar (Alzouma, 1981 ; Messina, 1984). Ce sont les stades juvéniles qui causent les ravages sur stock en consommant, avant le stade pupa une partie importante des réserves nutritives des cotylédons de la graine du niébé (Alzouma, 1981). L'activité de consommation des réserves des grains par les larves provoque de la chaleur et de l'humidité qui engendrent le développement des champignons comme *Aspergillus*, *Fusarium*, *Botrytis*, conduisant à des pertes quantitatives (Messina, 1984). En zone rurale où les techniques de conservation des denrées agricoles sont peu élaborées, ce ravageur entraîne des pertes post-récoltes pouvant

atteindre 100% en quelques mois (Lienard & Seck, 1994 ; Bell, 1994). Au Cameroun (Ngamo *et al.*, 2007), au Burkina Faso (Ouédraogo *et al.*, 1996) et au Nigeria (Seck *et al.*, 1991a), les pertes de niébé au cours du stockage dues à *C. maculatus* sont estimées à plus de 800 g/kg après sept mois de stockage. *C. maculatus* entraîne non seulement une réduction de poids sec, mais également une diminution de la qualité des graines et de la viabilité des semences compromettant leur consommation et leur semis (Singh & Singh, 1992 ; Odah, 1995). Selon Murdock *et al.* (1997), lorsque les dégâts excèdent un trou d'émergence par graine, la valeur marchande du niébé s'en trouve substantiellement réduite. Tchamou (1995) a montré qu'il existe une relation entre le nombre de trous d'émergence des bruches sur les graines et les pertes de poids.

### **1.2.2- Les microorganismes**

Les microorganismes constituent le groupe le plus important des ravageurs des denrées stockées après des insectes. En effet, les températures et humidités élevées du climat tropical favorisent la pullulation des moisissures et des mycotoxines qui, pour survivre, décomposent les produits vivriers causant d'énormes dégâts (Ngamo & Hance, 2007). Les champignons des entrepôts appartenant à l'ordre des *Aspergillus*, *Fusarium* et *Penicillium* peuvent occasionner d'énormes dommages à savoir: réduction de la valeur nutritive, décoloration du grain, diminution du pouvoir germinatif, calcination de certains grains, odeur et goût de moisi, formation de mycotoxines, création d'un environnement adéquat pour le développement de certaines espèces d'insectes (Gwinner, *et al.*, 1996).

### **1.2.3- Les rongeurs**

Les rongeurs causent des dégâts importants aux cultures et aux produits stockés. Selon De Groot (2004), ils endommagent les produits stockés de quatre manières :

- Ils mangent une partie du produit.
- Ils souillent de leurs excréments une partie du produit.
- Ils percent le matériel d'emballage, ce qui cause des pertes. Les sacs en jute peuvent être sérieusement abimés. Les produits stockés en vrac sont moins vulnérables car les rats ne peuvent en grignoter que la surface.
- Ils sont porteurs de maladies dangereuses pour l'homme. Les gens peuvent tomber malades en mangeant ou en manipulant les grains contaminées par les excréments, l'urine ou les parasites des rongeurs.

Contrairement aux insectes et aux micro-organismes qui attaquent les denrées alimentaires stockées, les rongeurs attaquent les produits quel que soit la température et l'humidité contenue dans les céréales et dans l'air (De Groot, 2004).

### **1.3- Méthodes de lutte contre le bruche du niébé *C. maculatus***

Compte tenu de l'ampleur des dégâts causés par *C. maculatus* sur le niébé aussi bien au champ qu'au moment du stockage, différentes méthodes de lutte ont été mises au point.

#### **1.3.1- Techniques traditionnelles**

Plusieurs insecticides et méthodes de stockage sont efficaces pour protéger les grains du niébé contre *C. maculatus*. Mais, chez les paysans, les intrants sont très coûteux et difficiles à obtenir. En plus, beaucoup de paysans évitent les produits chimiques en les considérant comme dangereuse. A leur niveau, les agriculteurs utilisent des méthodes traditionnelles plus indiquées et plus compatibles avec leurs moyens. En effet, ce sont des méthodes de lutte préventive consistant à réduire aux champs, l'infestation des gousses. Elles comprennent les techniques culturales, le triage de la récolte, l'amélioration des infrastructures de stockage et l'hygiène de stockage (Lienard & Seck, 1994) :

##### **- Les techniques culturales**

Ces techniques consistent : à ramasser les gousses à un stade phénologique précoce, la récolte régulière des gousses dès leur maturité, l'association du niébé avec l'arachide ou le sorgho qui ne sont pas des plantes hôtes de *C. maculatus* ou encore le sarclage de la culture se sont avérés intéressants.

##### **- Le tri de la récolte**

Le choix pour le stockage à long terme des gousses indemnes peut réduire l'infestation et les pertes de manière considérable.

##### **- Amélioration des infrastructures de stockage**

Le niébé est stocké après les récoltes soit en gousses soit en grains dans les greniers traditionnels. Ces greniers, construits le plus souvent en matières végétales diffèrent selon les régions en fonction des précipitations annuelles. L'utilisation d'une doublure ou triplure des sacs en polyéthylène et coton s'avère efficace en empêchant les infestations ultérieures des graines de niébé (Caswell, cité par Van Huis, 1991).

### - **L'hygiène de stockage**

Le nettoyage des locaux et des sacs en jute s'il s'agit d'un stockage en sacs doit être fait soigneusement.

### **1.3.2- Lutte physique**

Plusieurs procédés de lutte physique ont été adoptés pour protéger le niébé contre *C. maculatus*. Il s'agit des radiations rayonnantes, les températures extrêmes et la teneur en oxygène et en dioxyde de carbone.

#### - **Irradiation gamma**

L'irradiation par des rayons gamma est une méthode de lutte physique utilisée dans divers pays contre de nombreux insectes des denrées. Son principe repose sur l'exposition des populations d'insectes, soit à des doses élevées d'irradiation pour tuer tous les stades de développement de l'insecte, soit à des doses plus faibles pour les stériliser (Elbadry & Ahmed, 1975 ; Hekal & El-Kady, 1987). Les avantages de cette méthode de lutte sont :

- elle ne laisse pas des résidus dans les denrées ;
- aucune forme de résistance n'a jamais présent été observée ;
- le traitement est instantané ; elle ne représente aucun danger pour les utilisateurs ; le traitement peut être appliqué après l'emballage final ;
- elle pénètre uniformément la denrée.

En effet, ces méthodes présentent trois limites importantes :

- un investissement initial très élevé
- des connaissances techniques approfondies ;
- la réticence des consommateurs face à ce type de traitement.

Or les études réalisées par l'US Food and Drug Administration ont montré qu'aux doses prescrites, l'irradiation n'altère aucune des propriétés de la denrée (Lienard. & Seck., 1994).

#### - **Les températures extrêmes**

Les procédés thermiques comme l'élévation de la température servent à sécher rapidement la récolte, de ralentir le développement des insectes et de prévenir une nouvelle infestation (Zeher, 1980).

#### - **Atmosphères contrôlées**

L'utilisation de l'azote ou de dioxyde de carbone peut être valorisée pour le contrôle des insectes des denrées stockées. L'enrichissement de l'atmosphère par l'un de ces gaz fait

chuter la teneur en oxygène et provoque ainsi l'asphyxie des insectes (Storey, 1975 ; Storey, 1978). Hassan *et al.* (2004) ont montré que l'enrichissement de l'atmosphère de 30 bars de CO<sub>2</sub> pendant 20 minutes exterminent tous les œufs de *C. maculatus* pondus sur le niébé.

### 1.3.3- Lutte chimique

La lutte chimique consiste à l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse pour la protection des denrées stockées. Ces produits qui sont toxiques pour la santé des êtres vivants et pour l'environnement s'avèrent très efficaces car ils produisent des résultats intéressants (Seck, 1994). Parmi ces produits chimiques, nous avons :

#### - Les insecticides de contacts

Ce sont :

- les composés monochlorés (DDT et lindane qui sont très efficace contre *C. maculatus* et très toxiques pour l'homme) ;
- les composés organophosphorés (malathion, pirimiphos-méthyle, chlorpyrifos-méthyle, dichlorvos. Le pirimiphos-méthyle se révèle le plus efficace pour lutter contre la bruche de niébé (Pierrard, 1984)) ;
- les carbamates (le carbonyl est de loin le plus utilisé et sa DL50 sur *C. maculatus* est de 0.25µg/adulte (Hussein & Abdel-Aal, 1982)) ;
- les pyréthriinoïdes de synthèse (permethrine, cyfluthrine, deltaméthrine). Ce sont des produits synthétiques proches des pyrèthres naturels ayant une longue persistance d'action et une toxicité faible pour l'homme. En conditions sahéliennes, la deltaméthrine à la dose de 1 ppm assure la protection efficace du niébé pendant 6 à 7 mois de stockage (Seck *et al.*, 1991b).

#### - Les fumigants

Ce sont des insecticides à haute tension de vapeur qui agissent sous forme gazeuse. Ces composés très toxiques pour l'homme et les animaux sont soumis lors de leur application à des normes de sécurité très strictes. Par rapport aux insecticides de contact, ils possèdent l'avantage de ne laisser aucun résidu sur les denrées (Hindmarsh *et al.*, 1978). La fumigation est un traitement purement curatif. Une fois réalisé, le stock n'est plus protégé contre de nouvelles infestations. Dans les pays chauds, la phosphorine (PH<sub>3</sub>) est le fumigant le plus couramment utilisé (Howe, 1978 ; Hindmarsh *et al.*, 1978) et s'avère très efficace contre les œufs et les larves de *C. maculatus* (Singh *et al.*, 1990).

En bref, les insecticides chimiques se révèlent très efficaces pour protéger les stocks des attaques des ravageurs (Abdel-Wahad *et al.*, 1975). Malheureusement, leur emploi est limité par de nombreuses contraintes (Egwuatu, 1987) qui sont ; leur coût élevé, les risques pour la santé humaine et animale encourue lors de leur utilisation, les résidus laissés dans les denrées par les insecticides de contact, le risque d'apparition d'insectes résistants ou tolérants suite à une utilisation plus importante de ces produits, l'indisponibilité à tout moment et en quantité suffisante des pesticides et le manque de matériels permettant une optimisation des traitements ( matériels d'application des produits et de sécurité).

#### **1.3.4- Lutte biologique**

Cette lutte consiste à l'utilisation des prédateurs ou des parasitoïdes des bruches afin de limiter les dégâts. Les insectes parasitoïdes constitués essentiellement des Diptères et des Hyménoptères sont souvent utilisés comme facteurs de régulation des populations d'insectes phytophages (Bouletreau, 1998). Au Togo, trois espèces d'ectoparasitoïdes nympho-larvophages sont associées aux bruches dans le système de stockage du niébé. Il s'agit de *Dinarmus basalis* Rond. (Pteromalidae), *Eupelmus orientalis* Craw. (Eupelmidae) et *E. villeti* (Eupelmidae) qui peuvent parasiter jusqu'à 90% des larves de *C. maculatus* présentes dans un stock et réduire de façon drastique la population des ravageurs (Bolevana *et al.*, 2006). En effet, nombreux parasites et prédateurs de *C. maculatus* ont été identifiés (Van Huis, 1991) (Tableau 1). Toutefois les recherches dans ce domaine restent encore très limitées.

**Tableau 1:** Ennemis naturels de *C.maculatus* (Djidonou, 2000).

<b>Insectes auxiliaires</b>	<b>Références bibliographiques</b>
<b><u>TRICHOGRAMMATIDAE</u></b>	
<i>Uscana lariophaga</i> Steff	Monge <i>et al.</i> ,(1990)
<i>Uscana semifumipennis</i> Girault	van Huis (1991)
<i>Uscana mukerju</i> Mani	Kapila et Agarwal (1990)
<b><u>EUPELMIDAE</u></b>	
<i>Eupelmus orientalis</i> Crawf	van Huis (1991)
<i>Eupelmus vuilleti</i> Crawf	Monge <i>et al.</i> , (1990)
<b><u>PTEROMALIDAE</u></b>	
<i>Anisopteromalus calandrae</i> How	Heong (1981)
<i>Chaetospila elegans</i> Westwood	van Huis (1991)
<i>Dinarmus basalis</i> Rondani	Rojas-Rousse <i>et al.</i> ,(1988)
<i>Dinarmus vagabundus</i> Timberleke	van Huis (1991)
<i>Lariophaga texacus</i> Crawf	
<b><u>EURYTOMMIDAE</u></b>	
<i>Eurytoma sp.</i>	Prevett (1961)

### 1.3.5- La résistance variétale

Le choix des variétés résistantes de *V. unguiculata* est une méthode de contrôle intéressante pour les petits agriculteurs dans la lutte contre *C. maculatus*. En effet, elle se substitue à la lutte chimique et en élimine ainsi de nombreux inconvénients tels que les risques pour la santé et l'environnement, le coût élevé et les problèmes d'acceptation des différents produits par les paysans ou encore, à des difficultés liés à l'utilisation de ces différentes substances (Francis *et al.*, 1998).

Les résultats de recherches sur l'identification des variétés résistantes du niébé par l'IITA (Institut International d'Agriculture Tropicale) au Nigeria ont abouti à l'obtention de trois

variétés (TVu2027, TVu11952 et TVu11953) montrant une résistance significative à l'égard de *C. maculatus* (Singh *et al.*, 1985).

La résistance de grains du niébé à l'égard de *C. maculatus* est à la fois physique et chimique. En effet, les femelles de *C. maculatus* préfèrent pondre sur les graines lisses plutôt que sur des graines rugueuses (Nwanze *et al.*, 1975). Ce mécanisme constitue une forme de résistance physique traduisant par la réduction de l'oviposition. Malheureusement, ce facteur de résistance physique n'a que très peu d'intérêt, car l'insecte est confronté à une seule variété et n'a pas le choix (Nwanzi *et al.*, 1975).

La résistance chimique est assurée par la combinaison de teneur élevée en inhibiteurs de la trypsine et d' $\alpha$ -amylase. En effet, l'activité des inhibiteurs de la trypsine se traduit par une inhibition du développement des larves sans affecter, ni la production des œufs, ni la pénétration des larves dans les graines (Gatehouse *et al.*, 1979). L'activité anti métabolique des inhibiteurs de la trypsine du niébé se manifeste à deux niveaux :

- Ils empêchent l'assimilation des acides aminés soufrés nécessaires en inhibant les protéases de l'insecte, bloquant de cette manière la digestion des protéines.
- Ils bloquent les acides aminés soufrés sous une forme non digestible.

### **1.3.6- L'utilisation des plantes**

L'utilisation de plantes et/ou d'extraits de plantes (racines, feuilles, écorces, fruits) dans la protection des récoltes contre les insectes ravageurs au cours du stockage est une pratique ancienne très répandue en Afrique et en Asie (Seck *et al.*, 1996 ; Sou, 1998). De nombreux chercheurs, qui sont à la recherche des insecticides efficaces, peu rémanents, respectueux de la santé humaine et de l'environnement, se sont penchés sur l'utilisation des plantes aromatiques (Aïssata, 2009). Ainsi, de nombreux travaux ont été réalisés dans ce sens pour le contrôle des ravageurs du maïs et du niébé, notamment en zone tropicale. D'après Isman (2000) et Kéita (1999), plus de 1000 plantes recensées aujourd'hui ont des propriétés variant de la dissuasion à la répulsion avec association de l'anti-appétence ou la létalité contre les ennemis des cultures et des stocks. Seck, (2009) a recensé quelques plantes et dérivés végétaux utilisés contre les insectes des denrées stockées en Afrique Subsaharien (Tableau 2).

**Tableau 2** Quelques plantes et dérivés végétaux utilisés contre les insectes des denrées stockées (SECK, D. 2009).

NOM	ORGANE	FORME	MODE(S) D'ACTION	REFERENCES
<i>Acorus calamus</i> L.	rhizome	poudre et huile	toxicité de contact	Yadava, 1971 ; Su, 1991
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	graine	poudre et huile	réduction de la fécondité et des émergences, prolongement cycle ; effets déterrent, ovicide et larvicide.	Echendu, 1991 ; Ivbijaro, 1983 ; Seck <i>et al.</i> , 1991a ; Daniel & Smith, 1990 ; Ivbijaro, 1990
<i>Zingiber officinale</i> (Rosc.)	rhizome	poudre	diminution de l'oviposition	Echendu, 1991
<i>Arachis hypogea</i> L.	graine	huile	diminution de l'oviposition ; action ovicide et larvicide	Boughdad <i>et al.</i> , 1987 ; Messina & Renwick, 1983
<i>Ricinus communis</i> L.	graine	huile	réduction des émergences	Singh <i>et al.</i> , 1978
<i>Butyrospermumparkii</i> (G. Don.) Kotschy	fruit	huile	effet ovicide	Pereira, 1983
<i>Cocos nucifera</i> L.	graine	huile	effets ovicide et larvicide	Messina & Renwick, 1983
<i>Eucalyptus citriodora</i> L.	plante entière	huile	effet fumigant	Pajni & Gill, 1990
<i>Piper guineense</i> Schum & Thonn	Graine	huile	réduction des émergences et effet insecticide	Ivbijaro, 1990
<i>Piper nigrum</i> L.	plante entière	poudre	réduction de l'oviposition et effet insecticide	Rajapakse, 1990 ; Su, 1977 ;
<i>Citrus</i> sp.	Fruit et huile	pelure	effet insecticide ; réduction de la ponte	Su & Horvat, 1987 ; Don-Pedro, 1985

### **1.3.6.1- Le neem (*Azadirachta indica*)**

#### **1.3.6.1.1- Généralités sur le neem**

Le neem est une plante appartenant à la famille de Maliacées que l'on retrouve dans les régions chaudes (Guet, 2002). Originaire d'Asie du Sud-Est, il a été introduit en Afrique sub-saharienne et même en région sahélienne par les Indiens (Vallet, 2006). Cet arbre pousse très bien dans les régions tropicales et subtropicales même en saison sèche marquée et il est aujourd'hui bien répandu dans le monde (en Australie, en Afrique, aux Antilles, en Amérique tropicale au sud des USA et de l'Europe) (Hurtel, 2007).

Le neem a été décrit pour la première fois en 1830 par De Jussieu (Kausik *et al.*, 2002). Cet arbre qui peut atteindre 30 m et vivre 2 siècles, mais qui est en général plus petit (5 à 10 m), son feuillage persistant est imparipenné (5 à 8 paires de folioles falciformes à base très inégale), les fleurs en panicules sont blanches ou jaunâtres, le fruit est une drupe de 1 à 2 cm, jaune à maturité. Cette Méliacées ne dépasse pas 10 à 12 m au Sénégal, mais peut atteindre 25-30 m dans son pays d'origine (l'Inde) (Badara, 2005). Toutes les parties (graines, feuilles, fruits, écorces, racines) sont utilisées depuis des milliers d'années en Inde grâce à ses propriétés insecticides, médicinales et cosmétiques (Ngamo *et al.*, 2007). En médecine traditionnelle, les feuilles et les écorces sont utilisées pour soigner la syphilis, la tuberculose, le rhumatisme et comme antidote contre les morsures des serpents et les piqûres des scorpions (Yengué & Callot, 2002). Très présent en Afrique (et également en Inde), cette plante prend différents noms: Neem, Nim, en wolof ; Leeki, Nim en pulaar ; Neem, Nivaquine en serer ou encore Dongoyaro en haoussa, gagnai en Guiziga.

#### **1.3.6.1.2- Usage comme pesticide naturel**

Le neem est l'une des plantes qui a fait l'objet d'un nombre important d'études scientifiques dans les pesticides naturels (Vallet, 2006). C'est l'une des principales sources d'insecticides botaniques de nos jours. Selon Isman (2006), Schmutterer *et al.* (2002), Isman (1998), Isman (1997a), Isman (1997b), Isman *et al.* (1996), Roger *et al.* (1995), Isman (1995), Schmutterer (1990), le neem joue un rôle de régulateur de croissance et de modificateur de comportement chez certaines espèces d'insectes nuisibles. Selon eux, les extraits du neem ont un large spectre d'activité, une dégradation facile dans l'environnement, une sélectivité élevée favorisant les ennemis naturels et les pollinisateurs. Ils ont démontré également que les extraits de bois et de graines du neem sont les principales sources des propriétés insecticides.

Le neem est un merveilleux insecticide 100% naturel, inoffensif pour l'homme et les animaux, actif contre plus de 200 insectes (même les acridiens : sauterelles etc....), les acariens, les nématodes, les champignons et les bactéries (Vallet, 2006). Gauvin *et al.* (2003) ont montré que l'azadirachtine ( $C_3H_{14}O_{16}$ ) était la principale composante à propriétés insecticides des extraits de neem. Petit (2008) a montré que le neem contient 7 molécules insecticides et/ou insectifuges, dont les trois principales sont l'azadirachtine, la salanine et le melandriol. Ces principes actifs agissent en produisant des troubles dans l'alimentation de l'insecte et intervenant sur son cycle hormonal, provoquant des malformations dans le processus de mue, empêchant son développement normal et sa croissance (Vallet, 2006).

### **1.3.7- Utilisation des terres de Diatomées**

#### **1.3.7.1- Généralités sur les terres de diatomées**

Les terres de diatomées sont des dépôts géologiques de squelettes fossilisés d'organismes marins (famille d'algues/plantes unicellulaires) (Hill, 1988). Ce sont des dépôts immenses des sédiments contenant des diatomées qui ont été formés dans des lacs d'eau douce à la fin du Tertiaire, il y a environ 10 millions d'années. Ces composés sont constitués essentiellement de dioxyde de silice à laquelle s'ajoutent certains minéraux (l'oxyde de fer, d'aluminium, de sodium et de magnésium) (Sejakhozi, 2004). Il existe divers formulations en poudre jouant le rôle de pesticide connues sous les noms commerciaux de : Fossil Shield, SilicoSec, Pyrisec, Insecto, Protect It etc.

Les dépôts de coques de diatomées sont utilisés dans l'industrie comme filtres pour purifier l'eau et d'autres substances, comme matériaux de premier choix pour le polissage des lentilles et même, lorsqu'on les étend sur le sol, comme moyen de lutter contre les insectes (Hill, 1988).

#### **1.3.7.2- Utilisation comme insecticide**

Depuis plusieurs dizaines d'années, la terre de diatomée est utilisée dans la protection des denrées entreposées des infestations d'insectes (Haudruge *et al.*, 2000). L'efficacité insecticide de chaque formulation dépend non seulement de leur proportion en  $SiO_2$  mais aussi de la taille de la poudre et des additifs (Athanassiou *et al.*, 2007). La formulation du SilicoSec qui est une poudre très fine et de couleur blanche contient 92% de  $SiO_2$ , 3% d' $Al_2O_3$ , 1% de  $Fe_2O_3$  et 1% de  $Na_2O$  alors que le FossilShield de très petite taille et de couleur marronne contient 73%  $SiO_2$ , 3% de silice amorphe et 2% d'eau (Rohitha *et al.*,

2003). En effet, lorsqu'elle est broyée elle a l'apparence de la poudre de talc, mais sa texture, bien qu'inoffensive sur les personnes et les animaux, a sur l'insecte, l'effet de petits cristaux de verres concassés; ceux-ci sont ingurgités par l'insecte ou encore sont amassés par ses poils (soies), et adhèrent à son corps pour gratter à travers ses minuscules couches de cire protectrice, favorisant ainsi une perte de liquide qui résulte en la déshydratation et la mort de l'insecte (Vayias *et al.*, 2008 ; Hill, 1988). Le principal avantage de cette poudre inerte réside dans sa longue rémanence et sa très faible toxicité à l'égard des vertébrés (Desmarchelier, 1987). Aux Etats-Unis et au Canada, elles sont agréées comme additif dans les aliments de bétails et le dioxyde de silice est même enregistré comme additif dans les aliments destinés à l'homme (Subramanyam *et al.*, 1994). A la maison, elle peut être utilisée pour prévenir l'entrée de certains insectes, tels que les fourmis, les coquerelles, les perce-oreilles et les lépismes argentés, ainsi que pour, contrôler ces derniers et autres dans les armoires, tapis, sous-sols, greniers, rebord de fenêtres, etc.

Parmi les autres avantages liés à son utilisation, elle peut être saupoudrée sur les animaux, leur litière et leur niche pour prévenir les parasites externes. De plus, deux pour cent de terre diatomée ajoutée dans les rations de grains de certains animaux aurait favorisé le contrôle de certains parasites internes de ceux-ci et aurait résulté en une diminution de la population de mouches dans les matières fécales de ces derniers (Hill, 1988).

La terre diatomée a cependant le désavantage de ne pas être sélective, c'est-à-dire qu'elle cause la mort de toutes espèces d'insectes, qu'ils soient bénéfiques ou nuisibles (Hill, 1988).

### **1.3.8- Lutte intégrée**

Cette lutte consiste en la combinaison de plusieurs méthodes de luttés afin de réduire ou de maintenir la population des insectes nuisibles en dessous d'un seuil de leurs dégâts au niveau des nodules de stockage. (Cruz *et al.*, 2002). Le but visé par cette lutte est la réduction du nombre d'interventions avec des pesticides tout en minimisant leurs effets secondaires (Panneton *et al.*, 2000). Pour aboutir à un résultat efficace sans danger pour l'homme et pour l'environnement, la combinaison des auxiliaires (parasitoïdes, prédateurs), des pesticides sélectifs, des propriétés de structures de stockage et voire la sélection des variétés résistantes est plus ou moins réalisée (Seck, 1991).

### **1.4- la germination**

La viabilité des semences est la mesure du nombre de semences dans un lot de semences qui sont vivantes et peuvent se développer en plantes qui vont se reproduire dans les

conditions appropriées au champ (Rao *et al.*, 2006). Pour germer, la semence doit être soumise aux conditions externes (eau, lumière, température, oxygène) et internes (absence d'inhibition et de dormance, maturité, aptitude à germer) favorables (Larpen, 1976 ; Singh & Rathod, 2002 ; Rao *et al.*, 2006). Le test de germination est réalisé pour déterminer quelle proportion de semences après stockage va germer dans des conditions favorables et produira des plantules normales capables de se développer en plantes matures pour leur reproduction (Rao *et al.*, 2006). De ce fait, il existe plusieurs tests dont les plus utilisés sont les tests biochimiques et de germination.

La germination du niébé est épigée. Les réserves contenues dans les cotylédons s'amenuisent au fur et à mesure qu'elles assurent une croissance vigoureuse à la plantule. La racine pivotante est en général bien développée et les racines secondaires portent des nodosités renfermant des bactéries fixatrices d'azote (Diaw, 1999).

## CHAPITRE 2 : MATERIEL ET MÉTHODES

### 2.1- Matériel végétal

#### 2.1.1- Le niébé : *Vigna unguiculata* F. Walp

Le niébé utilisé est une variété locale « Vya » en provenance de Midjivin, localité situé à 15 Km à l'Ouest de Kaélé (département du Mayo-Kani, région de l'Extrême-Nord, Cameroun) au point de latitude 10°10'8N, de longitude 14°20'7E et d'altitude 456m (Google Earth, 2010). Le choix porté sur cette variété découle du fait qu'elle est précoce, donne des gros grains et très apprécié par les paysans mais très sensibles aux bruches surtout *Callosobruchus maculatus* (observation personnelle). Sa teneur en eau avant les bioessais a été déterminée selon la méthode d'AFNOR (1982) et était de 12,71%.

Les grains perforées, moisies, brisées et les impuretés (sables, débris végétales) ont été débarrassées du stock. Puis, le stock trié a été conservé dans deux bidons de 20 litres hermétiquement fermés et ont été déposés dans une chambre froide à -14°C pendant 21 jours pour éliminer tout organisme viable se trouvant dans le stock. Il a été acclimaté au laboratoire pendant 14 jours avant de l'utiliser pour les expérimentations.

#### 2.1.2- Le neem : *Azadirachta indica* A. Juss

Les feuilles vertes et les fruits mures de neem ont été récoltés au mois de Mai 2010 à Mboursou, village situé à 30 km au Sud de Midjivin, Département du Mayo-Kani, région de l'Extrême-Nord (Cameroun).

Les feuilles de *A. indica* ont été séchées à l'ombre puis réduites en poudre dans un mortier en bois, ensuite tamisé avec un tamis de 0,2mm de taille de maille. De même, les fruits ont été séchés au soleil puis décortiqués à la main. Les amandes obtenues ont été pilées dans un mortier en bois puis tamisées à l'aide d'un tamis de 1mm de taille de maille. Enfin les deux poudres ont été conservées chacune dans une bouteille en verre et maintenues à -4°C dans un réfrigérateur au laboratoire des sciences alimentaires et nutritionnelles de l'ENSAI jusqu'à l'utilisation.

### 2.2- Matériel animal

La souche de *C. maculatus* utilisée pour cette étude a été fondée depuis le mois de mars 2010 à partir des individus émergeant de la variété « Vya » du niébé en provenance de Midjivin. Pour la culture de ces insectes, 30 bruches ont été introduits dans chacun des 16 bocaux en verre de 900ml contenant 500g de niébé. Les bocaux ont été fermés à l'aide des

couvercles perforés pour assurer les échanges d'air et sont conservés dans les conditions ambiantes du laboratoire. Ces cultures ont été tamisées au 14<sup>e</sup> jour afin de séparer les parents du substrat. Des observations ont été menées chaque semaine jusqu'à l'émergence. Ce n'est qu'à partir du 28<sup>ème</sup> jour après l'infestation qu'ont été observées les premières émergences. Les bruches utilisées pour nos manipulations étaient au moins de la cinquième génération, âgées de 1 à 4 jours et de sexe indéterminé.

### 2.3- les poudres commerciales

L'insecticide chimique utilisé comme témoin positif est le Malagrain (Malathion 5%) acheté dans les structures phytosanitaires de Ngaoundéré. C'est un organophosphoré, insecticide en poudre homologué au Cameroun et recommandé pour le stockage des grains (MINADER, 2007).

Les formulations des terres de diatomées utilisées sont des poudres insecticides commercialisées sous le nom de FossilShield<sup>®</sup> 90.0 S et SilicoSec<sup>®</sup>, fabriquées par Agrinosa Company-Biofa en Allemagne.



A



B



C



D

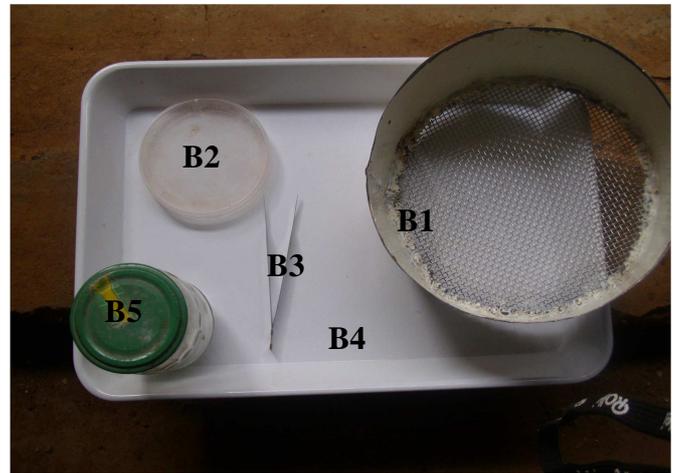


**E**

**Planche 1 :** les produits insecticides utilisés. **A :** Grains d'*Azadirachta indica* **B :** feuilles et fruits d'*A. indica* **C :** FossilShield® 90.0 S **D :** SilicoSec® **E :** sachet de Malagrain DP 5 (5% de Malathion).



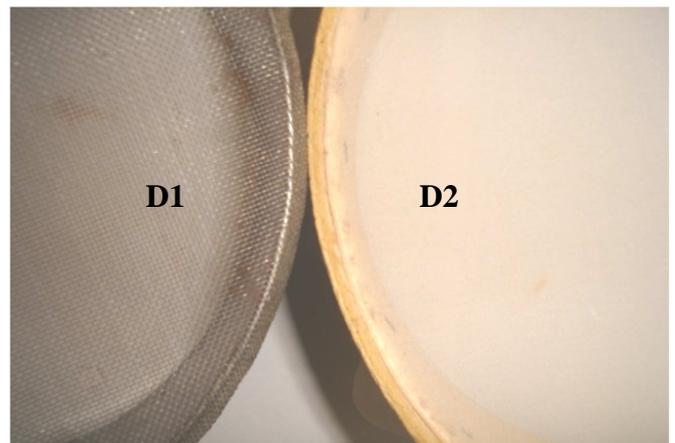
**A**



**B**



**C**



**D**

**Planche 2 :** **A :** Bocaux de 900 ml contenant des bruches et du niébé traité avec les différents produits ; **B :** Matériels de manipulation (**B1 :** tamis pour charançons ; **B2 :** boîtes de pétri ; **B3 :** pince entomologique ; **B4 :** plateau ; **B5 :** Talc) ; **C :** balance (ISO 9001, Sartorius) **D :** tamis (**D1 :** à mailles de 1mm ; **D2 :** à mailles de 0,2mm).

## **2.4- Bioessais**

### **2.4.1- Evaluation de la toxicité des produits insecticides sur *C. maculatus***

Dans chacun des bocaux en verre de 900ml, 50g de niébé sont introduits. 0,125g, 0,25g, 0,05g et 1g de masses correspondant respectivement aux doses de 2,5g/kg, 5g/kg, 10g/kg et 20g/kg des poudres des feuilles et des grains de neem ont été introduits dans les bocaux contenant du niébé. Quatre masses de poudres des terres des diatomées (0,025g, 0,05g, 0,075g, 0,1g) correspondants respectivement aux doses de 0,5g/kg, 1g/kg, 1,5g/kg et 2g/kg ont été ajoutées au niébé contenu dans chacun des bocaux. Une masse de 0,025g de Malagrain correspondant à une dose de 0,5g/kg (dose recommandée) a constitué notre témoin positif. Toutes les pesées ont été effectuées grâce à une balance électronique de marque ISO 9001, Sartorius, Allemagne de précision  $e = 0,001g$  et de maximum = 620g. Les mélanges du niébé avec les différentes poudres ont été secoués pendant 2 minutes afin de permettre une adhésion uniforme des poudres insecticides sur le substrat. Des lots de 20 bruches de sexe indéterminé âgées de 1 à 4 jours, sont introduits dans chacun des bocaux. Ensuite, les bocaux ont été recouverts par de toile fine pour empêcher la sortie des bruches et puis fermés avec des couvercles perforés pour assurer les échanges gazeux. Des lots sans poudre constitués de 50g de niébé et 20 bruches par flacon ont servi des témoins négatifs. Les bocaux ont été conservés dans les conditions ambiantes du laboratoire ( $t \approx 25 \pm 0,96^{\circ}C$  ; HR.  $\approx 74 \pm 2\%$ ). Quatre répétitions ont été réalisés pour chaque dose des différentes poudres.

Aux périodes 1, 3 et 7 jours d'exposition, les bruches morts et vivants sont comptées. Les bruches morts ont été identifiés par toucher délicat à l'aide d'une pince entomologique. Ont été déclarées mortes, les bruches qui n'effectuent aucun mouvement après plusieurs touchés.

### **2.4.2- Evaluation de l'effet des poudres insecticides sur la production de la première descendance**

Le niébé de chaque bocal de la section 2.4.1 est débarrassé des bruches et de poudre au septième jour post-infestation. Ces bocaux sont conservés dans les conditions fluctuantes du laboratoire. Au 28<sup>e</sup> jour post-infestation, les bruches émergés ont été comptés (vivants et morts). Le comptage a été fait chaque trois jours à partir du 28<sup>e</sup> jour après infestation et ceci pendant 2 semaines.

### **2.4.3- Evaluation de l'effet des produits insecticides sur la croissance de la population de *C. maculatus* et les dégâts des grains**

Un mélange de différentes masses de 0,5g, 1g, 2g et 4g (2,5 ; 5 ; 10, 20g/kg) des poudres végétales, 0,1g ; 0,2g ; 0,3g et 0,4g (0,5 ; 1 ; 1,5 et 2g/kg) des poudres des terres de diatomées avec 200g de niébé ont été introduits dans des bocaux de 900ml dans les mêmes conditions que celui de la section 4.1. Une masse de 0,1g de Malagrain correspondant à une dose de 0,5g/kg (dose recommandée) a constitué notre témoin positif. Les témoins négatifs sont constitués des bocaux contenant 200g de niébé n'ayant reçu aucune masse de poudres. Les mélanges du niébé avec les différentes poudres ont été secoués pendant 2 minutes afin de permettre l'adhésion uniforme des produits au substrat. Les bocaux ont été infestés chacun avec un lot de 30 bruches âgées de 1 à 4 jours et de sexe indéterminé. Chaque dose a été répétée quatre fois pour un même traitement.

Au terme de quatre mois de stockage, les bruches morts et les bruches vivants, les grains non perforés et les grains perforés ont été comptés. L'évaluation des pertes en poids a été effectuée selon la méthode de comptage et de pesage d'Adams & Schulten (1978) :

$$P\% = \left[ \frac{(Ps \times Ne) - (Pe \times Ns)}{Ps (Ns + Ne)} \right] \times 100$$

Où  $Ne$  = nombre des graines endommagées,  $Ns$  = nombre de graines saines,  $Pe$  = poids des graines endommagées,  $Ps$  = poids des graines saines  $P\%$  = pourcentage de pertes.

### **2.4.4- Evaluation du pouvoir germinatif des graines traitées avec les poudres insecticides et infestées par *C. maculatus* après stockage**

La méthode de Rao *et al.* (2006) a été utilisée pour réaliser le test de germination. Dans des pots avec drainage, du sable humide a été introduit dans chaque pot. 30 graines du niébé non perforées issues du stockage ont été prélevées au hasard et semées dans des trous d'environ la même profondeur que la taille de graines selon un mode équidistant. Les pots ont été arrosés tous les 2 jours en évitant que les graines ne refassent surface. Les graines germées ont été comptées 10 jours après le semis (Girma *et al.*, 2008).

**NB :** Les paramètres climatiques (température et humidité) du laboratoire ont été enregistrées à l'aide d'un thermohygromètre de marque EL-USB-2+ (RH / TEMP DATA LOGGER), fabriqué par LASCAR (Chine) tout au long de nos manipulations.

#### 2.4.5- Analyse des données

Les données sur les pourcentages de mortalité, de réduction de la première descendance, des dégâts et de germination ont été transformées en  $\arcsin\sqrt{(x/100)}$ . Le nombre d'individus de la première descendance a été transformé en  $\text{Log}(x+1)$ . Ces données transformées ont été soumises à la procédure d'analyse des variances (ANOVA) utilisant le système d'analyse statistique (Zar 1999 ; SAS Institute 2003). Pour la séparation des moyennes, le test de Student-Newman-Keuls a été employé. L'analyse de Probit (Finney 1971 ; SAS Institute 2003) a été conduite pour déterminer les doses létales causant 50% ( $DL_{50}$ ) et 95% ( $DL_{95}$ ) de mortalité de *C. maculatus* après 1, 3 et 7 jours de traitement. La formule d'Abbott (Abbott, 1925) a été utilisée pour corriger la mortalité de contrôle avant l'application de l'ANOVA et l'analyse Probit. Les figures ont été réalisées avec le logiciel SigmaPlot 2000(R) version 6.0. (SPSS, 2000).

## CHAPITRE 3 : RESULTATS

### 3.1- Toxicité des terres de diatomées et des produits de Neem sur les adultes de *Callosobruchus maculatus*

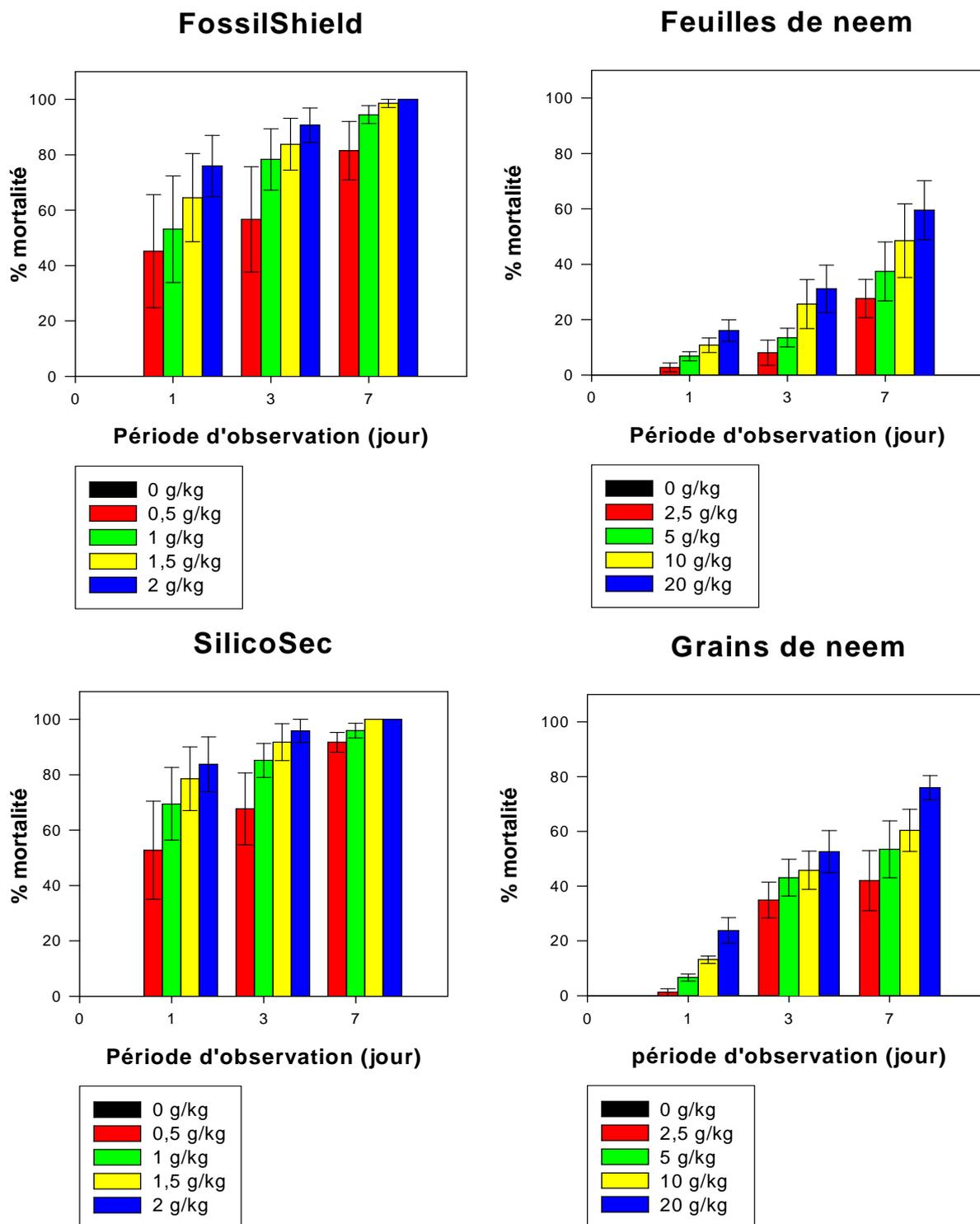
#### 3.1.1- Mortalité

L'observation de la figure 4 montre une augmentation significative de la mortalité de *C. maculatus* par rapport à l'augmentation des différentes concentrations ( $F_{(4,72)} = 5,73-484,37$  ;  $P=0,0001$ ) et de temps d'exposition ( $F_{(4,72)} = 8,04-484,37$  ;  $P=0,0001$ ). L'efficacité des produits par rapport à la mortalité à toutes les périodes peuvent être classé comme suit : SilicoSec > FossilShield >>> Grains de neem > Feuilles de neem.

Les terres de diatomées induisent un taux de mortalité de 100% en 7 jours d'exposition à la dose de 2g/kg pour le FossilShield et aux doses de 1,5g/kg et 2g/kg pour le SilicoSec. A la dose minimale (0,5g/kg) on enregistre un taux de mortalité avoisinant 50% pour les deux formulations des terres de diatomées à un jour d'exposition. En 7 jours et à la même dose minimale, on observe un taux moyen de mortalité de  $81,48 \pm 10,51\%$  pour le FossilShield contre  $91,73 \pm 3,54\%$  pour le SilicoSec.

Les produits de neem ont une très faible toxicité à la dose minimale (2,5g/kg) après un jour d'exposition. Mais en 7 jours, on enregistre un taux de mortalité de  $27,75 \pm 6,95\%$  pour les feuilles de neem et  $42,09 \pm 10,95\%$  pour les grains de neem à la même dose minimale. A la dose maximale de 20g/kg, on passe d'un taux de mortalité de  $15,98 \pm 3,88\%$  en un jour d'exposition à  $59,59 \pm 10,61\%$  en 7 jours d'exposition pour les feuilles de neem et de  $23,83 \pm 4,66\%$  en un jour d'exposition à  $75,93 \pm 4,43\%$  en 7 jours post-infestation quant aux grains de neem.

L'insecticide de référence utilisé (Malagrain) a induit en un jour, 100% de mortalité à la dose recommandée de 0,5g/kg.



**Figure 4** : Mortalités cumulées corrigées (%) (moyenne  $\pm$  erreur standard) induites par les produits du neem et des terres de diatomées sur les adultes de *Callosobruchus maculatus* après 1, 3 et 7 jours d'exposition dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 0,96^\circ\text{C}$  ; HR.  $\approx 74 \pm 2\%$ ).

**NB** : le Malagrain à la dose de 0,5g/kg a causé un taux de mortalité de 100% en 1 jour.

### 3.1.2- Relation entre dose de produit et taux de mortalité de *C. maculatus*

Les poudres utilisées se sont révélées toxiques pour les adultes du bruche du niébé et cette toxicité augmente avec les doses utilisées (tableau 1). Les doses létales 50 (DL<sub>50</sub>) et 95 (DL<sub>95</sub>) diminuent lorsque la période d'exposition pour chaque produit augmente.

La DL<sub>50</sub> de FossilShield et du SilicoSec sont identiques et passe de 0,4 g/kg (3jours) à 0,2 g/kg (7 jours). La DL<sub>95</sub> de FossilShield est de 3,2g/kg en 3 jours et de 1,00 g/kg en 7 jours tandis qu'elle est de 2 g/kg en 3 jours et de 0,6g/kg en 7 jours pour le SilicoSec. Les pentes différent peu avec la période d'exposition (pente=  $2,03 \pm 0,35$  en 3 jours et  $2,38 \pm 0,69$  en 7 jours pour le SilicoSec et  $1,84 \pm 0,31$  en 3 jours et  $2,80 \pm 0,55$  en 7 jours pour le FossilShield). L'efficacité de terre de diatomées varie d'une formulation à l'autre. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) de FossilShield est de 0,61 en 3 jours et 0,63 en 7 jours tandis qu'il est de 0,67 et 0,58 respectivement en 3 et 7 jours pour le SilicoSec.

Pour les produits de neem, les doses létales 50 (DL<sub>50</sub>) et 95 (DL<sub>95</sub>) diffèrent pour les deux produits. La DL<sub>50</sub> de la poudre des feuilles de neem passe de 53,2 g/kg en 3 jours à 11,0 g/kg en 7 jours tandis qu'il varie de 14,6 (3 jours) à 4,2 (7 jours) pour la poudre des grains de neem. Les pentes ne varient pas de manière significative avec la période d'exposition ( $0,96 \pm 0,29$  en 1 jour ;  $1,04 \pm 0,23$  en 3 jours et  $0,93 \pm 0,19$  en 7 jours) avec les feuilles de neem. Pour les grains de neem, Elle varie d'une période à l'autre ( $1,51 \pm 0,30$  ;  $0,47 \pm 0,19$  ;  $0,95 \pm 0,19$  respectivement en 1, 3 et 7 jours).

Les valeurs de  $\chi^2$  sont toutes non significatives à toutes les périodes pour les quatre produits utilisés.

### 3.2- Effet des terres des diatomées et des poudres végétales sur la production de la descendance

Une réduction significative de l'émergence de la première descendance avec tous les produits utilisés par rapport au contrôle négatif est observée (tableau 4). Cette inhibition est dose dépendant et croit quand on augmente la dose ( $F_{(4,72)} = 5,73-484,37$  ;  $P=0,0001$ ). En termes d'inhibition de la descendance, le classement des différents produits peut se faire comme suit : SilicoSec > FossilShield >> grains de neem > feuilles de neem. A la dose maximale 2g/kg, on enregistre un pourcentage de réduction de  $93,78 \pm 1,91\%$  pour le SilicoSec et  $87,00 \pm 3,53\%$  pour le FossilShield. Concernant les produits de neem, la poudre des grains de neem a presque réduit totalement l'émergence à toutes les doses. A la dose de 20g/kg, les grains de neem enregistrent un taux de réduction de  $97,83 \pm 1,14\%$  tandis que pour les feuilles de neem, nous avons  $88,23 \pm 3,29\%$  pour la même dose. A la dose minimale de 2,5g/kg le taux d'inhibition est de  $54,90 \pm 5,29\%$  pour les feuilles de neem alors que pour les grains à la même dose, on enregistre un taux de  $85,35 \pm 4,23$ . A toute dose des produits utilisés, le taux d'inhibition de la descendance était supérieur à 50%. Le Malagrain à la dose recommandée (0,5g/kg) inhibe totalement l'émergence de la première descendance de *C. maculatus*.

**Tableau 3** : Dose létale des quatre poudres insecticides causant 50% (DL<sub>50</sub>) et 95% (DL<sub>95</sub>) de mortalité de *C.maculatus* à 1, 3, 7 jours d'exposition dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 24 \pm 1,2$  °C ; HR.  $\approx 75 \pm 2,8\%$ ).

Produit	n	Pente $\pm$ E.S.	R <sup>2</sup>	DL <sub>50</sub> (95%LF) g/kg	DL <sub>95</sub> (95%LF) g/kg	$\chi^2$
<b>1 jour</b>						
Feuilles de neem	5	0,96 $\pm$ 0,29	0,65	-	-	0,24 <sup>ns</sup>
Grains de neem	5	1,51 $\pm$ 0,30	0,81	56,8(33,6-175,6) <sup>a</sup>	-	0,57 <sup>ns</sup>
FossilShield	5	1,29 $\pm$ 0,29	0,43	0,2(0,4-0,8)	13,2(6,0-90,2) <sup>a</sup>	2,14 <sup>ns</sup>
SilicoSec	5	1,52 $\pm$ 0,30	0,56	0,4(0,2-0,6)	5,4(3,4-16) <sup>a</sup>	0,01 <sup>ns</sup>
<b>3 jours</b>						
Feuilles de neem	5	1,04 $\pm$ 0,23	0,50	53,2(28,6-227,4) <sup>a</sup>	-	0,77 <sup>ns</sup>
Grains de neem	5	0,47 $\pm$ 0,19	0,48	14,6(8-245,4)	-	0,22 <sup>ns</sup>
FossilShield	5	1,84 $\pm$ 0,31	0,61	0,4(0,2-0,6)	3,2(2,2-5,8) <sup>a</sup>	0,40 <sup>ns</sup>
SilicoSec	5	2,03 $\pm$ 0,35	0,67	0,4(0,2-0,4)	2,0(1,9-3,0)	0,12 <sup>ns</sup>
<b>7 jours</b>						
Feuilles de neem	5	0,93 $\pm$ 0,19	0,51	11,0(8,0-17,8)	-	0,002 <sup>ns</sup>
Grains de neem	5	0,95 $\pm$ 0,19	0,60	4,2(2,6-5,8)	-	0,77 <sup>ns</sup>
FossilShield	5	2,80 $\pm$ 0,55	0,63	0,2(0,2-0,4)	1,0(0,8-1,2)	0,93 <sup>ns</sup>
SilicoSec	5	2,38 $\pm$ 0,69	0,58	0,2(0,0-0,2)	0,6(0,4-1,0)	3,12 <sup>ns</sup>

- : les valeurs de la DL<sub>50</sub> et de la DL<sub>95</sub> n'ont été déterminées à cause de la faible mortalité

<sup>a</sup> : les valeurs de la DL<sub>50</sub> et de la DL<sub>95</sub> sont données par extrapolation

<sup>ns</sup> p>0,05 FL : Fiducial limit

**Tableau 4:** Production de la première descendance (moyenne  $\pm$  erreur standard) de *C. maculatus* dans les grains traités par les produits de neem et des terres de diatomées dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 24 \pm 1,2$  °C ; HR.  $\approx 75 \pm 2,8\%$ ).

Produits et doses (g/kg)	Moyenne de la descendance	Pourcentage de réduction des adultes émergents en fonction du contrôle
<b>Feuilles de neem</b>		
0	210,5 $\pm$ 14,44 <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>
2,5	94,00 $\pm$ 9,94 <sup>b</sup>	54,90 $\pm$ 5,29 <sup>c</sup>
5	70,75 $\pm$ 11,76 <sup>bc</sup>	66,78 $\pm$ 4,47 <sup>bc</sup>
10	42,25 $\pm$ 9,24 <sup>cd</sup>	80,45 $\pm$ 3,37 <sup>ab</sup>
20	25,50 $\pm$ 7,62 <sup>b</sup>	88,23 $\pm$ 3,29 <sup>a</sup>
F	45,29 <sup>***</sup>	86,74 <sup>***</sup>
<b>Grains de neem</b>		
0	210,50 $\pm$ 14,44 <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
2,5	32,50 $\pm$ 11,87 <sup>b</sup>	85,35 $\pm$ 4,23 <sup>b</sup>
5	14,00 $\pm$ 6,72 <sup>bc</sup>	93,85 $\pm$ 2,48 <sup>ab</sup>
10	7,50 $\pm$ 3,66 <sup>bc</sup>	96,73 $\pm$ 1,37 <sup>a</sup>
20	5,00 $\pm$ 3,00 <sup>c</sup>	97,83 $\pm$ 1,14 <sup>a</sup>
F	93,30 <sup>***</sup>	325,58 <sup>***</sup>
<b>FossilShield</b>		
0	210,50 $\pm$ 14,44 <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
0,5	63,75 $\pm$ 10,87 <sup>b</sup>	69,85 $\pm$ 4,93 <sup>b</sup>
1	46,50 $\pm$ 9,60 <sup>b</sup>	78,40 $\pm$ 3,46 <sup>ab</sup>
1,5	38,25 $\pm$ 10,06 <sup>b</sup>	82,40 $\pm$ 4,12 <sup>ab</sup>
2	28,75 $\pm$ 9,42 <sup>b</sup>	87,00 $\pm$ 3,53 <sup>a</sup>
F	47,73 <sup>***</sup>	98,89 <sup>***</sup>
<b>SilicoSec</b>		
0	210,50 $\pm$ 14,44 <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
0,5	48,25 $\pm$ 12,32 <sup>b</sup>	77,20 $\pm$ 5,72 <sup>b</sup>
1	32,00 $\pm$ 5,96 <sup>bc</sup>	84,65 $\pm$ 3,00 <sup>ab</sup>
1,5	18,50 $\pm$ 5,91 <sup>bc</sup>	91,63 $\pm$ 2,09 <sup>a</sup>
2	12,50 $\pm$ 3,18 <sup>c</sup>	93,78 $\pm$ 1,91 <sup>a</sup>
F	77,89 <sup>***</sup>	155,78 <sup>***</sup>
<b>Malagrain</b>		
0	210,50 $\pm$ 14,44 <sup>a</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>
0,5	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	100 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>

\*\*\* :  $p < 0,0001$

**NB :** Pour le même produit les moyens portant la même lettre minuscule ne présentent pas de différence selon le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5%.

### **3.3- Croissance de population de *C. maculatus* et dégâts**

#### **3.3.1- Réduction de la croissance de population**

La moyenne d'inhibition de la croissance de la population de *C. maculatus* augmente de façon significative en fonction de variation des doses pour chaque produit utilisé ( $F_{(4,11)}=132,66-224,23$ ;  $P=0,0001$ ) (Figure 5). Les terres de diatomées à la dose maximale de 2g/kg et les grains de neem à sa dose maximale de 20g/kg tout comme l'insecticide de référence (Malagrain 0,5g/kg) suppriment la croissance de la population des bruches, aucune bruche n'émerge sauf les 30 individus qui ont été utilisés pour infester le niébé au début de l'expérimentation. Le faible taux d'inhibition de la croissance de la population des bruches est causé par les feuilles de neem ( $265,75 \pm 54,94$  à la dose maximale de 20g/kg). Pour tous les produits utilisés et à des différentes doses, on enregistre plus de morts que des vivants. Le classement des produits utilisés en treme de reduction de la croissance de la population est comme suit : Feuilles de neem < grains de neem << FossilShield < SilicoSec<< Malagrain.

#### **3.3.2- Réduction des perforations des grains**

Le taux de grains perforés du niébé après quatre mois de stockage diminue significativement avec les produits utilisés quand on augmente la dose ( $F_{(4,11)}=109,13-2581,01$  ;  $P=0,0001$ ) (Figure 6).

Pour les terres de diatomées, le pourcentage d'attaque est pratiquement nul avec le FossilShield et le SilicoSec à la dose de 2g/kg ainsi que le Malagrain (0,5g/kg).

Pour les produits de neem, le taux d'attaque à la dose maximale (20g/kg) est presque nul avec la poudre des grains de neem ( $0,05 \pm 0,05\%$ ) et pour celle des feuilles de neem ( $26,95 \pm 4,68\%$ ) à la même dose. L'effet des produits utilisés est classé selon le pourcentage des grains perforés comme suit : Feuilles de neem < grains de neem << FossilShield < SilicoSec<< Malagrain.

#### **3.3.3- Réduction des pertes**

Les différents produits montrent une réduction significative des pertes en masse occasionnées par *C. maculatus* sur les grains du niébé traités ( $F_{(4,11)}=8,49-14,29$  ;  $P=0,0001$ )

(Figure 7). Lorsque la dose augmente pour chaque produit, on constate une augmentation du taux de réduction en perte.

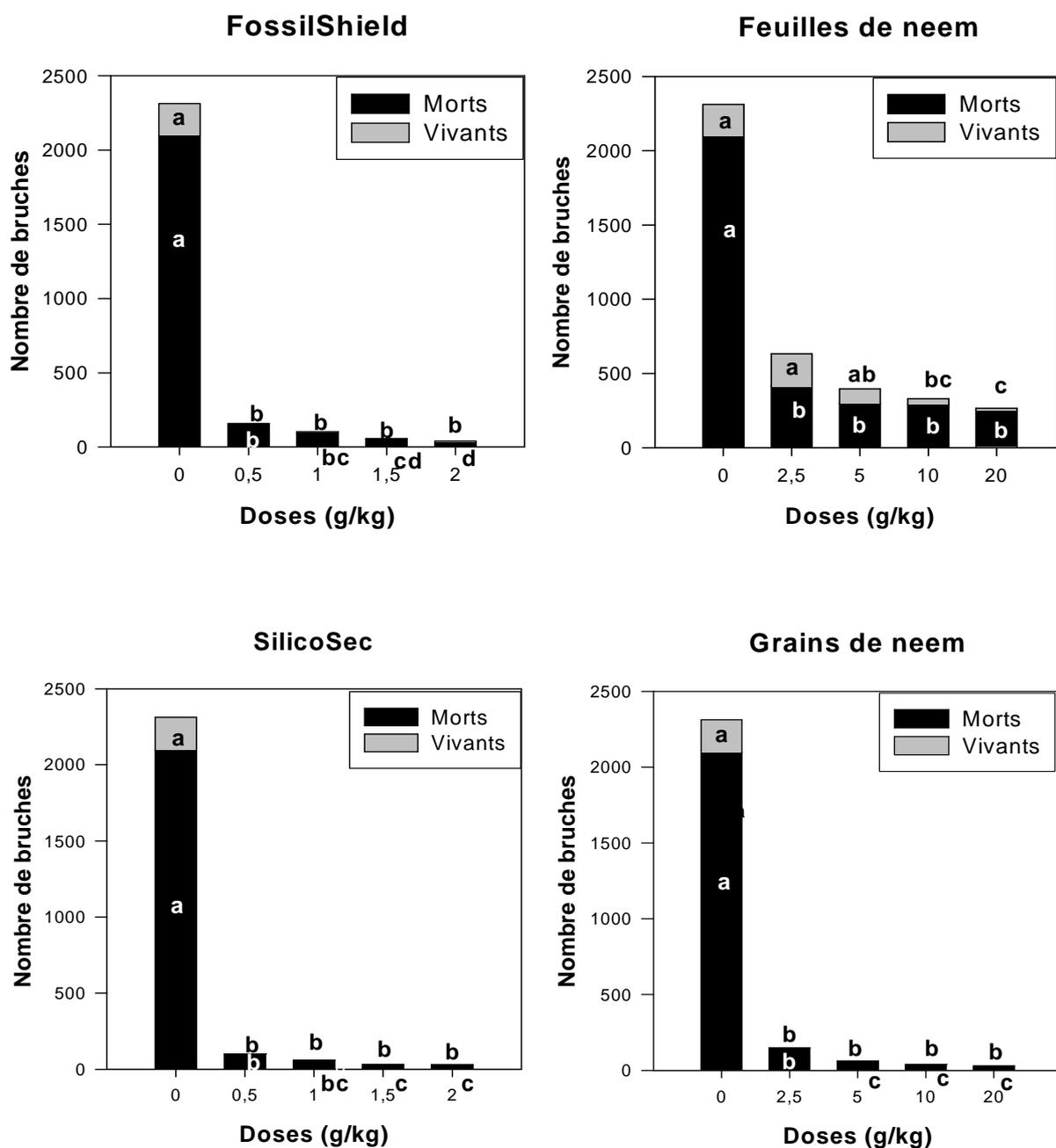
Les terres de diatomées enregistrent un faible taux de perte à toutes les doses. Le SilicoSec, le FossilShield (2g/kg) ainsi que l'insecticide de référence enregistrent un taux en perte massique nulle.

Quant aux produits de neem, les grains de neem permet d'obtenir le taux de perte massique presque nul à toutes les doses. A la dose de 20g/kg, aucune perte n'est observée. Le plus grand taux de perte massique est observé avec les feuilles de neem à la dose maximale de 20g/kg qui est de  $12,50 \pm 1,89\%$ . Le classement des produits en terme de perte massique du niébé est le suivant : feuilles de neem < grains de neem << FossilShield < SilicoSec << Malagrain.

### **3.4- Pouvoir germinatif post-stockage des grains traités**

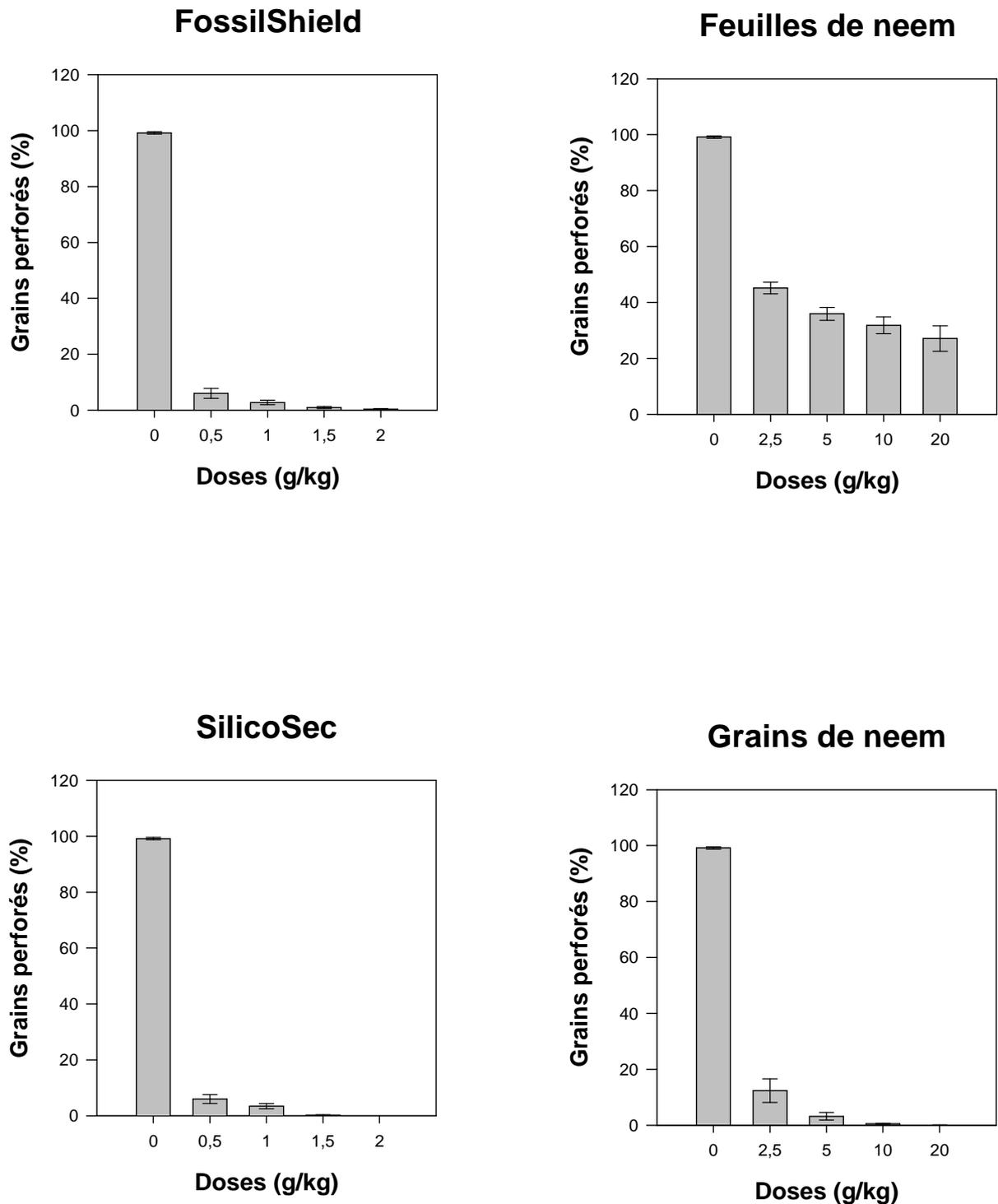
Les grains traités aux différents produits (terres de diatomées, produits de neem) après quatre mois de stockage présentent des variations de pourcentage de germination selon le produit  $F_{(4,11)} = 31,05-94,74$  ;  $P=0,0001$ ) (Figure 8). Les terres de diatomées ne présentent pas de différence significative entre les formulations et les différentes doses. Le taux de germination varie de  $70,83 \pm 2,86\%$  (à la dose minimale) à  $75,00 \pm 3,96\%$  (à la dose maximale) pour le FossilShield et de  $57,30 \pm 5,98\%$  (0,5g/kg) à  $80,00 \pm 3,60\%$  (2/kg) pour le SilicoSec.

Les grains traités avec les poudres de neem présentent une différence significative entre les deux produits. Pour les feuilles de neem à la dose minimale (2,5g/kg), le taux de germination croit avec l'augmentation de la dose (2,5g/kg (54,98%) à 20g/kg (80,85%) tandis que l'inverse est observé pour les grains de niébé traités avec la poudre des grains de neem. Les graines traitées au Malagrain (0.5 g/kg) présentent un taux de germination de 77,50%.



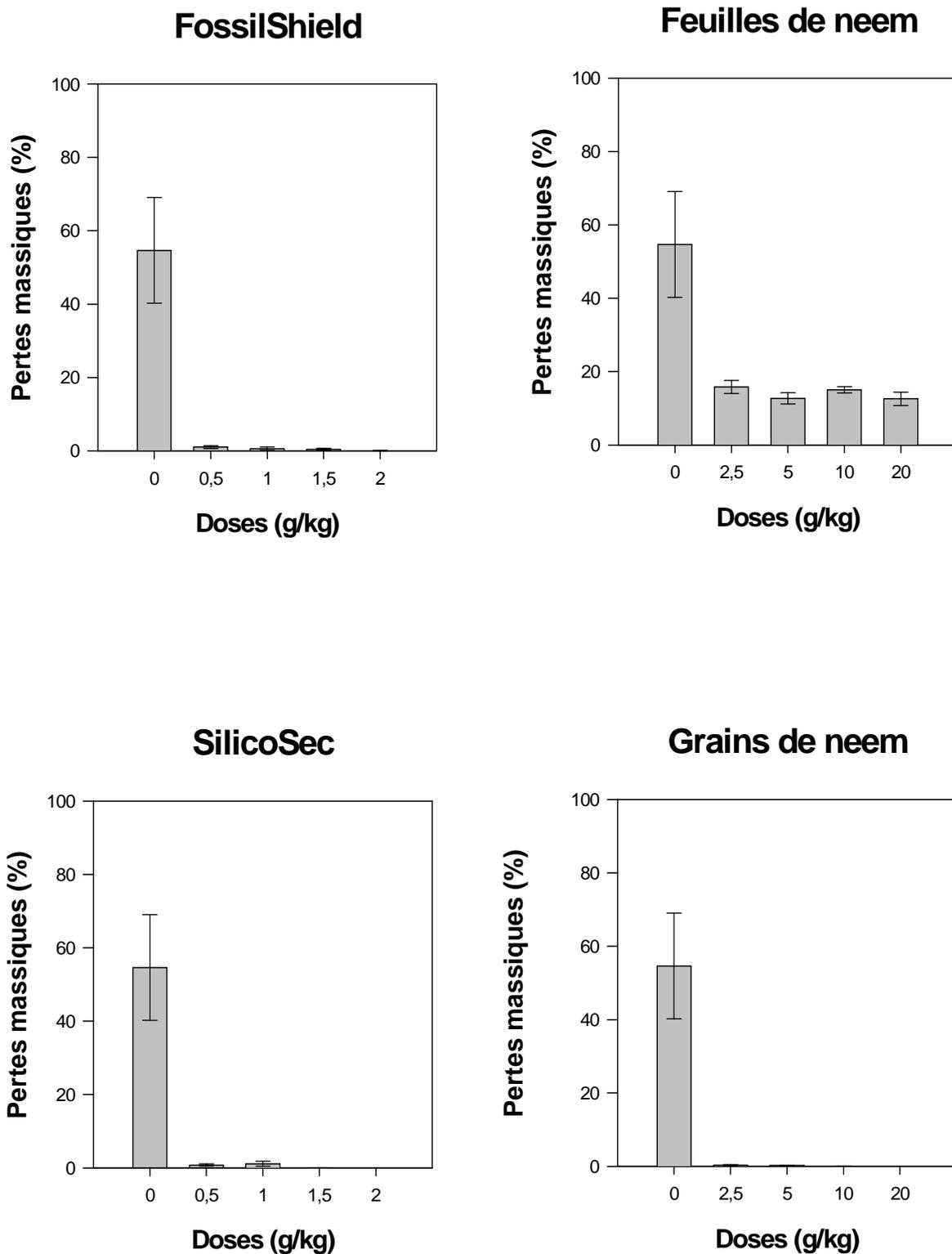
**Figure 5 :** Nombre de bruches morts et des bruches vivants (moyenne  $\pm$  erreur standard) dans les grains du niébé traités avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

**NB:** Les portions de même couleur portant une même lettre minuscule ne présentent pas de différence significative selon le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5%. Les 30 charançons introduits dans le lot traité au Malagrain à la dose recommandée de 0,5g/kg étaient tous morts.



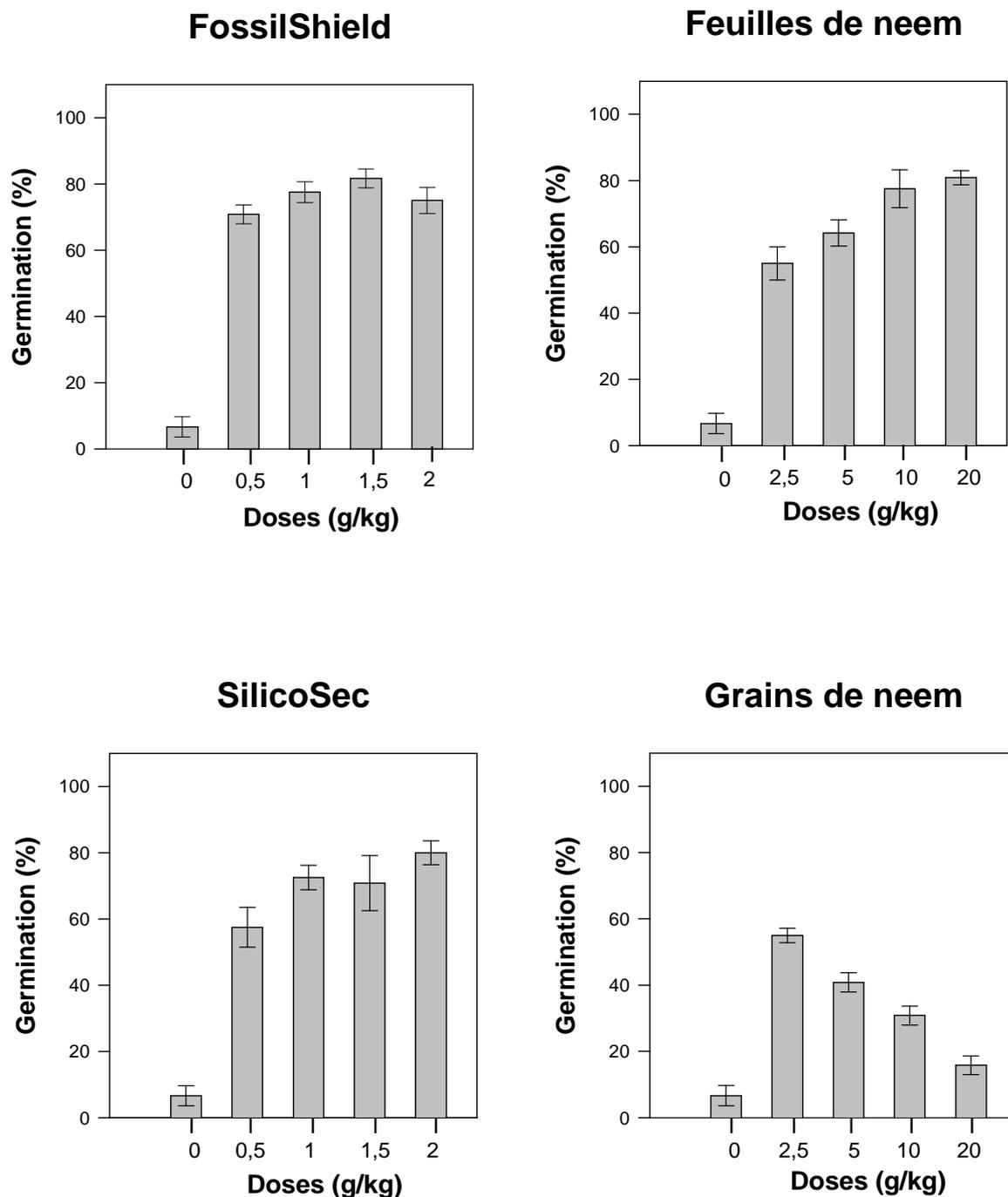
**Figure 6:** Pourcentage de grains perforés (moyenne  $\pm$  erreur standard) après quatre mois de stockage après traitement avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

**NB :** aucun grain perforé n'a été observée avec le Malagrain.



**Figure 7:** Pourcentage de pertes massiques (moyenne  $\pm$  erreur standard) après quatre mois de stockage après infestation et traitement avec les terres de diatomées et les poudres de neem dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

**NB :** aucune perte massique n'a été observée avec le Malagrain.



**Figure 8:** Taux de germination (moyenne  $\pm$  erreur standard) des grains infestés par les bruches et traités avec les poudres des produits de neem et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

**NB :** Avec le Malagrain, le taux de germination est de 77%.

## CHAPITRE 4 : DISCUSSION

Les résultats des différentes expériences ont montré une mortalité significative de *C. maculatus* avec les produits utilisés. Elle serait due aux composés chimiques contenus dans les formulations des terres de diatomées et des produits de neem. Le principe actif qui détermine les propriétés insecticides des terres de diatomées est l'oxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ) agissant mécaniquement en provoquant une déshydratation par l'absorption de l'eau de l'épicuticule, suivit de la dessiccation et la mort de l'insecte (Vayias *et al.*, 2008). Quant aux produits de neem, la létalité serait due à l'azadirachtine, triterpénoïde toxique pour de nombreux insectes (Isman *et al.*, 1996 b) et d'autres composés comme la nimbine, la salanine, le meliandriol (Schmutterer, 1990) qui, tous agissent comme un anti-appétant, un répulsif et un insecticide pour les insectes (Gauvin *et al.*, 2003). La mort des bruches qui augmente avec la dose des produits pourrait s'expliquer par l'augmentation de la quantité des principes actifs (Kim *et al.*, 2002). Avec le SilicoSec à la dose 2g/kg, nous avons enregistré un taux de mortalité de 95,83% en 3 jours et 100% en 7 jours. Ces résultats vont dans le même sens que celui de Girma *et al* (2008) qui ont rapporté que le taux de mortalité causé par le SilicoSec sur *Sitophilus zeamays* était de 99,1% après 3 jours et 100% à partir de 7 jours à la même dose (2g/kg). De même, Collins (2006) avec le SilicoSec sur *T. castaneum*, *S. oryzae*, *Acarus siro* et *Ephestia kueniella* et Mewis & Ulrichs (2001) avec le FossilShield contre *T. castaneum* (Herbst) ont aussi obtenu des résultats similaires. *C. maculatus* est plus susceptible au SilicoSec ( $\text{DL}_{95}$ = 0,6g/kg en 7 jours) qu'au FossilShield ( $\text{DL}_{95}$ = 1,0g/kg en 7 jours). Ulrichs *et al.*, (2009) ont obtenu un résultat similaire avec le SilicoSec *C. maculatus* et *S. oryzae*. Ceci s'expliquerait par leur composition chimique: le dioxyde de silice qui donne aux terres de diatomées, leur propriété insecticide est en proportion élevée dans la formulation du SilicoSec (92%) par rapport au FossilShield (72%) (Rihotha *et al.*, 2003). En plus, l'efficacité insecticide du SilicoSec est démontré par sa richesse en additifs (3% d' $\text{Al}_2\text{O}_3$ , 1% de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et 1% de  $\text{Na}_2\text{O}$ ) par rapport au FossilShield (3% de silice amorphe seulement) (Athanassiou *et al.*, 2003). La poudre des grains de neem ( $\text{DL}_{50}$ = 4,2g/kg en 7 jours) est plus efficace que la poudre des feuilles de neem ( $\text{DL}_{50}$ = 11,0g/kg en 7 jours). Ceci est lié sans doute à la variation de la teneur en principe actif (azadirachtine) dans les différents organes de la plante, elle est plus concentrée au niveau des grains qu'au niveau des feuilles (Schmutterer, 1981 ; Singh, 1987). A la dose de 10g/kg et 20g/kg, nous avons enregistré un taux de mortalité respectivement de 25% et 31% pour les feuilles de neem et de 45% et 52% pour les grains de neem après 3 jours d'exposition dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 0,96^\circ\text{C}$  ;

HR.  $\approx 74 \pm 2\%$ ). Ce qui serait loin des résultats obtenus par Seck *et al.* (1991) qui ont enregistré un taux de mortalité de *C. maculatus* de 47% et 73% respectivement à la dose de 10g/kg et 20g/kg pour les feuilles de neem et de 85% pour les deux doses pour les grains de neem à la même période dans les conditions fixes de  $32 \pm 3^\circ\text{C}$  ;  $45 \pm 5\%$  HR.. Cette différence de résultats s'expliquerait les différences observées au niveau des conditions expérimentales car à basse température et avec un taux d'humidité élevé comme dans notre cas, les poudres insecticides perdent leur efficacité (Schmutterer, 1990). De plus, la quantité d'Azadirachtine peut varier considérablement dans les organes de la plante selon les conditions climatiques, la composition du sol, le génotype, l'âge et la période de la récolte de l'arbre (Ermel *et al.*, 1986 ; Singh, 1986). Faraway (2002) rapporte qu'en sciences biologiques lorsque les coefficients de détermination  $R^2$  sont inférieurs à 0,6, les résultats favorables trouvés ne sont pas attribuables aux produits utilisés. Mais dans notre cas, les faibles valeurs de coefficients de détermination observées dans quelques cas sont liées aux dosages élevés des substances appliquées et qu'il n'y a pas de variation de mortalité. Ce qui nous permet d'affirmer que la mortalité des bruches est en général liée aux doses. Les valeurs de Khi-carré ( $\chi^2$ ) en 1, 3 et 7 jours ne sont pas significatives pour tous les produits, ce qui signifie que le modèle obtenu se rapproche de modèle théorique concernant la toxicité de substances utilisées (Finney, 1971).

L'inhibition de la production de la première descendance de *C. maculatus* dans le niébé traité avec les poudres de neem et des terres de diatomées varie significativement avec les différents produits par rapport au contrôle. Cette variation pourrait être expliquée par la présence dans les différents produits utilisés, des composés ayant des effets inhibiteurs sur l'ovipositeur, la fécondité et la fertilité de l'insecte. Les terres de diatomées à la dose de 2g/kg ont réduit le pourcentage des adultes émergents de plus de 80%. Ce résultat se rapproche de ceux obtenus par Girma *et al.* (2008) et Nukenine *et al.* (2010). Selon eux, aucune émergence de *S. zeamays* n'a été observée avec le SilicoSec aux doses de 1 et 2g/kg. Cette capacité inhibitrice serait due aux propriétés physico-chimiques de ces derniers (FossilShield et SilicoSec). Ces poudres inertes sont constituées des particules fines qui s'adhèrent facilement aux grains et à l'insecte empêchant ainsi les femelles des bruches de pondre car il a été montré que les femelles de *C. maculatus* sont capables de reconnaître et de sélectionner les grains légèrement ou pas couvert de poudres pour y pondre les œufs (Rohitha *et al.*, 2003). Le dioxyde de silice absorbe en plus de l'eau, des substances organiques comme les phéromones sexuelles qui permettent l'attraction des mâles pour l'accouplement, d'où l'absence de

fécondation (Rohitha *et al.*, 2003). La réduction de l'émergence de la première descendance par les produits de neem serait due à l'action de l'azadirachtine et d'autres composés qui les constituent. L'effet inhibiteur de la progéniture des grains de neem (85 à 97%) est supérieur à celui des feuilles (54 à 88%). Ivbijaro (1983), Singh (1986), Echendu (1991), et Seck *et al* (1991) ont montré que la poudre des grains d'*Azadirachta indica* possède des propriétés insecticides qui se manifestent par la diminution de la fécondité des femelles, le prolongement de la période de développement (larvaire et nymphal) et la diminution de l'émergence. Dans le même sens, Kellouche & Soltani (2004) ont montré que les poudres des feuilles de quatre plantes riche en huiles essentielles (le figuier, l'olivier, le citronnier et l'eucalyptus) réduisent la fécondité des femelles de *C. maculatus* sur les grains de pois chiche. L'azadirachtine a pour effet d'agir comme régulateur de croissance en bloquant par mimétisme avec l'ecdysone, le système endocrinien avec pour conséquence le ralentissement ou l'arrêt total du développement morphogénétique et des désordres physiologiques accompagnés des troubles comportementaux de l'insecte (Isman, 2006 ; Petit, 2008).

La réduction de la croissance de la population de *C. maculatus* par les terres de diatomées et les produits de neem ont été enregistré après quatre mois de stockage. Tous les produits ont inhibé de manière significative la population des bruches par rapport au contrôle et nous avons observé qu'il ya plus de morts que de vivants. Ceci serait due soit à l'action du produit sur l'insecte, soit à leur mort naturel car *C. maculatus* a une durée de vie brève qui varie avec les conditions climatiques (PICS, 2008). Les terres de diatomées ont réduit presque la totalité de la population des bruches aux doses de 1.5g/kg et 2g/kg. Des résultats similaires ont été observés par Goudougou (2010) avec FossilShield et SilicoSec ; Girma *et al.* (2008) avec le SilicoSec sur *S. zeamays* et Korunic & Mackay (1999) avec Protect-It sur *Triticum aestivum*. Cette inhibition de la population s'expliquerait par la mortalité des adultes causés par l'effet mécanique et chimique des terres de diatomées. En effet, l'action adhésive et déshydratante des terres de diatomées affaiblie l'insecte en empêchant ainsi l'accouplement (Rohitha, 2000). La poudre des grains de neem a réduit presque totalement la population des bruches par rapport aux feuilles aux doses de 10g/kg et 20g/kg. Or, Chouka (2007) a obtenu à la dose de 20g/kg, en moyenne 41,7 charançons vivants après trois mois de stockage avec la poudre des grains de neem dans les conditions fluctuantes. Cette différence serait attribuée aux conditions climatiques du laboratoire qui différent, le lieu et la période de récolte des fruits de neem et aussi la période de l'expérimentation. La réduction des bruches serait due non seulement à la mortalité des adultes par leur courte durée de vie et l'effet anti-appétant,

repulsif et insecticide de l'azadirachtine, mais aussi l'inhibition du développement du stade jeune (larve, pupa) dans leur cycle, empêchant ainsi l'émergence d'une nouvelle génération.

En comparaison avec le contrôle, tous les poudres utilisées ont contribué à la réduction des dommages et pertes du niébé stocké pendant quatre mois. La perforation des grains et les pertes en masse sont beaucoup plus observées dans le traitement avec la poudre des feuilles de neem. *C. maculatus* n'a presque pas attaqué les grains du niébé traités avec des terres de diatomées à toutes les doses. Des résultats similaires ont été enregistrés par Girma *et al.* (2008) et Goudougou (2010) avec le maïs aux doses de 0,5, 1, 2g/kg du SilicoSec. A la dose de 20g/kg, nous n'avons enregistré aucun dégât occasionné sur les grains traités avec la poudre des grains de neem. Pour cette même poudre insecticide, des observations similaires ont été faites par Tofel (2010) et Nukenine *et al.*, (2010).

Le pouvoir germinatif des graines attaquées par les bruches peut fortement diminué et peut entraîner chez les graines perforées des attaques importantes par des germes pathogènes (Gain, 1897). Après l'attaque des insectes, les moisissures peuvent altérer, voire détruire, la vigueur et le pouvoir germinatif des semences (Cruz *et al.*, 1988). C'est ce qui a été observé dans le contrôle avec un taux de viabilité presque nul. En général, lorsque la variation des conditions climatiques du milieu de stockage est mal contrôlée, il y aurait une diminution du pouvoir germinatif (Couturon, 1980), observable à partir de 4 mois de stockage. C'est ce qui a été expérimenté par Couturon (1980) avec *Coffea canephora* et *C. stenophylla* où moins de 50% de taux de viabilité a été observé à partir de quatre mois dans les conditions fluctuantes contre 90% dans une atmosphère contrôlée en quinze mois de stockage. En effet, au cours du stockage, les graines augmentent leur teneur en eau si l'enceinte n'est pas contrôlé, d'où la nécessité d'exposition au soleil afin de maintenir la teneur en eau acceptable pour le stockage (Bertenshaw, 2007). Après douze mois de stockage, Smiderle et Cicero (1999) n'ont observé aucune détérioration de la qualité physiologique des grains de maïs traités avec les terres de diatomées. Ce qui corrobore avec nos observations où la viabilité des graines du niébé traitées avec les terres de diatomées n'était influencée ni par les formulations, ni par les doses. Le pouvoir germinatif du niébé traité avec la poudre des grains de neem est inférieure à celle traité avec les feuilles et décroît quand on augmente la dose. L'inhibition de la germination par la poudre des grains de neem s'expliquerait par sa richesse en huile car les graines couvertes d'huiles perdent leur capacité germinative par asphyxie en empêchant la respiration de ces dernières (De Groot, 1996).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

De ce qui précède, il est important de rappeler que notre présent travail contribue dans le cadre de conservation des légumineuses stockées (niébé) par l'utilisation des produits des plantes et des minéraux inertes peu ou non toxiques comme les produits de neem et les terres de diatomées. Toutes les poudres insecticides se sont révélées efficaces à l'égard des adultes de *C. maculatus*. Après 7 jours d'exposition, les terres de diatomées ont éliminé totalement la population des bruches suivie des poudres des grains de neem (75,93%) et des feuilles de neem (59,53%). Les différentes poudres utilisées ont réduit significativement la production de la première descendance. En général, le pourcentage de réduction de l'émergence de *C. maculatus* est de plus de 87% avec chaque poudre utilisée. L'inhibition de la croissance de la population de *C. maculatus* est totale pour les terres de diatomées (FossilShield et SilicoSec) et la poudre des grains de neem. Les dégâts et pertes occasionnés par *C. maculatus* sur les grains du niébé sont généralement nuls avec les terres de diatomées et la poudre des grains de neem. La poudre des feuilles de neem avec 12,60% de pertes massiques et 27,05% de grains perforés est moins efficace que les autres produits utilisés. Le niébé traité avec les produits utilisés ont plus ou moins conservé leur viabilité après quatre mois de stockage. Une diminution du taux de germination a été observée avec le niébé protégé avec la poudre des grains de neem lorsqu'on augmentait la dose.

Dans l'optique de promotion d'un développement durable et de protection de l'environnement, les terres de diatomées pourraient être considérées comme l'insecticide adéquat pouvant substituer les produits chimiques de synthèse comme le Malagrain. Au Cameroun et plus précisément dans les régions du Nord et de l'Extrême-Nord où l'agriculture est à dominance de subsistance et la végétation urbaine est constituée en grande partie des neems, les produits de neem pourraient être appliqués pour préserver le niébé des attaques de bruches.

En perspectives, il sera important de :

- caractériser et déterminer l'efficacité insecticide des terres de diatomées du Cameroun ;
- évaluer l'effet synergique ou additif probable produit par une combinaison des terres de diatomées et des poudres végétales ;
- déterminer l'efficacité de ces produits au cours des différentes périodes de l'année, afin de déterminer la bonne période d'application ;
- évaluer l'efficacité de ces produits sur d'autres espèces d'insectes prédateurs des denrées couramment consommées par les paysans ;
- Evaluer l'activité des auxiliaires sur les stades de développement des bruches.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbot W., 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economy and Entomology*, 18: 265-267.
- Abdel-Wahab A. M., Abdel-Rahim W. A. & Rizk M., 1975.** Comparative susceptibility of male and female southern cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (F.) to thirteen insecticides (Coleoptera: Bruchidae). *Bulletins Sociales Entomologie*. Egypte, *Service Economy*, 10 : 165-170.
- Abulude F. O., Ogunkoyal M. O., Ogunleye R. F., Akinola A. O. & Adeyemi A. O., 2007.** Effet of Palm oil in protecting stored grains from *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Entomology*, 4 (5): 393-396.
- Adéoti R., Coulibaly O. & Tamò M., 2002.** Facteurs affectant l'adoption des nouvelles technologies du niébé *Vigna unguiculata* en Afrique de l'Ouest. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, 36 : 18p.
- AFNOR, 1982.** Recueil des normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes. Jus de fruit. 1<sup>ère</sup> édition. France (Paris) : 27p.
- AGRI-STAT, 2009.** Annuaire des Statistiques du Secteur Agricole Campagnes 2006 & 2007. N°15 : 111p.
- Aïssata C., 2009.** Lutte contre *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) et *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Environnement, Université du Québec à Montréal, Canada : 173p.
- Akpovi C. S., 1993.** Etude au laboratoire de l'efficacité de *Dinarmus basalis* Rondani. (Hymenoptera : Pteromalidae) ectoparasite de *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire d'ingénieur Agronome. Université Nationale du Bénin. Cotonou Bénin : 98p.
- Alzouma I., 1981.** Observations of the ecology of *Bruchidius atrolineatus* Pic. et *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) in Niger. In: *The Ecology of Bruchids Attacking Legumes*. Edited by Labeyrie, Sunk, The Hague: 205-213
- Athanassiou C. G., Kavallieratos N. G. & Meletsis C. M., 2007.** Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations, applied alone or in combination, against three stored-product beetle species on wheat and maize. *Journal of Stored Products Research*, 43: 330-334.
- Badara D., 2005.** Le neem : l'anti-paludéen et l'insecticide naturel ; A la découverte d'un arbre aux multiples propriétés. PAN Afrique : 9p
- Bell A., 1994.** Emploi des substances végétales comme produits de protection des stocks contre le grand capusin du grain (*Prostephanus truncatus*) et autres ravageurs. GTZ, Eschborn, Allemagne: 7p.
- Bertenshaw V., 2007.** Améliorer l'identification, la manutention et la préservation des graines à « conservation difficile » Atelier de consultation. 10 – 14 Juillet 2006 Ouagadougou, Burkina Faso : 28p
- Bolévane O. S. F., Amevoïn K., Nuto Y., Monge J. P. & Glitho I. A., 2006.** Comparaison de quelques caractéristiques biologiques entre *Dinarmus basalis* Rond. (Hymenoptera: Pteromalidae) élevé soit sur son hôte habituel *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) soit sur *Acanthoscelides macrophthalmus* Schaeff. ou *Bruchidius lineatopygus* Pic. Identifiés comme hôtes de substitution. *Tropicicultura*, 24 (2) : 101-106.
- Boughadad A., Gillon, Y. & Gagnepain C., 1987.** Effect of *Arachis hypogea* seed fats on the larval development of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 23(2) : 99-103.
- Boukar, Seiny L., Poulain J. F. & Faure G., 1996.** Agriculture des savanes du Nord Cameroun vers un développement solidaire des savanes d'Afrique Centrale : 327-331.
- Boulétreau M., 1998.** Parasitisme et génétique dans le monde des insectes. *Pour la science*, 123 : 78-87.
- Camara, 1997.** Recherche sur les nouvelles substances biocides végétales application au contrôle des bruches du niébé *callosobruchus maculatus* F. et de l'arachide *caryedon serratus* 01. Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome : 78p.
- Caswell G.H., 1961.** The infestation of cowpea in the Western regions of Nigeria. *Tropical Sciences*3: 154-159
- Charrier A., M. Jacquet., Harnon D. & Nicolas., 1997.** L'amélioration des plantes tropicales. CIRAD/ORSTOM Pt : 483 - 503.
- Chouka P. F., 2007.** Toxicité des poudres des plantes du Nord Cameroun sur *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) et l'influence de la taille de la particule et du mode de séchage sur leur efficacité insecticide. Mémoire de Maîtrise en Biologie Animale, Université de Ngaoundéré, Cameroun : 58 p.
- Collins D. A. & Cook D. A., 2006.** Laboratory studies evaluating the efficacy of diatomaceous earth on treated surfaces against stored product insect and mite pests. *Journal of Stored Product Research*, 42(1) : 51-60.
- Couturon E., 1980.** Le maintien de la viabilité des graines de caféiers par le contrôle de leur teneur en eau et de la température de stockage. *Café Cacao Thé*, 24 : 27-32.

- Credland P. F., 1992.** The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research*, 28(1): 1-9.
- Credland P. F., 1990.** Biotype variations and host plant change in bruchids: cause and effects in the evolution of bruchids pests. Bruchids and legumes: *Economics Ecology and coevolution*, FUJI K: 271- 287.
- Cruz J. F., Tronde F., Griffon D., & Heber J. P., 1988.** Conservation des grains en région chaudes «techniques rurale en Afrique», 2<sup>ème</sup> édition, Ministère de la coopération et du développement, Paris France : 545 p.
- Cruz Renon A., Degune J. P., Carburet A, Hekimian C. & Ahmadi N., 2002.** Lutte contre les ravageurs des cultures. *Memento de l'agronomie* : 100-123.
- Daly H. V., Doyen, J. T. & Purcell III A. H., 1998.** Introduction to Insect Biology and Diversity, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Daniel S. H. & Smith R. H., 1990.** The repellent effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil and its residual efficacy against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) on cowpea. In : Proceeding of 5th international work. conference on Stored-Products Protection, Bordeaux : 9-14.
- De Groot, 2004.** Protection des céréales et des légumineuses stockées. Fondation Agromisa, Wageningen, 2<sup>e</sup> éd : 74p.
- De Groot, 1996.** Protection des céréales légumineuses stockées. *Agrodoc* N° 18, 1ère édition : 3-45.
- De Jussieu, 1830.** Memoire Musuem Historique Nationale, Paris, 19 : 220p.
- De Luca Y., 1967.** Hôtes larvaires des bruchidés (Coleoptera.) sauf fabacées. *Bulletin Sciences Naturelles de l'ouest de la France*, 64 : 35-58.
- Decelle J., 1981.** Bruchidae related to grain legumes in the perspectives. *Biologie survey of Canada Monograph Service*, 1: 439p.
- Decelle J., 1987.** Les coléoptères nuisibles aux légumineuses alimentaires cultivées dans la région afrotropicale. Colloque sur les légumineuses alimentaires. Université de Niamey, 1985. AUPELF : 188-200.
- Delobel A & Tran M., 1993.** Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les regions chaudes. *Faune Tropicale XXXII*. ORSTOM/CTA Eds, Paris : 424p.
- Delobel. A. & Malonga. P. 1987.** Insecticidal properties of six plants materials against *Caryedon serratus* (OL.) Coleoptera: Bruchidae. *Journal of Stored Product Research*, 23 : 173-176.
- Demissie G., Tefera T. & Tadesse A., 2008.** Efficacy of SilicoSec, filter cake and wood ash against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) on three maize genotypes. *Journal of Stored Product Research*, 44 : 227-231.
- Desmarchelier J. & Dines J., 1987.** Dryacide treatment of stored wheat : its efficacy against insects and residus after processing. Aust. *Journal Experimental of Agriculture*, 27 : 309-312
- Diaw S. C., 1999.** Evaluation de la résistance variétale du niébé (*Vigna unguiculata* L.Walp.) à la bruche (*Callosobruchus maculatus* F). Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome : 74p.
- Djidonou, 2000.** Contribution au recensement des composantes de la biodiversité pour une lutte intégrée contre les bruches du niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp) : cas de la zone de transition, Plateau-Vallée de l'Ouémé au Bénin. Mémoire d'Ingénieur Agronome FSA/UNB : 128p.
- Don-pedro K. N., 1985.** Toxicity of some citrus peels to *Dermestes maculatus* Deg. and *Callosobruchus maculatus* (F.). *Journal of Stored Products Research*, 21 (1) : 31-34.
- Duke J.A., 1990.** Introduction of food legumes. In Singh S.R.(ed.) *Insect pests of food legumes*. Chichester, John Wiley et sons : 1-42.
- Ebeling W., 1971.** Sorptive dusts for pest control. *Annual Review of Entomology*, 16 : 123-158.
- Echendu T. N. C., 1991.** Ginger, cashew and neem as surface protectants of cowpeas against infestation and damage by *Callosobruchus maculatus* (Fab.). *Tropical Sciences*, 31 : 209-211.
- Eigwuatu R., 1987.** Current status of conventional insecticides in the management of stored product insect pests in the tropics. *Insect Sciences and Application*, 8 (41 5/6) : 695-701
- Elbadry E. A. & Ahmed M. Y. Y., 1975.** Effects of gamma radiation on the egg stage of southern cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. *Z. angew. Entomology*, 79 : 323-328.
- Ermel K. E., Pahlich E. & Schmutterer H., 1986.** Azadirachtin content of neem kernels from different geographical locations, and its dependence on temperature, relative humidity and light. *Proceeding of 3rd International Neem Conference Nairobi, Kenya* : 171-184.
- Faraway J. J., 2002.** Practical Regression and Anova using R: 212p.
- Fery R. L., 1985.** The genetics of cowpea: a review of the world literature. In : *Cowpea research, production and utilization*, S.R. Singh et K.O. Rachie éd., New York, Etats-Unis, Wiley : 25-62.
- Finney D. J., 1971.** Probit analysis. Cambridge University Press, London, United Kingdom.
- Francis F., Haubruge E. et Gaspar C., 1998.** Les pucerons sont-ils résistants aux insecticides en Belgique ? *Parasitica*, 54 (4): 151-161.

- Gain E., 1897.** Sur la germination des grains de légumineuses habitués par les Bruches. *C. R. Ac. Sc. Paris*: 195-197.
- 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 oryzae* L.). *Cahiers Agricultures*, 5 : 39- 42.
- Gatehouse A. M. R., Gatehouse J. A., Dobie P., Kilminster A. M. & Boulter D., 1979.** Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. *Journal Science and Food Agriculture*, 30 : 948-958.
- Gauvin M.-J., Bélanger A., Nébié R. & Boivin G., 2003.** « *Azadirachta indica* : l'azadirachtine est-elle le seul ingrédient actif ? *Phytoprotection*, 84 (2) : 115-119.
- Giga D. P. & Smith R. H., 1987.** Egg production and development of *Callosobruchus rhodesianus* (Pic) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) on several commodities at two different temperatures. *Journal of Stored Products Research*, 23 (1): 9-15.
- Girma D., Tadele T. & Abraham T., 2008.** Efficacy of Silicosec, filter cake and wood ash against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) on three maize genotypes. *Journal of Stored Products Research*, 44: 227-231.
- Glitho I. A., Nuto Y., Attoh A., Sambena B. & Kounnou K., 1988.** Ecologie et biologie de la reproduction des Bruchidae parasites des légumineuses alimentaires cultivées au Togo et au Bénin. Rapport ABN (Biosciences), Lomé : 81p.
- Goudougou J. W., 2010.** Aptitude des terres de diatomées et des poudres végétales dans la protection de maïs contre l'infestation de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera : Curculionidae). Mémoire de Master en Biologie des Organismes Animaux, Université de Ngaoundéré, Cameroun : 77p.
- Guet G., 2002.** Applications de nim comme insecticide (nématicide en agriculture biologique). *Alternative Agriculture*, 54 :4-6.
- Gwinner J., Harnish R. & Muck O., 1996.** *Manuel sur la manutention et la conservation des graines après récolte*. Projet de protection des stocks et des récoltes (GTZ) RFA : 388p
- Hassan Shazali M. E., Taro I., & Akihiro M., 2004.** Mortality of eggs of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in carbon dioxide under high pressure. *Applied Entomology and Zoology*, 39 : 49-53.
- Haubruge E., Rigaux M., Arnaud L., Gaspard C. & Fields P., 2000.** Mise en évidence de la tolérance de *Tribolium castaneum* à l'égard d'une formulation à base de terre de diatomées. *In integrated Protection of Stored Products*, 25(10): 233-237
- Hekal A. M. & El-Kady E. A., 1987.** Effect of gamma radiation on the level of infestation with *Callosobruchus maculatus* (F.) in stored cowpea seeds. *Annual Agriculture Sciences., Egypt* 32(3): 1689-1698.
- Heong K. L., 1981.** Searching preference of the parasitoïd, *Anisopteromalus calandrae* (Howard) for different stages of the host, *Callosobruchus maculatus* (F.) in the laboratory. *Research of Population and Ecology*, 23 : 177-191.
- Hill Macdonald J. S. B., 1988.** Terre diatomée naturelle. *Ecological Agriculture Projects*, 42 (2) : 14, 42
- Hindmarsh P. S., Tyler P. S. & Webley D. J., 1978.** Conserving grain on the small farm in the tropics. *Outlook Agriculture*, 9(5) : 214-219.
- Howe R. W., 1978.** Introduction-The principles and problems of storage and pest control. *Outlook Agriculture*, 9(5) : 198-203.
- Huignard J., Leroi B., Alzouma I. & Germain J. F., 1985.** Oviposition and development of *Bruchidius atrolineatus* and *Callosobruchus maculatus* in *Vigna unguiculata* in cultures. in : *Niger Insect of Science Applied*, 6: 691-699.
- Hurtel J. M., 2007.** *Azadirachta indica*. *Phytomania* : 4p
- Hussein M. H. & Abdel-Aal Y. A. I., 1982.** Toxicity of some compounds against the cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *International Pests Control*, 24 : 12-16.
- IITA, 1975.** Grain legume improvement program. *Report of the external review 1975. International Institut of Tropical Agriculture*, Ibadan, Nigéria : 18-28
- IITA, 1982.** Le niébé: manuel de formation, Ibadan (Coll. Series de manuel 11) : 127p.
- Illiasa N., 2004.** Analyse de la gestion post-récolte de *Vigna unguiculata* (walp) Fabaceae et évaluation de l'importance insecticide des huiles essentielles de trois plantes aromatiques. Mémoire de Maîtrise en Biologie et Physiologie Animales, Université de Ngaoundéré, Cameroun. 59p.
- IRA, 1986.** Le Stockage du Niébé dans la Cendre. Bulletin technique No. 1 :
- Isman M. B., 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Isman M. B., 1997a.** Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. *Phytoparasitica*, 25: 339-344.
- Isman M. B., 1997b.** Neem insecticides. *Pesticide Outlook*, 8 (5): 32-38.
- Isman M. B., 1998.** Neem and related Natural Products, in *Biopesticides. Use and Delivery* (Franklin R. H. Et I.1. Menn) (eds) Humana Press, Totowa, New Jersey : 139-154.

- Isman M. B., 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51 : 45-66.
- Isman M. B., 2002.** Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique In : *Biopesticides d'origine végétale* : 300-311.
- Isman M. B., Matsuura H., MacKinnon S., Durst T., Towers G. & Arnason T., 1996.** Phytochemistry of the Meliaceae. So many terpenoids, so few insecticides. In: *Phytochemical Diversity and Redundancy*, ed. JT Romeo, JA Saunders, P Barbosa, New York: Plenum: 155p.
- Isman M. B., Matsuura H., Mackinnon S., Durst T., Towers G. H. N. & Arnason J. T., 1996.** Phytochemistry of the Meliaceae, *Recent Adv. Phytochemical*, 30: 155-178.
- Isman M. B., 1995.** Leads and prospects for the development of new botanical insecticides. *Review of Pesticide Toxicology*, 3: 1-20.
- Isubikalu P., Erbaugh J. M., Semana A. R. & Adipala E., 2000.** The influence of farmer perception on pesticide usage for management of cowpea field pests in Eastern Uganda. *African Crop Science Journal*, 8 (3) : 317-325
- Ivbijaro M. F., 1983.** Preservation of cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, with the neem seed, *Azadirachta indica* A. Juss. *Protocole Ecologique*, 5 : 177-182.
- Ivbijaro M. F., 1990.** The efficacy of seed oils *Azadirachta indica* A. Juss and *Piper guineense* Schum and Thonn on the control of *Callosobruchus maculatus* (F.). *Insect Science Apply*, 11 (2) : 149-152.
- Johnson C. D., 1981.** Seed beetle host specificity and the systematics of the Leguminosae. In: *Advances in Legume Systematics* (eds. Polhill, R.M. & Raven, P.H.) : 995-1027.
- Kapila R. & Agarwal H. C., 1990.** Biology of an egg parasite of *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). In : *Proceeding 5th International Work Conference on Stored-Products Protection* (Bordeaux, 9-14 Sept., 1990). Vol. II, Paris, Fleurat-Lessard F. et Ducom P., : 1265-1273.
- Kausik B., Ishita C., Ranajit K., Banerjee & Uday B., 2002.** Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science*, 82 (11) : 10p.
- Kéita S. M., Amason J. T., Baum B. R., Marles R., Camara F., & Traoré A. K., 1999.** Étude ethnopharmacologique traditionnelle de quelques plantes médicinales anthelminthiques de la Haute-Guinée (République de Guinée). *Revue of Medicine and Pharmacy Africa*, 13: 49-64.
- Keita S. M., Vincent C., Schmit J. P., Annason J. T. & Bélanger A., 2001.** Efficacy of essential oil from *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Stored Products Research*, 37: 339-349.
- Keita S. M., Vincent C., Schmit J. P., Ramaswamy S. & Bélanger A., 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 36: 355-364.
- Kergoat G. J., 2004.** Le genre *Bruchidius* (Coleoptera, Bruchidae): un modèle pour l'étude des relations évolutives entre les insectes et les plantes. Thèse de Doctorat de l'Université Paris VI : 192 p.
- Ketoh G. K., Gliho L.A., Koumaglo K. H. & Nuto Y., 1998.** Effets de quelques huiles essentielles sur les oeufs et les larves de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Revue CAMES Sciences et Médecine*, 00: 16-20.
- Ketoh K. G., 1998.** Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse unique, Université du Bénin, Lomé, Togo : 136p.
- Kim D. & Ahn Y., 2001.** Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored product insects. *Pest Management Science*, 57: 301-306.
- Koona P. & Njoya J., 2004.** Effectiveness of soybean oil and powder from leaves of *Lantana camara* Linn (verbenaceae) as protectants of stored maize against infestation by *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biology Science*, 7 (12): 2125-2129.
- Korunic Z. & Mackay A., 1999.** Grain surface layer treatment of diatomaceous earth for insect control. [hedzk@atglobal.net](mailto:hedzk@atglobal.net): 3p
- Kossou K. D., Gbehounou G., Ahanchede A., Ahojuendo B., Yacouba B., Van Huis A., 2001.** Endogenous cowpea production and protection practices in Bénin. *Insects and Science Application*, 21(2): 30-30.
- Larpent J. P., 1976.** La germination. In *cours de Biologie et Physiologie végétales* : 102-108.
- Lienard V. & Seck D., 1994.** Revue des méthodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). Ravageur des graines de Niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) en Afrique tropicale. *Insects and Science Application*, 15(3) : 301-311.
- Messina F. J. & Renwick J. A. A., 1983.** Effectiveness of oils in protecting stored cowpeas from the cowpea weevil (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Economic Entomology*, 76 (3) : 634-636.
- Messina J. F., 1984.** Influence of cowpea pod maturity on the oviposition choices and larval survival of a bruchid beetle *Callosobruchus maculatus*. *Entomology Esp Application*., 35 : 241-248.

- Mewis I., & Ulrichs C., 2001.** Treatment of rice with diatomaceous earth and effects on the mortality of the beetle *Tribolium castaneum* (Herbst.). *Anzeiger für Schadlingskunde*, 74(1) : 13p.
- Mikolo B., Massamba D., Matos L., Lengua A., Mbani G1. & Balounga P., 2007.** Conditions de stockage et revue de l'entomofaune des denrées Stockées du Congo-Brazzaville. *Journal des Sciences*, 7(1) : 30-39
- Monge J. P., Ouedraogo A. P., 1990.** Déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae). Dourdan, France. Ed. INRA, 1990. Les colloques de l'INRA N°52.
- Mortimore M. J., Singh B. B., Blade S.F., 1997.** Cowpea in traditional cropping systems. *Advances in cowpea research*; IITA. JIRCAS : 99-112.
- Murdock L. L., Shade R. E., Kitch L. W., Ntourkam G., Lowenberg-Deboer J., Huesing J. E., Moar W., Chamblis O. L., Endondo L., Wolfson J. L., 1997.** Post-harvest storage of cowpea research. *Copublication of IITA and JIRCAS*: 303-312.
- Ndiaye M., 1996.** Etude de pré vulgarisation du niébé en milieu paysan dans les zones nord et centre nord du Sénégal. *ISRA, Document de travail et études*, 5 (2) : 27 p
- Ndjouenkeu R., Fofiri Nzossié E. J., Kouebou C., Njomaha C., Grembombo A. I. & Koussou M. O., 2010.** Le maïs et le niébé dans la sécurité alimentaire urbaine des savanes d'Afrique Centrale. ISDA, Montpellier : 17p
- Ngamo L. S. T., 2004a.** Rapport technique (Septembre 2003-Février 2004), Projet interuniversitaire ciblé (PIC) : 34p.
- Ngamo L. S. T., 2004b.** A la recherche d'une alternative aux Polluants Organiques Persistants utilisés pour la protection des végétaux. *Bulletin d'informations phytosanitaires*, 43: 23p.
- Ngamo T. S. L. & Hance T., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicicultura*, 25(4): 215-220.
- Ngamo T. S. L., Ngassoum M. B., Mapongmetsem P. M. & Noudjou W. F., 2007.** Use of Essential Oils of Plants as Protectant of Grains during Storage. *Agricultural Journal* 2 (2): 204 – 209.
- Nkamleu B., Coulibaly O., Endamana D., 2000.** Transfert de nouvelles technologies dans les Systèmes de production au nord cameroun : Cas des variétés améliorées de niébé. C:\Blaise\Pedune\Adoption\art1.
- Ntsam S., 1989.** Pourquoi stocker? In : *Céréales en régions chaudes*. AUPELF-UREF, Eds John Libbey Eurotext, Paris: 3- 8.
- Nukenine E.N., Goudougou J. W., Adler C., Reichmuth, Ch., 2010.** Efficacy of diatomaceous earth and botanical powders against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) on maize. *Julius-Kühn-Archiv*, 425 : 884-890.
- Nwanze K. F., Horber E., Pitts W., 1975.** Evidence for ovipositional preference of *Callosobruchus maculatus* for four varieties of cowpea. *Environment and Entomology*, 4: 409-412.
- Odah B. K., 1995.** Impact du développement de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) sur les graines de trois variétés de *Vigna unguiculata* L. Walp. Thèse de D.E.A., Université du Bénin, Lomé-Togo : 67p.
- Ofuya T. I., 1986.** Use of wood ash, dry chilli pepper fruits and onion scale leaves for reducing *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) damage in cowpea seeds during storage. *Journal of Agriculture and Sciences, Cambodge*, 107 : 467-468.
- Ogemah V., Reichmuth C. & Büttner C., 2004.** Effet of NeemAzal® and other neem products on mortality, fecundity and frass activity of the larger grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) infesting maize. *Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Products Protection*: 588 – 594.
- Ouedraogo P. A., 1991.** Le déterminisme du polymorphisme imaginal chez *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae), son importance sur la biologie de cette bruche. Thèse Doctorat. Université Tours (France); 197p.
- Ouedraogo P. A., Monge J. P., Huignard J., 1990.** Importance of temperature and seed water content on the induction of imaginal polymorphism in *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Entomologie Experimentale Appliquée* 59: 66p.
- Ouedraogo P. A., Sou S., Sanon A., Monge J. P., Huignard J., Tran B., Credlang P. F., 1996.** Influence of temperature and humidity on population of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Pteromalidae) in two climatic zones of Burkina Faso. *Bulletin of Entomology Research*, 86 : 695-702.
- Oyenuga V. A., 1968.** Nigeria's food and feeding stuffs : the chemistry of food value. *University of Ibadan Press* : 79-83
- Pajni H. R., & Gill M., 1990.** Use of new pesticides of plants origin for the control of bruchids. In : *Fleurat-Lessard, F. & Ducom P. Proc. 5th International Working Conference on Stored Product Protection*, (Bordeaux, sept. 9-14, 1990), vol. III, Paris: 1671-1678.
- PAN Africa/CTA, 2003.** Les pesticides au Sénégal. 2e édition : 56p.

- Pandey R. K., Westphal E., 1989.** *Vigna unguiculata* L. Walp. In: L.J.G.V.D. Masson and Sadikin Someantmadji (eds.), PROSEA, N°1, Pulses. Pudoc, Wageningen : 77-81.
- Panneton B., Vincent C. & Fleurat-Lessard F., 2000.** Place de la lutte physique en phytoprotection. In: *Un point sur la lutte physique en phytoprotection. Institut national de la recherche agronomique.* Paris : 1-25
- Pasquet & Fotso, 1994.** Répartition des Cultivars de Niébé *Vigna Unguiculata* (L) Walp du Cameroun ; Influence du Milieu et des Facteurs Humains ; dans : *Journal D'Agriculture Traditionnelle Et Botanique Appliquée, nouvelle série*, 36 (2) : 93-143.
- Pereira J., 1983.** The effectiveness of six vegetable oils as protectants of cowpeas and bambara groundnuts against infestation by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 19 (2): 57-62.
- Petit J. L., 2008.** Le nim (ou neem), l'arbre miracle? L'insecticide se fait désirer. *BIOFIL* N° 57, pp: 49-51.
- PICS, 2008.** Projet de l'Université de Perdue sur le Stockage Amélioré du Niébé. Manuel de Formation des Techniciens : 84p.
- Pierrard G., 1984.** Management and control of insect pests of stored grain legumes. In : *Proc. Inr. Workshop on IPC for Grain Legumes Goiania*, Goias (Brésil), 3-9 avril 1983 : 276-286.
- Prevett P. F., 1961.** Field infestation of cowpea (*Vigna unguiculata*) pod by beetles of the families Bruchidae and Curculionidae in northern Nigeria. *Bulletin of Entomology Research*, 52 : 635-645.
- Raja N., Albert S., Ignacimuthu S. & Dorn S., 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, 37: 127– 132.
- Rajapakse R., 1990.** The effect of four botanicals on oviposition and adult emergence of the pulse beetle *Callosobruchus maculatus*. In Fleurat Lessard, F. & Ducom, P. Proc. *5th International Working Conference on Stored Product Protection*, (Bordeaux, sept. 9-14, 1990), 3, Paris : 1679-1680.
- Rao N. K, Hanson J, Dulloo M. E, Ghosh K, Nowell D. et Larinde M., 2006.** Manuel de manipulation des semences dans les banques de gènes. Manuels pour les banques de gènes No.8. *Biodiversity International*, Rome, Italie : 165p
- Regnault-Roger C., Philogène B.J.R. & Vincent C., 2008.** Biopesticides d'origine végétale, 2ème édition, Lavoisier, Paris. Édition : 550p.
- Roger C., Vincent C. & Coderre, D., 1995.** Mortality and predation efficiency of *Coleomegilla* and *Uses*. Oxford University. Press, Oxford, UK : 356p.
- Rohitha Prasantha B. D., Reichmuth & Büttner, 2003.** Effect of diatomaceous earths on the performance of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Advances in stored protection. Proceedings of the Eighth International Working Conference on Stored Product Protection*, York, UK: 208-216.
- Rojas-Rousse D., Kalmes R., Combescot C., Eslami J. & Gomez-Alvarez L., 1988.** Bilan nutritionnel au cours du développement de l'ectoparasite grégaire *Dinarmus vagabundus* et du solitaire *Dinarmus basalis*. *Entomologie Experimentale Appliquée*, 46 : 63-70.
- SAS Institute, 2003.** The SAS Sysrem version 9.1 for windows. SAS Institute, Cary. NC.
- Schmutterer H., 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, 35: 271-297.
- Seck D., 1991.** Etude de l'infestation initiale de *Sitotroga cerealella* Oliv. (Lepidoptera: Gelechiidae) en fonction de la localisation des champs de mil. *Insects and Science Application*, 12 (5/6) : 507-509.
- Seck D., 2009.** Stockage, conservation et transformation des récoltes en zones tropicales. Notes de cours : 31 P.
- Seck D., Lognay G., Haubruge E., Marlier M. & Gaspar C., 1996.** Alternative protection of cowpeas seeds against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) using hermetic storage alone or in combination with *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. Ex Poir. *Journal of Stored Products Research*, 32 (1): 39-44.
- Seck D., Sidibe B., Haubruge E. & Gaspar C., 1991.** La protection des 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. *Meded Fac Landbouwwet. Rijkuniv Gent*, 56 (3b): 1217-1224.
- Seck D., Sidibe B., Haubruge E., Hemptinne J. L. & Gaspar Ch., 1991.** La protection chimique des stocks de niébé et de maïs contre les insectes au Sénégal. *Meded. Fac. Landbouww. Rijkuniv Gent*, 56(3b) : 1225-1233.
- Sejakhosi M., 2004.** Preharvest *Aspergillus* invasion and aflatoxin contamination of groundnut and control of *Tribolium confusum* by diatomaceous earth in stored groundnuts. Project Report Submitted as Partial Fulfillment of the Requirements for MSc. *Applied Microbiology*. University of Botswana: 71p.
- Shaaya F., Kostjukovski M., Eiberg J & Sukprakarn C., 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33: 7– 15.
- Singh B. B., Singh S. R., 1992.** Sélection du niébé résistant aux bruches. La recherche à l'IITA, N°5 Septembre 1992 : 1-5.

- Singh G. & Rathod T. R., 2002.** Plant growth Biomass production and soil water dynamics in a shifting dune of Indian desert. *Forest Ecology and Management*, 173 (3): 309-320
- Singh R. P., 1986.** Comparison of antifeedant efficacy and extract yields from different parts and ecotypes of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) trees. *Proceeding of 3rd International Neem Conference* Nairobi, Kenya: 185-194.
- Singh S. R., Jackai L. E. N., Dos Santos J. H. R. & Adalla C. B., 1990.** Insect pests of cowpea. In *Insect Pests of Tropical Food Legumes* (Edited by Singh S. R.) : 43-49.
- Singh S. R., Jackai L. E. N., 1985.** Insect pests of cowpea in Africa : their life cycle, economic importance, potential for control. Cowpea, research, production and utilization. John Wiley and Sons, Chichester, London : 217-231.
- Smiderle O. J. & Cicero S. M., 1999.** Insecticide treatment and seed quality of corn during storage (in Portuguese with english abstract). *Scientia Agricola*, 56: 1245-1254.
- Sou S., 1998.** Etude des populations de bruches et de leurs parasitoïdes dans un agrosystème sahélien au Burkina Faso: mise en place de méthodes de lutte intégrée. Thèse de 3e cycle. Université de Ouagadougou, Burkina Faso : 127 p
- SPSS., 2000.** SigmaPlot version 6.0. for windows. SPSS Science Technical Support, California, USA.
- Storey C. L., 1975.** Mortality of adult stored-product insects in an atmosphere produced by an exothermic inert atmosphere generator. *Journal of Economic Entomology*, 68(3): 316-318.
- Storey C. L., 1978.** Mortality of cowpea weevil in a low-oxygen atmosphere. *Journal of Economic Entomology*, 71(5): 833-835.
- Su H. C. F. & Horvat R., 1987.** Isolation and characterization of four major componenets from insecticidally active lemon peel extract. *Journal of Agriculture and Food Chemical*, 35 (4) : 509-511.
- Su H. C. F., 1991.** Laboratory evaluation of toxicity of Calamus oil against 4 species of stored-product insects. *Journal of Entomology Sciences*, 26 (1) : 76-80.
- Subramanyam B., Swanson C. L., Madamanchi N. & Norwood S., 1994.** Effectiveness of Insecto a new generation diatomaceous earth formulation, in suppressing storedgrain insect species. In: *Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored-Product Protection* (Eds. E. Highley, E. J. Wright, H. J. Banks and B. R. Champ), Canberra, Australia: 650-659.
- Tarawali S. A., Singh B. B., Peters M., Blade S. F., 1997.** Cowpea haulms as fooder; In *Advances in cowpea research*. Sayce Publishing, Devon, UK : 313-325.
- Tchamou K. S., 1995.** Impact des hyménoptères parasitoïdes: *Dinarmus basilis* R. et *Eupelmus vuilleti* Craw ; sur les populations de *Callosobruchus maculatus* F. dans un système de stockage de niébé : *Vigna unguiculata* L. Walp. Mémoire de D.E.A. de Biologie de Développement. Université du Bénin. Lomé-Togo : 54p.
- Tchokossi E. Y., 1995.** Conditions d'induction de la quiescence reproductrice chez *Callosobruchus maculatus* F. la bruche du niébé (*Vigna unguiculata* Walp) dans un système de stockage en zone Guinéenne. Mémoire de D.E.A. de Biologie de Développement ; Université du Bénin, Lomé-Togo: 44p.
- Tofel H. K., 2010.** Efficacité insecticide de la poudre de *Plectranthus glandulosus* Hook et des produits de neem à l'égard de *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera : Curculionidae). Mémoire de Master en Biologie des Organismes Animaux, Université de Ngaoundéré, Cameroun : 70p.
- Ulrichs C., Saiful I., Mahbub H., Chaoliang I., Tanja M. P. & Inga M., 2009.** Direct and admixture toxicity of diatomaceous earth and monoterpenoids against the storage pests *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal Pests Sciences* : 7p
- Utida S., 1981.** Polymorphism and phase dimorphism in *Callosobruchus maculatus*; In: *The ecology of Bruchids attacking legumes*. Ed. by Labeyrie, Junk, The Hague : 143-147
- Vallet C., 2006.** Le neem : insecticide naturel, petit guide pratique. HSF-France : 14p.
- Van Huis A., 1991.** Biological methods of bruchid control in the tropics: A review. *Insects and Science Application*, 12(1/2/3) : 87-102.
- Vayias B. J., Athanassiou C. G., Buchelos C. Th., 2008.** Evaluation of resistance development by *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. *Journal of Stored Products Research*, 44: 162-168.
- Weider & Rack, 1984.** Tables de détermination des principaux ravageurs des denrées entreposées dans les pays chauds. GTZ Ed, Eschborn : 148p.
- Yadava, R. L., 1971.** Use of essential oil of *Acorus calamus* L. as an insecticide against the pulse beetle, *Bruchus chinensis* L. *Z. Angew. Entomology*, 68 : 289-294.
- Yengué J. L. & Callot Y., 2002.** L'arbre et la ville dans la région de Maroua (l'Extrême-Nord Cameroun). *Secheresse*, 13 (2): 157-162.
- Zar J. H., 1999.** Biostatistical analysis, 4<sup>th</sup> edition. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, NJ.
- Zehrer W., 1980.** Méthodes traditionnelles de lutte contre les insectes dans le cas de la protection des stocks. Problèmes de post-récolt.e (113). Documentation sur un séminaire OUA/GTAz : 92-118.

## ANNEXES

**Annexe 1** : Mortalités cumulées corrigées (%) (moyenne  $\pm$  erreur standard) induites par les produits du neem et des terres de diatomées sur les adultes de *Callosobruchus maculatus* après 1, 3, 7 jours dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 0,96^\circ\text{C}$  ; HR.  $\approx 74 \pm 2\%$ ).

Produits et Doses En g/kg	Périodes après infestation (jour)		
	1	3	7
<b>Feuilles de neem</b>			
0	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>
2,5	2,73 $\pm$ 1,58 <sup>b</sup>	8,00 $\pm$ 4,55 <sup>bc</sup>	27,65 $\pm$ 6,95 <sup>a</sup>
5	6,78 $\pm$ 1,68 <sup>a</sup>	13,48 $\pm$ 3,41 <sup>ab</sup>	37,35 $\pm$ 10,66 <sup>a</sup>
10	10,78 $\pm$ 2,59 <sup>a</sup>	25,60 $\pm$ 8,87 <sup>ab</sup>	48,53 $\pm$ 13,29 <sup>a</sup>
20	15,98 $\pm$ 3,88 <sup>a</sup>	31,08 $\pm$ 8,58 <sup>a</sup>	59,53 $\pm$ 10,61 <sup>a</sup>
F	7,47 <sup>**</sup>	4,36 <sup>*</sup>	5,73 <sup>**</sup>
<b>Grains de neem</b>			
0	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
2,5	1,25 $\pm$ 1,25 <sup>c</sup>	34,95 $\pm$ 6,50 <sup>a</sup>	42,05 $\pm$ 10,95 <sup>b</sup>
5	6,60 $\pm$ 1,32 <sup>b</sup>	43,13 $\pm$ 6,71 <sup>a</sup>	53,50 $\pm$ 10,35 <sup>ab</sup>
10	13,15 $\pm$ 1,36 <sup>b</sup>	45,85 $\pm$ 6,95 <sup>a</sup>	60,40 $\pm$ 7,69 <sup>ab</sup>
20	23,83 $\pm$ 4,66 <sup>a</sup>	52,65 $\pm$ 7,70 <sup>a</sup>	75,93 $\pm$ 4,43 <sup>a</sup>
F	17,84 <sup>***</sup>	11,03 <sup>***</sup>	13,45 <sup>***</sup>
<b>FossilShield</b>			
0	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
0,5	45,18 $\pm$ 20,47 <sup>a</sup>	56,68 $\pm$ 19,02 <sup>a</sup>	81,48 $\pm$ 10,51 <sup>b</sup>
1	53,10 $\pm$ 19,24 <sup>a</sup>	78,30 $\pm$ 11,08 <sup>a</sup>	94,43 $\pm$ 3,23 <sup>ab</sup>
1,5	64,48 $\pm$ 15,93 <sup>a</sup>	83,78 $\pm$ 9,37 <sup>a</sup>	98,53 $\pm$ 1,48 <sup>ab</sup>
2	75,95 $\pm$ 11,08 <sup>a</sup>	90,65 $\pm$ 6,23 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
F	3,64 <sup>*</sup>	11,11 <sup>***</sup>	73,35 <sup>***</sup>
<b>SilicoSec</b>			
0	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
0,5	52,75 $\pm$ 17,69 <sup>a</sup>	67,69 $\pm$ 12,99 <sup>b</sup>	91,73 $\pm$ 3,54 <sup>b</sup>
1	69,48 $\pm$ 13,12 <sup>a</sup>	85,14 $\pm$ 6,10 <sup>ab</sup>	95,90 $\pm$ 2,65 <sup>ab</sup>
1,5	78,53 $\pm$ 11,51 <sup>a</sup>	91,73 $\pm$ 6,63 <sup>ab</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
2	83,75 $\pm$ 9,87 <sup>a</sup>	95,83 $\pm$ 4,18 <sup>a</sup>	100,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
F	8,04 <sup>**</sup>	29,26 <sup>***</sup>	484,37 <sup>***</sup>
<b>Malagrain</b>			
0	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>
0,5	100 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	100 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>

\* :  $p < 0,05$  ;    \*\* :  $p < 0,001$  ;    \*\*\* :  $p < 0,0001$

**NB** : Pour le même produit les moyens portant la même lettre minuscule ne présentent pas de différence.

**Annexe 2 :** Croissance de population (moyenne  $\pm$  erreur standard) de *Callosobruchus maculatus* dans les grains traités avec les poudres de neem (feuilles et grains) et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes du laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

Produits et doses (en g/kg)	Nombre de Bruches morts	Nombre de bruches vivants	Nombre total de bruches
<b>Feuilles de neem</b>			
0	2097,25 $\pm$ 177,44 <sup>a</sup>	215,25 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>	2312 $\pm$ 149,29 <sup>a</sup>
2,5	411,75 $\pm$ 60,53 <sup>b</sup>	220,75 $\pm$ 29,93 <sup>a</sup>	632,50 $\pm$ 32,52 <sup>b</sup>
5	297,50 $\pm$ 49,50 <sup>b</sup>	97,75 $\pm$ 26,14 <sup>ab</sup>	395,25 $\pm$ 29,33 <sup>c</sup>
10	291,50 $\pm$ 21,97 <sup>b</sup>	38,00 $\pm$ 20,53 <sup>bc</sup>	329,50 $\pm$ 30,14 <sup>c</sup>
20	252,25 $\pm$ 54,11 <sup>b</sup>	13,50 $\pm$ 5,33 <sup>c</sup>	265,75 $\pm$ 54,94 <sup>c</sup>
F	78,04 <sup>***</sup>	8,99 <sup>***</sup>	132,66 <sup>***</sup>
<b>Grains de neem</b>			
0	2097,25 $\pm$ 177,44 <sup>a</sup>	215,25 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>	2312 $\pm$ 149,29 <sup>a</sup>
2,5	147,00 $\pm$ 27,06 <sup>b</sup>	3,00 $\pm$ 1,35 <sup>b</sup>	150,00 $\pm$ 28,35 <sup>b</sup>
5	60,25 $\pm$ 7,44 <sup>c</sup>	1,00 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>	65,25 $\pm$ 7,34 <sup>c</sup>
10	39,25 $\pm$ 5,25 <sup>c</sup>	0,25 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	39,50 $\pm$ 5,25 <sup>c</sup>
20	30,50 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	30,50 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>
F	127,66 <sup>***</sup>	14,25 <sup>***</sup>	217,66 <sup>***</sup>
<b>FossilShield</b>			
0	2097,25 $\pm$ 177,44 <sup>a</sup>	215,25 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>	2312 $\pm$ 149,29 <sup>a</sup>
0,5	157,50 $\pm$ 20,87 <sup>b</sup>	1,50 $\pm$ 0,65 <sup>b</sup>	159,00 $\pm$ 20,76 <sup>b</sup>
1	101,00 $\pm$ 12,83 <sup>bc</sup>	1,50 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	102,50 $\pm$ 12,67 <sup>bc</sup>
1,5	55,25 $\pm$ 6,50 <sup>cd</sup>	0,50 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	55,75 $\pm$ 6,51 <sup>cd</sup>
2	36,00 $\pm$ 3,67 <sup>d</sup>	3,50 $\pm$ 2,87 <sup>b</sup>	39,50 $\pm$ 5,55 <sup>d</sup>
F	125,01 <sup>***</sup>	14,13 <sup>***</sup>	215,84 <sup>***</sup>
<b>SilicoSec</b>			
0	2097,25 $\pm$ 177,44 <sup>a</sup>	215,25 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>	2312 $\pm$ 149,29 <sup>a</sup>
0,5	99,75 $\pm$ 14,83 <sup>b</sup>	1,00 $\pm$ 0,41 <sup>b</sup>	100,75 $\pm$ 15,14 <sup>b</sup>
1	58,25 $\pm$ 13,55 <sup>bc</sup>	1,50 $\pm$ 0,96 <sup>b</sup>	59,75 $\pm$ 14,48 <sup>bc</sup>
1,5	32,25 $\pm$ 1,11 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	32,25 $\pm$ 1,11 <sup>c</sup>
2	30,75 $\pm$ 0,75 <sup>c</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	30,75 $\pm$ 0,75 <sup>c</sup>
F	130,87 <sup>***</sup>	14,31 <sup>***</sup>	224,23 <sup>***</sup>
<b>Malagrain</b>			
0	2097,25 $\pm$ 177,44 <sup>a</sup>	215,25 $\pm$ 56,73 <sup>a</sup>	2312 $\pm$ 149,29 <sup>a</sup>
0,5	30 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	30 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>

\*\*\* :  $p < 0,0001$

**NB :** Pour le même produit les moyens portant la même lettre minuscule ne présentent pas de différence.

**Annexe 3:** Pourcentage (moyenne  $\pm$  erreur standard) de pertes massiques et de grains perforés après quatre mois de stockage après traitement avec les poudres de neem et des terres de diatomées dans les conditions fluctuantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

<b>Produits et doses en g/kg</b>	<b>%Pertes massiques</b>	<b>%Grains perforés</b>
<b>Feuilles de neem</b>		
0	54,65 $\pm$ 14,41 <sup>a</sup>	99,15 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
2,5	15,83 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>	45,13 $\pm$ 2,09 <sup>b</sup>
5	12,70 $\pm$ 1,55 <sup>b</sup>	35,90 $\pm$ 2,29 <sup>bc</sup>
10	15,03 $\pm$ 0,83 <sup>b</sup>	31,80 $\pm$ 3,02 <sup>c</sup>
20	12,60 $\pm$ 1,81 <sup>b</sup>	27,05 $\pm$ 4,59 <sup>c</sup>
F	8,49***	109,13***
<b>Grains de neem</b>		
0	54,65 $\pm$ 14,41 <sup>a</sup>	99,15 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
2,5	0,33 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	12,38 $\pm$ 4,23 <sup>b</sup>
5	0,23 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	3,18 $\pm$ 1,31 <sup>c</sup>
10	0,08 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,50 $\pm$ 0,19 <sup>d</sup>
20	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,05 $\pm$ 0,05 <sup>d</sup>
F	14,29***	462,00***
<b>FossilShield</b>		
0	54,65 $\pm$ 14,41 <sup>a</sup>	99,15 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
0,5	1,03 $\pm$ 0,38 <sup>b</sup>	5,98 $\pm$ 1,77 <sup>b</sup>
1	0,58 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	2,73 $\pm$ 0,82 <sup>bc</sup>
1,5	0,43 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	0,88 $\pm$ 0,36 <sup>cd</sup>
2	0,08 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,33 $\pm$ 0,19 <sup>d</sup>
F	14,07***	2250,70***
<b>SilicoSec</b>		
0	54,65 $\pm$ 14,41 <sup>a</sup>	99,15 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>
0,5	0,80 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	5,95 $\pm$ 1,58 <sup>b</sup>
1	1,13 $\pm$ 0,69 <sup>b</sup>	3,43 $\pm$ 0,98 <sup>b</sup>
1,5	0,03 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,23 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>
2	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
F	14,09***	2581,008***
<b>Malagrain</b>		
0	99,15 $\pm$ 0,43 <sup>a</sup>	54,65 $\pm$ 14,41 <sup>a</sup>
0,5	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>

\*\*\* :  $p < 0,0001$

**NB :** Pour le même produit les moyens portant la même lettre minuscule ne présentent pas de différence.

**Annexe 4:** Taux de germination (moyenne  $\pm$  erreur standard) des grains traités avec les poudres de neem et des terres de diatomées après quatre mois de stockage dans les conditions ambiantes de laboratoire ( $t \approx 25 \pm 1$  °C ; HR.  $\approx 71 \pm 2\%$ ).

<b>Produits et doses en g/kg</b>	<b>Pourcentage de germination</b>
<b>Feuilles de neem</b>	
0	$6,65 \pm 3,04^c$
2,5	$54,98 \pm 5,00^b$
5	$64,15 \pm 3,95^{ab}$
10	$77,50 \pm 5,69^a$
20	$80,85 \pm 2,10^a$
F	$51,68^{***}$
<b>Grains de neem</b>	
0	$6,65 \pm 3,04^d$
2,5	$55,00 \pm 2,16^a$
5	$40,83 \pm 2,86^b$
10	$30,83 \pm 2,86^b$
20	$15,83 \pm 2,84^c$
F	$48,60^{***}$
<b>FossilShield</b>	
0	$6,65 \pm 3,04^b$
0,5	$70,83 \pm 2,86^a$
1	$77,50 \pm 3,17^a$
1,5	$81,68 \pm 2,88^a$
2	$75,00 \pm 3,96^a$
F	$94,74^{***}$
<b>SilicoSec</b>	
0	$6,65 \pm 3,04^b$
0,5	$57,50 \pm 5,98^a$
1	$72,50 \pm 3,71^a$
1,5	$70,83 \pm 8,31^a$
2	$80,00 \pm 3,60^a$
F	$31,05^{***}$
<b>Malagrain</b>	
0	$6,65 \pm 3,04^b$
0,5	$77,50 \pm 2,40^a$

\*\*\* :  $p < 0,0001$

**NB :** Pour le même produit les moyens portant la même lettre minuscule ne présentent pas de différence.

**Annexe 5 :** Germination des graines traitées après 4 mois de stockage.



**Annexe 6 :** Thermohygromètre EL-USB-2+ (LASCAR), (Chine)



**Annexe 7 :** température et humidité relative mensuelle (moyenne  $\pm$  écart-type) du laboratoire.

Année	Mois	Température $\pm$ écart-type en °C	Humidité $\pm$ écart-type en %
2010	Juillet	24,14 $\pm$ 0,78	74,52 $\pm$ 1,93
	Août	24,68 $\pm$ 1,21	74,31 $\pm$ 2,06
	Septembre	24,36 $\pm$ 0,79	74,91 $\pm$ 2,81
	Octobre	25,94 $\pm$ 1,07	70,67 $\pm$ 1,92
	Novembre	26,25 $\pm$ 0,88	58,16 $\pm$ 4,90
	Décembre	23,73 $\pm$ 0,71	46,26 $\pm$ 3,13

**Annexe 8 : Température et humidité relative journalière (moyenne ± écart-type) du laboratoire.**

Mois Jours	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre
	T±E (°C) HR±E (%)	T±E (°C) HR±E (%)				
1	-	26,25±3,20 70,00±6,18	24,88±3,12 75,00±5,61	25,75±3,10 72,25±4,57	26,63±4,50 68,25±8,34	24,50±4,14 49,38±4,61
2	-	24,38±1,11 74,00±1,63	25,13±3,09 73,00±5,12	26,25±4,03 69,63±6,18	26,50±4,74 67,75±8,67	24,63±3,97 50,25±3,97
3	-	25,75±3,66 72,25±6,49	23,25±2,63 76,13±4,46	26,63±3,07 69,75±5,36	26,63±5,02 63,63±10,59	25,88±3,71 52,50±3,58
4	-	25,63±2,87 73,38±5,34	24,00±2,74 76,75±6,03	26,88±4,27 69,38±5,91	26,88±5,48 61,63±8,53	26,00±3,14 51,25±7,09
5	-	25,00±1,29 75,13±1,80	25,38±2,43 75,13±3,86	25,63±4,42 71,00±7,71	27,38±4,73 61,25±8,59	25,13±2,95 48,63±5,91
6	-	25,75±4,50 71,88±7,09	24,88±3,57 75,25±5,81	24,88±2,75 73,75±4,17	28,25±4,29 63,50±7,84	24,00±3,63 48,50±5,12
7	-	25,00±2,38 74,63±3,82	23,38±1,31 78,25±1,32	26,50±4,60 69,75±8,03	27,25±4,35 65,63±7,00	23,63±3,45 46,75±5,68
8	-	25,75±3,28 73,63±6,29	24,50±3,11 76,25±5,74	25,88±4,03 69,13±6,66	27,25±4,50 64,63±7,71	23,25±3,88 45,88±6,02
9	-	24,63±2,50 75,00±4,24	23,13±1,44 78,75±1,76	24,25±3,23 72,75±4,57	27,38±5,27 63,50±9,23	22,88±4,33 46,13±2,56
10	-	24,50±2,86 75,50±5,76	23,63±1,60 77,38±2,29	25,38±4,66 70,88±7,27	27,63±5,02 60,00±9,81	23,25±4,41 47,13±3,71
11	24,63±3,01 73,88±5,28	24,88±2,06 75,00±3,16	22,00±1,58 78,25±2,72	25,50±4,08 72,25±6,89	27,25±4,41 60,38±6,54	23,38±4,09 47,00±3,76
12	23,88±1,49 74,50±2,45	24,00±1,78 76,88±1,65	23,00±2,65 76,63±4,40	24,75±2,96 73,88±4,23	25,75±3,97 59,75±8,51	23,13±4,07 46,13±3,94
13	23,88±3,12 74,75±5,20	23,63±2,39 77,50±4,34	24,63±3,54 74,50±6,04	25,63±3,94 71,50±6,10	24,25±5,04 56,00±9,06	23,38±3,94 47,88±3,59
14	23,75±3,07 74,88±5,11	25,38±3,90 73,63±7,18	22,38±1,03 77,50±1,73	26,38±4,40 70,75±7,03	24,75±5,55 54,63±6,84	23,75±3,50 49,00±3,81
15	24,75±4,01 73,38±6,61	24,63±3,79 73,50±5,76	25,38±2,95 73,13±6,51	26,75±4,29 70,00±7,33	25,50±4,92 55,38±7,19	24,63±3,38 49,88±3,09
16	24,00±1,78 75,00±3,14	25,38±3,71 72,50±6,88	26,38±4,40 71,38±7,60	26,25±3,52 71,50±5,05	26,00±4,42 56,38±6,80	24,13±3,45 50,38±3,38
17	24,25±3,43 72,50±5,60	26,00±3,72 70,00±5,80	24,13±2,29 75,75±4,56	26,38±4,33 70,63±7,66	26,00±3,11 53,88±2,69	23,88±3,94 47,75±5,63
18	24,38±2,43 73,38±3,79	25,00±2,48 72,63±4,01	24,88±4,64 72,75±6,95	26,88±4,40 68,13±7,55	26,50±3,16 56,25±2,18	24,00±4,14 45,13±4,91
19	24,50±2,74 74,00±4,74	24,00±1,47 73,50±3,03	26,13±4,50 71,00±6,62	26,38±2,95 69,75±4,41	27,13±3,84 58,00±3,49	24,13±3,68 43,75±5,12
20	24,88±3,12 72,50±5,58	23,00±1,47 74,88±1,89	26,50±4,32 67,38±6,54	26,63±3,35 69,88±5,63	23,88±3,71 58,00±3,94	27,38±3,88 43,75±4,44
21	24,13±1,49 73,88±2,66	24,13±3,61 76,38±5,01	24,38±2,50 71,88±4,64	26,25±3,80 70,25±6,12	27,00±3,42 56,00±5,52	23,50±4,14 44,38±3,75

22	23,13±1,03 76,38±1,31	24,25±1,32 76,13±2,78	23,13±3,68 71,88±7,03	25,88±4,03 70,50±6,66	25,00±2,27 53,88±4,01	25,88±3,71 43,13±3,20
23	22,13±0,63 79,00±0,71	22,00±0,82 79,00±1,22	25,13±4,05 73,75±7,64	24,13±0,48 74,38±1,11	24,88±2,81 55,63±5,22	22,63±3,57 44,38±2,84
24	23,50±2,80 76,00±5,60	24,13±3,73 75,88±6,34	22,00±0,91 79,38±1,38	24,75±4,21 74,50±6,00	24,50±3,24 54,88±3,90	22,50±4,14 43,63±3,71
25	24,25±3,48 73,38±6,86	23,50±1,58 77,38±2,50	24,38±4,17 74,38±7,16	23,00±4,14 72,88±8,73	25,13±4,13 53,38±4,44	25,13±4,84 44,63±3,20
26	24,13±1,80 75,38±2,93	25,75±2,72 74,00±4,74	24,88±2,87 72,13±5,39	26,38±5,11 70,63±8,89	23,75±3,66 54,50±3,54	26,50±3,72 45,50±3,76
27	23,50±1,08 77,63±1,25	25,38±3,01 73,63±5,44	24,63±2,50 72,75±4,48	24,00±3,24 69,38±8,39	26,63±3,64 54,63±4,91	26,25±4,41 45,38±4,13
28	23,75±2,22 77,25±4,09	24,38±2,63 73,75±3,80	23,75±3,93 76,38±6,34	26,25±4,63 68,63±7,79	25,75±3,38 52,88±4,44	23,75±3,88 44,88±4,94
29	24,38±2,95 74,25±5,42	25,00±3,19 72,75±5,69	23,13±1,80 79,25±3,59	26,75±5,20 68,13±9,31	23,13±3,68 51,38±5,66	25,38±3,59 41,63±3,68
30	25,50±3,72 71,50±6,82	25,00±2,97 73,13±4,40	25,38±3,66 75,63±6,42	27,25±4,50 67,13±7,79	22,88±3,59 49,50±5,24	24,75±3,88 38,63±3,17
31	25,75±3,07 71,63±5,82	23,38±1,60 76,50±2,04		25,75±2,33 68,13±4,46		22,13±3,68 41,00±2,68