

African Crop Science Journal by African Crop Science Society is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 Uganda License. Based on a work at www.ajol.info/ and www.bioline.org.br/cs
DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/acsj.v25i2.1>



GESTION DES NEMATODES A GALLES PARASITES DE LA CULTURE D'EGUSI PAR L'UTILISATION DE *Trichoderma asperellum* ET DE LA POUDRE DE GRAINE DE NEEM

A. AFFOKPON^{1,2}, C.A. DJIHINTO², M. ZANDJANAKOU-TACHIN³, C. TOSSOU², E.G. ACHIGAN-DAKO¹, H.K. BAIMEY⁴ et A.H. BOKONON-GANTA¹

¹Faculty of Agronomic Sciences, University of Abomey-Calavi, 03 BP 2819 Cotonou, Benin

²Institut National des Recherches Agricoles du Bénin, 01BP 884 Cotonou, Benin

³Ecole d'Horticulture et d'Aménagement des Espaces Verts, Université d'Agriculture de Kétou, BP 06083 Cotonou, Bénin

⁴Higher National School of Agronomic Sciences and Techniques of Djougou, University of Parakou, BP 123, Parakou, Benin

Auteur correspondant: affokpona@gmail.com

(Received 9 October, 2016; accepted 27 April, 2017)

RESUME

L'egusi d'Afrique de l'Ouest, *Citrullus mucosospermus* Fursa, Cucurbitaceae, est l'une des cultures maraîchères sujettes à une forte pression parasitaire, notamment celle des nématodes à galles. Afin de réduire les pertes dues à ces nématodes, un essai a été conduit au champ en station de recherche pour évaluer l'efficacité des champignons antagonistes et d'extraits botaniques sur les nématodes à galles parasites de la culture d'egusi. Deux produits de lutte contre les nématodes, l'agent biologique *Trichoderma asperellum* T-12 et la poudre de graines de neem, ont été évalués seuls et en combinaison pour leur efficacité contre les nématodes à galles sur l'accession «Egusi BEN 1-5-13» modérément tolérante aux nématodes à galles. L'efficacité de ces produits a été comparée à celle du nématicide chimique Furadan (témoin nématicide) et du témoin non traité. L'application de *Trichoderma asperellum* T-12 a été faite à 10⁸ spores plant⁻¹ et celle de la poudre de graines de neem à 75 g plant⁻¹, une semaine avant le semis de la culture. Les résultats ont montré une réduction des densités de populations finales des nématodes à galles dans les racines de 89,51% et de l'indice des galles de 68,86% par rapport à ceux obtenus avec le témoin nématicide. L'application de ces produits en combinaison a permis d'accroître les rendements moyens en graines non décortiquées et en graines décortiquées respectivement de 100% et 30%, comparativement à ceux obtenus avec le témoin nématicide. Ces résultats confirment l'efficacité des méthodes de gestion intégrée dans la lutte contre les nématodes à galles.

Mots Clés: *Azadirachta indica*, Carbofuran, *Citrullus mucosospermus*, Cucurbitaceae, gestion intégrée des ravageurs, *Meloidogyne* spp.

ABSTRACT

The West African watermelon (Egusi melon), *Citrullus mucosospermus* Fursa, Cucurbitaceae, is one of the vegetable crops subject to high pest and disease pressure, particularly root-knot nematodes. To reduce losses due to these nematodes, a field experiment was conducted at a research station to assess the efficacy of antagonistic fungi and botanical extract on root-knot nematodes parasitising Egusi crop. Two nematode control products, the biocontrol agent *Trichoderma asperellum* T-12 and neem seed powder, were assessed separately and in combination for their efficacy against root-knot nematodes on the accession Egusi BEN 1-5-13, which is moderately tolerant

to root-knot nematodes. The efficacy of the products was compared with that of the chemical nematicide Furadan (nematicide control) and untreated control. Application of *Trichoderma asperellum* T-12 was at 10^8 spores plant⁻¹ and neem seed powder at 75 g plant⁻¹, one week before planting. Results indicated a reduction of final root-knot nematode population densities in roots by 89.51% and galling index by 68.86%, compared to those obtained with the control treatment. Application of these products in combination increased the average yields of unhulled and hulled seeds by 100% and 30%, respectively, compared to those of the nematicide control treatment. These results confirm the effectiveness of integrated management strategies to control root-knot nematodes.

Key Words: *Azadirachta indica*, Carbofuran, *Citrullus mucosospermus*, Cucurbitaceae, integrated pest management, *Meloidogyne* spp.

INTRODUCTION

Citrullus mucosospermus Fursa, l'une des Cucurbitaceae connues sous le nom de *Egusi*, est un légume traditionnellement cultivé dans certains pays de la côte du Golfe de Guinée pour son importance nutritionnelle et socio-culturelle (Achigan-Dako *et al.*, 2006). Il est apprécié pour la teneur de ses graines en protéines et huiles de consommation. Cultivé aussi bien comme culture de case que dans les champs, il constitue de nos jours une importante source de revenus pour les différents acteurs s'investissant dans sa production, transformation et commercialisation. Malgré son importance, *C. mucosospermus* est resté pendant longtemps absent dans les programmes nationaux de recherche et de développement (Williams et Haq, 2002) avec pour conséquence sa faible productivité. En effet, au Bénin, le rendement moyen en graines non décortiquées des Cucurbitaceae de type *Egusi* est d'environ 750 kg ha⁻¹ en 2013 (CountryStat, 2014).

L'une des causes majeures de ce faible rendement est la pression parasitaire qui peut entraîner à elle-seule une baisse de rendement en graines de 40 to 70% (Koffi Ahébé *et al.*, 2013). Bien que ces Cucurbitaceae soient moins affectées que le concombre et la pastèque, elles sont sensibles à de nombreux nuisibles dont les nématodes à galles (*Meloidogyne* spp. Goeldi, 1892) qui sont particulièrement virulents sur les sols sableux (Van Der Vossen *et al.*, 2004). En effet, une densité initiale des nématodes à galles de 40

larves/100 cm³ de sol pourrait causer au moins 30% de pertes de rendement (Westerdahl et Becker, 2009).

Contrairement aux insectes nuisibles et maladies qui bénéficient d'une grande attention, peu de travaux de recherche ont été menés sur le contrôle durable et efficace des nématodes à galles sur cette culture. Les nématodes à galles sont particulièrement difficiles à éliminer du fait de la grande diversité de leurs hôtes, de leur cycle de reproduction trop court, de leur capacité de reproduction très élevée et de leur nature endoparasitique (Trudgill et Blok, 2001; Manzanilla-Lopez *et al.*, 2004). Au Bénin, comme dans les autres pays de l'Afrique de l'Ouest, la lutte chimique est la méthode la plus utilisée par les producteurs pour la protection des nuisibles des cultures, notamment les cultures maraîchères (James *et al.*, 2010). Mais, le coût élevé des nématicides de synthèse et les risques liés à leur utilisation nécessitent la recherche de méthodes alternatives permettant une protection saine et durable de la culture. Des accessions locales de *C. mucosospermus* ont été évaluées en 2012 et 2013 pour leur comportement agronomique sur des sols infestés par les nématodes à galles au Sud et au Centre du Bénin parmi lesquelles certaines ont été identifiées comme tolérantes aux nématodes (Affokpon *et al.*, 2014).

La présente étude vise à développer une méthode de lutte intégrant l'utilisation d'agent biologique et de plante à effets nématicides à la tolérance variétale afin d'assurer la protection efficace et durable de cette culture

contre les nématodes à galles. Il s'agit spécifiquement d'évaluer l'efficacité de la poudre de graines de neem et de l'agent biologique *Trichoderma asperellum* T-12 appliqués seuls et en combinaison contre les nématodes à galles associés à la culture de *C. mucosospermus* et leur effet sur les rendements en graines de cette culture.

MATERIEL ET METHODES

Site d'expérimentation. L'étude a été conduite sur un site expérimental du Centre de Recherches Agricoles au Sud Bénin (CRA-Sud) situé dans la zone guinéenne à la longitude 002°08'13E, à la latitude 06°44'36N et à une altitude de 105 m au-dessus du niveau de la mer. L'essai a été installé sur un sol ferrallitique (matière organique: 1,34%, C/N: 10,7, pH: 6) (Affokpon *et al.*, 2012). La zone bénéficie d'un climat subéquatorial guinéen caractérisé par deux saisons pluvieuses d'avril à juin et de septembre à octobre, alternées par deux saisons sèches. Le site expérimental est naturellement infesté par des populations mixtes de nématodes à galles dominées par *Meloidogyne incognita* (Affokpon *et al.*, 2011) avec des densités moyennes de 100 ± 12 larves L2 par 250 cm³ sol en 2014 et 115 ± 23 larves L2 par 250 cm³ sol en 2015.

Matériel végétal. Le matériel végétal utilisé dans le cadre de cette étude est *Citrullus mucosospermus*. L'accession testée est «Egusi BEN 1-5-13». Il s'agit d'une accession locale qui a montré une tolérance moyenne vis-à-vis des nématodes à galles dans les expérimentations antérieures (Affokpon *et al.*, 2014).

Inoculum de *Trichoderma asperellum*. Le champignon *Trichoderma asperellum* est l'agent de lutte biologique évalué. *Trichoderma asperellum* T-12 est une souche locale de champignon isolée à partir des masses d'œufs des nématodes à galles (Affokpon *et al.*, 2015). Le champignon a été multiplié sur le milieu agar

(Potato Dextrose Agar, PDA) à 28 °C pendant une semaine (Kyalo *et al.*, 2007). Des suspensions de spores ont été ensuite préparées en raclant la surface de ces cultures, à l'aide d'une lame de montage, après ajout de 3 ml d'eau distillée stérile. Ces suspensions sporales ont été inoculées à la sciure de bois (broyée et stérilisée dans une étuve à 80°C pendant quatre jours) par aspersion après ajout de 50 ml d'eau stérilisée de façon à obtenir une concentration de 20 x 10⁸ spores dans 1000 cm³ de sciure de bois stérilisée. La sciure de bois a servi de substrat pour faciliter l'application de *T. asperellum* sur les parcelles. L'inoculum ainsi constitué du mélange champignon-substrat est laissé séjourner au laboratoire pendant deux semaines à la température ambiante. Pendant cette période, l'inoculum est régulièrement arrosé et remué de façon à maintenir un taux d'humidité d'environ 5% et à favoriser une bonne aération.

Poudre de graines de neem. La poudre de graines de neem est l'extrait botanique à effet nématocide testé. Les graines de neem sèches ont été collectées sous des arbres. Ces graines ont un taux d'humidité et une teneur en huile d'environ 10% et 18%, respectivement. La poudre de graines de neem a été obtenue en moulant les graines collectées à l'aide d'un moulin à gazoil.

Dispositif expérimental et conduite de l'expérimentation. L'expérimentation a été conduite pendant les grandes saisons de 2014 et de 2015 suivant un dispositif expérimental en blocs aléatoires complets à cinq répétitions et cinq traitements. Les cinq traitements sont: (1) *Trichoderma asperellum* T-12 à 10⁸ spores plant⁻¹, (2) poudre de graines de neem à 75 g plant⁻¹, (3) Combinaison de *T. asperellum* T-12 à 10⁸ spores plant⁻¹ + poudre de graines de neem à 75 g plant⁻¹, (4) nématocide Furadan à 5 g plant⁻¹ et (5) sans application de moyen de contrôle. Les traitements «Nématocide Furadan» et «Sans application de moyen de

lutte» constituent respectivement le témoin nématocide et le témoin absolu. Les doses utilisées sont basées sur les résultats des études antérieures (Affokpon *et al.*, 2011; Affokpon *et al.*, 2012).

Avant le semis, les produits de lutte contre les nématodes (*T. asperellum* T-12, poudre de graine de neem et Furadan) ont été appliqués dans les poquets à 10 cm de profondeur aux doses indiquées ci-dessus et recouverts par une fine couche de sol. Pour le traitement « *T. asperellum* + poudre de graines de neem », les deux traitements individuels ont été appliqués successivement dans le poquet, mais séparés par une fine couche de sol.

Chaque parcelle élémentaire, de dimension 3 m x 4 m, est composée de quatre lignes de 4 m de longueur chacune séparées par 1 m, avec des allées de 2 m entre parcelles consécutives et entre répétitions. Le semis des graines a été fait une semaine après application des produits, à raison de trois graines par poquet. La distance entre deux poquets/plants d'une même ligne était de 1 m. Le démariage a été fait à une plantule par poquet une semaine après levée. Au total, chaque parcelle élémentaire est constituée de quatre lignes comportant chacune cinq plants, soit un total de 20 plants par parcelle. Les plants ont été récoltés à environ 14 semaines après semis après dessèchement complet des feuilles.

L'essai a été conduit dans des conditions naturelles sans application d'engrais ni apport d'eau complémentaire

Estimation des densités de populations des nématodes à galles à la récolte. Les effets des différents produits de lutte sur les nématodes ont été évalués en estimant les densités de populations des larves dans le sol et dans les racines 14 semaines après semis, correspondant à la maturité des plants. Pour l'échantillonnage, cinq plants ont été choisis au hasard par parcelle et ont servi de repère pour le prélèvement de sol et des racines.

Pour estimer la densité de populations des nématodes dans le sol, cinq prélèvements de

sol ont été fait dans chacune des parcelles à la profondeur 5 - 30 cm à l'aide d'une sonde à 10 cm de la base de chacun des plants sélectionnés. Les échantillons d'une même parcelle ont été soigneusement mélangés et un sous-échantillon de 250 cm³ a été utilisé pour l'extraction des nématodes suivant la technique de centrifugation (Affokpon *et al.*, 2011).

Pour déterminer la densité de populations de ces nématodes dans les racines, les plants ont été déterrés avec délicatesse à l'aide d'une pelle métallique après la collecte des échantillons de sol. Les racines ont été ensuite coupées à l'aide d'un sécateur et soigneusement lavées à l'eau de robinet afin d'éliminer les particules de sol. Pour l'extraction des nématodes, les racines provenant d'une même parcelle ont été regroupées et découpées en de petits morceaux (1-2 cm) à l'aide d'une paire de ciseaux. Après les avoir soigneusement mélangés, 25 g de ces racines ont été broyées à l'aide d'une moulinette après ajout de solution d'hypochlorure de sodium (NaOCl, 1%). Les nématodes ont été extraits suivant la méthode de centrifugation comme dans le cas des échantillons de sol.

La suspension de nématodes a été ensuite recueillie dans un bécher et ajustée à 50 cm³. Un volume (3 cm³) de cette suspension a été transféré dans un disque de comptage puis monté au microscope (Olympus CX31). Les larves de second stade (L2) et les œufs des nématodes à galles ont été ensuite identifiés et comptés au grossissement x20.

Estimation de la sévérité des galles sur le système racinaire des plants. Afin d'apprécier l'effet des différents traitements sur les dégâts des nématodes à galles, la sévérité des galles sur les racines a été évaluée à partir de l'indice de galles. Ainsi, avant l'extraction des nématodes, les racines des plants prélevés ont d'abord servi à estimer l'indice de formation des galles. Cette évaluation a été faite suivant l'échelle de notation de 0 à 10

(Affokpon *et al.*, 2012) avec 0 = racines saines (sans galles); 1 = proportion de couverture des racines de 1-10%; 2 = proportion de couverture des racines de 11-20%; 3 = proportion de couverture des racines de 21-30%; 4 = proportion de couverture des racines de 31-40%; 5 = proportion de couverture des racines de 41-50%; 6 = proportion de couverture des racines de 51-60%; 7 = proportion de couverture des racines de 61-70%; 8 = proportion de couverture des racines de 71-80%; 9 = proportion de couverture des racines de 81-90%; 10 = proportion de couverture des racines de 91-100%.

Evaluation des paramètres de rendement.

Les données agronomiques collectées sont les rendements en graines non décortiquées et décortiquées et le poids de 1000 graines non décortiquées et décortiquées. Du fait que le type de développement végétatif de *C. mucosospermus* ne permettait pas de différencier les fruits provenant des plants des deux lignes centrales, la récolte a été faite sur la parcelle entière.

Ainsi, les fruits, en forme de Calebasses, ont été cueillis, cassés et les graines ont été collectées, lavées et séchées au soleil pendant 2 semaines, permettant d'obtenir un poids constant et un taux d'humidité de 10% mesuré à l'aide de l'humidimètre électronique Dikey John®. Ces graines ont été ensuite pesées puis décortiquées et les graines décortiquées ont été également pesées. Les poids des graines décortiquées et non décortiquées ont été utilisés pour estimer les rendements en graines non décortiquées et décortiquées exprimés en g m⁻².

Le poids de 1000 graines non décortiquées a été obtenu après la pesée de 1000 graines non décortiquées prélevées de façon aléatoire à partir de l'ensemble des graines obtenues sur chaque parcelle.

Analyses statistiques. Le logiciel Statistix 8.0 (Analytical Software, USA) a été utilisé pour l'analyse des données. Afin de normaliser

les données relatives au comptage, les densités de populations des nématodes ont été transformées en $\log_{10}(X+1)$ avec X le nombre de nématodes compté dans l'échantillon analysé (Gomez et Gomez, 1984). L'interaction Traitement x Année n'étant pas significative, les données des deux années d'essai ont été compilées et soumises à l'analyse de variance (ANOVA) à un critère de classification. Les moyennes ont été comparées avec le test de «Honest Significant Difference (HSD)» de Tukey au seuil de 5%. La corrélation entre les paramètres nématologiques et de rendements a été appréciée en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson.

RESULTATS

Effet des traitements sur les densités de populations des nématodes à galles et la sévérité des galles. A la récolte des plants (14 semaines après semis correspondant à 13 semaines après application des produits de lutte), les densités moyennes de populations des nématodes ont significativement varié entre les différents traitements aussi bien au niveau du sol ($P = 0,0001$) que dans les racines ($P < 0,0001$) (Tableau 1). Les densités de populations des nématodes à galles ont été significativement plus faibles au niveau des racines provenant des parcelles traitées à la combinaison «*T. asperellum* T-12 + poudre de graines de neem », avec des taux de réduction respectifs de 81,11 % et 89,51% par rapport à celles des parcelles non traitées et celles traitées au nématicide témoin. Dans le sol, les densités de populations des nématodes à galles ont été significativement plus faibles dans les parcelles traitées à la poudre de graines de neem que dans les autres traitements, à l'exception du traitement nématicide de synthèse pour lequel la différence n'est pas significative.

Par rapport à la sévérité des galles, les plants des parcelles traitées à la poudre de graines de neem ont enregistré le plus faible indice de galles (moyenne de 1,66 sur 10) avec un taux

TABLEAU 1. Effet de *Trichoderma asperellum* T-12, de la poudre de graines de neem et du nématicide Furadan sur la densité de populations des nématodes à galles et l'indice de galles à la récolte observés sur *Citrullus mucosospermus* accession « Egusi BEN 1-5-13 » en milieu réel

Traitements	Densité de populations des nématodes à la récolte ^a		Indice de galles (0-10) ^b
	Sol (250 cm ³)	Racines (25 g)	
<i>Trichoderma asperellum</i> T-12	195 ab	33 257 ab	4,00 ab
Poudre de graines de neem	95 c	9 286 c	1,66 c
<i>T. asperellum</i> T-12 + Poudre de graines de neem	300 a	3 968 d	2,33 bc
Témoin 2 (nématicide Furadan)	139 bc	37 822 a	5,33 a
Témoin 1 (sans produit de lutte)	156 b	21 008 b	3,33 abc
F	18,59	56,88	9,25
P	0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Dans chaque colonne, les moyennes (n = 10) suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Honest Significant Difference (HSD) de Tukey. ^aAnalyse statistique basée sur log (x+1), les données présentées dans le tableau sont des moyennes non transformées, ^bDegré de sévérité des galles avec 0 : pas de galles et 10: 91-100% racines présentant de galles.

de réduction de 68,86% par rapport à celui enregistré avec le témoin nématicide (Tableau 1).

Effet des traitements sur le rendement de la culture de *C. mucosospermus*. Les rendements en graines non décortiquées et en graines décortiquées ont varié significativement en fonction des traitements (P<0,001 pour les rendements moyens en graines non décortiquées; P<0,001 pour les rendements moyens en graines décortiquées).

Les parcelles traitées à la combinaison «*T. asperellum* + Poudre de graines de neem» ont donné le rendement moyen en graines non décortiquées le plus élevé (133 g m², soit 1329 kg ha⁻¹) avec une augmentation de 100 % par rapport aux rendements moyens des parcelles témoins traitées au nématicide de synthèse Furadan (66 ± 9 g m²) et celles non traitées (65 ± 3 g m²) (Fig. 1). Par rapport aux rendements en graines décortiquées, une tendance similaire à celle constatée au niveau des rendements moyens en graines non décortiquées a été observée. Un accroissement du rendement moyen en graines décortiquées

a été enregistré au niveau des parcelles traitées à la combinaison «*T. asperellum* + Poudre de graines de neem » avec des taux respectifs de 122% et 118%, comparée à ceux des parcelles témoins traitées au Furadan (49 g m²) et celles non traitées (50 g m²) (Fig. 1).

La différence entre les poids moyens de 1000 graines non décortiquées des différents traitements n'est pas significative (P>0,05). Par contre, les poids moyens de 1000 graines décortiquées ont varié significativement (P<0,01) en fonction des traitements. Les parcelles traitées à la combinaison «*T. asperellum* + Poudre de graines de neem» ont enregistré un poids moyen de 1000 graines décortiquées significativement plus élevé (139 8 g) que ceux des parcelles témoins « Furadan » et « sans traitement » avec un taux d'accroissement de 16,81% (Fig. 2).

Corrélation entre les paramètres d'évaluation des nématodes et les paramètres de rendements. L'analyse de corrélation de Pearson a montré que la densité de populations des nématodes à galles dans les racines a un effet significatif (P<0,01)

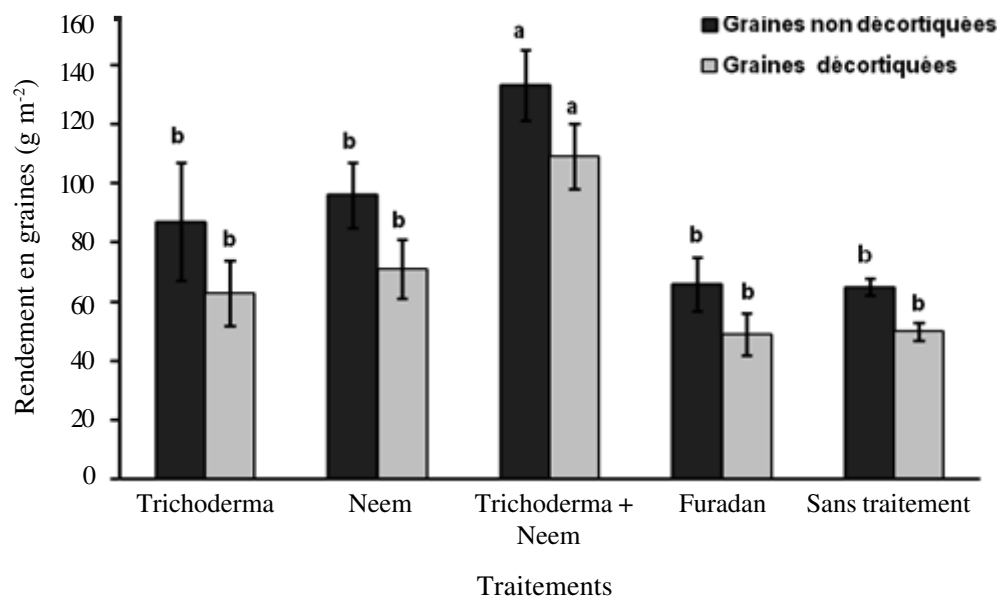


Figure 1. Effet du champignon *Trichoderma asperellum* T-12, de la poudre de graines de neem et du nématicide Furadan sur les rendements en graines (g m⁻²) non décortiquées et décortiquées de *Citrullus mucospermus* accession « Egusi BEN 1-5-13 » en milieu réel. Pour un paramètre donné, les bars (représentant les écart-types) suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Tukey HSD utilisant ANOVA à un critère de classification.

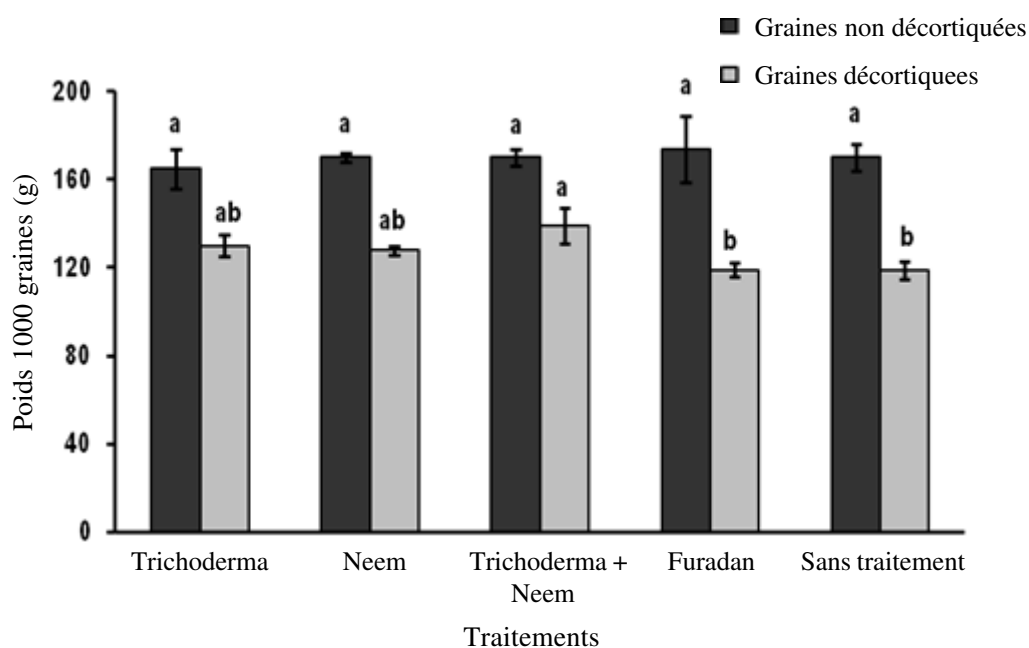


Figure 2. Effet du champignon *Trichoderma asperellum* T-12, de la poudre de graines de neem et du nématicide Furadan sur les poids moyens de 1000 graines (g) non décortiqués et décortiqués de *Citrullus mucospermus* accession « Egusi BEN 1-5-13 » en milieu réel. Pour un paramètre donné, les bars (représentant les écart-types) suivis de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Tukey HSD utilisant ANOVA à un critère de classification.

négalif sur les rendements en graines non décortiquées ($r = - 0,75$) et graines décortiquées ($r = - 0,74$). De même, la sévérité des galles, exprimée par l'indice de galles, a aussi un effet significatif ($P < 0,05$) négatif sur les rendements en graines non décortiquées ($r = - 0,64$) et graines décortiquées ($r = - 0,62$). Par contre, la corrélation entre les paramètres d'évaluation des nématodes à galles (densité de populations et indice de galles) et les poids de 1000 graines non décortiquées et décortiquées n'est pas significative ($r < 0,50$).

DISCUSSION

Les nématodes à galles constituent l'un des ravageurs d'importance économique pour la culture de *Citrullus mucospermus* (Van der Vossen *et al.*, 2004). En l'absence d'une méthode de lutte adéquate contre les nématodes à galles, la culture de *C. mucospermus* est hypothéquée (Affokpon *et al.*, 2014). La présente étude constitue à notre connaissance la première évaluation d'agents de lutte biologique et d'extraits botaniques appliqués seuls ou en combinaison, pour le contrôle des nématodes à galles sur *C. mucospermus*.

L'application de la poudre de graines de neem seule, une semaine avant le semis de *C. mucospermus*, a montré une réduction significative des populations de nématodes à galles, comparativement aux parcelles traitées avec le nématicide Furadan et celles non traitées. L'effet des dérivés de neem sur les nématodes à galles a été antérieurement évalué sur d'autres cultures dont la courge au Bangladesh (Yasmin *et al.*, 2003), la tomate et la grande morelle au Bénin (Affokpon *et al.*, 2012). Il a été observé une diminution de 47% du nombre de masses d'œufs sur le système racinaire de la courge et de 51 et 81% les taux de reproduction des nématodes dans les parcelles de tomate et de grande morelle. Plusieurs auteurs ont expliqué que l'effet nématicide des dérivés de neem contre les

nématodes à galles est dû à certains composés nématicides du neem, notamment azadirachtin et autres triterpénoïdes (Akhtar et Malik, 2000; Ferraz et de Freitas, 2004). Comparant l'effet de deux dérivés de neem (le tourteau et la poudre de graines de neem) contre les nématodes à galles sur la tomate et la grande morelle, Affokpon *et al.* (2012) ont constaté que la poudre de graines de neem a un effet plus persistant que celui du tourteau. Dans la présente étude, la persistance de l'effet de la poudre de graines de neem a été aussi remarquée à travers la faible densité de populations des nématodes à la récolte (14 semaines après semis) de la culture. L'agent de lutte biologique *T. asperellum* T-12 appliqué seul une semaine après le semis n'a pas réduit la densité de populations des nématodes à galles. Ces résultats sont contraires à ceux des études préliminaires sur la tomate (Affokpon *et al.*, 2011), la carotte et la laitue (Affokpon *et al.*, 2014) où l'application de *T. asperellum* T-12 a entraîné une réduction des nématodes à galles à un taux supérieur ou égal à celui du nématicide Furadan. Divers facteurs dont l'espèce de nématodes, la plante-hôte, le temps d'application et la dose de l'agent biologique peuvent influencer l'efficacité de *Trichoderma* spp. contre les nématodes (Spiegel et Chet, 1998; Affokpon *et al.*, 2011; 2014). Dans les études citées précédemment, l'agent biologique avait été appliqué à au moins deux semaines après la mise en place des cultures. Dans notre étude, le semis est intervenu sept jours après application de *T. asperellum* T-12. Ce qui aurait réduit la durée d'exposition des nématodes aux champignons avant l'installation des plantules, entraînant ainsi un taux de pénétration relativement plus élevé dans les racines. Par ailleurs, les sites de production maraichère au Bénin sont caractérisés par une diversité d'espèces de nématodes à galles (Pagan *et al.*, 2015). Cette diversité pourrait aussi affecter négativement l'efficacité des agents de lutte biologique du fait de leur sélectivité par rapport aux espèces de nématodes. Verdejo-Lucas *et al.* (2003) ont à cet effet suggéré que la gestion

durable des nématodes à galles ne pourrait être effective que grâce à une combinaison de méthodes de lutte. Des études antérieures ont démontré l'effectivité de la lutte contre les nématodes à galles lorsque les dérivés de neem sont associés à des agents biologiques comme *Paecilomyces lilacinus*, *Pasteuria penetrans*, *Trichoderma harzianum* ou champignons mycorhiziens arbusculaires (*Glomus mosseae*) (Coyne *et al.*, 2009). Dans le cadre de la présente étude, les résultats obtenus au niveau des parcelles traitées à la fois au champignon *T. asperellum* T-12 et à la poudre de graines neem ont montré leur supériorité à la poudre de graines de neem seule en terme de réduction des densités des nématodes dans les racines, confirmant ainsi la compatibilité et l'effet synergique de l'agent biologique utilisé et la poudre de graines de neem. Cette compatibilité a été aussi rapportée par Rao *et al.* (1997) entre *Trichoderma harzianum* et le tourteau de graines de neem.

Il a été observé un effet limité sur l'indice de formation des galles (Tableau 1) qui traduit la sévérité de l'attaque des nématodes. L'indice des galles se réfère au nombre et la taille des galles au niveau des racines. L'absence de différence significative entre les parcelles traitées et les parcelles non traitées pourrait être liée à la taille des galles et à la nature des racines. Des observations similaires ont été relevées par Affokpon *et al.* (2011) lors de l'évaluation de plusieurs espèces de *Trichoderma* spp. contre les nématodes à galles au Sud-Bénin qu'ils ont attribué à une réaction des plantes suite au processus d'initiation du site nourricier par les larves de stades 2. Toutefois, la poudre de graines de neem seule ou combinée avec *T. asperellum* T-12 a montré une supériorité par rapport au nématicide utilisé. Ces résultats confirment ceux obtenus par Affokpon *et al.* (2014) dans des essais sur la protection des cultures maraîchères contre les nématodes à galles par l'utilisation des agents biologiques et de Furadan dans les sites maraîchers des zones littorales de Cotonou, Ouidah et Grand-Popo au Bénin.

L'accession « Egusi BEN 1-5-13 » utilisée dans cette étude est une accession modérément tolérante aux nématodes à galles (Affokpon *et al.*, 2014). L'utilisation combinée de *T. asperellum* T-12 et poudre de graines de neem a permis d'obtenir une augmentation considérable du rendement en graines non décortiquées et décortiquées. Cette amélioration de rendement est due au degré de suppression des nématodes à galles. En effet, l'analyse de corrélation de Pearson a montré que la densité de populations des nématodes à galles dans les racines a un effet négatif sur les rendements en graines non décortiquées et graines décortiquées. Par ailleurs, différentes études ont montré que la colonisation des racines des plantes par *Trichoderma* spp. améliore le développement des systèmes racinaires, la productivité des cultures et l'utilisation des nutriments du sol par la plante (Mouria *et al.*, 2008; Affokpon *et al.*, 2011). De même, selon certains auteurs, l'amélioration des rendements des cultures sur sol infesté aux nématodes à galles suite à l'application des dérivés de neem est liée aussi bien au contrôle des nématodes qu'à l'amélioration du niveau de fertilité des sols (Affokpon *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2012). Akhtar et Alam (1993) ont expliqué qu'en dehors de leurs effets nématicides, les composés triterpènes des graines de neem inhibent le processus de nitrification et accroît la quantité d'azote disponible. Ainsi donc, l'accroissement des rendements observés est aussi lié aux propriétés de *Trichoderma* spp. et de la poudre de graines de neem à améliorer directement les rendements des cultures.

CONCLUSION

La présente étude montre clairement que l'utilisation de l'agent biologique *Trichoderma asperellum* souche T-12 du Bénin en combinaison avec la poudre de graines de neem constitue une alternative à la lutte chimique dans le domaine de la protection de la culture de *C. mucosospermus* contre les nématodes à

galles. Les résultats mettent en évidence la compatibilité entre la souche T-12 de *T. asperellum* et la poudre de graines de neem et leurs effets synergiques sur les nématodes à galles et le rendement de *C. mucospermus*. L'application de cette combinaison de moyens de lutte contribuera à l'accroissement de la productivité de *C. mucospermus* en Afrique de l'ouest, culture considérée autrefois comme traditionnelle et négligée, et de ce fait à l'amélioration des revenus des producteurs. Des études ultérieures devraient être orientées vers l'identification des plantes promotrices de ce champignon afin de les introduire dans le système de production de *C. mucospermus*. L'utilisation de ces plantes en association ou en rotation permettrait de stimuler la prolifération du champignon et favoriser la persistance du microorganisme dans le sol.

REMERCIEMENT

Les auteurs remercient la Fondation Internationale pour la Science (IFS) pour la bourse de recherche IFS N° C/5175-1 accordée à l'auteur principal.

REFERENCES

- Achigan-Dako, G.E., Fanou, N., Koukè, A., Avohou, H., Vodouhe, S.R. et Achantchede, A. 2006. Evaluation agronomique de trois espèces de Egusi (*Cucurbitaceae*) utilisées dans l'alimentation au Bénin et élaboration d'un modèle de prédiction du rendement. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 10(2):121-129.
- Affokpon, A., Coyne, D.L., De Proft, M. et Coosemans, J. 2015. *In vitro* growth characterization and biocontrol potential of naturally occurring nematophagous fungi recovered from root-knot nematode infested vegetable fields in Benin. *International Journal of Pest Management* 61(4): 273-283.
- Affokpon, A., Coyne, D.L., Htay, C.C., Dossou Agbèdè, R., Lawouin, L. et Coosemans, J. 2011. Biocontrol potential of native Trichoderma isolates against root-knot nematodes in West African vegetable production systems. *Soil Biology and Biochemistry* 43(3): 600-608.
- Affokpon, A., Dan, C.B.S., Houedjissi, M.E., Hekpazo, B.A. et Tossou, C. 2012. L'efficacité des dérivés de graines de neem contre les nématodes à galles en cultures maraichères diffère en fonction du type de dérivé. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin* 72: 48-58.
- Affokpon, A., Baimey, H.K., Achigan-Dako, E.G., Tossou, C., Lokossou, J.N. et Bokonon-Ganta, A.H. 2014. Improving productivity of *Citrullus lanatus* subsp. *mucospermus* (Egusi Melon) through identification and use of local nematode resistant varieties. *Journal of Nematology* 46(2):131-132. (Abstract).
- Akhtar, M. et Alam, M.M. 1993. Control of plant-parasitic nematodes by 'Nimin' - an urea-coating agent and some plant oils. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheit und Pflanzenschutz* 100: 337-342.
- Akhtar, M. et Malik, A., 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: A review. *Bioresource Technology* 74 : 35-47.
- Countrystat. 2014. CeRPA/ Service Statistique /DPP/MAEP. (<http://www.countrystat.org/home.aspx?c=BEN&tr=7>). Consulté le 13 Septembre 2015.
- Coyne, D.L., Hendrika, F.H. et Moens, M. 2009. Current and future management strategies in resource-poor farming. In: Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Eds.). *Root-knot nematodes*. CAB International, Wallingford, UK. pp. 444-475.
- Ferraz, S. et de Freitas, L.G. 2004. Use of antagonistic plants and natural products. In: *Nematology - Advances and Perspectives. Nematode Management and Utilization*: Chen, Z.X., Chen, S.Y. and Dickson, D.W. (Eds). Wallingford, UK. pp. 931-977.

- Gomez, K.A. et Gomez, A.A. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2nd édition, John Wiley and Sons Inc., New York, USA. 680pp.
- James, B., Atcha-Ahowé, C., Godonou, I., Baimey, H., Goergen, H., Sikirou, R. et Toko, M. 2010. Integrated pest management in vegetable production: A guide for extension workers in West Africa. International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. 114pp.
- Khan, M.R., Mohiddin, F.A., Ejaz, M.N. et Khan, M.M. 2012. Management of root-knot disease in eggplant through the application of biocontrol fungi and dry neem leaves. *Turkish Journal of Biology* 36(2): 161-169.
- Koffi Ahébé, M-H., Atta Diallo, H. et Zoro Bi, I.A. 2013. Identification of fungus flora associated with *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl in Côte d'Ivoire. *Asian Journal of Agriculture and Rural Development* 3(10): 767-779.
- Kyalo, G., Affokpon, A., Coosemans, J. et Coyne, D.L. 2007. Biological control effects of *Pochonia chlamydosporia* and *Trichoderma* isolates from Benin (West-Africa) on root-knot nematodes. *Communication in Agricultural and Applied Biological Science* 72 : 219-223.
- Manzanilla-Lopez, R.H., Kenneth, E. et Bridge, J. 2004. Plant diseases caused by nematodes. In: *Nematology - Advances and Perspectives. Nematode Management and Utilization*: Chen, Z.X., Chen, S.Y. and Dickson, D.W. (Eds.), Wallingford, UK. pp. 637-716.
- Mouria, B., Ouazzani-Touhami, A. et Douira, A. 2008. Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection* 88(3): 103-110.
- Pagan, C., Coyne, D., Carneiro, R., Kariuki, G., Luambano, N., Affokpon, A. et Williamson, V.M. 2014. Mitochondrial haplotype-based identification of ethanol-preserved root-knot nematodes from Africa. *Phytopathology* 105(3): 350-357.
- Rao, M.S., Reddy, P.P. et Nagesh, M. 1997. Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato by integration of *Trichoderma harzianum* with neem cake. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 104: 423-425.
- Spiegel, Y. et Chet, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soil borne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Review* 3(3): 169-175.
- Trudgill, D.L. et Blok, V.C. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 39: 53-77.
- Van Der Vossen, H.A.M., Denton, O.A. et El Tahir, I.M. 2004. *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai. (Internet). Record from Protabase. (<http://database.prota.org/search.htm>). Consulté le 10 Octobre 2014.
- Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., Ornat, C. et Galeano, M. 2003. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathology* 52: 521-528.
- Westerdahl, B.B. et Becker, J.O. 2009. Cucurbit Nematodes. UC Pest Management Guidelines: Cucurbits. UC ANR Publication 3445.
- Williams, J.T. et Haq, N. 2002. Global research on underutilized crops. An assessment of current activities and proposal for enhanced cooperation. International Centre for Underutilised Crops (ICUC), Southampton, UK. 46 pp.
- Yasmin, L., Rashid, M.H, Nazim Uddin, M., Hossain, M.S., Hossain, M.E. et Ahmed, M.U. 2003. Use of neem extract in controlling root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) of sweet-gourd. *Plant Pathology Journal* 2 : 161-168.