

Premier article : Screening of virulent isolates of entomopathogenic fungi in the control of *Hymenia recurvalis* Fabricius and *Psara basalis* Walker on *Amaranthus cruentus* L.

Par : J. Toffa, Y. L. E. Loko, H. Bokossa, E. Dannon, D. Kpindou and M. Tamò

Pages (pp.) 01-10.

Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) – Novembre 2022 – Volume 32 - Numéro 03

Le BRAB est en ligne (on line) sur le site web <http://www.slire.net> et peut être aussi consulté sur le site web de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) <http://www.inrab.org>

ISSN imprimé (print ISSN) : 1025-2355 et ISSN électronique (on line ISSN) : 1840-7099

Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin



Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

Direction Scientifique (DS) - Service Animation Scientifique (SAS)

01 BP 884 Recette Principale, Cotonou 01 - République du Bénin

Tél. : (+229) 21 30 02 64 ; E-mail : sp.inrab@inrab.org / inrabdg1@yahoo.fr / brabpisbinrab@gmail.com

La rédaction et la publication du bulletin de la recherche agronomique du Bénin (BRAB) de l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

01 B.P. 884 Recette Principale, Cotonou 01 - Tél. : (+229) 21 30 02 64

E-mail: brabpisbinrab@gmail.com - République du Bénin

Sommaire

Sommaire	i
Informations générales	ii
Indications aux auteurs	iii
Screening of virulent isolates of entomopathogenic fungi in the control of <i>Hymenia recurvalis</i> Fabricius and <i>Psara basalis</i> Walker on <i>Amaranthus cruentus</i> L. J. Toffa, Y. L. E. Loko, H. Bokossa, E. Dannon, D. Kpindou and M. Tamò	1
Effets des pratiques de Gestion Durable des Terres sur la sécurité alimentaire des ménages bénéficiaires dans un contexte d'adaptation aux variabilités et changements climatiques dans deux Communes du Nord-Bénin F. I. Akpo, K. Issaka, F. Tassou Zakari, F. O. Agani et J. A. Yabi	11
Perceptions et demande du conseil agricole au sein des exploitations cotonnières et non-cotonnières au Bénin D. V. Agbotridja, C. L. Hinnou, G. Maboudou-Alidou et A. Ahéhéhinou	23
Evaluation de la toxicité des extraits totaux aqueux des feuilles de <i>Bridelia ferruginea</i> Benth (Euphorbiaceae) chez le rat Wistar F. M. Adoukpe, T. M. C. Medehouenou, G. A. Hougbe, D. T. Allode, J. V. Aholoukpe, L. U. Béhanzin et L. S. Baba-Moussa	33
Activités antioxydante et antimicrobienne des feuilles de <i>Tectona grandis</i> Linn., utilisées pour le traitement de l'ulcère gastroduodéal au Bénin O. Koukoui, F. Cachon, A. Hougbe, N. Kinnou, L. Gbenou, S. Seton et J.-B. Amagbegnon	44
Impact du warrantage sur l'accès aux aliments des ménages des producteurs de maïs dans le Nord-Est du Bénin R. Moustafa, S. Kpenavoun Chogou et J. F. Nazeba	53
Complémentarité entre la gestion des biens matériels et économiques et la gestion du salut des âmes chez les chrétiens catholiques B. M. Some	73
Faire face aux dilemmes éthiques dans la gestion d'une paroisse de l'église catholique D. I. Houngue	80

Informations générales

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) édité par l'Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB) est un organe de publication créé en mai 1991 pour offrir aux chercheurs béninois et étrangers un cadre pour la diffusion des résultats de leurs travaux de recherche. Il accepte des articles originaux de recherche et de synthèse, des contributions scientifiques, des articles de revue, des notes et fiches techniques, des études de cas, des résumés de thèse, des analyses bibliographiques, des revues de livres et des rapports de conférence relatifs à tous les domaines de l'agronomie et des sciences apparentées, ainsi qu'à toutes les disciplines du développement rural. La publication du Bulletin est assurée par un comité de rédaction et de publication appuyés par un conseil scientifique qui réceptionne les articles et décide de l'opportunité de leur parution. Ce comité de rédaction et de publication est appuyé par des comités de lecture qui sont chargés d'apprécier le contenu technique des articles et de faire des suggestions aux auteurs afin d'assurer un niveau scientifique adéquat aux articles. La composition du comité de lecture dépend du sujet abordé par l'article proposé. Rédigés en français ou en anglais, les articles doivent être assez informatifs avec un résumé présenté dans les deux langues, dans un style clair et concis. Une note d'indications aux auteurs est disponible dans chaque numéro et peut être obtenue sur demande adressée au secrétariat du BRAB. Pour recevoir la version électronique pdf du BRAB, il suffit de remplir la fiche d'abonnement et de l'envoyer au comité de rédaction avec les frais d'abonnement. La fiche d'abonnement peut être obtenue à la Direction Générale de l'INRAB, dans ses Centres de Recherches Agricoles ou à la page vii de tous les numéros. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Un thesaurus spécifique dénommé « TropicAgrif » (Tropical Agriculture and Forestry) a été développé pour caractériser les articles parus dans le BRAB et servir d'autres revues africaines du même genre. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

Comité de Rédaction et de Publication du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin - 01 BP 884 Recette
Principale - Cotonou 01 – Tél.: (+229) 21 30 02 64 - E-mail: brabpbinrab@gmail.com – République du Bénin

Éditeur : Institut National des Recherches Agricoles du Bénin (INRAB)

Comité de Rédaction et de Publication : -i- **Directeur de rédaction et de publication :** Directeur Général de l'INRAB ; -ii- **Rédacteur en chef :** Directeur Scientifique de l'INRAB ; -iii- **Secrétaire documentaliste :** Documentaliste archiviste de l'INRAB ; -iv- **Maquettiste :** Analyste programmeur de l'INRAB ; -v- **Opérateur de mise en ligne :** Dr Ir. Sètchéme Charles Bertrand POMALEGNI, Chargé de recherche ; -vi- **Membres :** Dr Ir. Guy A. MENSAH, Directeur de Recherche, Dr Ir. Angelo C. DJIHINTO, Maître de Recherche, Dr Ir. Rachida SIKIROU, Maître de Recherche et MSc. Ir. Gbènakpon A. Y. G. AMAGNIDE.

Conseil Scientifique : Membres du Conseil Scientifique de l'INRAB, Pr. Dr Ir. Brice A. SINSIN (Écologie, Foresterie, Faune, PFNL, Bénin), Pr. Dr Michel BOKO (Climatologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Joseph D. HOUNHOUGAN (Sciences et biotechnologies alimentaires, Bénin), Pr. Dr Ir. Abdourahmane BALLA (Sciences et biotechnologies alimentaires, Niger), Pr. Dr Ir. Kakai Romain GLELE (Biométrie et Statistiques, Bénin), Pr. Dr Agathe FANTODJI (Biologie de la reproduction, Elevage des espèces gibier et non gibier, Côte d'Ivoire), Pr. Dr Ir. Jean T. C. CODJIA (Zootechnie, Zoologie, Faune, Bénin), Pr. Dr Ir. Euloge K. AGBOSSOU (Hydrologie, Bénin), Pr. Dr Sylvie M. HOUNZANGBE-ADOTE (Parasitologie, Physiologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Jean C. GANGLO (Agro-Foresterie), Dr Ir. Guy A. MENSAH (Zootechnie, Faune, Elevage des espèces gibier et non gibier, Bénin), Pr. Dr Moussa BARAGÉ (Biotechnologies végétales, Niger), Pr. Dr Jeanne ZOUNDJIHEKPON (Génétique, Bénin), Pr. Dr Ir. Gauthier BIAOU (Économie, Bénin), Pr. Dr Ir. Roch MONGBO (Sociologie, Anthropologie, Bénin), Dr Ir. Gualbert GBEHOUNOU (Malherbologie, Protection des végétaux, Bénin), Dr Ir. Attanda Mouinou IGUE (Sciences du sol, Bénin), Dr DMV. Delphin O. KOUDANDE (Génétique, Sélection et Santé Animale, Bénin), Dr Ir. Aimé H. BOKONON-GANTA (Agronomie, Entomologie, Bénin), Pr. Dr Ir. Rigobert C. TOSSOU (Sociologie, Bénin), Dr Ir. Anne FLOQUET (Économie, Allemagne), Dr Ir. André KATARY (Entomologie, Bénin), Dr Ir. Hessou Anastase AZONTONDE (Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. Claude ADANDEDJAN (Zootechnie, Pastoralisme, Agrostologie, Bénin), Dr Ir. Paul HOUSSOU (Technologies agro-alimentaires, Bénin), Dr Ir. Adolphe ADJANOHOUN (Agro-foresterie, Bénin), Dr Ir. Isidore T.GBEGO (Zootechnie, Bénin), Dr Ir. Françoise ASSOGBA-KOMLAN (Maraîchage, Sciences du sol, Bénin), Dr Ir. André B. BOYA (Pastoralisme, Agrostologie, Association Agriculture-Élevage), Dr Ousmane COULIBALY (Agro-économie, Mali), Pr. Dr Ir. Luc O.SINTONDJI (Hydrologie, Génie Rural, Bénin), Dr Ir. Vincent J. MAMA (Foresterie, SIG, Bénin)

Comité de lecture : Les évaluateurs (referees) sont des scientifiques choisis selon leurs domaines et spécialités.

Indications aux auteurs

Types de contributions et aspects généraux

Le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB) accepte des articles scientifiques, des articles de synthèse, des résumés de thèse de doctorat, des analyses bibliographiques, des notes et des fiches techniques, des revues de livres, des rapports de conférences, d'ateliers et de séminaires, des articles originaux de recherche et de synthèse, puis des études de cas sur des aspects agronomiques et des sciences apparentées produits par des scientifiques béninois ou étrangers. La responsabilité du contenu des articles incombe entièrement à l'auteur et aux co-auteurs. Le BRAB publie par an normalement deux (02) numéros en juin et décembre mais quelquefois quatre (04) numéros en mars, juin, septembre et décembre et aussi des numéros spéciaux mis en ligne sur le site web : <http://www.slire.net>. Pour les auteurs, une contribution de cinquante mille (50.000) Francs CFA est demandée par article soumis et accepté pour publication. L'auteur principal reçoit la version électronique pdf du numéro du BRAB contenant son article.

Soumission de manuscrits

Les articles doivent être envoyés par voie électronique par une lettre de soumission (*covering letter*) au comité de rédaction et de publication du BRAB aux adresses électroniques suivantes : E-mail : brabpbinrab@gmail.com. Dans la lettre de soumission les auteurs doivent proposer l'auteur de correspondance ainsi que les noms et adresses (y compris les e-mails) de trois (03) experts de leur discipline ou domaine scientifique pour l'évaluation du manuscrit. Certes, le choix des évaluateurs (*referees*) revient au comité éditorial du Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin. Les manuscrits doivent être écrits en français ou en anglais, tapé/saisi sous Winword ou Word ou Word docx avec la police Arial taille 10 en interligne simple sur du papier A4 (21,0 cm x 29,7 cm). L'auteur doit fournir des fichiers électroniques des illustrations (tableaux, figures et photos) en dehors du texte. Les figures doivent être réalisées avec un logiciel pour les graphiques. Les données ayant servi à élaborer les figures seront également fournies. Les photos doivent être suffisamment contrastées. Les articles sont soumis par le comité de rédaction à des évaluateurs, spécialistes du domaine.

Sanction du plagiat et de l'autoplégat dans tout article soumis au BRAB pour publication

De nombreuses définitions sont données au plagiat selon les diverses sources de documentations telles que « -i- Acte de faire passer pour siens les textes ou les idées d'autrui. -ii- Consiste à copier les autres en reprenant les idées ou les résultats d'un autre chercheur sans le citer et à les publier en son nom propre. -iii- Copie frauduleuse d'une œuvre existante en partie ou dans sa totalité afin de se l'approprier sans accord préalable de l'auteur. -iv- Vol de la création originale. -v- Violation de la propriété intellectuelle d'autrui. » (<https://integrite.umontreal.ca/reglements/definitions-generales/>). Le Plagiat et l'Autoplégat sont à bannir dans les écrits scientifiques. Par conséquent, tout article soumis pour sa publication dans le BRAB doit être préalablement soumis à une analyse de plagiat, en s'appuyant sur quelques plateformes de détection de plagiat. Le **plagiat constaté dans tout article** sera sanctionné par un retour de l'article accompagné du **rapport de vérification du plagiat par un logiciel antiplagiat** à l'auteur de correspondance pour sa correction avec **un taux de tolérance de plagiat ou de similitude inférieur ou égal à sept pour cent (07%)**.

Respecter de certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture

Pour qu'un article soit accepté par le comité de rédaction, il doit respecter certaines normes d'édition et règles de présentation et d'écriture. Ne pas oublier que les trois (3) **qualités fondamentales d'un article scientifique** sont la **précision** (supprimer les adjectifs et adverbes creux), la **clarté** (phrases courtes, mots simples, répétition des mots à éviter, phrases actives, ordre logique) et la **brèveté** (supprimer les expressions creuses). **Le temps des verbes doit être respecté**. En effet, tout ce qui est expérimental et non vérifié est rédigé au passé (passé composé et imparfait) de l'indicatif, notamment les parties *Méthodologie (Matériels et méthodes)* et *Résultats*. Tandis que tout ce qui est admis donc vérifié est rédigé au présent de l'indicatif, notamment les parties *Introduction*, avec la citation de résultats vérifiés, *Discussion* et *Conclusion*. Toutefois, en cas de doute, rédigez au passé. Pour en savoir plus sur la méthodologie de rédaction d'un article, prière consulter le document suivant : **Assogbadjo A. E., Aïhou K., Youssou A. K. I., Fovet-Rabot C., Mensah G. A., 2011. L'écriture scientifique au Bénin. Guide contextualisé de formation. Cotonou, INRAB, 60 p. ISBN : 978-99919-857-9-4 – INRAB 2011. Dépôt légal n° 5372 du 26 septembre 2011, 3^{ème} trimestre 2011. Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin.**

Titre

Dans le titre se retrouve l'information principale de l'article et l'objet principal de la recherche. Le titre doit contenir 6 à 10 mots (22 mots au maximum) en position forte, décrivant le contenu de l'article, assez informatifs, descriptifs, précis et concis. Un bon titre doit donner le meilleur aperçu possible de l'article en un minimum de mots. Il comporte les mots de l'index *Medicus*. Le titre est un message-réponse aux 5 W [what (quoi ?), who (qui ?), why (pourquoi ?), when (quand ?), where (où ?)] & 1 H [how (comment ?)]. Il est recommandé d'utiliser des sous-titres courts et expressifs pour subdiviser les sections longues du texte mais écrits en minuscules, sauf la première lettre et non soulignés. Toutefois, il faut éviter de multiplier les sous-titres. Le titre doit être traduit dans la seconde langue donc écrit dans les deux langues français et anglais.

Auteur et Co-auteurs

Les initiales des prénoms en majuscules séparées par des points et le nom avec 1^{ère} lettre écrite en majuscule de tous les auteurs (auteur & co-auteurs), sont écrits sous le titre de l'article. Immédiatement, suivent les titres académiques (Pr., Dr, MSc., MPhil. et/ou Ir.), les prénoms écrits en minuscules et le nom écrit en majuscule, puis les adresses complètes (structure, BP, e-mail, Tél. et pays) de tous les auteurs. Il ne faut retenir que les noms des membres de l'équipe ayant effectivement participé au programme de recherche et à la rédaction de l'article.

Résumé

Un bref résumé dans la langue de l'article est précédé d'un résumé détaillé dans la seconde langue (français ou anglais selon le cas) et le titre sera traduit dans cette seconde langue. Le résumé est une compression en volume plus réduit de l'ensemble des idées développées dans un document, etc. Il contient l'essentiel en un seul paragraphe de 200 à 350 mots. Le résumé contient une **Introduction** (contexte, Objectif, etc.) rédigée avec 20% des mots, la **Méthodologie** (type d'étude, échantillonnage, variables et outils statistiques) rédigée avec 20% des mots, les **Résultats obtenus et leur courte discussion** (résultats importants et nouveaux pour la science), rédigée avec 50% des mots et une **Conclusion** (implications de l'étude en termes de généralisation et de perspectives de recherches) rédigée avec 10% des mots.

Mots-clés

Les 3 à 5 mots et/ou groupes de mots clés les plus descriptifs de l'article suivent chaque résumé et comportent le pays (la région), la problématique ou l'espèce étudiée, la discipline ou le domaine spécifique, la méthodologie, les résultats et les perspectives de recherche. Il est conseillé de choisir d'autres mots/groupes de mots autres que ceux contenus dans le titre.

Texte

Le texte doit être rédigé dans un langage simple et compréhensible. L'article est structuré selon la discipline scientifique et la thématique en utilisant l'un des plans suivants avec les Remerciements (si nécessaire) et Références bibliographiques : *IMReD* (Introduction, Matériel et Méthodes, Résultats, Discussion/Résultats et Conclusion) ; *ILPIA* (Introduction, Littérature, Problème, Implication, Avenir) ; *OPERA* (Observation, Problème, Expérimentation, Résultats, Action) ; *SOSRA* (Situation, Observation, Sentiments, opinion, Réflexion, Action) ; *ESPRIT/SPRIT* [Entrée en matière (introduction), Situation du problème, Problème précis, Résolution, Information appliquée ou détaillée, Terminaison (conclusion)] ; *APPROACH* (Annonce, Problématique (perutable avec Présentation), Présentation, Réactions, Opinions, Actions, Conclusions, Horizons) ; etc.

Introduction

L'introduction c'est pour persuader le lecteur de l'importance du thème et de la justification des objectifs de recherche. Elle motive et justifie la recherche en apportant le background nécessaire, en expliquant la rationalité de l'étude et en exposant clairement l'objectif et les approches. Elle fait le point des recherches antérieures sur le sujet avec des citations et références pertinentes. Elle pose clairement la problématique avec des citations scientifiques les plus récentes et les plus pertinentes, l'hypothèse de travail, l'approche générale suivie, le principe méthodologique choisi. L'introduction annonce le(s) objectif(s) du travail ou les principaux résultats. Elle doit avoir la forme d'un entonnoir (du général au spécifique).

Matériels et méthodes

Il faut présenter si possible selon la discipline le **milieu d'étude** ou **cadre de l'étude** et indiquer le lien entre le milieu physique et le thème. **La méthodologie d'étude** permet de baliser la discussion sur les résultats en renseignant sur la validité des réponses apportées par l'étude aux questions formulées en introduction. Il faut énoncer les méthodes sans grands détails et faire un extrait des principales utilisées. L'importance est de décrire les protocoles expérimentaux et le matériel utilisé, et de préciser la taille de l'échantillon, le dispositif expérimental, les logiciels utilisés et les analyses statistiques effectuées. Il faut donner toutes les informations permettant d'évaluer, voire de répéter l'essai, les calculs et les observations. Pour le matériel, seront indiquées toutes les caractéristiques scientifiques comme le genre, l'espèce, la variété, la classe des sols, etc., ainsi que la provenance, les quantités, le mode de préparation, etc. Pour les méthodes, on indiquera le nom des dispositifs expérimentaux et des analyses statistiques si elles sont bien connues. Les techniques peu répandues ou nouvelles doivent être décrites ou bien on en précisera les références bibliographiques. Toute modification par rapport aux protocoles courants sera naturellement indiquée.

Résultats

Le texte, les tableaux et les figures doivent être complémentaires et non répétitifs. Les tableaux présenteront un ensemble de valeurs numériques, les figures illustrent une tendance et le texte met en évidence les données les plus significatives, les valeurs optimales, moyennes ou négatives, les corrélations, etc. On fera mention, si nécessaire, des sources d'erreur. La règle fondamentale ou règle cardinale du témoignage scientifique suivie dans la présentation des résultats est de donner tous les faits se rapportant à la question de recherche concordant ou non avec le point de vue du scientifique et d'indiquer les relations imprévues pouvant faire de l'article un sujet plus original que l'hypothèse initiale. Il ne faut jamais entremêler des descriptions méthodologiques ou des interprétations avec les résultats. Il faut indiquer toujours le niveau de signification statistique de tout résultat. Tous les aspects de l'interprétation doivent être présents. Pour l'interprétation des résultats il faut tirer les conclusions propres après l'analyse des résultats. Les résultats négatifs sont aussi intéressants en recherche que les résultats positifs. Il faut confirmer ou infirmer ici les hypothèses de recherches.

Discussion

C'est l'établissement d'un pont entre l'interprétation des résultats et les travaux antérieurs. C'est la recherche de biais. C'est l'intégration des nouvelles connaissances tant théoriques que pratiques dans le domaine étudié et la différence de celles déjà existantes. Il faut éviter le piège de mettre trop en évidence les travaux antérieurs par rapport aux résultats propres. Les résultats obtenus doivent être interprétés en fonction des éléments indiqués en introduction (hypothèses posées, résultats des recherches antérieures, objectifs). Il faut discuter ses propres résultats et les comparer à des résultats de la littérature scientifique. En d'autres termes c'est de faire les relations avec les travaux antérieurs. Il est nécessaire de dégager les implications théoriques et pratiques, puis d'identifier les besoins futurs de recherche. Au besoin, résultats et discussion peuvent aller de pair.

Résultats et Discussion

En optant pour **résultats et discussions** alors les deux vont de pair au fur et à mesure. Ainsi, il faut la discussion après la présentation et l'interprétation de chaque résultat. Tous les aspects de l'interprétation, du commentaire et de la discussion des résultats doivent être présents. Avec l'expérience, on y parvient assez aisément.

Conclusion

Il faut une bonne et concise conclusion étendant les implications de l'étude et/ou les suggestions. Une conclusion fait ressortir de manière précise et succincte les faits saillants et les principaux résultats de l'article sans citation bibliographique. La conclusion fait la synthèse de l'interprétation scientifique et de l'apport original dans le champ scientifique concerné. Elle fait l'état des limites et des faiblesses de l'étude (et non celles de l'instrumentation mentionnées dans la section de méthodologie). Elle suggère d'autres avenues et études permettant d'étendre les résultats ou d'avoir des applications intéressantes ou d'obtenir de meilleurs résultats.

Références bibliographiques

La norme Harvard et la norme Vancouver sont les deux normes internationales qui existent et régulièrement mises à jour. Il ne faut pas mélanger les normes de présentation des références bibliographiques. En ce qui concerne le Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin (BRAB), c'est la norme Harvard qui a été choisie. Les auteurs sont responsables de l'orthographe des noms cités

dans les références bibliographiques. Dans le texte, les publications doivent être citées de la manière suivante : Sinsin (2020) ou Sinsin et Assogbadjo (2020) ou Sinsin *et al.* (2007). Sachez que « *et al.* » est mis pour *et alteri* qui signifie et autres. Il faut s'assurer que les références mentionnées dans le texte sont toutes reportées par ordre alphabétique dans la liste des références bibliographiques. Somme toute dans le BRAB, selon les ouvrages ou publications, les références sont présentées dans la liste des références bibliographiques de la manière suivante :

Pour les revues scientifiques :

- ✓ **Pour un seul auteur** : Yakubu, A., 2013: Characterisation of the local Muscovy duck in Nigeria and its potential for egg and meat production. *World's Poultry Science Journal*, 69(4): 931-938. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933913000937>
- ✓ **Pour deux auteurs** : Tomasz, K., Juliusz, M. K., 2004: Comparison of physical and qualitative traits of meat of two Polish conservative flocks of ducks. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 47(4): 367-375.
- ✓ **A partir de trois auteurs** : Vissoh, P. V., R. C. Tossou, H. Dedehouanou, H. Guibert, O. C. Codjia, S. D. Vodouhe, E. K. Agbossou, 2012 : Perceptions et stratégies d'adaptation aux changements climatiques : le cas des communes d'Adjohoun et de Dangbo au Sud-Est Bénin. *Les Cahiers d'Outre-Mer N° 260*, 479-492.

Pour les organismes et institutions :

- ✓ FAO, 2017. L'État de la sécurité alimentaire et de la nutrition dans le monde 2017 : Renforcer la résilience pour favoriser la paix et la sécurité alimentaire. Rome, FAO. 144 p.
- ✓ INSAE (Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique), 2015 : Quatrième Recensement Général de la Population et de l'Habitation (RGPH-4): Résultats définitifs. Direction des Etudes Démographiques, Institut National de la Statistique et de l'Analyse Economique, Cotonou, Bénin, 33 p.

Pour les contributions dans les livres :

- ✓ Whithon, B.A., Potts, M., 1982: Marine littoral: 515-542. *In*: Carr, N.G., Whithon, B.A., (eds), *The biology of cyanobacteria*. Oxford, Blackwell.
- ✓ Annerose, D., Cornaire, B., 1994 : Approche physiologique de l'adaptation à la sécheresse des espèces cultivées pour l'amélioration de la production en zones sèches: 137-150. *In* : Reyniers, F.N., Netoyo L. (eds.). *Bilan hydrique agricole et sécheresse en Afrique tropicale*. Ed. John Libbey Eurotext. Paris.

Pour les livres :

- ✓ Zryd, J.P., 1988: Cultures des cellules, tissus et organes végétaux. Fondements théoriques et utilisations pratiques. Presses Polytechniques Romandes, Lausanne, Suisse.
- ✓ Stuart, S.N., R.J. Adams, M.D. Jenkins, 1990: Biodiversity in sub-Saharan Africa and its islands. IUCN–The World Conservation Union, Gland, Switzerland.

Pour les communications :

- ✓ Vierada Silva, J.B., A.W. Naylor, P.J. Kramer, 1974: Some ultrastructural and enzymatic effects of water stress in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaves. *Proceedings of Nat. Acad. Sc. USA*, 3243-3247.
- ✓ Lamachere, J.M., 1991 : Aptitude du ruissellement et de l'infiltration d'un sol sableux fin après sarclage. Actes de l'Atelier sur Soil water balance in the Sudano-Sahelian Zone. Niamey, Niger, IAHS n° 199, 109-119.

Pour les abstracts :

- ✓ Takaiwa, F., Tnifuji, S., 1979: RNA synthesis in embryo axes of germination pea seeds. *Plant Cell Physiology abstracts*, 1980, 4533.

Thèse ou mémoire :

- ✓ Valero, M., 1987: Système de reproduction et fonctionnement des populations chez deux espèces de légumineuses du genre *Lathyrus*. PhD. Université des Sciences et Techniques, Lille, France, 310 p.

Pour les sites web : <http://www.iucnredlist.org>, consulté le 06/07/2007 à 18 h.

Equations et formules

Les équations sont centrées, sur une seule ligne si possible. Si on s'y réfère dans le texte, un numéro d'identification est placé, entre crochets, à la fin de la ligne. Les fractions seront présentées sous la forme « 7/25 » ou « (a+b)/c ».

Unités et conversion

Seules les unités de mesure, les symboles et équations usuels du système international (SI) comme expliqués au chapitre 23 du Mémento de l'Agronome, seront acceptés.

Abréviations

Les abréviations internationales sont acceptées (OMS, DDT, etc.). Le développé des sigles des organisations devra être complet à la première citation avec le sigle en majuscule et entre parenthèses (FAO, RFA, IITA). Eviter les sigles reconnus localement et inconnus de la communauté scientifique. Citer complètement les organismes locaux.

Nomenclature de pesticides, des noms d'espèces végétales et animales

Les noms commerciaux seront écrits en lettres capitales, mais la première fois, ils doivent être suivis par le(s) nom(s) communs(s) des matières actives, tel que acceptés par « International Organization for Standardization (ISO) ». En l'absence du nom ISO, le nom chimique complet devra être donné. Dans la page de la première mention, la société d'origine peut être indiquée par une note en bas de la page, p.e. PALUDRINE (Proguanil). Les noms d'espèces animales et végétales seront indiqués en latin (genre, espèce) en italique, complètement à la première occurrence, puis en abrégé (exemple : *Oryza sativa* = *O. sativa*). Les auteurs des noms scientifiques seront cités seulement la première fois que l'on écrira ce nom scientifique dans le texte.

Tableaux, figures et illustrations

Chaque tableau (avec les colonnes rendus invisibles mais seules la première ligne et la dernière ligne sont visibles) ou figure doit avoir un titre. Les titres des tableaux seront écrits en haut de chaque tableau et ceux des figures/photographies seront écrits en bas des illustrations. Les légendes seront écrites directement sous les tableaux et autres illustrations. En ce qui concerne les illustrations (tableaux, figures et photos) seules les versions électroniques bien lisibles et claires, puis mises en extension jpeg avec haute résolution seront acceptées. Seules les illustrations dessinées à l'ordinateur et/ou scannées, puis les photographies en extension jpeg et de bonne qualité donc de haute résolution sont acceptées.

Les places des tableaux et figures dans le texte seront indiquées dans un cadre sur la marge. Les tableaux sont numérotés, appelés et commentés dans un ordre chronologique dans le texte. Ils présentent des données synthétiques. Les tableaux de données de base ne conviennent pas. Les figures doivent montrer à la lecture visuelle suffisamment d'informations compréhensibles sans recours au texte. Les figures sont en Excell, Havard, Lotus ou autre logiciel pour graphique sans grisés et sans relief. Il faudra fournir les données correspondant aux figures afin de pouvoir les reconstruire si c'est nécessaire.

Screening of virulent isolates of entomopathogenic fungi in the control of *Hymenia recurvalis* Fabricius and *Psara basalis* Walker on *Amaranthus cruentus* L.

J. Toffa^{1,2}, Y. L. E. Loko², H. Bokossa³, E. Dannon¹, D. Kpindou¹ and M. Tamò¹

¹Dr Joelle TOFFA, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), 08 BP 0932 Tri Postal, Cotonou, and LEnA/UNSTIM, BP 14, Dassa, E-mail: joelletoffa@gmail.com, Tel.: (+229)97689777, Republic of Bénin

¹Dr Elie DANNON, IITA, 08 BP 0932 Tri Postal, Cotonou, E-mail: edannon@gmail.com, Tel.: (+229)97883384, Republic of Bénin

¹Dr Douro KPINDOU, IITA, 08 BP 0932 Tri Postal, Cotonou, E-mail: d.kpindou@cgiar.org, Tel.: (+229)95054034, Bénin

¹Dr Manuele TAMÒ, IITA, 08 BP 0932 Tri Postal, Cotonou, E-mail: m.tamo@cgiar.org; Tel.: (+229)97345037, Republic of Bénin

²Dr Yéyinou Laura Estelle LOKO, Laboratory of Applied Entomology (LEnA), National University of Sciences, Technologies, Engineering and Mathematics (UNSTIM), BP 14, Dassa, E-mail: lokoestelle@yahoo.fr, Tel.: (+229)97656000, Republic of Bénin

³Dr Hervé BOKOSSA, University of Abomey-Calavi (UAC). 01 BP 526 Recette Principale Cotonou 01, E-mail: bokossakouessiv@yahoo.fr, Tel.: (+229)97799029, Republic of Bénin

*Corresponding author: Dr Joelle TOFFA, E-mail: joelletoffa@gmail.com

Abstract

In the Republic of Benin as in many African countries, amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) is one of the most important leafy vegetables for its production, its high nutritional value and the monetary income provided to farmers. To protect this plant, synthetic insecticides are applied to control its main insect pests, *Hymenia recurvalis* (Fabricius, 1775) and *Psara basalis* (Walker, 1865). Therefore, chemical control negatively affects beneficial insects and the environment. Thus, it is urgent to develop alternative control methods for a sustainable production of amaranth. In the laboratory, was evaluated by the sensitivity of *H. recurvalis* and *P. basalis* larvae to isolates of *Beauveria bassiana* (Bba5648, Bba5656, Bba5654, Bba5644, Bba5645, and Bba5656), and *Metarhizium anisopliae* (Ma182) fungi. For that, 1 µl of the suspension of conidia at 1 x 10⁸ conidia/ml was applied on the L3 larvae of both insects. Mortality, sporulation and leaf area consumed were recorded. The results showed that all the isolates are pathogenic on the larvae of both insect pests. However, "Bba5648" and "Bba5653" caused the highest mortalities of *H. recurvalis* at a short time (2 to 8 days). Fungal sporulation rates of *B. bassiana* on *H. recurvalis* ranged from 8.6 ± 1.1% (Bba5656) to 41.3 ± 2.1% (Bba5653). The highest sporulation rates of "Bba 5653" were also observed on *P. basalis*. The leaf areas consumed by the *H. recurvalis* larvae were lower for "Bba5653" (102.08 ± 12.75 mm²) than those of untreated control (712.76 ± 23.33 mm²). The study reveals that, isolate "Bba5653" can be considered as useful microorganisms for the integrated control of *H. recurvalis* and *P. basalis* and the healthy protection of amaranth leaves.

Key words: Amaranth, *Hymenia recurvalis*, *Psara basalis*, isolate, pathogenic

Criblage d'isolats virulents de champignons entomopathogènes dans la lutte contre *Hymenia recurvalis* Fabricius et *Psara basalis* Walker, sur l'amarante (*Amaranthus cruentus* L.)

Résumé

En République du Bénin comme dans de nombreux pays africains, l'amarante (*Amaranthus cruentus* L.) est l'un des légumes feuilles les plus importants de par sa production, sa haute valeur nutritionnelle et le revenu monétaire qu'il procure aux agriculteurs. Afin de protéger cette plante, des insecticides de synthèse sont appliqués pour lutter contre ses principaux insectes ravageurs, *Hymenia recurvalis* (Fabricius, 1775) et *Psara basalis* (Walker, 1865). Toutefois, la lutte chimique a des effets négatifs sur les insectes utiles et sur l'environnement. Ainsi, il est urgent de développer des méthodes de contrôle alternatives pour une production durable d'amarante. Au laboratoire, a été évaluée la sensibilité des larves de *H. recurvalis* et de *P. basalis* aux isolats des champignons *Beauveria bassiana* (Bba5648, Bba5656, Bba5654, Bba5644, Bba5645, et Bba5656), et *Metarhizium anisopliae* (Ma182). Pour cela, 1 µl de la suspension de conidies à 1 x 10⁸ conidies/ml a été appliqué sur les larves L3 des deux insectes. La mortalité, la sporulation et la surface foliaire consommée ont été enregistrées. Les résultats ont montré que tous les isolats sont pathogènes sur les larves des deux insectes nuisibles. Cependant, Bba5648 et Bba5653 ont causé les plus fortes mortalités de *H. recurvalis* à court terme (2 à 8 jours). Aucune différence significative n'a été observée entre les isolats Bba 5648 et Bba 5653. Les taux de sporulation fongique de *B. bassiana* sur *H. recurvalis* variaient de 41,3 ± 2,1% (Bba 5653) à 8,6 ± 1,1% (Bba5656). Les taux de sporulation les plus élevés de Bba 5653 ont également été observés sur *P. basalis*. Les surfaces foliaires consommées par les larves de *H. recurvalis* étaient plus faibles pour "Bba 5653" (102,08±12,75 mm²) que pour le témoin non traité (712,76±23,33 mm²). L'étude révèle que l'isolat

“Bba 5653” peut être considéré comme un microorganisme utile pour le contrôle intégré des insectes ravageurs *H. recurvalis* et *P. basal* et la protection durable des feuilles d'amarante.

Mots clés: Amarante, *Hymenia recurvalis*, *Psara basal*, isolat, pathogène

Introduction

Amaranthus cruentus L. is the most popular leafy vegetable in the Africa continent (Maundu *et al.*, 2009), and is widely consumed in the Republic of Benin. This vegetable is produced in all urban, peri-urban and rural regions and in all seasons from North to South of the country (Achigan *et al.*, 2014; Assogba-Komlan *et al.*, 2016). In fact, amaranth is cultivated for its high nutritional value and represents a vital source of micronutrients and protein (Wu *et al.*, 2000; Smith and Eyzaguirre, 2007). Its protein content is well balanced in amino acids such as lysine and rich in minerals (Fe, I and Ca) and vitamins A and C (Thuy Hang, *et al.*, 2003). Therefore, regular consumption reduces blood pressure, cholesterol levels and improves the body's antioxidant status and immunity (Martirosyan *et al.*, 2007). The promotion of this vegetable could contribute to farmers' livelihoods and nutritional food security. However, one of the greatest limiting factors in increasing the productivity of amaranths is the range of insect pests with which they are associated and the level of losses suffered (Ebert *et al.*, 2011). Aderolu *et al.*, (2013) implicated insects of various orders namely; Coleoptera, Hemiptera, Lepidoptera and Orthoptera. Other authors have reported infestations of various insect pests namely Amaranth stem weevils: *Hypolixus truncatulus* (F.), *H. nubilosus* (B.), Beetworm Moth: *Spoladea recurvalis* (F.), Leafminer: *Liriomyza huidobrensis* (B.), Aphid: *Myzus persicae* S., Plant Bugs: *Cletus sp.*, which ultimately affect the true potential of the crop (Seni Atanu 2018). Furthermore, the leaf caterpillars *Hymenia recurvalis* Fab. (Lepidoptera: Pyralidae) and *Psara basal* Walker (Lepidoptera: Crambidae) have been cited as one of the most important pests of amaranth species and causes severe losses to amaranth species (AVRDC 2008). The larvae of both species defoliates completely the plant and sometimes feed on the succulent stems (Hsu and Ramasamy, 2012). Both species of caterpillar rolls the leaf forms the shelter and variously feed from inside the webs on the soft leaf tissue to extract chlorophyll; what causes the drying up of the leaves within a short time up to 40% losses (James *et al.*, 2010; Jeyasankar *et al.*, 2014). In Benin yields are low and variable due to insect pests attack, with an average loss of 20-30 t/ha (Navarajan, 2007, Aderolu *et al.*, 2013, Ezech *et al.*, 2015). Several methods were developed to control *H. recurvalis* and *P. basal* and chemical pesticides are the most widely used by farmers (Kagali, 2014). Unfortunately, chemicals application is no more attractive considering the many side effects including environmental pollution and human health hazards, pest resistance and resurgence, secondary pest outbreaks and biodiversity loss (Ekesi *et al.*, 2007). Several environmentally friendly methods were developed to reduce the use of pesticides in amaranth production. In addition, investigations have been carried out on other lepidopteran insects with the use of entomopathogenic fungi (McCoy *et al.*, 2000, Sabbour and Sahab, 2005, Douro Kpindou *et al.*, 2012). In fact, entomopathogenic fungi such as *Metarhizium anisopliae* (Metchinikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) and *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill. (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) have the advantage of being able to attack several species belonging to different insect orders (Daisy *et al.*, 2002; McGurire *et al.*, 2005; Toffa *et al.*, 2020). They are the most widely used entomopathogens in the biological control of pests through the direct application of conidia suspension. Indeed, these entomopathogenic fungi have proven to be effective against the main Lepidoptera of crops such as *Maruca vitrata* Fabricius (Soundararajan and Chitra, 2011; Toffa *et al.*, 2014a, b; Toffa *et al.*, 2020) and *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Douro Kpindou *et al.*, 2012; Kambrekar and Aruna, 2018; Dannon *et al.*, 2020; Toffa *et al.*, 2021). However, there is very little information on the pathogenicity of these two entomopathogenic fungi against *H. recurvalis* and *P. basal*. Therefore, the objective of this study has been to evaluate the pathogenicity of various isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* against larval stages of *H. recurvalis* and *P. basal*, in order to select the most promising ones and to develop a biopesticide formulation for use on amaranth fields.

Material and methods

Plant material

The local amaranth variety named “Fotêtê” was used during the biological tests and was provided by International Institute of Tropical Agriculture (IITA) –Benin. This variety is characterized by green leaves, stems and inflorescences. It is semi-erect, with a development cycle that elapses from 65 to 90 days. “Fotêtê” variety is the most produced and marketed in Benin according to their agronomic quality, their green colour, and resistance to pests (Assogba Komlan *et al.*, 2016).

Rearing of *H. recurvalis* and *P. basalıs*

Larvae of *H. recurvalis* and *P. basalıs* were collected from vegetables plots in the fields of southern Benin and a rearing colony was established in the laboratory (James *et al.*, 2010). The larvae were fed with fresh leaves of amaranths to grow until the pupation. Pupae were collected from the culture and kept in insect rearing cage for adult emergence. Experiments were performed at $70 \pm 5\%$ relative humidity and 26 ± 2 °C, with a photoperiod of 14:10 h. Second generation larvae were used for bioassays. Among these, third stage larvae (L3; 10.4 ± 0.1 days) were used because at this stage, the insect is the most vulnerable and causes the most damage to the host plant (Jeyasankara and Gokilamania, 2016).

Entomopathogenic fungal cultures

Seven isolates, *B. bassiana* and *M. anisopliae* were used in the bioassay. All isolates were obtained from the microbial collection of the International Institute of Tropical Agriculture (IITA) -Benin (Table 1). The isolates were selected based on their virulence during previous laboratory assays in Benin (James *et al.*, 2010). Conidia of the isolates were obtained from the mass culture of the fungus in Petri dishes (9 cm diameter) containing Potato Dextrose Agar (PDA). The Petri dishes were incubated in the laboratory at 25 ± 2 °C and $80 \pm 5\%$ RH until sporulation (Agboyi *et al.*, 2020). After 15 days of incubation, conidia suspensions were prepared by scraping conidia from the Petri dish into a sterile aqueous solution of 0.1% Tween 80 (Harekrushna *et al.*, 2018). The conidia concentration was evaluated using Neubauer hemacytometer under a light microscope and adjusted by dilution to the final concentration of 10^8 conidia/ml required for the experiments. The conidia germination rate was determined by counting under a stereomicroscope, the number of germinated conidia out of 200 randomly selected conidia per plate (Douro Kpindou *et al.* 2012).

Table 1. Different fungi isolates used for the experiments

Range	Register Nr	Abbreviation	Fungus Species	Host	Country of origin	Auteur (Year of isolation)
1	Ma182	Ma 29	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Sesamia calamistis</i> (Lepidoptera: Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
2	Bba5648	Bba 6	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Acigona sp.</i> (Lepidoptera : Pyralidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
3	Bba5653	Bba11	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Sesamia calamistis</i> (Lepidoptera : Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
4	Bba5654	116	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Sesamia calamistis</i> (Lepidoptera : Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
5	Bba5644	Bba 2	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Eldana saccharina</i> (Lepidoptera : Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
6	Bba5645	Bba 3	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Eldana saccharina.</i> (Lepidoptera : Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)
7	Bba5656	Bb24	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Eldana saccharina</i> (Lepidoptera : Noctuidae)	Benin	IITA-Benin (1997)

Susceptibility of *H. recurvalis* and *P. basalıs* larvae to *B. bassiana* and *M. anisopliae*

The pathogenicity of the fungal isolates on the larvae of *H. recurvalis* and *P. basalıs* was evaluated by the topical inoculation of the larvae, according to Bateman *et al.* (1996) and Agboyi *et al.* (2020). To determine the pathogenicity of the *M. anisopliae* and *B. bassiana* isolates against *H. recurvalis* and *P. basalıs* in the laboratory, 40 larvae of each species were used and replicated three times. Thus, 40 larvae (10 to 14 days old) of each species were placed individually in a plastic box ($3.8 \times 2.9 \times 4.0$ cm)

containing a piece of amaranth leaves (3 cm in diameter). Before their utilisation, amaranth leaves were put in 0.5% sodium hypochlorite for 3 min, then immersed in 70% ethanol for 2 min, dried and placed in the plastic box as food substrate.

Conidial suspensions (1 µl) from each fungus species were deposited on each individual larval by topical application and the experimental dishes were arranged in a completely randomized block design. The concentration tested per isolate (Bba5648; Bba5653; Bba5654; Bba5644; Bba5645; Bba5656 and Ma182) was 10^8 conidia/ml. For the control tests, 40 larvae for each species were impregnated with Tween® 80 (0.05%, v/v). Treatments were replicated three times and the experimental dishes were incubated at a mean temperature of 25 ± 1 °C, and a mean relative humidity of $80 \pm 2\%$.

Larvae mortality was monitored daily for 8 days after inoculation, and dead larvae were removed on a daily basis. All dead larvae were immediately immersed in 95% ethanol for 1 min, and washed in distilled water for 5 min (Mantzoukas *et al.*, 2019). The dead larvae were subsequently dried (26 ± 1 °C) for 24 h, and placed individually in 9 cm diameter Petri dishes containing Whatman No. 1 filter paper moistened with distilled water for monitoring sporulation (Toffa *et al.*, 2014a; Agboyi *et al.*, 2020). After 15 days of incubation, the sporulation rate (TS) was calculated according to the following formula:

$$TS = (\text{Number of sporulated insect} / \text{Number of dead incubated insects}) \times 100$$

Assessment of leaf consumption

Leaf consumption was assessed by measuring leaf area consumed by each larva in each treatment (Magrini *et al.*, 2015). The test consisted of feeding 10 third instar larvae of *H. recurvalis* and *P. basalis* for 24 h on amaranth leaves sampled from untreated plants. Indeed, 10 *H. recurvalis* and *P. basalis* larvae were previously inoculated with suspensions of conidia (1 µl) of each species of fungus (Bba 5648; Bba5653; Bba5654; Bba5644; Bba5645; Bba5656; and Ma182) at a concentration of 10^8 conidia / ml before being placed individually in boxes (90 mm) containing discs of sterilized amaranth leaf (3 cm in diameter). The Petri dishes were then incubated for 24 h at 25 °C, 60% RH and arranged in a completely random block design. Using a graduated paper, the consumed area was estimated per treatment (Russo *et al.*, 2018). Experiments were replicated 3 times.

Data Analysis

Data on larval mortality and sporulation rates were arcsine-transformed before analysis of variance (ANOVA), using the general linear model (GLM) procedure of SAS (SAS, 2003). Percentages were based on the initial number of larvae exposed. In case of significant F values, means were compared by using SNK (Student-Newman-Keuls) test. Data on leaf area consumed by larva was log-transformed and compared by applying ANOVA, followed by SNK test.

Results

Susceptibility of *H. recurvalis* larvae to *B. bassiana* and *M. anisopliae*

Bioassays conducted in the laboratory indicated that both the isolates of *M. anisopliae* and *B. bassiana* were pathogenic to *H. recurvalis* larvae (Figure 1). In fact, the mortality of *H. recurvalis* due to Bba5648 significantly increased from the first to the 4th day. In fact, compared to the other isolates tested, the number of larval deaths increased significantly (ddl = 71, F = 28,633, P = 0,0001) as a function of the number of days with isolate Bba 5648 (Figure 1). As for *M. anisopliae* (Ma182), it caused the lowest percentage of mortality. This percentage of dead larvae ranged from 5% on the fifth day to 20% on the sixth day and began to stabilize on the seventh day after treatment until the end of the test. The percentages of mortality were very low in the control test compared to the other treatments (Figure 1).

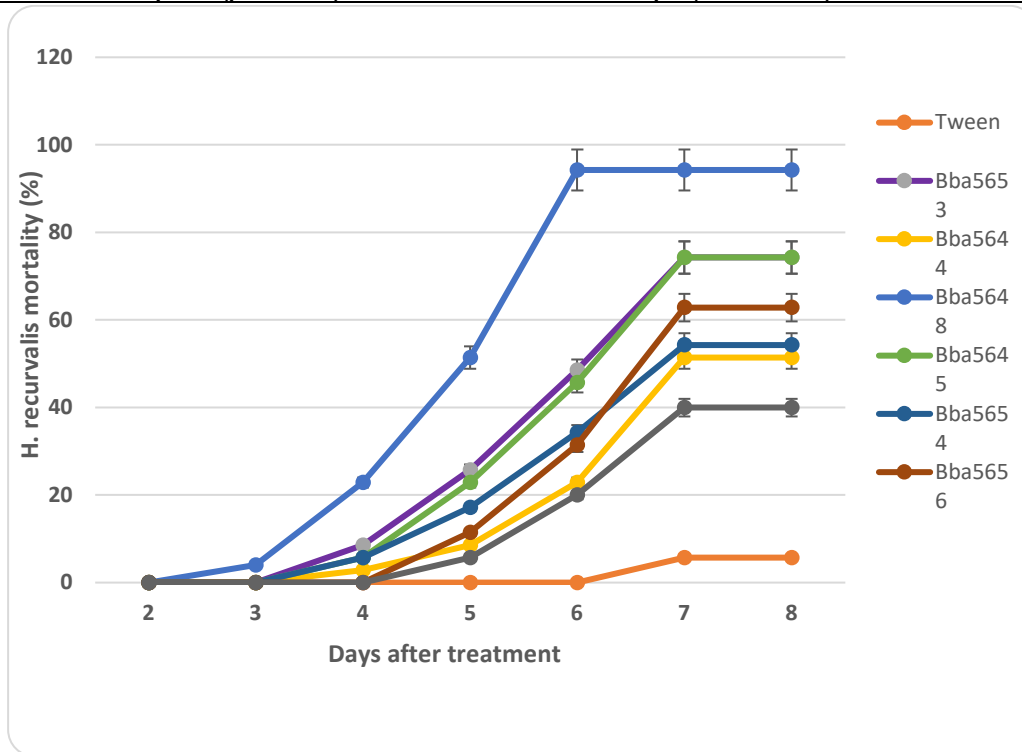


Figure 1. Mortality rate of *H. recurvalis* larvae, 8 days after application of fungal isolates

Tween: Control; Bba: *Beauveria bassiana*; Ma: *Metarizhium anisopliae*

Susceptibility of *P. basalis* larvae to *B. bassiana* and *M. anisopliae*

All treatments caused mortality in third instars *P. basalis* larvae. However, isolate Bba5653 induced the larvae mortality significantly higher than those caused by the other isolates (ddl = 71, $F = 79.342$, $P = 0.000$) (Figure 2). Unlike the Bba5648 isolate which was virulent on *H. recurvalis*, it is the fungal isolate Bb 5653 which seems to be better on *P. basalis*.

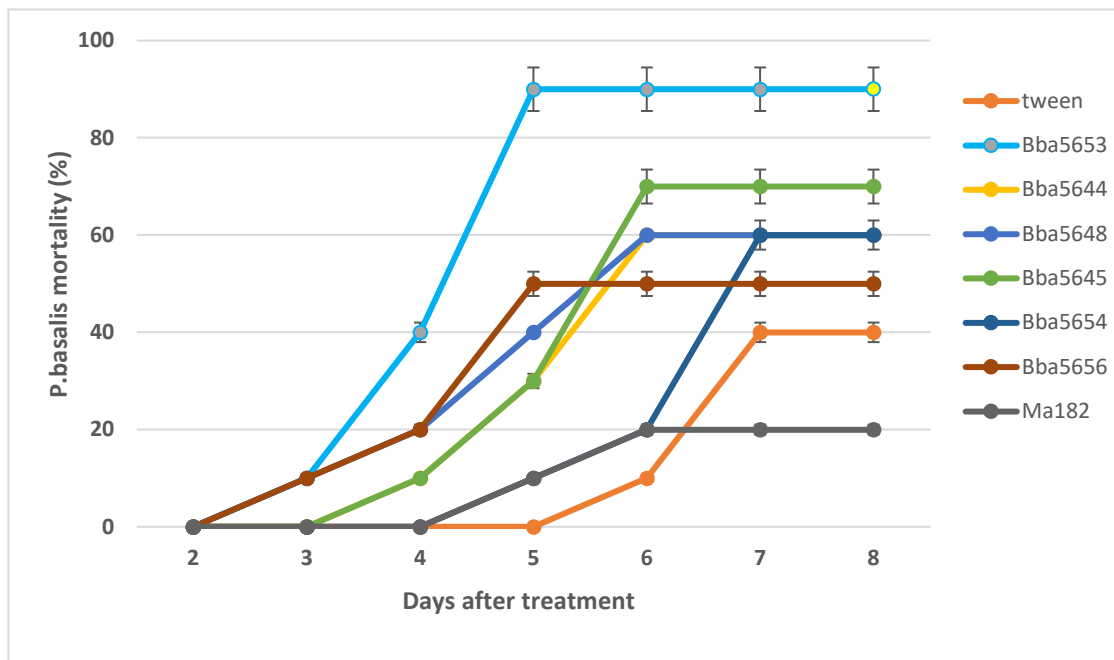


Figure 2. Mortality rate of *P. basalis* larvae, 8 days after application of fungal isolates

Tween: Control ; Bba: *Beauveria bassiana*; Ma: *Metarizhium anisopliae*

Fungal sporulation on larvae

The sporulation rates observed in dead larvae of *H. recurvalis* treated with *B. bassiana* Bb 5653 and Bba 5648 at 10^8 conidia/ml were significantly higher than those obtained with the other treatments (ddl = 89, F = 11.67, P = 0.000) (Table 2). While a very low sporulation rate ($\leq 25\%$) of fungal isolates was observed on dead treated *P. basalis* larvae. Fungal sporulation rates of *B. bassiana* on *H. recurvalis* ranged from $8.6 \pm 1.1\%$ (Bba5656) to $41.3 \pm 2.1\%$ (Bba5653) whereas sporulation rates of *B. bassiana* on *P. basalis* ranged from 1.2 ± 1.1 (Ma182) to $25.1 \pm 2.3 \%$ (Bba5648).

Table 2. Average rates of sporulation on *H. recurvalis* and *Psara basalis* larvae after application of fungal isolates

Treatments	Fungus sporulation in percentage (Means \pm Standard Error)	
	<i>Hymenia recurvalis</i>	<i>Psara basalis</i>
Bba5653	41.3 \pm 2.1 a	18.6 \pm 2.8 a
Bba5648	38.1 \pm 1,7a	25.1 \pm 2.3 a
Bba5654	22.3 \pm 4.4 b	11.4 \pm 2.1 ab
Bba5645	21.5 \pm 3.4 b	13.8 \pm 1.6 ab
Bba5644	12.5 \pm 1.3 bc	7.7 \pm 1.9 b
Bba5656	8.6 \pm 1.c	1.4 \pm 1.3 c
Ma182	0.0 \pm 0.0 d	1.2 \pm 1.1 c
Control	0.0 \pm 0.0 d	0.0 \pm 0.0 d
F	11.67	47.13
P	< 0.0001	< 0.0001

In the same column, means followed by the same lowercase letter are not significantly different (between isolates comparison) (ANOVA followed by SNK test at 5%)

Leaf consumption

Statistical analysis showed significant differences in leaf consumption by *H. recurvalis* and *P. basalis* larvae inoculated with fungal isolates. Larvae inoculated with Bba5653 showed a low leaf area consumed ($102.08 \pm 12.75 \text{ mm}^2$) compared to the untreated control ($712.76 \pm 23.33 \text{ mm}^2$) (Figure 3). The use of Bba5653 induced a significant overall reduction in leaf consumption by *H. recurvalis* larvae (ddl=19, F = 25.74, P < 0.0001). The same results were observed with the leaf area consumed by the treated L3 larvae of *P. basalis*. Indeed, isolate Bba 5653 induced low leaf area ($113.26 \pm 8.49 \text{ mm}^2$) compared to that of the control ($805.14 \pm 62.41 \text{ mm}^2$) (Figure 3).

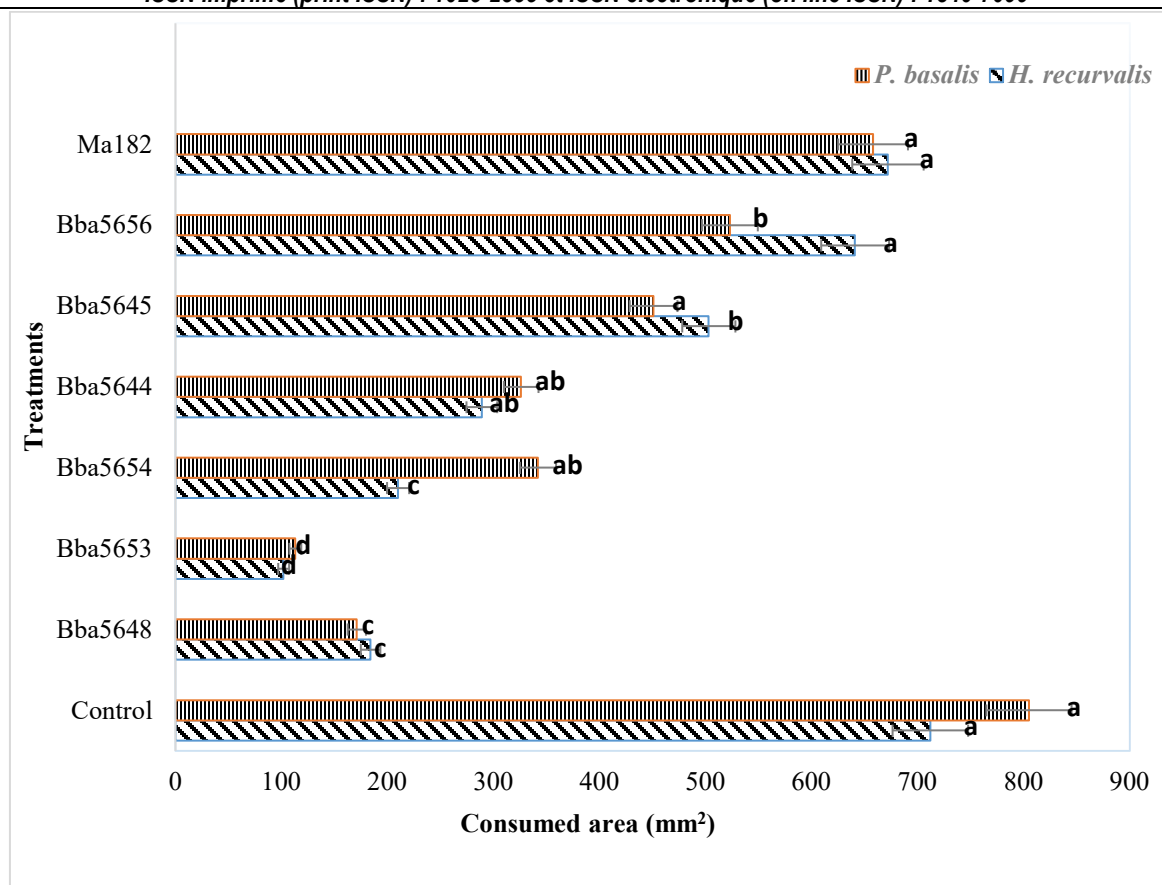


Figure 3. Leaf areas consumed by *H. recurvalis* and *P. basalis* larvae inoculated with the different isolates used

Histograms with the same letters are not significantly different at the 5% level (SNK)

Discussion

Our study reported the susceptibility of amaranth insect pests to isolates of entomopathogenic fungi. Indeed, study results confirmed the insecticidal activities of native isolates, *B. bassiana* and *M. anisopliae* against two amaranth insect pests under laboratory conditions. The usefulness of *B. bassiana* and *M. anisopliae* as biological control agents against various insect pests was demonstrated by some authors (Toffa *et al.*, 2014; Batcho *et al.*, 2018; Agboyi *et al.*, 2020). However, of all isolates used, Bba5648 and Bba5653 at 10^8 conidia/ml proved to be more effective on larvae *H. recurvalis* compared to the other fungal isolates used.

These two isolates, Bba5648 and Bba5653 caused the highest mortality to *H. recurvalis* larvae within a short period after inoculation (2-8 days). Nevertheless, the absence of significant difference observed between isolates Bba5648 and Bba5653 suggests that the two isolates could be an optimal isolate for practical purposes. However, isolate Bba5653 sporulated better on *H. recurvalis* larvae than Bba5648, confirming the usefulness of Bba5653 as a promising agent in the control and spread of healthy conidia that can enable epizooties.

The stronger virulence of *B. bassiana* can be explained by its ability to produce more enzymes and metabolites involved in insect mortality (James *et al.*, 2007; Akmal *et al.*, 2017). On the other hand, the lower virulence of Ma182 observed on *H. recurvalis* and *P. basalis* could be explained by the resistance of the insect host to this isolate. Petlamul *et al.* (2019) studies have shown that insects can resist microorganisms in their environment thanks to an innate system based on insect humoral components. Otherwise, sporulation of insects is one of the factors determining the choice of an isolate as a Biopesticides in the field. It allows natural increase of the inoculum, promoting secondary transfer of conidia to insects unaffected during field applications. Indeed, the best sporulation was obtained with isolate Bba5653 on the two insects studied. However, the values of less than 50 % obtained with the colonization of isolate Bba5653 could be explained due to diverse factors affecting the adhesion of their spores on the insect's cuticle (Kavallieratos *et al.*, 2014; Popoola *et al.*, 2015 and Agboyi *et al.*, 2020).

The best sporulations were obtained on *H. recurvalis* compared to *P. basal*. In fact, *P. basal* certainly emitted barriers preventing the germination and adequate penetration of the spores inside the host. The temperature and relative humidity are known as important abiotic factors affecting entomopathogenic fungi growth (Gurulingappa *et al.*, 2010). The sporulation rate observed was fungi species-dependent. This is not surprising as the nature of the fungus species determines how quickly the fungus colonizes the insect host (Gurulingappa *et al.*, 2010; Ozdemir *et al.*, 2020). No sporulation of *M. anisopliae* isolate was observed as was the case of the controls. This shows that *B. bassiana* isolate Bba5653 could be used as a biological agent in an integrated pest management program against amaranth protection. However, these results on isolate Bb 5653 are consistent with those obtained by James *et al.* (2007) on *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) dead larvae in cabbage field trials, with 31% sporulation of the isolate on dead larvae.

Furthermore, the isolate Bba5653 induced significant decrease in leaf consumption by *H. recurvalis* and *P. basal* larvae than the control. This result indicates that the active compound of Bba5653, inhibit larval feeding behavior. This could be attributed to the production of toxins from entomopathogenic isolates inside the insect, which inhibits the life processes of the insect (Tefera, 2009). A similar trend was observed on the tomato pest, *Helicoverpa armigera* L. (Toffa *et al.*, 2021) infested by different doses of entomopathogenic fungi. The combination of parameters such as high larval mortality rate, relatively high sporulation rate and low larval leaf consumption make Bba5653 a good candidate among the fungal isolates tested. However, further studies to develop this isolate into a viable biopesticide should continue on the evaluation of effective and efficient doses for field applications under various environmental conditions. In addition, investigations must continue on the molecular characterization of isolates in order to better understand the existing variability between specificity and virulence of the isolates used.

Conclusion

The study reveals the potential of *B. bassiana* and *M. anisoplae* isolates in the management of amaranth insect pests. With a species-dependent sporulation rate, *B. bassiana* isolate Bba 5653 commonly named Bb 11 proves to be the most promising biocontrol agent against *H. recurvalis* and *P. basal* under laboratory conditions. In addition, the *B. bassiana* isolate reduces the population of larvae and leaf area consumed. However, research must be carried out to determine the mode of application and the effective doses of *B. bassiana* on amaranth but also its compatibility with other environmentally friendly control methods within the framework of integrated management of amaranth insect pests. The fungal inoculum, Bba5653, can thus be used as an insecticide in the long-term protection of vegetable crops.

Acknowledgements

This study was funded by The Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC) in partnership with IITA. The authors also thank all technicians of the project for their technical assistance.

Declarations

Ethics approval and consent to participate: Not applicable

Consent for publication: Not applicable

Availability of data and materials: All data and material are stated in the manuscript.

Competing interests: The authors declare no competing interests.

Authors' contributions: -i- D.M.J.M.B. Toffa: Conceptualization, Methodology, Writing - original draft; -ii- Y.L.E. Loko and H. Bokossa: Writing-review & editing; -iii- E. Dannon and D. Kpindou: Collection the data; -iv- M. Tamò: Supervision, review & editing; -v- All authors have read and approved the manuscript.

References

- Achigan-Dako, E. G., O. E. D. Sogbohossou, P. Maundu, 2014: Current knowledge on *Amaranthus spp*: research avenues for improved nutritional value and yield in leafy amaranths in sub-Saharan Africa. *International Journal of Plant Breeding. Euphytica*, 197: 303–317.
- Aderolu, I. A., A. A. Omooye, F. A. Okelana, 2013: Occurrence, Abundance and control of the Major Insect Pests Associated with amaranths in Ibadan, Nigeria. *Journal of Entomology, Ornithology & Herpetology*, 2: 3-7.
- Agboyi, L. K., G. K. Ketoh, O. K. Douro kpindou, T. Martin , I. A. Glitho, M. TAMÒ, 2020: Improving the efficiency of *Beauveria bassiana* applications for sustainable management of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in West Africa. *Biological Control*, 104233. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104233>.

- Assogba, K. F., R. Sikirou, Y. Tiemoko, J. Adanguidi, A. C. G. Mensah, 2016 : La culture de l'amarante au Bénin. Bibliothèque Nationale, Bénin, 16 p.
- Batcho, A., M. Ali, S. Olawale, K. Shehzad, B. Rashid, 2018: Comparative study of the effects of five *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) strains on cabbage moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Cogent Environmental Science*, 4: 1-14.
- Bateman, R. P., M. Carey, D. Batt, C. Prior, Y. Abraham, D. Moore, N. Jenkins, J. Fenlon, 1996: Screening for virulent of entomopathogenic fungi against the desert locust. *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Biocontrol Science Technology*, 6: 549-560.
- Daisy, B. H., G. A. Strobel, U. Castillo, D. Ezra, J. Sears, D. K. Weaver, J. B. Runyon, 2002: Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodora vitigenus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology*, 148: 3737–3741.
- Dania, V. O., O. O. Fadina, M. Ayodele, P. L. Kumar, 2020: Distribution and virulence of fungal species isolated from yam (*Dioscorea* spp) tubers in three agroecological zones of Nigeria. *Journal of Stored and Production Research*, 66: 252-261. <https://doi.org/10.1080/09670874.2019.1629041>
- Dannon, H. F., A. E. Dannon, O. K. Douro-Kpindou, A. V. Zinsou, A. T. Houndété, M. J. Toffa, I. Elégbédé, B. D. Olou, M. Tamò, 2020: Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, 3(1): 1- 21. <https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5>
- Douro-Kpindou, O. K. K., D. A. Djegui, I. A. Glitho, M. Tamò, 2012: Réponse des stades larvaires de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) à l'application de champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana*. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environment*, 16: 283-293.
- Ebert, A.W., Wu, T., Wang, S. 2011 : *Vegetable amaranth* (*Amaranthus* L.) International Cooperator's guide. AVRDC – The World Vegetable Center: 11- 754.
- Ekesi, S., P. W. Nderitu, C. L. Chang, 2007: Adaptation to and Small-Scale Rearing of Invasive Fruit Fly *Bactrocera invadens* (Diptera: Tephritidae) on Artificial Diet. *Annals Entomological Society America*, 100 (4): 562-567.
- Ezeh A., Gedegbe A. B. O., 2015: Insect Pest occurrence on Cultivated *Amaranthus* Spp in Benin City, Edo State, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 19(2): 335 –339.
- Gurulingappa, P., G. A. Sword, G. Murdoch, P. A. Mcgee, 2010: Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. *Biological Control*, 55: 34-41.
- Harekrushna, S., A. Totan, K. M. Arup, 2018: Novel *Trichoderma* strains isolated from tree barks as potential biocontrol agents and bio fertilizers for direct seeded rice. *Microbiological Research*, 214 : 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.05.015>
- Hsu, Y., Ramasamy, S., 2012: Desert Horse Purslane Weed as an Alternative Host for Amaranth Leaf Webber, *Hymenia recurvalis* in Taiwan. *Journal of Entomology*, 32:297-302.
- James, B., Godonou, I., Atcha-Ahowe, C., Glitho, I., Vodouhe, S., Ahanchede, A., Kooyman, C., Goergen, G. 2007 : Extending integrated pest management to indigenous vegetables. In: I international conference on indigenous vegetables and legumes. Prospectus for Fighting Poverty, Hunger and Malnutrition 752, pp 89–94.
- James, B., Godonou, C. Atcha-Ahowe, 2010: Promoting biopesticide candidates from experimental to commercial level for sustainable vegetable production. *Pesticides Management in West Africa*, 7: 62 p.
- Jeyasankar, A., Alexander Jesudasan, R. W., 2016: Insecticidal properties of novel botanicals against a few lepidopteran pests. *Pestology*, 2 (10): 42-44.
- Kagali, R. N. 2014. An integrated pest management approach of amaranth insect pests in Buuri District, Meru County, Kenya. M.S thesis submitted to JomoKenyatta University of Agriculture and Technology, Kenya.
- Kambrekar, D. N., Aruna, J., 2018: Screening for endophytic *Beauveria bassiana* from different plants and its pathogenicity chickpea pod borer, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Experimental Zoology*, 21(2): 727–731.
- Magrini F. E., A. Specht, J. Gaio, C. P. Girelli, I. Miguez, H. Heinzen, J. Saldaña, V. C. Sartori, V. Cesio, 2015: Anti-feedant activity and effects of fruits and seeds extracts of *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) on the immature stages of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Industrial Crop and Products*, 65: 150 –158. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.032>
- Mantzoukas, S., Eliopoulos, P. A., 2020: Endophytic Entomopathogenic Fungi. A Valuable Biological Control Tool against Plant Pests *Applied Sciences*, 10(1): 360. <https://doi.org/10.3390/app10010360>
- Mantzoukas, S., I. Lagogiannis, M. Mpekiri, I. Pettas, P. A. Eliopoulos, 2019: Insecticidal Action of Several Isolates of Entomopathogenic Fungi against the Granary Weevil *Sitophilus Granarius*. *Agriculture*, 9: 222. <https://doi.org/10.3390/agriculture9100222>
- Martirosyan, D.M., Miroshnichenko, L.A., Kulakova, S.N., Pogojeva, A.V., Zolodov, V.I. 2007 : "Amaranth oil application for coronary heart disease and hypertension". *Lipids Health Dis* 6: 1.
- Maundu, P., Achigan-dako, E. G., MORIMOTO Y., 2009: Biodiversity of African vegetables. 65–104. In Shackleton, C. M., Pasquini, M. W., Drescher, A. W., (eds), *African indigenous vegetables in urban agriculture*. Earthscan, London.

- Mccooy, C. W., Shapiro W. D., Ducan L. W., 2000: Application and evaluation of entomopathogens for citrus pest control: 33 *In* Lacy, L. A., Kaya, H. K., (eds.), Field manual of techniques in invertebrates: application and evaluation of pathogens for insects and other invertebrate pests. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Mcguire, M. R., M. Ulloa, Y. H. Park, N. Hudson, 2005: Biological and molecular characteristics of *Beauveria bassiana* isolates from California *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) populations. *Biological Control*, 33: 307–314.
- Navarajan, A. V. P., 2007: Insect pest and their management. *Indian Agricultural Research institute, Newdelhi, India*, 68.
- Özdemir, A., S. Turanlı, B. Çalışkan, M. Arka, E. Banoglu, 2020: Evaluation of cytotoxic activity of new benzimidazole-piperazine hybrids against human MCF-7 and A549 cancer cells. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2020: 1-11.
- Petlamul, W., S. Boukaew, C. Hauxwell, P. Prasertsan, 2019: Effects on detoxification enzymes of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae) infected by *Beauveria bassiana* spores and detection of its infection by PCR. *Science Asia*, 45: 581–588.
- Popoola, A. O., A. A. Osipitan, C. G. A. A. Afolabi, O. A. Oke, 2015: Biological control of larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) with entomopathogenic fungi - *Beauveria bassiana* (Balsamo) vaillem (Hypocreales: Cordycipitaceae). *International Journal of Entomology and Nematology*, 2(1): 002-008.
- Russo, M. L., S. A. Pelizza, M. N. Cabello, S. A. Stenglein, A. C. Scorsetti, 2015: Endophytic colonisation of tobacco, corn, wheat and soybeans by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales). *Biocontrol Sciences and Technology*, 25(4): 475–480. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.982511>
- Sabbour, M. M., Sahab, A. F., 2005: Efficacy of some microbial control agents against cabbage pests in Egypt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8: 1351–1356.
- Smith, F.I., Eyzaguirre, P., 2007: African leafy vegetables: their role in the World Health Organization's global fruit and vegetables initiative: 1-8. *In* Oniang'o, R., Grum, M., ObelLawson, E. (eds) Developing African leafy vegetables for improved nutrition. *Regional workshop, Rural Outreach Program, Nairobi, Kenya*.
- Smith S., 1998: The use of entomopathogenic fungi for control of *Prostephanus truncatus* and *sitophilus zeamais* in Kenya. *Entomopathology and Stored Product Pest Management*. CAB International, Africa regional Centre. Proceedings of a Workshop held at IITA in Calavi, Bénin.
- Soundararajan, R. P., Chitra, N., 2011: Effect of bioinoculants on sucking pests and pod borer complex in urdbean. *Journal of Biopesticides*, 4: 7-11.
- Tefera, T, Vidal, S., 2009: Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol*, 54: 663-669.
- Thuy, Hang., Trinh, Quang Thoai., Paule Moustier. 2003 : Spatial and institutional organization of vegetable markets in Hanoi. RIFAV, Gia Lam.
- Toffa, M. J., P. Atachi, O. Douro Kpindou, M. Tamò, 2014 a: Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on larvae of the legume pod borer *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 9(2): 55–64.
- Toffa, M. J., P. Atachi, O. Douro Kpindou, E. Dannon, M. Tamò, 2014b: Mortality of *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) larval stages induced by different doses of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *International Journal of Advance Research*, 2: 273-285.
- Toffa, M. J., Y. L. E. Loko, K. O. Douro, E. A. Dannon, K. Zanzana, P. Kassa, A. Adandonon, 2020: Management of the legume pod borer *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) with field applications of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and a mixed formulation of the baculovirus MaviMNPV with emulsifiable neem oil. *African Journal of Agricultural Research*, 15: 113-121.
- Toffa, J., Y. L. E. Loko, O. K. Douro Kpindou, K. Zanzana, J. Adikpeto, Y. Gbenontin, A. Koudamilo, A. Adandonon, 2021: Endophytic colonization of tomato plants by *Beauveria bassiana* Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) and leaf damage in *Helicoverpa armigera* larvae (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31: 1-9. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00431>
- Seni Atanu, 2018: Insect pests of amaranthus and their management *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology (IJEAB) Vol-3, Issue-3, May-June- 2018*<http://dx.doi.org/10.22161/ijeab/3.3.50> January 2018.
- Wu, H., M. Sun, S. Yue, H. Sun, Y. Cai, R. Huang, D. Brenner, H. Corke, 2000: Field evaluation of an *Amaranthus* genetic resource collection in China. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47(1) :43–53.