UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Effets toxiques des extraits totaux de Tephrosia vogeli (umutaruhunwa) et d'Azadirachta indica (marumaru) sur les charançons de maïs (Stophilus zeamais), ravageurs de récoltes Mémoire

NIYONZIMA, Innocent; Sous la direction de : Prof. Aloys KATIHABWA

2022-02
UB, FACULTE DES SCIENCES
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/995

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI
FACULTE DES SCIENCES
Département de Chimie

Effets toxiques des extraits totaux de *Tephrosia vogeli (*umutaruhunwa) et d'*Azadirachta indica* (marumaru) sur les charançons de maïs (*Stophilus zeamais*), ravageurs de récoltes

Par
Innocent NIYONZIMA

Sous la direction de :

Prof. Aloys KATIHABWA

Mémoire présenté et défendu publiquement en vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Chimiques

Orientation Contrôle et Analyses Chimiques

Bujumbura, février 2022

MEMBRES DU JURY

Président : Prof. Libérata NIZIGIYIMANA

Directeur : Prof. Aloys KATIHABWA

Secrétaire : Dr. Léopold HAVYARIMANA

Membre : Msc. Japhet NZOYISUBIZIKI

DEDICACES

A mes regrettés mère, grand-mère et grand père ;

A mon père, mon oncle et ma tante ;

A mes frères et sœurs.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements sont adressés à mon père, à mon oncle, à ma tante, à mes frères et sœurs ; et mes regrettés mère, grand-mère et grand père, qui ont conjugué leurs efforts afin que je puisse fréquenter le milieu scolaire et académique.

Mes sincères et profonds remerciements sont particulièrement dirigés à l'endroit du Prof. Aloys KATIHABWA qui a accepté de diriger ce mémoire malgré ses nombreuses charges et obligations. Je tiens aussi à exprimer mes gratitudes au Dr. Jérémie NGEZAHAYO et à Maître Japhet NZOYISUBIZIKI pour être restés longtemps près de moi et contribués à l'orientation de ce mémoire, malgré d'autres tâches qui leur sont attribuées.

Je témoigne aussi ma gratitude au Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE) pour sa contribution matérielle afin que le présent travail soit réalisé.

Mes sentiments de gratitude sont aussi exprimés à l'endroit du Prof. Vestine NTAKARUTIMANA responsable du Mastère en Contrôle et Analyses Chimiques, au Prof. Libérata NIZIGIYIMANA et au Dr. Léopold HAVYARIMANA pour la bonne collaboration qui les ont caractérisé durant tous les deux ans du cycle de Master.

Mes remerciements sont aussi adressés à tous mes enseignants, principalement ceux de la Faculté des sciences, Département de Chimie, qui ont fourni d'énormes efforts pour me donner une formation de qualité.

Je tiens également cette occasion pour remercier les collègues de ma promotion pour les mots d'encouragement partagés.

Que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin trouvent ici le résultat de leurs efforts.

RESUME

Dans la perspective de tester les effets toxiques des extraits totaux des plantes *Tephrosia vogeli* et *Azadirachta indica* sur les charançons de maïs (*Stophilus zeamais*), les feuilles et les graines de *Tephrosia vogeli* et ainsi que les feuilles et les fruits d'*Azadirachta indica* ont été soumis à l'extraction par des solvants (hexane, acétate d'éthyle et méthanol). Le test de toxicité avec les extraits obtenus a été effectué en suivant les méthodes décrites par Ndomo et al., 2009 ; Lucie et al., 2016 et les résultats avec les 12 extraits testés sont différents.

En effet, l'analyse statistique a montré que l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* est le plus efficace avec un taux de mortalité de 40,7±0,7%. Le taux de mortalité est nul pour l'extrait au méthanol des fruits d'*Azadirachta indica*. La dominance de l'effet toxique a été observée pour les cas des extraits à l'hexane: TVF E Hex (15,7±0,7%), TVG E Hex (19,0±0,0%) et AIF E Hex (13,3±0,7%). L'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* a montré à la dose de 125mg /ml une mortalité de 100±0,0% pour la période de 10 jours d'observation et la DL_{50} pour cet extrait correspond à 52,36 mg/ml. Les tests phytochimiques effectués ont révélés la présence des métabolites secondaires (terpenoïdes, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, coumarines et saponosides) susceptibles d'être responsables de cette activité insecticide.

Une analyse de la variance a montré une différence significative de l'effet toxique entre les différents extraits (p value < 0,05). Néanmoins, le test de Duncan a montré que les extraits suivants (TVF E AcOEt et TVF E MeOH) ont statistiquement les mêmes effets toxiques; ce qui est le cas pour AIFruit E AcOEt et AIFruit E MeOH. Le même test a également montré que les doses de 18,00 et de 31,00 mg/ml ont statistiquement les mêmes effets toxiques.

Les résultats de ce travail devraient aider la population conservatrice à contrôler les grains de maïs en utilisant l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* comme une solution alternative dans la résolution des problèmes liés à la protection post-récolte. Cet extrait permettrait de réduire la perte des récoltes avec diminution de risque d'intoxication humaine.

Mots-Clés : *Tephrosia vogelii*, *Azadirachta indica*, extrait, bio pesticide, *Stophilus zeamais*.

ABSTRACT

With a view to testing the toxic effects of the total extracts of the plants *Tephrosia vogeli* and *Azadirachta indica* on maize weevils (*Stophilus zeamais*), the leaves and seeds of *Tephrosia vogeli* and the leaves and fruits of *Azadirachta indica* were subjected to extraction with solvents (hexane, ethyl acetate and methanol). The toxicity test with the extracts obtained was carried out following the methods described by Ndomo et al., 2009; Lucie et al., 2016 and the results with the 12 extracts tested are different.

Indeed, the statistical analysis showed that the hexane extract of the fruits of *Azadirachta indica* is the most effective with a mortality rate of 40.7 ± 0.7%. The mortality rate is nil for the methanol extract of the fruits of *Azadirachta indica*. The dominance of the toxic effect was observed for the cases of the hexane extracts: TVF E Hex (15.7±0.7%), TVG E Hex (19.0±0.0%) and AIF E Hex (13.3±0.7%). The hexane extract of the fruits of *Azadirachta indica* showed at a dose of 125mg / ml a mortality of 100 ± 0.0% for the period of 10 days of observation and the LD50 for this extract corresponds to 52, 36mg/ml. The phytochemical tests carried out revealed the presence of secondary metabolites (terpenoids, flavonoids, alkaloids, tannins, coumarins and saponosides) likely to be responsible for this insecticidal activity.

An analysis of variance showed a significant difference in the toxic effect between the different extracts (p value < 0.05). Nevertheless, Duncan's test showed that the following extracts (TVF E AcOEt and TVF E MeOH) have statistically the same toxic effects; which is the case for AIFruit E AcOEt and AIFruit E MeOH. The same test also showed that the doses of 18.00 and 31.00 mg/ml have statistically the same toxic effects.

The results of this work should help the conservative population to control maize kernels by using the hexane extract of the fruits of *Azadirachta indica* as an alternative solution in solving the problems related to post-harvest protection. This extract would reduce crop loss with reduced risk of human poisoning.

Keywords: *Tephrosia vogelii*, *Azadirachta indica*, extract, biopesticide, *Stophilus zeamais*.

TABLE DES MATIERES

MEMBRES DU JURY i

DEDICACES ii

REMERCIEMENTS iii

RESUME iv

ABSTRACT v

TABLE DES MATIERES vi

LISTE DES TABLEAUX viii

LISTE DES FIGURES ix

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS x

AVANT-PROPOS xi

INTRODUCTION GENERALE xi

CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES PLANTES, LES PRINCIPES ACTIFS ET LES INSECTES ETUDIES 4

I .1. Introduction 4

I.2. Généralités sur les plantes étudiées 4

I.2.1. *Tephrosia vogeli* 4

I.2.2. *Azadirachta indica* 5

I.3. Les métabolites secondaires et quelques techniques de séparation 7

I.3.1. Description de quelques composés majeurs 8

I.3.2. Techniques de séparation des principes actifs 12

I.3.3. Principe de la CCM 13

I.4. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes 13

I.4.1. Principaux insectes nuisibles du maïs en stockage 13

I.4.2. Description de la reproduction des charançons granivores 14

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES 16

II.1. Matériel 16

II.1.1. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage de *Tephrosia vogeli* 16
II.1.2. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage d'*Azadirachta indica* 17
II.2. Méthodes 17
II.2.1. Préparation de la poudre 17
II.2.2. Préparation des extraits totaux 18
II.2.3. Tests chimiques de caractérisation des métabolites secondaires 19
II.2.4. Elevage des charançons 19
II.2.5. Test de toxicité par contact 19
II.2.6. Calcul du taux de mortalité 20
II.2.7. Analyses statistiques 20
CHAPITRE III: PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS 21
III.1. Présentation des résultats 21
III.1.1. Comparaison des extraits en fonction de leurs effets toxiques. 24
III.1.2. Comparaison des doses en fonction de leurs effets toxiques. 26
III.2. Discussion des résultats 28
CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS 30
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Conditions limites de développement des charançons 15
Tableau II: Données d'extraction des principes actifs de *Tephrosia vogeli* 22
Tableau III: Données d'extraction des principes actifs d'*Azadirachta indica* 22
Tableau IV: Données sur le screening phytochimique des différents extraits 23
Tableau V: Résultats des moyennes de mortalités des différents extraits 24
Tableau VI: Résultats des moyennes de mortalités en fonction d'extraits au test de Duncan 25
Tableau VII: Résultats des moyennes de mortalités avec l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* pour différentes doses 26
Tableau VIII: Résultats des moyennes de mortalités avec l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* en fonction des doses au test de Duncan 27
Tableau IX: Données des paramètres de calcul de la DL_{50} pour n=10 27

LISTE DES FIGURES

Figure 1: *Tephrosia vogeli* (Hoock. F.) en période de floraison et de fructification 4
Figure 2: Fleurs, blanche feuillue et fruitière d'*Azadiracta indica* 6
Figure 3: Quelques structures d'alcaloïdes 8
Figure 4: Structure typique des saponosides 9
Figure 5: Structure de base des flavonoïdes et un exemple 9
Figure 6: Quelques structures de terpénoïdes 10
Figure 7: Quelques structures des tannins 11
Figure 8: Furanocoumarines respectivement linéaire et angulaire 12
Figure 9: Quelques insectes ravageurs du maïs 13
Figure 10: Schéma du développement évolutif des charançons de maïs 14
Figure 11: Photos de la zone d'échantillonnage et de récolte de *Tephrosia vogeli* 16
Figure 12: Carte de localisation de la zone d'échantillonnage 16
Figure 13: Séchage à l'air libre des feuilles et fruits de *Tephrosia vogeli* dans le laboratoire C5 du Département de Chimie 16
Figure 14: Photos illustrant la récolte d'*Azadirachta indica* 17
Figure 15: Séchage à l'air libre des feuilles et fruits d'*Azadirachta indica* 17
Figure 16: CCM des extraits à l'acétate d'éthyle respectivement de *Tephrosia vogeli* feuille, d'*Azadirachta indica* feuille et de *Tephrosia vogeli* graine 21
Figure 17: Courbes de mortalité des charançons en fonction des extraits 24
Figure 18: Courbe de mortalité des charançons en fonction des différentes doses 26

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AIF E AcOEt	: *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle
AIF E Hex	: *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'hexane
AIF E MeOH	: *Azadirachta indica* feuilles extrait au méthanol
AIFruit E AcOEt	: *Azadirachta indica* fruit extrait à l'acétate d'éthyle
AIFruit E Hex	: *Azadirachta indica* fruit extrait à l'hexane
AIFruit E MeOH	: *Azadirachta indica* fruit extrait au méthanol
ANOVA	: Analyse de la variance
BBN	: Bureau Burundais de Normalisation et de contrôle de la qualité
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
CNTA	: Centre National de Technologie Alimentaire
CRSNE	: Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement
FAO	: Food and Agriculture Organisation
fig	: figure
min	: minutes
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences.
S. zeamais	: *Stophilus zeamaïs*
TVF E AcOEt	: *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle
TVF E Hex	: *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'hexane
TVF E MeOH	: *Tephrosia vogeli* feuilles extrait au méthanol
TVG E AcOEt	: *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'acétate d'éthyle
TVG E Hex	: *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'hexane
TVG E MeOH	: *Tephrosia vogeli* graines extrait au méthanol
T. *purpurea*	: *Tephrosia purpurea*
T. *Vogeli*	: *Tephrosia vogeli*
T. *toxicaria*	: *Tephrosia toxicaria*

AVANT PROPOS

Le présent mémoire est initialement rédigé dans l'objectif de contribuer à la connaissance des plantes insecticides de la flore burundaise pouvant être utilisées contre les ravageurs des cultures et des récoltes.

Après l'extraction et l'identification des principes actifs présents dans les parties des plantes choisies ; des tests d'activités biologiques (tests de toxicité) de ces extraits totaux seront réalisés sur les charançons de maïs *Stophilus zeamais* et nous ferons une étude comparative entre différents extraits, issus des différentes parties (feuilles, graines) de *Tephrosia vogeli* et (feuilles, fruit) d'*Azadirachta indica* dans le but de déterminer l'extrait le plus intéressant, sa dose la plus efficace et déterminer sa dose qui tue la moitié des individus soumis au test (DL_{50}).

INTRODUCTION GENERALE

Au Burundi, l'agriculture reste une activité très importante dans le processus de développement : le plan national de développement place la production agricole au premier plan (PND, 2018-2027).

L'agriculture est la pierre angulaire de l'économie nationale et familiale au Burundi et demeure la première source de croissance. Elle occupe plus de 84% de la population active. Ce secteur est confronté à des problèmes variés. L'incidence des maladies et ravageurs des récoltes et des cultures est relativement élevée. Les pertes de rendement peuvent atteindre 30% en production végétale (CORAF/Banque Mondiale, 2007).

Les principales maladies des cultures signalées par les agronomes communaux sont regroupées dans trois catégories : les maladies bactériennes du bananier et la bactériose de la pomme de terre, les maladies virales (mosaïque du manioc), les maladies fongiques (mildiou de la pomme de terre). Les insectes (chenilles foreuses, chenilles défoliantes, pucerons noirs, pucerons verts) constituent encore les principaux ravageurs les plus signalés au cours de la saison 2018 (FAO & al., 2018).

Dans leurs efforts de réduire les dommages produits par les ravageurs et les maladies au niveau de leurs cultures, les personnes ont toujours utilisés des produits chimiques organiques et inorganiques (Jeroen & al., 2004).

Les pesticides utilisés au Burundi sont répartis en insecticides (contre les insectes), en nématoïdes (contre les nématodes = vers), en fongicides (contre les champignons), en herbicides (contre les mauvaises herbes), en rodonticides (contre les rongeurs). Les insecticides constituent la grande majorité des pesticides homologués (53%) (P.E.S, 2021).

En effet, l'utilisation excessive des pesticides de synthèse a favorisé l'accoutumance puis la résistance des ravageurs. Les pesticides sont également devenus préoccupants du point de vue de la santé des populations, de la pollution de l'environnement et de la déperdition de la biodiversité (Multigner, 2005; Adam & al., 2010).

Bien que les insecticides chimiques soient reconnus comme un outil puissant et indispensable pour assurer une bonne protection phytosanitaire et augmenter les rendements, ce sont les substances actives les plus toxiques pour l'homme et la faune (Cruz & al., 2016).

Ces substances chimiques sont par leur nature des perturbateurs du système nerveux pour l'homme et les autres animaux. Il faut les utiliser avec beaucoup de précautions. De nombreuses études ont montré que plusieurs pesticides exercent une action neurotoxique chez l'homme. Des agriculteurs burundais, par manque d'information sur la toxicité des pesticides, mélangent

ces produits avec de l'eau sans équipements de protection individuelle (CORAF/Banque Mondiale, 2007).

Par ailleurs, la plupart des pays africains utilisent les pesticides synthétiques importés et ne participent généralement qu'à leur ré-emballage, leur commercialisation et leur distribution (Anjarwalla & al., 2016). Cette utilisation excessive de produits pesticides pourrait être corrigée par le développement des chaînes locales de vente des produits dérivés de plantes pesticides fabriqués localement, car l'accessibilité aux pesticides synthétiques pour lutter contre les ravageurs est limitée pour de nombreux producteurs en raison de leur coût et de leur réseau de distribution restreint. Les plantes pesticides sont largement disponibles à des prix minimes voire sans coût aux agriculteurs ; elles ont été utilisées pendant des siècles et sont donc adaptées dans les cultures traditionnelles (Anjarwalla & al., 2016).

Dans la tradition africaine, l'exploitation des plantes à usage insecticide est connue depuis longtemps. Le pyrètre, la nicotine et la roténone sont longtemps utilisés comme agents de lutte contre les insectes. Les plantes se révèlent ainsi comme une source potentielle de nouveaux insecticides, qu'il est important de continuer à explorer (Akono & al., 2012).

Les biopesticides peuvent jouer un rôle important. Ce terme vient de «bio», mot dérivé du grec qui signifie «vie», tandis que «pesticides» comprend toutes les substances ou mélanges de substances conçus pour éliminer les ravageurs et empêcher les dommages ou pertes qu'ils provoquent. Les biopesticides sont des «formulations vivantes» issues de matériaux vivants provenant de végétaux, d'animaux ou de micro-organismes, qui sont souvent cultivés pour en augmenter les quantités afin d'exploiter leurs caractéristiques de lutte contre les ravageurs. Ils sont généralement biodégradables dans l'environnement naturel, réduisant ainsi l'exposition, la pollution environnementale et les chances des ravageurs de développer une résistance à leur égard (FAO & al., 2018).

La présente étude a donc pour but de tester, au laboratoire, les effets toxiques des extraits totaux de deux plantes locales (*Tephrosia vogeli* et *Azadirachta indica)* sur les charançons de maïs en vue de contribuer à réduire les dégâts causés par ces insectes. Compte tenu des nuisances associées à l'utilisation des pesticides, pollution de l'environnement, intoxications et en considérant que les substances naturelles sont moins toxiques pour l'homme que les insecticides de synthèse, la recherche d'alternatives s'impose (Ostermann, 1993). L'utilisation des extraits de *Tephrosia vogeli* et d'*Azadirachta indica* pourrait réduire la perte des récoltes avec diminution de risque d'intoxication humaine. Ainsi, il est opportun d'orienter la présente étude sur l'utilisation des extraits totaux de graines et feuilles de *Tephrosia vogeli ;* et des extraits totaux de fruits et feuilles d'*Azadirachta indica* pour évaluer leur degré de toxicité.

Après l'extraction et l'identification des principes actifs présents dans les parties desdites plantes choisies, le test de toxicité par contact sera effectué sur les charançons de maïs (*Sitophilus zeamais)* et nous allons comparer l'effet toxique des différents extraits (extrait hexanique, extrait à l'acétate d'éthyle et extrait méthanolique), identifier l'extrait le plus efficace ainsi que sa dose à appliquer et déterminer la dose létale (DL_{50}) de l'extrait le plus efficace.

CHAPITRE I: GENERALITES SUR LES PLANTES, LES PRINCIPES ACTIFS ET LES INSECTES ETUDIES

I .1. Introduction

Faute de moyens pour effectuer une enquête sur les plantes insecticides traditionnellement utilisées au Burundi dans la lutte contre les ravageurs des plantes et des récoltes, nous avons sélectionnés 2 plantes utilisées localement et dont les données de la littérature sont disponibles. Il s'agit de *Tephrosia vogeli* (Fabacées) *et Azadirachta indica* (Méliacées) (Martin & al., 2018).

I.2. Généralités sur les plantes étudiées

I.2.1. *Tephrosia vogeli*

Le *Tephrosia vogeli* est connu sous le nom vernaculaire d'umutaruhunwa en langue nationale (Kirundi) (FAO, 2012) ou umuruka (M. Reekmans; L. Niyongere, 1983). Selon la base de données des plantes d'Afrique, l'espèce possède d'autres synonymes hétérotypiques : *Tephrosia periculosa* Baker (1897), *Tephrosia megalantha* Micheli (1897).

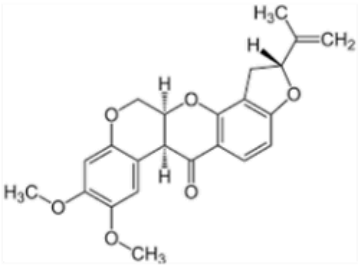
Tephrosia vogeli est une espèce appartenant au règne végétal (Plantae), embranchement des plantes vasculaires (Tracheophyta), classe des Magnoliopsida, ordre des Fabales, famille des Fabaceae comprenant 730 genres et 19 400 espèces, réparties aussi bien en milieu tempéré que tropical (Wojciechowski & al., 2004; Taffo & Baudoin, 2019).



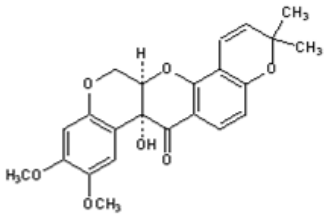
Figure 1: *Tephrosia vogeli* (Hoock. F.) en période de floraison et de fructification

Tephrosia vogeli joue un rôle écologique important : fixation de sol, engrais vert. Il fournit des ressources appréciables à l'économie rurale du fait de ses multiples usages (brise vent, bois de chauffage et pharmacopée traditionnelle). En effet, *T. vogeli* a une action répulsive et toxique sur *Callosobruchus maculatus*, charançon des graines de *Vigna unguiculata* L. (Boeke & al.,

2004; Belmain & al., 2012). Il est aussi utilisé comme poison des poissons (la téphrosine est le poison principal), insecticide contre les poux, les puces, les tiques (Gadzirayi & al., 2009). En médecine conventionnelle, il est utilisé comme bactéricide, ayant des propriétés émétiques et purgatives. Il est efficace dans le traitement des maladies de la peau, de la schistosomiase, de la teigne et des infections parasitaires. Les feuilles contiennent des flavonoïdes qui ont des effets marqués sur le développement et le comportement des insectes. Les parties de la plante possédant des propriétés insecticides sont les feuilles et les racines avec des teneurs plus élevées en principes actifs dans les feuilles et qui varient d'une plante à l'autre (Stoll, 2002). Selon le même auteur, les modes d'action de *T. vogeli* sont : anti-appétant, insecticides, acaricides, ovicides, piscicides. La valeur insecticide des extraits de feuilles et de graines de *Tephrosia vogeli*, comme insecticide de contact, est de l'ordre de celui de la nicotine (Wilbaux René, 2018). Les feuilles et les graines sont des insecticides efficaces contre les aphides, les thrips et les insectes qui perforent la tige du maïs (Stoll, 2002). Certaines espèces de Tephrosia trouvent leur toxicité à base d'alcaloïdes voisins de la roténone utilisée pour la pêche (*T. vogeli*, *T. purpurea, T. toxicaria*) (Vettius, 2015).



Structure de la roténone



Structure de la tephrosine

I.2.2. *Azadirachta indica*

Azadirachta indica est connu sous le nom de « akamaru ou marumaru » par la population du site de déplacés vivant à Muyange I en commune Gihanga où j'ai récolté les échantillons.

Azadirachta indica est une espèce de la famille pantropicale des méliacées comprenant 51 genres et environ 550 espèces (Antoine & al., 1997; Diedhiou, 2017).

L'espèce *Azadiracta indica* est un arbre de 8 à 12 m de haut, au tronc droit, à couronne ronde et ovale, formée de branches très étalées, a une écorce striée brune. Ses feuilles alternes, composées, imparipennées portent des folioles falciformes, acuminées, dentées. Son inflorescence, en panicules axillaires, se compose de nombreuses petites fleurs à cinq pétales blanches ou verdâtres, à odeur de miel. Son fruit sphérique, jaune pâle, est une sorte de drupe

ellipsoïde, odorante, à épiderme mince, à la pulpe juteuse contenant une graine. Originaire de l'Inde et de Birmanie, *Azadirachta indica* est cultivé et s'est acclimaté sous tous les tropiques et dans les régions semi-arides et arides (Nicolas, 2009).



Figure 2: Fleurs, blanche feuillue et fruitière d'*Azadiracta indica*

Azadirachta indica (neem ou margousier) s'adapte bien dans les sols pauvres, tolère les températures élevées et une faible pluviométrie. On le retrouve dans les zones arides et semi-arides des tropiques en Asie et il a été implanté en Afrique, Australie et s'implante en Amérique du Sud et Centrale, aux Antilles et au Mexique (André & Thaddée , 2000).

Le neem, comme tout arbre tropical, vit dans des conditions de températures annuelles comprises entre 21 et 32°C. Cependant, le système racinaire du neem, constitué d'une forte racine pivotante et d'un ensemble de racines latérales bien développées qui pénètrent profondément le sol et qui produisent des surgeons, lui permet de résister dans des zones arides (Schmutterer & Ascher, 1995).

Il tolère toutefois des pH de 5,9 à 10 dans certaines conditions (Rice, 1993). Le neem est d'habitude retrouvé dans les plaines et les petites montagnes, jusqu'à 700-800 m au-dessus de la mer et occasionnellement à 1000 m d'altitude (Schmutterer & Ascher, 1995). La lumière est un autre facteur environnemental important de son développement. Bien que les jeunes plantes poussent souvent sous l'ombre, les arbres adultes exigent beaucoup de lumière (Gruber, 1991).

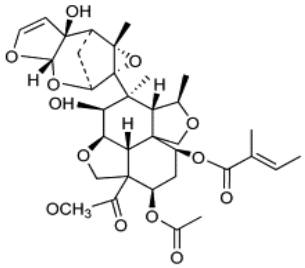
Largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales, notamment d'Asie, d'Amérique, d'Australie et des îles du Sud Pacifique, c'est l'Afrique, avec une population estimée entre 31 et 45 millions d'arbres, qui serait le continent qui a le plus d'arbres de neem (Schmutterer & Ascher, 1995; Forster & Moser, 2000). Il est présent le long de la côte de l'Afrique orientale (Somalie, Kenya, Tanzanie et Egypte). En Afrique centrale, le neem est présent le long du bassin du lac Tchad. En Afrique de l'Ouest, le neem est aussi très présent notamment au Bénin, au Togo, au Burkina Fasso, au Ghana, en Côte d'Ivoire, au Mali, en Mauritanie, au Sénégal, en Gambie, en Guinée Bissau, en Guinée Conakry et en Sierra Leone **(**Mamadou FAYE, 2010).

Les propriétés insecticides des extraits de neem ont été étudiées pour le contrôle et la lutte contre les insectes ravageurs, en particulier en réponse au problème posé par la bioaccumulation et la toxicité des pesticides de synthèse utilisés pour l'agriculture.

La capacité du neem à repousser les insectes a été signalée pour la première fois dans la littérature scientifique en 1928 et 1929 par deux chercheurs indiens Chopra, R.N. et Husain, M.A., qui ont utilisé 0,001% d'une suspension aqueuse de graines de neem pour repousser du sol des criquets pèlerins (Schmutterer & Ascher, 1995).

En 1962, à New Delhi, Pradhan, S. constate que les criquets refusent de manger les cultures traitées par pulvérisation d'un extrait aqueux de graines de neem, et ce jusqu'à trois semaines après le traitement (Schmutterer & Ascher, 1995).

Les activités insecticides des extraits de neem sont attribuées à la présence dans différentes parties de la plante de plusieurs composés de la famille des terpénoïdes. Les dérivés de la sous famille des limonoïdes (azadirachtine et ses dérivés comme Azadirone et Vilasinine) ont été identifiés **(**Mamadou Faye, 2010).



Structure d' azadirachtine

Le neem est aussi utilisé depuis des millénaires en médecine traditionnelle. Il a également été très étudié par la médecine moderne: les effets antiseptiques, anti-inflammatoires, hypoglycémiants, antibactériens, antipaludéens, antiviral, etc., de divers constituants des feuilles, écorces, graines, racines sont établis. Ainsi, plusieurs médicaments à base d'extraits de neem sont commercialisés en Inde (National Research Council, 1992).

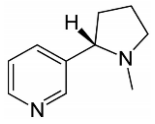
I.3. Les métabolites secondaires et quelques techniques de séparation

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Krief & al., 2004).

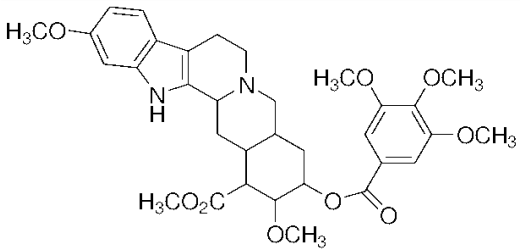
I.3.1. Description de quelques composés majeurs

a. Les alcaloïdes

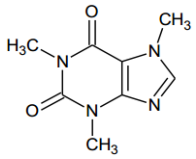
Les alcaloïdes sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale (ils sont rares dans le règne animal). Les alcaloïdes sont donc des produits aminés naturels (fig. 3) qui ont des effets physiologiques sur l'organisme humain. La plus part des alcaloïdes contient plus d'un hétérocycle. L'atome d'azote de cet hétérocycle est une amine secondaire ou tertiaire. La présence des atomes d'azote dans la chaine linéaire est très rare. Notons que plusieurs alcaloïdes contiennent deux atomes et plus d'azote dans des hétérocycles différents à l'image de la nicotine et la réserpine. La caféine à son tour contient quatre atomes d'azote répartis dans les différents hétérocycles. Les alcaloïdes se trouvent en concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Leur concentration est variable selon la période de récolte. Ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol (Audigié & Zonszain, 1991).



nicotine (Fichetox, 2018)



réserpine (J. & al., 2014)



caféine (Amel & Ahlem, 2020)

Figure 3: Quelques structures d'alcaloïdes

b. Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux (Bruneton, 2009). Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau (Krief & al., 2004).

Ils sont principalement produits par les plantes mais aussi par les organismes marins (Avilov & al., 1997; Yoshiki & al., 1998).

Selon Dr Sahraoui, 1901, les saponosides sont très fréquent chez les végétaux. Les saponosides stéroidiques se retrouvent exclusivement chez les angiospermes monocotylédones et les saponosides triterpéniques principalement chez angiospermes dicotylédones. Les saponosides sont présents dans tous les organes mais surtout dans les racines, les bulbes et les graines.

Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C_{27} et six cycles (fig. 4). Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer. Les saponosides triterpéniques ont souvent un squelette pentacyclique. Il

semble que les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques (Krief & al., 2004).

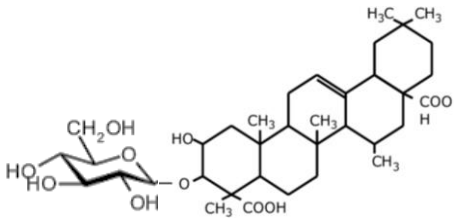
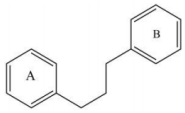


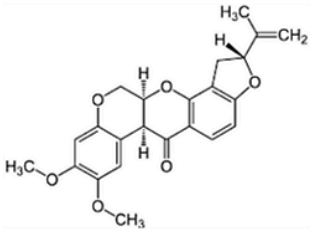
Figure 4: Structure typique des saponosides

c. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes (Macheix & al., 2005). Les flavonoïdes sont des composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans des processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Bruneton, 2015). Les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure en C_6-C_3-C_6 du diphénylpropane, les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné (fig.5 (1)) (de Rijke & al., 2006; Sahli, 2018).



Structure de base des flavonoides (1)



exemple : roténone (2)

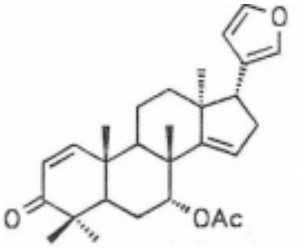
Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (1) et un exemple (2)

Les génines sont pour la plupart solubles dans les solvants organiques apolaires. Les hétérosides sont hydrosolubles et sont solubles dans les alcools, mais bon nombre ont une hydro solubilité faible à l'instar du rutoside, hespéridoside. La flavonoide roténone est responsable des propriétés insecticides. Elle inhibe la chaine respiratoire mitochondriale dès les premières étapes de la respiration cellulaire. La roténone a été utilisée pour la destruction des ectoparasites des animaux domestiques.

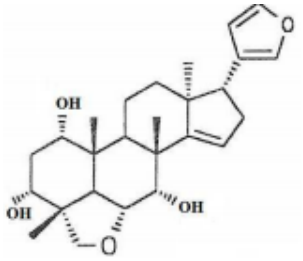
d. Les terpénoïdes

Dans le règne végétal, les tetrpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C_5), monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes.

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Mostafa, 2008)**.**



azadirone



Vilasinine

Figure 6: Quelques structures de terpénoïdes

e. Les tanins

Les tanins constituent un groupe avec une large diversité en structure. Ils possèdent une propriété de lier et précipiter les protéines. On a deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés, dits aussi proanthocyanidines (Saidi, 2019).

Tanins hydrolysables

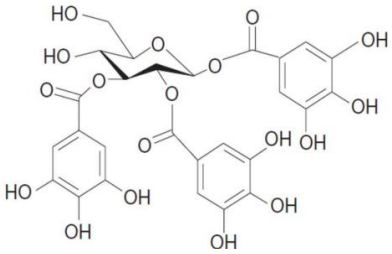
Ce sont des oligo ou des polyesters de glucides et d'un nombre variable d'acides phénols. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique pour les gallotannins, soit l'acide ellagique pour les tanins classiquement dénommés ellagitanins.

Ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude.

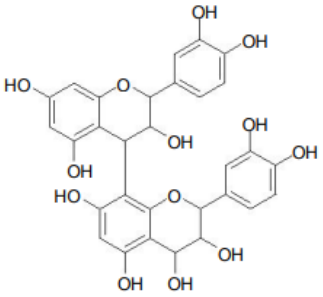
Tanins condensés

Les proanthocyanidines, également connues sous le nom de tanins condensés, sont des dimères, des oligomères et des polymères de catéchine qui sont liés entre eux par des liaisons entre C_4 et C_8. Ils diffèrent fondamentalement des tanins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucres dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes.

Les polymères de ces tanins se forment sous l'action d'acides ou d'enzymes, ils sont constitués généralement de 2 à 50 unités monomériques.



tannin hydrolysable



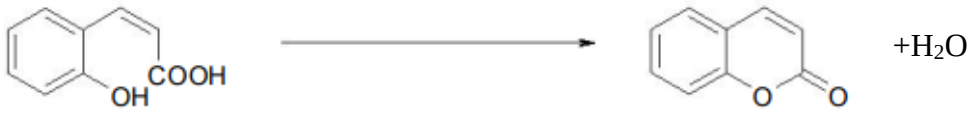
tannin condensé

Figure 7: Quelques structures des tannins

f. Les coumarines

Les coumarines simples sont solubles dans les alcools et dans les solvants organiques avec lesquels on peut les extraire. Les coumarines ont un spectre UV caractéristique fortement influencé par la nature et la position des substituants. Les CCM des plantes à coumarines présentent des taches qui varient du bleue au jaune et au pourpre quand elles sont examinées en lumière ultraviolette. Les coumarines sont principalement synthétisées au niveau des parties aériennes, mais elles peuvent également être produites dans les parties racinaires (Tal & Robeson, 1985, 1986 ; de Castro & al., 2007;).

Selon Dr. Ben Moussa MT de l'Université publique de Batna 2 en Algérie, Département de pharmacie, Laboratoire de pharmacognosie ; les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte le noyau benzo-b pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cinnamique.



L'acide ortho-hydroxy-cinnamique — Coumarine

Les plantes à coumarines détiennent des propriétés toxiques. Chez ces plantes, les coumarines sont souvent des phytoalexines ayant un rôle majeur dans les mécanismes de défense des végétaux. Les furanocoumarines seraient des molécules allélochimiques ayant un rôle

important dans les relations plantes/insectes. Les furanocoumarines sont des phytoalexines qui protègent la plante des attaques d'herbivores (Beier & Oertli, 1983).

De nombreux effets insecticides ont été démontrés sur le développement de larves d'insectes en utilisant des solutions contenant des furanocoumarines (Berenbaum & al., 1991; Hadaček & al., 1994; Stevenson & al., 2003 ; Guo & al., 2012; Pavela & Vrchotová, 2013;). Les furanocoumarines sont également capables d'inhiber les enzymes P450s des insectes qui sont impliqués dans la détoxication de composés toxiques (Neal & Wu, 1994). Ces molécules présentent des propriétés photo toxiques grâce à leur activité mutagène. En effet, elles sont capables, après la photo activation par un rayonnement UV, de former des liaisons covalentes avec les thymines situées de part et d'autre du double brin d'ADN et ainsi bloquer la réplication et la transcription de l'ADN (Dardalhon & al., 1998).

Les furanocoumarines angulaires seraient plus difficiles à détoxifier par les insectes.

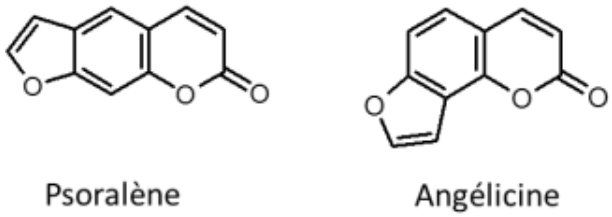


Figure 8: Furanocoumarines respectivement linéaire et angulaire (Célia Krieger, 2018)

I.3.2. Techniques de séparation des principes actifs

Les principes actifs d'une plante sont des substances chimiques assurant une activité physiologique. La présence de ces composants souvent en quantité extrêmement faible dans la plante impose des séparations, généralement, délicates. La macération, la décoction et l'infusion sont les méthodes de séparation très utilisées pour l'extraction globale des principes actifs et qui sont suivies par des séries de séparation chromatographique pour atteindre une matière pure d'un principe actif (Audigié & Zonszain, 1991).

a. Macération

La macération est une extraction solide-liquide dans lequel le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la matière végétale est extrait par un solvant spécifique pendant une période de temps bien déterminée. L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux la solubilité et la diffusion. La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise en œuvre de ce système d'extraction. L'inconvénient de la macération est la longue durée d'extraction. Aucun ustensile et équipement compliqués ne sont nécessaires pour la mise en place d'un système d'extraction par macération (Cheok &

al., 2014). C'est la technique la plus simple et qui minimise l'oxydation des produits. Après chaque extraction, la solution obtenue est filtrée puis concentrée sous vide à une température qui ne dépasse pas 45°C (Nasri, 2017).

b. Décoction

On place le matériel végétal dans de l'eau froide que l'on porte à ébullition et que l'on maintient en cet état environ 15 min ou plus. On laisse ensuite reposer et on filtre après environ 15 min pour récupérer le décocté (Potel, 2002).

c. Infusion

Une infusion se fait généralement avec les fleurs et les feuilles des plantes, mais dans certains cas, il est possible de faire également infuser des racines et des écorces. Le principe est simple : Versez de l'eau bouillante sur la plante et laissez infuser entre dix et vingt minutes. Une infusion peut se conserver au réfrigérateur pendant 48 heures maximum (Amroune, 2018).

I.3.3. Principe de la CCM

Il repose sur la séparation des substances chimiques par migration dans une phase mobile ou éluant et adsorption sur un support ou phase stationnaire; en fonction de leur nature, du pouvoir éluant de la phase mobile et du pouvoir adsorbant du support (Jazy & Rokia Sanogo, 2018).

I.4. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes

I.4.1. Principaux insectes nuisibles du maïs en stockage

Les principaux insectes de stockage du maïs sont des papillons, *Sitotroga cerealella (a)* (Lépidoptère) et les charançons (Coléoptères), *Sitophilus oryzae (b)*, *S. zeamais (c)*.



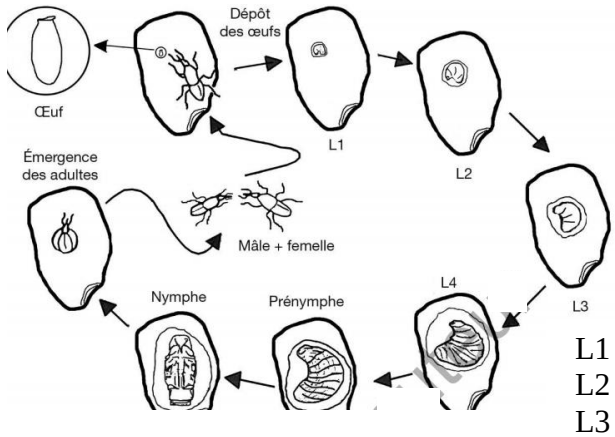
Figure 9: Quelques insectes ravageurs du maïs

Les attaques de ces ravageurs commencent au champ et continuent dans les milieux de stockage, causant ainsi des dégâts importants pouvant atteindre 100%. La prolifération de ces insectes favorise le développement des moisissures qui peuvent être à l'origine des toxines dangereuses à l'homme et aux animaux comme l'aflatoxine. La lutte contre ces ravageurs est surtout basée sur l'utilisation des insecticides comme l'actellic super, l'actalm super et parfois

la phostoxine. C'est très dangereux de voir les agriculteurs manipuler régulièrement ces insecticides dans les milieux de stockage de leurs denrées. Ils ne sont pas au courant des dangers de ces pesticides, pourtant on observe souvent des signes d'intoxication comme les vomissements, les vertiges, les pertes de connaissance. La phostoxine s'enflamme au contact de l'eau (CORAF/Banque Mondiale, 2007). Les insectes destructeurs des maïs en stock causent des dégâts importants durant toute la phase de conservation. Il s'agit entre autres de la destruction de quantités importantes des graines de maïs, pertes totales du pouvoir germinatif, réduction de la capacité de germination, perte de la valeur marchande, les dégâts de *S. zeamaïs* dans les stocks favorisent l'installation des mycotoxines.

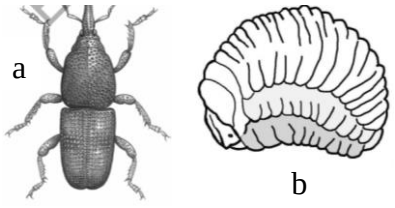
I.4.2. Description de la reproduction des charançons granivores

Les charançons granivores sont des insectes les plus fréquents dans les stocks de maïs de tous les pays du monde. Ils font partie de la famille des curculionidés. Leur corps a une taille de 3 à 4 mm de longueur. La tête est prolongée par un rostre au bout duquel se trouvent les pièces buccales broyeuses (mandibules) avec lesquelles, ils creusent des trous dans les graines pour se nourrir ou, pour la femelle, y déposer un œuf. Les stades juvéniles ne sont pas visibles car dès le stade œuf, le cycle de développement se déroule intégralement à l'intérieur d'un grain sous forme cachée. La larve est apode, de couleur blanchâtre et en forme de tranche d'orange. Les céréales à grains vêtus sont moins sensibles que les céréales à grains nus (mais, sorgho,….) (Steffan, 1978) .



Cycle de reproduction des charançons du maïs

L1 : larve 1
L2 : larve 2
L3 : larve 3
L4 : larve 4



Charançon du maïs: adulte (a) et larve (b)

Figure 10: Schéma du développement évolutif des charançons de maïs

Ces charançons étudiés sont des organismes arthropodes indésirables dans les graines alimentaires et ils vivent dans des conditions limites et optimales pour assurer la multiplication et le maintien de l'espèce (Cruz & al., 2016).

Tableau I: Conditions limites de développement des charançons

critères / insecte	Température minimale (°C)	Température maximale (°C)	Humidité relative optimale (%)	Taux de multiplication maximal par mois
Charançons du maïs *Stophilus zeamais*	14	34	75	25

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

Les échantillons des deux plantes ont été directement acheminés dans le laboratoire C5 de l'Université du BURUNDI, Faculté des Sciences (Commune Mukaza en Mairie de Bujumbura), où ils ont été séchés à l'air libre.

II.1.1. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage de *Tephrosia vogeli*

Les échantillons de *Tephrosia vogeli* utilisés dans cette étude ont été récoltés le 22 juin 2021, dans un centre de production des végétaux Agakura qui se trouve à Makebuko dans la province de GITEGA aux environs de 1 km du marché de GIHAMAGARA.



Figure 11: Photos de la zone d'échantillonnage et illustration de récolte de *Tephrosia vogeli*

Cette zone d'échantillonnage est située à 30°01'25''de longitude Est, 3°36'59''de longitude sud et à 1770 m d'altitude selon les images satellitaires du 04/11/2019 recueillies à l'aide du logiciel Google Earth.



Figure 12: Carte de localisation de la zone d'échantillonnage

▲ : Lieu d'échantillonnage ; ● : Marché de Gihamagara



Figure 13: Séchage à l'air libre des feuilles et fruits de *Tephrosia vogeli* dans le laboratoire C5 du Département de Chimie

II.1.2. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage d'*Azadirachta indica* (neem)

Les échantillons de neem (*Azadirachta indica)* utilisés dans cette étude ont été récoltés vendredi le 9 juillet 2021, dans un site de déplacés se trouvant à Muyange I commune Gihanga dans la province de BUBANZA aux environs de 9 heure du matin.



Figure 14: Photos illustrant la récolte d'*Azadirachta indica*



Figure 15: Séchage à l'air libre des feuilles et fruits d'*Azadirachta indica*

Après un mois de séchage à l'air libre, une masse de 350g de fruits *d'Azadirachta indica* est sechée à l'étuve à 39°C pendant trois jours avant l'opération de broyage (Gbénonchi, 2008).

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de la poudre

Des feuilles sèches d'*Azadirachta indica* et *Tephrosia vogeli* ont été broyées à l'aide d'un mortier et d'un pilon et tamisées avec un tamis de maille de 1mm de diamètre afin d'obtenir une poudre fine de granulométrie homogène. Les graines de *Tephrosia vogeli* ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique de type KRUPS qui se trouve dans le laboratoire du BBN et les fruits d'*Azadirachta indica* dans le laboratoire de CNTA par un broyeur de type IKA, modèle: M 20. La poudre obtenue a été tamisée à une granulométrie de 1mm. Notons qu'avant de prendre la décision de broyage, des prises journalières de masse pour la vérification de l'état de séchage ont été faites. C'est ainsi que nous avons pesé plusieurs fois la même prise pour vérifier la constante de la masse.

II.2.2. Préparation des extraits totaux

L'extraction est une opération qui consiste à transférer un composé d'une phase liquide ou solide réduit en poudre à une autre phase liquide (non miscible) (Bendia, 2020). On peut aussi utiliser successivement des liquides dont le pouvoir extracteur vis-à-vis des constituants de l'échantillon est différent (Benabdallah, 2015).

La méthode d'extraction que nous avons utilisée dans ce travail pour les différentes poudres de plantes était la macération suivie de l'épuisement. Ce dernier a été effectué à température ambiante en utilisant successivement trois solvants de polarité croissante (n-hexane, acétate d'éthyle et méthanol).

Ainsi, 250 g de poudre de feuilles et 250 g de poudre de fruits de neem (*Azadirachta indica)* ; 200 g de poudre de feuilles et 195 g de poudre de graines d'umutaruhunwa (*Tephrosia vogeli)* ont été respectivement placés dans quatre ampoules à décanter tapissées d'une petite quantité de cotons filtrants stérilisés. La collection des extraits a été effectuée dans de flacons en verre après 24h de macération. Cette opération a continué jusqu'à l'extraction complète de tous les produits solubles dans les solvants d'extraction. L'épuisement a été testé par l'absence d'absorbance à 254 nm et de fluorescence à 366 nm. Les systèmes d'éluants suintants ont été utilisés : (Hexane-dichlorométhane-acétate d'éthyle (70-10-20 v/v)) pour les extraits à l'hexane et (hexane-dichlorométhane-acétate d'éthyle (50-30-20 v/v)) pour les extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol. L'extrait obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à 45°C et l'évaporation totale du solvant dans les extraits a été effectuée à l'air libre, à l'abri de la poussière et de la lumière. Après évaporation de tout le solvant, l'extrait obtenu a été conservé au réfrigérateur à + 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure. Le marc a été séché à température ambiante puis macéré ensuite par le solvant suivant selon le degré de polarité croissante (Nasri, 2017).

Le rendement d'extraction est calculé à partir de la formule suivante (Bekr & al., 2015) :

$$rendement\% = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$;

m_0: masse en gramme de l'extrait brut ;

m_1: masse en gramme de la matière végétale initialement pesée.

II.2.3. Tests chimiques de caractérisation des métabolites secondaires

Les techniques de caractérisation qualitative, utilisées au cours de cette étude sont celles décrites par Trease et Evans, (1989) et Harborne (1998). Les différents tests de caractérisation ont été réalisés pour la mise en évidence des alcaloïdes (par deux types de réactifs qui ont été utilisés en parallèle, réactifs de Mayer et Wagner), des saponosides (par la formation de mousse), des flavonoïdes (par HCl concentré et ensuite 3 copeaux de magnésium), des terpénoïdes (par le test de Libermann-Burchard), des tanins (avec une solution de chlorure ferrique à 1 %) et des coumarines (par NH_4OH à 10%) (Bekr & al., 2015).

II.2.4. Elevage des charançons

Les charançons de maïs ont été choisis pour les tests biologiques en raison de leurs impacts sur de nombreuses récoltes et de leurs abondances dans la zone d'étude, ce qui a permis leur capture en grand nombre.

Dans le souci d'obtenir une population homogène et suffisante d'insectes adultes pour les différents tests biologiques, un élevage de masse a été effectué avec des insectes adultes collectés du stock des maïs d'une commerçante de la zone Nyakabiga II, $11^{ème}$ avenue, numéro 25. Cet élevage a été réalisé sur des graines de maïs, à l'obscurité et dans les conditions de température du laboratoire C5 de l'Université du Burundi où le test de toxicité a été réalisé (Ndomo & al., 2009).

II.2.5. Test de toxicité par contact

Les bio essais ont été effectués au laboratoire C5 de l'Université du Burundi, Département de Chimie dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Les tests sont réalisés à la température ambiante du laboratoire.

Plusieurs tests préliminaires ont été effectués afin de choisir les doses optimales. Ainsi, chaque extrait sec a six doses (125 ; 80 ; 62 ; 40 ; 31 et 18 mg/ml) et toutes les doses avaient été testées à trois reprises. Ces doses étaient obtenues par dilution à partir des solutions mères. Ainsi 2,04 g de chaque extrait ont été dilués dans 4ml du solvant d'extraction pour constituer la solution mère qui servira à la préparation d'autres doses (solutions filles) (Diouf et al., 2015).

1 ml de chacune de ces solutions a été mélangé à 10 g de graines de maïs contenu dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre. Le mélange a été agité pendant cinq minutes de manière à ce que toutes les graines soient uniformément enrobées, puis laissé encore 5 min à température ambiante, à l'abri du soleil et de la poussière pour évaporer complètement l'hexane et 25 min pour évaporer complètement l'acétate d'éthyle ou le méthanol (Ndomo & al., 2009; Lucie & al., 2016).

Les 10 insectes vivants ont été ajoutés dans chaque boite de pétri. Les insectes morts ont été comptés quotidiennement en utilisant des pinces, pendant 9jours.

Le contrôle négatif (boîtes témoins) a été réalisé dans les mêmes conditions, en y introduisant 10g de graines de maïs, 1ml de solvant d'extraction et, après homogénéisation pendant cinq minutes et évaporation des solvants, 10 insectes vivants ont été ajoutés.

II.2.6. Calcul du taux de mortalité

Le pourcentage de mortalité (Pc) est calculé selon le rapport du nombre d'individus morts observé sur le nombre total de charançons préalablement introduit dans la boîte de pétri.

Pc = [mortalités observées/nombre total de charançons] x 100.

II.2.7. Analyses statistiques

L'identification de l'extrait le plus efficace est effectuée en soumettant les données à une analyse de la variance ANOVA à 1 facteur. Les moyennes qui constituent les sous-groupes homogènes ont été rassemblées en utilisant le test d'homogénéité de Duncan avec un logiciel IBM SPSS statistics 21 au seuil de signification 5% (Steel & Torrie, 1980).

Quatre hypothèses ont été alors posées:

- H_0 : tous les extraits ont mêmes effets toxiques.
- H_1 : au moins un des extraits présente l'effet toxique différent des autres.
- H_0 : toutes les doses ont mêmes effets toxiques.
- H_1 : au moins une des doses présente l'effet toxique différent des autres

H_0 est rejetée si p-value < 0,05 ou H_0 est maintenue si p-value > 0,05. Au cas du rejet de l'hypothèse nulle (H_0), un test de Duncan a été considéré.

La DL_{50} du meilleur extrait est déterminée en utilisant la méthode arithmétique par calcul approché de Karber et Behrens (1935**)** qui est exprimée comme suit : $\mathbf{DL_{50} = DL_{100} - \Sigma\ (a*b)/n}$.

a : différence entre deux doses successives ; **b** : demi-somme des charançons morts entre deux doses successives ; **n** : effectif total des charançons dans une boite de pétri (Rachid, 2013).

CHAPITRE III: PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

III.1. Présentation des résultats

L'extraction complète de tous les produits solubles dans l'acétate d'éthyle a été testée par chromatographie sur couche mince. Ainsi, l'extrait brut a servi de témoin (fig. 16 A) et l'extrait épuisé est mis à côté et sur la même ligne de départ pour comparaison (fig. 16 B). Après la révélation effectuée sur UV à 254 nm (fig.16 (b)) et 366 nm (fig. 16 (c)), aucune substance n'a été retrouvée dans l'extrait épuisé comme le montre les chromatogrammes des résultats suivants (fig.16 (b) B) et (fig. 16 (c) B).

Ces résultats nous ont permis de changer le solvant d'extraction en passant de l'acétate d'éthyle au méthanol

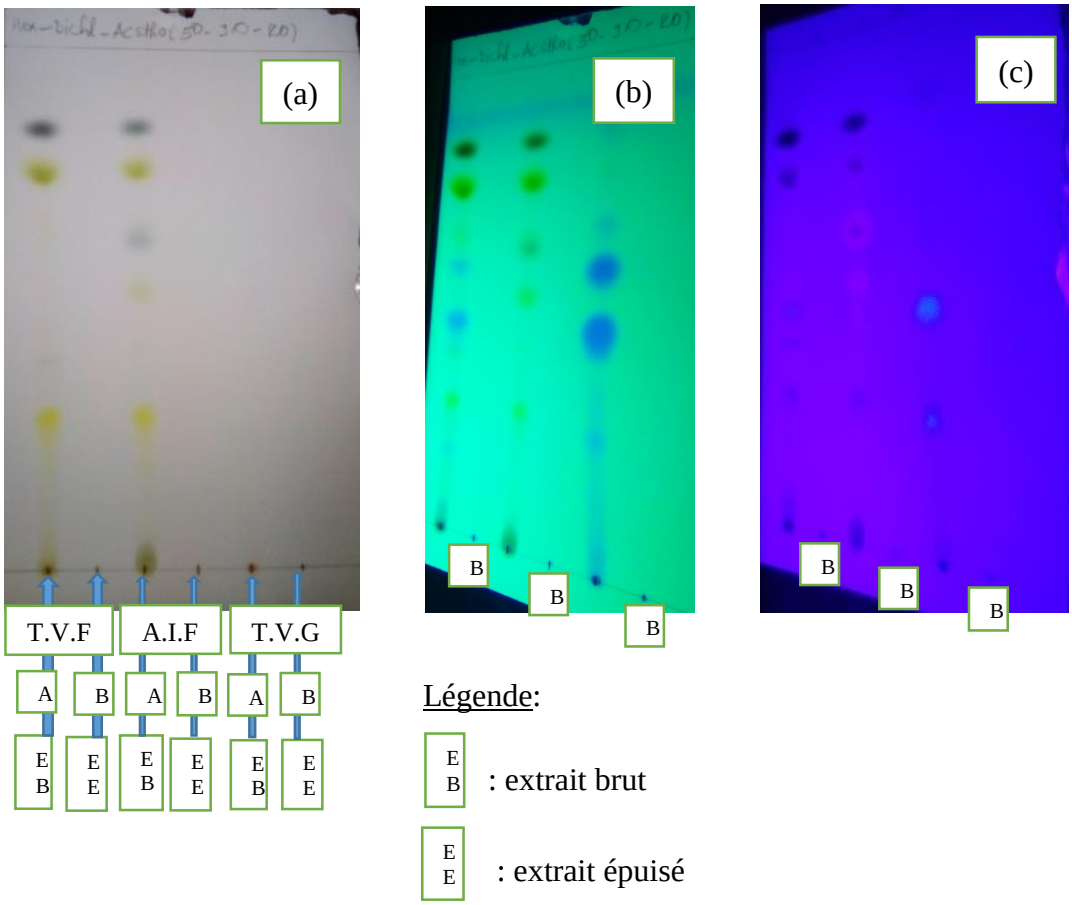


Figure 16: CCM des extraits à l'acétate d'éthyle respectivement de *Tephrosia vogeli* feuille (T.V.F), d'*Azadirachta indica* feuille (A.I.F) et de *Tephrosia vogeli* graine (T.V.G)

Les rendements d'extraction sont exprimés en % et sont effectués à partir de la masse initiale en gramme de l'échantillon et la masse de l'extrait brut. Les résultats sont montrés dans les tableaux II et III.

Tableau II: Données d'extraction des principes actifs de *Tephrosia vogeli*

Partie de la plante	Masse échantillon (g)	Solvant d'extraction	Couleur des extraits	Masse de l'extrait (g)	Rendement (%)
feuilles	200	n-hexane	noire	7.2	3.6
	192.8	Acétate d'éthyle	noire	16.5	8.56
	176.3	méthanol	noire	38.9	22.06
graines	195	n-hexane	jaune	25.55	13.1
	169.45	Acétate d'éthyle	rouge bordeau	13.95	8.23
	155.5	méthanol	rouge bordeau	19.9	12.79

Tableau III: Données d'extraction des principes actifs d'*Azadirachta indica*

Partie de la plante	Masse échantillon (g)	Solvant d'extraction	Couleur des extraits	Masse de l'extrait (g)	Rendement (%)
Feuilles	250	n-hexane	noire	6.6	2.64
	243.4	Acétate d'éthyle	noire	15.9	6.53
	227.5	méthanol	noire	48.9	21.49
Fruits	250	n-hexane	noire gris	16	6.4
	234	Acétate d'éthyle	noire gris	9.7	4.145
	224.3	méthanol	noire gris	42.2	18.81

Les différents tests de caractérisation des métabolites secondaires ont été réalisés avec différents réactifs d'identification en testant notamment les composés consignés dans le tableau IV.

Tableau IV: Données sur le screening phytochimique des différents extraits

Principes actifs / Types d'extrait	alcaloïdes	saponosides	flavonoïdes	terpénoïdes	tanins	coumarines
TVF E Hex : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'hexane	_	_	_	+	_	+
TVF E AcOEt : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	+	_	_	+	+	+
TVF E MeOH : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait au méthanol	+	+	+	+	+	+
TVG E Hex : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'hexane	+	_	+	+	_	+
TVG E AcOEt : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'acétate d'éthyle	_	_	_	+	+	+
TVG E MeOH : *Tephrosia vogeli* graines extrait au méthanol	+	+	_	+	+	+
AIF E Hex : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'hexane	_	_	_	+	_	+
AIF E AcOEt : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	_	_	_	+	+	+
AIF E MeOH : *Azadirachta indica* feuilles extrait au méthanol	+	+	+	+	+	+
AIFruit E Hex : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'hexane	_	_	+	+	_	+
AIFruit E AcOEt : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'acétate d'éthyle	_	_	_	+	+	+
AIFruit E MeOH : *Azadirachta indica* fruit extrait au méthanol	+	+	_	+	+	+

(+) : présence du composé recherché, (-) : absence du composé recherché.

III.1.1. Comparaison des extraits en fonction de leurs effets toxiques.

Les résultats des tests de toxicité sont montrés dans les tableaux (V, VI, VII et VIII) et les courbes des figures 17 et 18. Pour identifier l'extrait le plus efficace parmi les extraits testés, une étude comparative des pourcentages des moyennes de mortalités pour 9 jours d'observation a été effectuée et les résultats sont présentés dans le tableau 5

Tableau V: Résultats des moyennes de mortalités des différents extraits

Types d'extraits	Moyennes de mortalité (%)
TVF E Hex : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'hexane	15,7±0,7
TVF E AcOEt : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	2,7±0,7
TVF E MeOH : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait au méthanol	2,7±0,7
TVG E Hex : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'hexane	19,0±0,0
TVG E AcOEt : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'acétate d'éthyle	4,7±0,3
TVG E MeOH : *Tephrosia vogeli* graines extrait au méthanol	4,0±0,0
AIF E Hex : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'hexane	13,3±0,7
AIF E AcOEt : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	9,7±0,3
AIF E MeOH : *Azadirachta indica* feuilles extrait au méthanol	0,0±0,0
AIFruit E Hex : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'hexane	40,7±0,7
AIFruit E AcOEt : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'acétate d'éthyle	5,3±0,8
AIFruit E MeOH : *Azadirachta indica* fruit extrait au méthanol	5,7±0,7

La figure 17 montre l'évolution des moyennes de mortalité des charançons de maïs (*Stophilus zeamais)* en fonction des différents types d'extraits testés pour 9 jours d'observation.

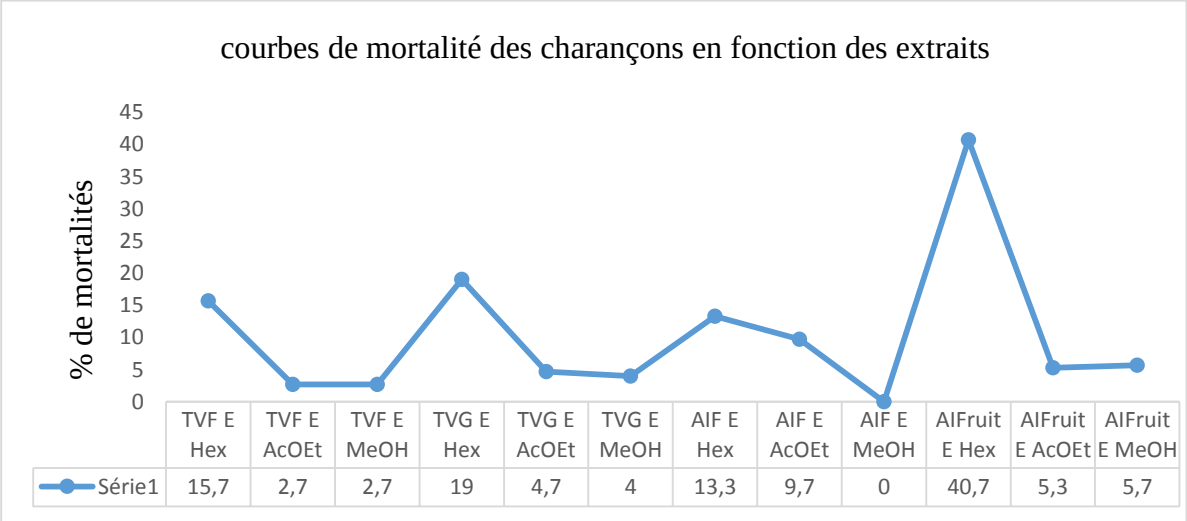


Figure 17: Courbes de mortalité des charançons en fonction des extraits

L'analyse de la variance montre que la valeur de p-value est inférieure à 0,05. Cela suggère que l'effet toxique est statistiquement différent pour les extraits testés. Néanmoins, le test de Duncan nous a permis de grouper ensemble les extraits ayant statistiquement les mêmes effets toxiques et les résultats sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI: Résultats des moyennes de mortalités en fonction d'extraits au test de Duncan

Types d'extraits	% de mortalité
TVF E Hex : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'hexane	15,7^{c}
TVF E AcOEt : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	2,7^{g}
TVF E MeOH : *Tephrosia vogeli* feuilles extrait au méthanol	2,7^{g}
TVG E Hex : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'hexane	19,0^{b}
TVG E AcOEt : *Tephrosia vogeli* graines extrait à l'acétate d'éthyle	4,7^{f}
TVG E MeOH : *Tephrosia vogeli* graines extrait au méthanol	4,0^{fg}
AIF E Hex : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'hexane	13,3^{d}
AIF E AcOEt : *Azadirachta indica* feuilles extrait à l'acétate d'éthyle	9,7^{e}
AIF E MeOH : *Azadirachta indica* feuilles extrait au méthanol	0,0^{h}
AIFruit E Hex : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'hexane	40,7^{a}
AIFruit E AcOEt : *Azadirachta indica* fruit extrait à l'acétate d'éthyle	5,3^{f}
AIFruit E MeOH : *Azadirachta indica* fruit extrait au méthanol	5,7^{f}
p-value	0,00

Les valeurs avec la même lettre en exposant ont statistiquement les mêmes effets toxiques. C'est ainsi que, par exemple les extraits (AIFruit E AcOEt et AIFruit E MeOH) ont statistiquement les mêmes effets toxiques.

III.1.2. Comparaison des doses en fonction de leurs effets toxiques.

Pour identifier la dose la plus efficace de l'extrait le plus toxique (AIFruit E Hex), une étude comparative des pourcentages des moyennes de mortalité pour différentes doses a été effectuée et les résultats pour 10 jours d'observation sont présentés dans le tableau VII.

Tableau VII: Résultats des moyennes de mortalités avec l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* pour différentes doses

Doses (mg/ml)	Moyennes de mortalité (%)
125	100,0±0,0
80	83,3±3,3
62	60,0±5,3
40	43,3±8,9
31	30,0±0,0
18	23,3±3,3

La courbe de la figure 18 montre l'évolution des pourcentages de mortalité des adultes de *Stophilus zeamais* en fonction des différentes doses pour l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* (AIFruit E Hex) pendant 10 jours d'observation.

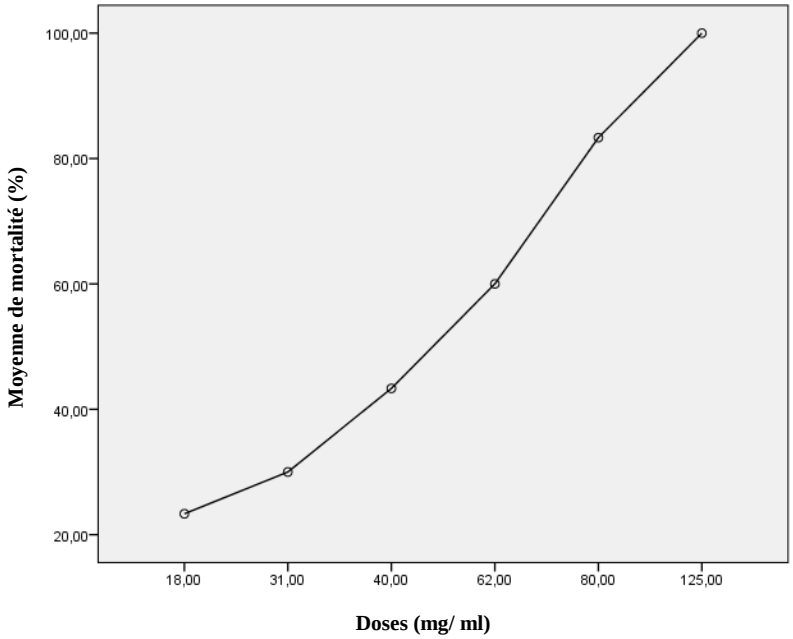


Figure 18: Courbe de mortalité des charançons en fonction des différentes doses

On constate que la mortalité est de 100% pour cet extrait, à une dose de 125mg/ml. Par contre, dans les boîtes de pétri témoins, les charançons sont restés en bonne santé en continuant à se nourrir des graines de maïs à leur disposition.

L'analyse de la variance montre que la valeur de p-value est inférieure à 0,05. Cela suggère que l'effet toxique est statistiquement différent pour les doses testées. Un test de Duncan a été effectué et les résultats sont présentés dans le tableau VIII

Tableau VIII: Résultats des moyennes de mortalités avec l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* en fonction des doses au test de Duncan

Doses (mg/ml)	% de mortalité
18,00	$23,3^{e}$
31,00	$30,0^{ed}$
40,00	$43,3^{d}$
62,00	$60,0^{c}$
80,00	$83,3^{b}$
125,00	$100,0^{a}$
p-value	0,00

Les valeurs avec la même lettre en exposant ont statistiquement les mêmes effets toxiques. C'est ainsi que, par exemple les doses (18,00 et 31,00 mg/ml ou 31,00 et 40,00 mg/ml) ont statistiquement les mêmes effets toxiques.

C. Détermination de la dose létale 50 (DL_{50})

La détermination de la DL_{50} a été effectuée en utilisant la méthode arithmétique de Karber et Behrens (1935) exprimée comme suit : $\mathbf{DL_{50} = DL_{100} - \Sigma\ (a*b)/n}$. Avec a : différence entre deux doses successives, b : moitié de la somme des charançons morts entre deux doses successives et n : effectif total des charançons dans la boîte de pétri. La DL_{50} est calculée à base des résultats du tableau IX.

Tableau IX: Données des paramètres de calcul de la DL_{50} pour n=10

	Doses (mg/ml)	Nombre de charançons morts	% de mortalité	a	b	(a*b)
	18	2,33	23,3	13	2,7	35,1
	31	3,00	30,0	9	3,7	33,3
	40	4,33	43,3	22	5,2	114,4
	62	6,00	60,0	18	7,2	129,6
	80	8,33	83,3	45	9,2	414
	125	10	100			
Σ (a*b)						726,4

$\mathbf{DL_{50} = DL_{100} - \Sigma\ (a*b)/n}$

$=1\text{mg/ml} * (125 - 726,4/10) = 52,36\ \text{mg/ml}$

III.2. Discussion des résultats

L'étude phytochimique réalisée sur les 12 extraits analysés dans la présente étude, montre la présence des saponosides, terpènes, flavonoïdes, tanins, coumarines et alcaloïdes. Des études antérieures d'Annick Tahiri & al.,2011 ont montré la présence des alcaloïdes et des flavonoïdes dans l'extrait de feuilles d'*Azadirachta indica*. Ces mêmes études ont également montré la présence des flavonoïdes et des terpènes dans l'extrait à l'hexane des graines d'*Azadirachta indica.*

L'effet toxique des extraits est fonction de la dose. Les doses les plus petites, à partir de 40; 31; 18 mg/ml ont montré une faible activité toxique pendant les 9 jours d'observation. Ces résultats corroborent avec les résultats trouvés par Johnson & al., (2006), où la mortalité s'est élevée avec l'élévation des doses.

Dix jours suffisent pour que 100% des individus soumis au test à une dose de 125 mg/ml soit morts avec l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica*. Cette mortalité élevée causée par cet extrait pourrait être due à l'Azadirone , composé de la famille des limonoïdes isolé en 1967 et en 1971 à partir des huiles des fruits de neem par les chercheurs Lavie & Jain et Lavie & Levy.

Des propriétés insecticides, répulsives, anti-appétantes, nématicides, anti-bactériennes, fongicides et vermifuges sont attribuées au terpénoïde azadirachtine (Wardell, 1987 ; Fortin & al., 2000).

L'azadirachtine, le composé le plus actif du neem, serait anti-appétant et paralyserait les mouvements péristaltiques de l'intestin de l'insecte (Fortin & al., 2000). Les principes amers de type terpénoïdes, comme les quassinoïdes et les diterpènes chez le neem, induisent un effet anti-appétant sur les chémorécepteurs des insectes (Odjo & al., 1981).

De plus, la poudre des graines de neem cause 100% de mortalité de *S. oryzae* après dix jours de traitement (Mahanthi, 2002). **L**es flavonoïdes provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (Regnault-Roger & al., 2004). Les flavonoïdes en repoussant certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes (Macheix & al., 2005).

Les extraits à l'hexane agissent plus que les autres extraits à l'acétate d'éthyle et au méthanol. Ainsi, Les extraits obtenus à l'aide de solvants organiques volatils (éther de pétrole, hexane, éther éthylique, alcool éthylique, acétone, dioxyde de carbone, chlorure de méthylène, benzène, toluène,…) sont plus complets car ils contiennent non seulement les composés volatils tels que les terpènes, mais aussi d'autres constituants (triglycérides, cires, colorants de nature lipidique, et composés sapides) (Derraddji, 2013).

Les extraits au méthanol présentent une faible ou aucune activité vis-à-vis de l'insecte traité, pour toutes les doses et pendant les 9 jours d'observation. Ainsi les espèces de Tephrosia doivent leur toxicité aux alcaloïdes voisins de la roténone (Vettius, 2015). Les extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles de *Tephrosia vogeli* et des feuilles d'*Azadirachta indica* n'ont pas d'effet remarquable sur les charançons pour toutes les doses appliquées et pendant les 9 jours d'observation. Les charançons qui se trouvent dans les boites de pétri témoins (contrôle négatif) ont continué à se nourrir et aucune mortalité n'a été observé.

CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS

Les extraits totaux de deux espèces de plantes (*Tephrosia vogeli* et *Azadirachta indica*) ont montré une action toxique différente vis-à-vis des *Stophilus zeamais*. Pendant toute la période d'observation, certains des traitements effectués ont réduit la durée de vie du charançon sur des grains de maïs infestés. Les différents essais ont révélé que les extraits totaux à l'hexane pour les deux plantes ont une action toxique plus élevée par rapport aux extraits à l'acétate d'éthyle ou au méthanol. L'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* s'est montré le plus efficace de tous les autres extraits avec une mortalité de 100% après 10 jours d'observation à la dose de 125 mg/ml. La lutte, au moyen des extraits à l'hexane des plantes (*Tephrosia vogeli* et *Azadirachta indica*) limiterait les dégâts causés par les charançons de maïs. L'utilisation de l'extrait à l'hexane des fruits d'*Azadirachta indica* dans la conservation des grains de maïs constituerait donc une solution alternative dans la résolution des problèmes liés à la protection post-récolte en Afrique en général, et au Burundi en particulier. Ces insecticides naturels seraient pour la population ne solution plus adaptée, car ces biopesticides sont moins toxiques pour l'homme, les animaux et aussi pour l'environnement. C'est ainsi que nous proposons :

1° Au gouvernement

- De financer les chercheurs dans le but de produire les extraits des plantes insecticides, en quantité suffisante et conditionnée,
- de multiplier ces plantes en vue de les exploiter dans la lutte contre les ravageurs,
- de sensibiliser la population à l'utilisation des biopesticides pour protéger l'environnement.

2° A l'Université

- de faire un jardin botanique pour favoriser les recherches,
- de financer les travaux de recherche allant dans le sens de la protection de l'environnement.

3° Aux chercheurs

- de recenser les autres plantes biopesticides locales et tester leurs effets toxiques,
- d'utiliser d'autres insectes sur ces plantes biopesticides étudiées.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Adam, S., Edorh, P. A., Totin, H., Koumolou, L., Amoussou, E., Aklikokou, K., & Boko, M. (2010). Pesticides et métaux lourds dans l'eau de boisson, les sols et les sédiments de la ceinture cotonnière de Gogounou, Kandi et Banikoara (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *4*(4).

2. Akono, P. N., Belong, P., Tchoumbougnang, F., Bakwo Fils, E.-M., & Fankem, H. (2012). Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'Ocimum canum Sims et d'Ocimum basilicum L. sur les adultes d'Anopheles funestus ss, vecteur du paludisme au Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, *59*, 4340–4348. http://www.m.elewa.org/JABS/2012/59/7.pdf%5Cnhttp://m.elewa.org/JABS/2012/59/7.pdf

3. Amroune, S. (2018). Phytothérapie et plantes médicinales. Mémoire de Master: Protection Des Ecosystèmes, *Université Des Frères Mentouri Constantine*.

4. André, B. & Thaddée,M. (2000). Le Neem contre les insectes et les maladies. *Centre de recherche et développement en horticulture, 430 Boul. Gouin, Saint-Jean-sur-Richelieu, Québec J3B 3E6.*

5. Anjarwalla, P., Belmain, S., Sola, P., Jamnadass, R., & Stevenson, P. (2016). Optimisation des plantes pesticides : technologie, Innovation, sensibilisation & réseaux. In *World Agroforestry Centre*.

6. Annick, T., Augustin, A. A., Félix A. A., & Nadine A.(2011). des extraits de Azadirachta. *Bois et forêts des tropiques*, *310*(4), 79–88.

7. Antoine, R., Bosser, J., & Ferguson, I. K. (1997). 69. Méliacées à 79. Connaracées. *The sugar industry research institute, mauritius*.

8. Amel, S. & Ahlem, D. (2020). Recherche d'AFB1 et de la Caféine dans le café dans la région de Constantine par chromatographie sur couche mince. *Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie.*

9. Audigié, C., & Zonszain, F. (1991). Biochimie structurale, *Universite mentouri - constantine, Doin-éditeurs – Berlin.*

10. Avilov, S. A., Kalinovsky, A. I., Kalinin, V. I., Stonik, V. A., Riguera, R., & Jiménez, C. (1997). Koreoside A, a new nonholostane triterpene glycoside from the sea cucumber Cucumaria koraiensis. *Journal of Natural Products*, *60*(8), 808–810.

11. Beier, R. C., & Oertli, E. H. (1983). Psoralen and other linear furocoumarins as phytoalexins in celery. *Phytochemistry*, *22*(11), 2595–2597.

12. Bekr, A., Tlemcen, B., & Ii, P. (2015). *Matériel et méthodes Matériel et méthodes*. 16–21.

13. Belmain, S. R., Amoah, B. A., Nyirenda, S. P., Kamanula, J. F., & Stevenson, P. C. (2012). Highly variable insect control efficacy of Tephrosia vogelii chemotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(40), 10055–10063.

14.Benabdallah, H. (2015). Techniques d'extraction, de purification et de conservation. *Université Ferhat Abbas, Setif*, 14–17.

15. Bendia, S. (2020). *Polycopié du Cours :* Techniques de séparation Partie du module " Chimie Analytique ". *Université Frère Mentouri Constantine 1*.

16. Berenbaum, M. R., Nitao, J. K., & Zangerl, A. R. (1991). Adaptive significance of furanocoumarin diversity inPastinaca sativa (Apiaceae). *Journal of Chemical Ecology*, *17*(1), 207–215.

17. Boeke, S. J., Baumgart, I. R., Van Loon, J. J. A., Van Huis, A., Dicke, M., & Kossou, D. K. (2004). Toxicity and repellence of African plants traditionally used for the protection of stored cowpea against Callosobruchus maculatus. *Journal of Stored Products Research*, *40*(4), 423–438.

18. Bruneton, J. (2009). Menthe in: pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. *Tec & Doc. 4ème Édition. Paris*, 631–638.

19. Célia Krieger. (2018). Identification moléculaire et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle sous-famille de cytochromes P450, CYP71AZ, impliquée dans la synthèse de furanocoumarines et de coumarines chez Pastinaca sativa. *UMR 1121 Université de Lorraine-INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, 2 avenue Forêt de Haye*, TSA 40602, 54518 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex.

20. Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., & Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of

saponins: A review. *Food Research International*, *59*, 16–40.

21. CORAF/Banque Mondiale. (2007). Plan de gestion des pestes et des pesticides. 81. *Ministere de l'agriculture et de l'elevage, programme de croissance agricole integree dans les grands lacs projet regional* (BURUNDI) SFG3010.

22. Cruz, J.-F., Joseph Hounhouigan, D., Fleurat-Lessard, F., & Troude, F. (2016). La conservation des grains après récolte. https://doi.org/10.35690/978-2-7592-2437-1.

23. Dardalhon, M., de Massy, B., Nicolas, A., & Averbeck, D. (1998). Mitotic recombination and localized DNA double-strand breaks are induced after 8-methoxypsoralen and UVA irradiation in Saccharomyces cerevisiae. *Current Genetics*, *34*(1), 30–42.

24. de Castro, E. M., Pinto, J., Bertolucci, S. K. V, Malta, M. R., Cardoso, M. das G., & de MSilva, F. A. (2007). Coumarin contents in young Mikania glomerata plants (Guaco) under different radiation levels and photoperiod. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, *25*(3), 387.

25. de Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., Udo, A. T., & others. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, *1112*(1–2), 31–63.

26. Diedhiou, D. (2017). Fractionnement analytique de la graine de neem (Azadirachta indica A. Juss.) et de la graine de dattier du désert (Balanites aegyptiaca L.) - Valorisation des constituants de la graine de neem par bioraffinage. *Institut National Polytechnique de Toulouse*, 11–25.

27. FAO. (2012). *La République du Burundi: Etat des Ressources Génétiques Forestières dans le Monde*. 171. Mi*nistere de l'eau, de l'environnement, de l'amenagement du territoire et de l'urbanisme*-Département des forets *(Burundi).*

28. FAO, UKaid, & République du Burundi. (2018). Evaluation des récoltes , des approvisionnements alimentaires pour la saison 2018A et de la mise en place de la saison 2018B (*Burundi*).

29. Fortin, D., LÔ, M., & Maynart, G. (2000). Plantes médicinales du Sahel, Enda-Editions. *Dakar: ENDA Tiers Monde*.

30. Gadzirayi, C., Mutandwa, E., Mwale, M., & Chindundu, T. (2009). Utilization of Tephrosia vogelii in controlling ticks in dairy cows by small-scale commercial farmers in Zimbabwe. *African Journal of Biotechnology*, *8*(17).

31. Gbénonchi, M. (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures. *Institut National Polytechnique de Toulouse*, 207.

32. Guo, F., Lei, J., Sun, Y., Chi, Y. H., Ge, F., Patil, B. S., Koiwa, H., Zeng, R., & Zhu-Salzman, K. (2012). Antagonistic regulation, yet synergistic defense: effect of bergapten and protease inhibitor on development of cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus*, *PloS One 7, e41877*.

33. Hadaček, F., Müller, C., Werner, A., Greger, H., & Proksch, P. (1994). Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives fromPeucedanum (Apiaceae: Apioideae). *Journal of Chemical Ecology*,*20*(8),2035–2054.

34. J., S. N., VK, B., A., K. B., D., S. B., P., S., & N., S. (2014). Quantification of reserpine content and antibacterial activity of Rauvolfia serpentina (L.) Benth. ex Kurz. *African Journal of Microbiology Research*, *8*(2),162–166. https://doi.org/10.5897/ajmr2013.5847.

35. Jazy, M. A., & Rokia Sanogo, M. H. (2018). Chromatographie Sur Couche Mince Et Activité Antiradicalaire D'extraits De Pupalia Lappacea (L.) Juss. Amaranthaceae.*European Scientific Journal, ESJ*, *14*(3), 140. https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p140

36. Jeroen, B., Koomen, I., van Lidth de Jeude, J., & Oudejans, J. (2004). Les pesticides: composition, utilisation et risques. In *Agrodok* (Issue 48).

37. Johnson, F., Seri-Kouassi, B., Aboua, L. R., & Foua-Bi, K. (2006). Utilisation de poudres et d'extraits totaux issus de plantes locales des genres Ocimum sp. et Mentha sp. comme biopesticides dans la lutte contre Callosobruchus maculatus FAB. *Agronomie Africaine*, *18*(3), 221–233.

38. Krief, S., & M, S. K. (2004). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pantroglodytes schweinfurthii*) *en Ouganda* .

39. Lucie, A.-T., Solange Patricia, W., Ephrem, K.-K., Salomon, N., Serge Florent, B.-O., Ponel-Béranger, L. D., Silla, S., Olga-Diane, Y., Jean-Laurent, S.-M., SECK, D., & Mbacké, S. (2016). The Effective Insecticidal Activity of the two Extracts Ethyl Acetate and Hexan of Trichilia gilgiana against Sitophilus zeamaïs. *International Journal of Biology*, *8*(2), 23. https://doi.org/10.5539/ijb.v8n2p23.

40. Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques.*

41. Mahanthi, V. (2002). Ecology and management of stored grain pests of maize. *Acharya NG Ranga Agricultural University; Hyderabad.*

42. Mamadou Faye. (2010). nouveau procede de fractionnement de la graine de neem (azadirachta indica a.jussi) senegalais : production d'un bio-pesticide d'huile et de tourteau komla sanda, *Professeur - Ecole Supérieure d'Agronomie - Universi*, 267.

43. Martin, P., Sarter, S., Huchard, M., Tagne, A., Marnotte, P., Silvie, P., Martin, P., Sarter, S., Huchard, M., Tagne, A., & Ilboudo, Z. (2018). Connaître les plantes utiles pour l ' Agriculture Biologique d ' après la littérature : Construction et exploration d ' une base de connaissances pour la santé végétale et animale. *HAL Id : hal-01956380*. 137–142.

44. Mostafa, M. (2008). The metabolism of terprenoides in caprins. *HAL Id: pastel-00004406https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00004406*, 207.

45. Multigner, L. (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques et Santé*, *4*(3), 187–194.

46. Nasri, I. (2017). Etude phytochimique et activités biologiques de Diplotaxis sp. : application à l ' étude des cellules souches coliques pathologiques Imen. *HAL Id : tel-01578064*.

47. Ndomo, A., Tapondjou, A., Tendonkeng, F., & Tchouanguep, F. (2009). Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de Callistemon viminalis (Myrtaceae) contre les adultes d'Aconthoscelides obtectus (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*, *27*(3), 137–143.

48. Neal, J. J., & Wu, D. (1994). Inhibition of insect cytochromes P450 by furanocoumarins. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *50*(1), 43–50.

59. Nicolas, J.-P. (2009). Plantes médicinales du Nord de Madagascar Ethnobotanique antakarana. *Jardins Du Monde*, 296.

50. Odjo, A., & others. (1981). Etude de l'effet insecticide de deux quassinoides sur des larves de Locusta migratoria migratorioides R et F (Orthoptera, Acrididae). *C. R. Acad. Sc. Paris, t. 293,* Série III - 241.

51. P.E.S. (2021). Rapport National sur la situation des Pesticides Hautement Dangéreux (PHD) *Burundi*. 55.

52. Pavela, R., & Vrchotová, N. (2013). Insecticidal effect of furanocoumarins from fruits of Angelica archangelica L. against larvae Spodoptera littoralis Boisd. *Industrial Crops and Products*, *43*, 33–39.

53. PND. (2018). Plan national de développement du Burundi *(PND Burundi).* 149.

54. Potel, A.-M. (2002). Les plantes médicinales au Sénégal. *Rapport, Commune de Nguékokh, La Petite Côte*, 13. http://webcache.googleusercontent.com/search: http://www.ethnopharmacologia.org/prelude2018/pdf/biblio-hp-11-potel.pdf

55. Rachid, A. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : enquête ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat. *Thèse En vue de l ' obtention du diplôme Doctorat en biologie Option : Biochimie*

56. Regnault-Roger, C., Ribodeau, M., Hamraoui, A., Bareau, I., Blanchard, P., Gil-Munoz, M.-I., & Barberan, F. T. (2004). Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on Acanthoscelides obtectus (Say). *Journal of Stored Products Research*, *40*(4), 395–408.

57. Rice, M. (1993). Development of neem research and industry in Australia. *Souvenir, World Neem Conference, Bangalore*, 8–24.

58. Sahli, R. (2018). Etude phytochimique de quelques plantes extrêmophiles tunisiennes et exploration de leurs activités biologiques. *HAL Id : tel-01858408*.

59. Saidi, I. (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae :

Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. *PhD Thesis*, 1–188.

60. Schmutterer, H., & Ascher, K. R. S. (1995). neem tree (Azadirachta indica A. Juss.) and other meliaceous plants. *VCH Publishers Inc., New York, NY (USA)*, ISBN 3-527-30054-6.

61. Steel, R. G., & Torrie, J. H. (1980). Analysis of variance III: factorial experiments. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. *New York: McGraw-Hill.*

62. Steffan, J. R. (1978). Description et biologie des insectes. Chapitre 1. *In* Scotti G. (coord.), Les insectes et les acariens des céréales stockées. ITCF/Afnor, *collection des normes et techniques*, p. 1-65.

63. Stevenson, P. C., Simmonds, M. S. J., Yule, M. A., Veitch, N. C., Kite, G. C., Irwin, D., & Legg, M. (2003). Insect antifeedant furanocoumarins from Tetradium daniellii. *Phytochemistry*, *63*(1), 41–46.

64. Stoll, G. (2002). Protection naturelle des végétaux en zones tropicales: vers une dynamique de l'information. *AGRECOL/CTA/Margraf Verlag*.

65. Taffo, W., & Baudoin, J. (2019). Composition floristique et phenologie dans les écosystemes de savanes à differentes altitudes sur les monts bambouto. *Université de Dschang Cameroun*, 5.

66. Tal, B., & Robeson, D. J. (1985). The induction, by fungal inoculation, of ayapin and scopoletin biosynthesis in Helianthus annuus. *Phytochemistry*, *25*(1), 77–79.

67. Tal, B., & Robeson, D. J. (1986). The metabolism of sunflower phytoalexins ayapin and scopoletin: plant-fungus interactions. *Plant Physiology*, *82*(1), 167–172.

68. Vettius Valens d'Antioche. (2015). Les Planètes. *Anthologies - Livre I*, *1957*, 26–51. https://doi.org/10.1163/9789004301412_004

69. Wardell, D. A. (1987). Control of termites in nurseries and young plantations in Africa: established practices and alternative courses of action. *The Commonwealth Forestry Review*, 77–89.

70. Wojciechowski, M. F., Lavin, M., & Sanderson, M. J. (2004). A phylogeny of legumes

(Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*, *91*(11), 1846–1862.

71. www.inrs.fr/fichetox. Chimique, F. (2018). Nicotine. 1–10.

72. Yoshiki, Y., Kudou, S., & Okubo, K. (1998). Relationship between chemical structures and biological activities of triterpenoid saponins from soybean. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *62*(12), 2291–2299.