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

Tests d’activité des extraits de feuilles et de graines de tephrosiavogelii (Ntiruhunwa) et ricinuscommunis (Ikinobonobo) sur la chenille légionnaire, le puceron noir, le bruche de haricot et le charançon du mais

Ngendakuriyo, Alexis

2023-08
UB, Faculté des Sciences
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/387

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

UNIVERSITE DU BURUNDI

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

TESTS D'ACTIVITES DES EXTRAITS DE FEUILLES ET DE GRAINES DE *TEPHROSIA VOGELII (*NTIRUHUNWA*) ET RICINUS COMMUNIS (*IKINOBONOBO*)* SUR LA CHENILLE LEGIONNAIRE, LE PUCERON NOIR, LA BRUCHE DE HARICOT ET LE CHARANÇON DU MAIS

Par

NGENDAKURIYO Alexis

MEMOIRE

Présenté en vue d'obtenir

Le Diplôme de Master en Sciences Chimiques

Orientation : Contrôle et Analyses chimiques

Sous la direction de:

Professeur Libérata NIZIGIYIMANA

Bujumbura, Août 2023

MEMBRES DU JURY

Docteur Manassé NIHORIMBERE (Président du Jury)

Professeur Aloys KATIHABWA (Secrétaire du Jury)

Professeur Libérata NIZIGIYIMANA (Directeur de mémoire)

Professeur Déogratias NDUWARUGIRA (Membre)

DEDICACE

A mon regretté père,

A ma mère,

A mes frères et sœurs,

A Madame et mes enfants

A mes cousins et cousines,

A vous tous qui me sont chers,

Je dédie ce mémoire

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, j'ai l'honneur d'exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements sont, en premier lieu, adressés au Professeur Libérata NIZIGIYIMANA, promoteur et Directeur de ce travail qui, par sa grande expérience, son courage, sa rigueur scientifique et sa méthodologie de travail, mais aussi, par ses précieux conseils a dirigé ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes sentiments de gratitude sont également exprimés à l'endroit des Prof. Aloys KATIHABWA, Dr. Jérémie NGEZAHAYO et Dr. Manassé NIHORIMBERE pour la bonne collaboration qui les a caractérisés durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions Professeur Déogratias NDUWARUGIRA pour son humilité et sa rigueur scientifique, pour nous avoir appris la méthodologie de récolte des insectes étudiés et de leur élevage.

Nous adressons aussi nos remerciements à tous les enseignants de la Faculté des Sciences, en particulier ceux du département de chimie pour la formation tant intellectuelle et humaine qu'ils nous ont donnée. Nous remercions aussi l`INADES-formation qui nous a donné un guide lors d'une collecte des échantillons et le projet « Biopesticide » pour son soutien matériel et financier lors de la réalisation de ce travail de recherche. Nos remerciements vont également à l'endroit de tous nos amis, et à tous ceux que nous avons côtoyés à l'Université du Burundi pendant la période de formation pour l'agréement et leurs encouragements, qu'ils trouvent dans ce travail une source de satisfaction.

Enfin, nous remercions notre famille qui a tout fait pour que notre rêve devienne réalité.

NGENDAKURIYO Alexis

RESUME

L'usage des biopesticides est plus recommandé que les pesticides de synthèses dans des programmes de recherche vu ses intérêts économiques, sanitaires et agroenvironnementaux. L'étude contribue à l'amélioration et à la valorisation de l'usage des plantes pesticides pour un environnement sain. Elle vise à éclairer les agriculteurs sur la meilleure utilisation des plantes insecticide afin de mieux protéger leurs cultures, leurs récoltes, leur santé et l'environnement. C'est dans ce cadre que des tests d'activité des extraits de feuilles et de graines de *T. vogelii* et *R. communis* sur la chenille légionnaire, le puceron noir, la bruches de haricot et le charançon de maïs ont été réalisés. Les principes actifs varient d`un extrait à un autre et d`une plante à une autre. Les doses de 250 g/l, 125 g/l des extraits aqueux et de 4mg/ml des extraits organiques ont donné des taux de mortalité plus élevés. Les moyennes de 15±0,15% et 16±0,14% du taux de mortalité du puceron noir pour les extraits aqueux de RCFb et de RCFr respectivement, ne montrent pas de différence (P-value = 0,7). Les extraits aqueux de TVF sont efficaces que les extraits aqueux de RCF sur les chenille légionnaire. Les doses de 250 g/l et 125 g/l des extraits de TVF ont tué respectivement 13,4% de la chenille légionnaire et 13% de puceron noir par jour. Pour une dose de 250g/l, le test de student montre qu'il n'y a pas de différence (P-value = 1) significative des taux de mortalité de la chenille légionnaire pour les extraits de RCFb et RCFr de 11,2±0,15% et de 11,2±0,11%, respectivement. La DL50 pour le puceron noir considérant les extraits aqueux de TVF est de 114,3g/l. Pour les extraits organiques, les extraits au n-hexane de 4mg/ml ont montré une efficacité élevée sur la bruche de haricot et les le charançon de maïs. L'analyse de la variance (ANOVA) a montré que les taux de mortalité moyens de la bruche de haricot et le charançon du maïs diffèrent selon les extraits et la dose. Les extraits de RCFbHex (9,4±0,12%) et RCFrHex (9,3±0,13%) à 4mg/ml avec p-value = 0,9 et TVGHex- (10,04±0,16%) et TVFHex- (10,03±0,14%) à 4mg/ml avec p-value =1, présentent des taux moyens de mortalité plus élevés pour la bruche de haricot. Par contre, l'extrait de TVGHex- a provoqué un taux moyen de mortalité plus élevé pour le charançon de maïs (9,97±0,16%). La DL50 pour la bruche de haricot sur les extraits au n-hexane de RCFb et RCFr est de 2,16mg/ml et 1,83mg/ml respectivement. Mais, la DL50 de 1,5mg/ml pour les extraits au n-hexane RCGb est nécessaire. Pour les extraits au n-hexane de TVF et TVG sur la bruche de haricot, les DL50 respectives sont de 1mg/ml et 1,33mg/ml et pour les extraits à l`acétate d'éthyle TVG sur la même espèce d`insecte, la DL50 est de 1,75mg/ml. Pour le charançon de maïs, la DL50 des extraits organiques au n-hexane TVG est de 1,66 mg/ml.

Mots clés: Extrait, Plantes pesticides, Macération, Insectes ravageurs.

ABSTRACT

The use of biopesticides is favored over synthetic pesticides in research programs due to their economic, hearthffull and agro-environmental benefits. Within this framework, we analysed the activity of leaf and seed extracts of *T. vogelii* and *R. communis* from Giheta commune on armyworms, black aphids, bean bruchids and corn weevils. In this context, we tested the activity of *T. vogelii* and *R. communis* leaf and seed extracts on armyworms, black aphids, bean bruchids and corn weevils. It was noted that active substances content were changing depending on the type of extract and to the type of plant. The following concentrations of 250 g/l, 125 g/l from aqueous extracts and 4mg/ml from organic extracts resulted in higher mortality rates. An average of 15±0.15% and 16±0.14% of black aphid mortality was respectively recorded for RCFb and RCFr aqueous extracts. These averages showed no valuable difference (P-value = 0.7) according to student's test.

Aqueous TVF extracts were more effective than aqueous RCF extracts on armyworms, and the concentrations of 250 and 125 g/l of TVF extracts killed respectively 13.4% of armyworms and 13% of black aphids a day. For the concentration of 250g/l, the student's test showed that there was no significant difference (P-value = 1) in armyworms mortality rates for RCFb and RCFr extracts. The LD_{50} for black aphids for the aqueous TVF extracts was calculated to 114.3g/l. For all toxicity tests carried out with organic extracts, the 4mg/ml n-hexane extracts showed high efficiency on bean bruchids and corn weevils. Analysis of variance (ANOVA) showed that the average rates of mortality for bean bruchids and corn weevils were changing according to extracts and its concentration. For the RCFbHex and RCFrHex extracts at 4mg/ml the average rates of mortality for bean bruchids were 9.4±0.12% and 9.3±0.13% respectively with a p-value = 0.9 and at the same concentration for the TVGHex- and TVFHex-extracts, the average rates of mortality for bean bruchids were10.04±0.16% 10.03±0.14% with p-value =1. The above four extracts showed higher average mortality rates for bean bruchids. In addition, TVGHex- extract induced the higher average rate of mortality (9.97±0.16%) for maize weevils. The LD_{50} for bean bruchids for both n-hexane extracts of RCFb and RCFr were respectively 2.16mg/ml and 1.83mg/ml. However, for RCGb n-hexane extracts, the LD_{50} of 1.5mg/ml was required to decimate 50% of bean bruchids. For the application of TVF and TVG n-hexane extracts on bean bruchids, their LD_{50} were 1mg/ml and 1.33mg/ml respectively and the LD_{50} for the TVG ethyl acetate extracts applied on the same insect, was 1.75mg/ml. While for maize weevils, the LD_{50} of n-hexane organics extracts was calculated to 1.66mg/ml.

Key words: Extract, pesticidal plants, maceration, insect pests

TABLE DES MATIERES

MEMBRES DU JURY ..... **i**

DEDICACE ..... **ii**

REMERCIEMENTS ..... **iii**

RESUME ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

TABLE DES MATIERES ..... **vi**

SIGLES ET ABREVIATIONS ..... **ix**

LISTE DES FIGURES ..... **x**

LISTE DES TABLEAUX ..... **xiii**

AVANT-PROPOS ..... **xiv**

CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE **1**

CHAP II : GENERALITES SUR *T. VOGELII* ET *R. COMMUNIS*, PRINCIPES ACTIFS ET INSECTES ETUDIES **4**

II.1. *T. vogelii* 4

II.1.1. Position systématique et description botanique de *T. vogelii* 4

II. 1.2. Propriétés toxiques de *T. vogelii* 5

II.2. *R. Communis* 5

II. 2.1. Classification systématique et description botanique de *R. communis* 5

II. 2.2. Importance médicinale 6

II. 2.3. Propriétés toxiques de *R. Communis* 6

II.3. Les métabolites secondaires et quelques techniques de séparation 6

II.3.1. Description de quelques métabolites secondaires majeurs 7

II. 3. 2. Techniques d'extraction des principes actifs 9

II. 4. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes 9

II. 4. 1. Les insectes nuisibles au maïs 9

II. 4.1.1. La chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*) 9

II. 4.1.2. Le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*) 10

II. 4. 2. Les insectes infecteurs au haricot 11

II. 4. 2.1. Le puceron noir ou Aphis fabae 11

II. 4. 2.2. La bruche du haricot (Acanthoscelides obtectus) 12

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES 13

III.1. Matériel 13

III.1.1. Zone de collecte des échantillons végétaux 13

III.1.2. Collecte du matériel végétal et extraction des principes actifs 14

III. 2. Méthode de préparation des extraits aqueux et identifications des principes actifs présents 15

III.2.1. Extraction des principes actifs des feuilles fraîches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges 15

III. 2. 2. Screening phytochimique des extraits aqueux des feuilles des deux plantes 15

III. 3. Méthodes de préparation des extraits organiques 16

III. 3. 1. Séchage des échantillons 16

III. 3. 2. Préparation des poudres 17

III. 3. 3. Extraction des principes actifs dans les poudres des feuilles et des graines 17

III. 3. 4. Screening phytochimique des extraits organiques 18

III. 4. Matériel animal (ou insectes ravageurs étudiés) et traitement 19

III. 4. 1. Méthode d'élevage et de traitement de bruche de haricot (*Acanthoscelides obtectus*) et le charançon du maïs (*Stophilus Zea maïs*) 19

III. 4. 2. Méthode d'élevage et de traitement de puceron noir 20

III. 4. 3. Méthode d'élevage et de traitement de la chenille légionnaire 21

III. 5. Traitement des données 22

CHAPITRE IV. PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS 23

IV. 1. PRESENTATION DES RESULTATS 23

IV. 1. 1. Screening phytochimique des extraits aqueux de *T. vogelii et R. communis* 23

IV. 1.2. Screening phytochimique des extraits organiques de *T. vogelii et R. communis* 23

IV. 1.3. Test d'activité des extraits aqueux des feuilles de *T. vogelii* et *R. communis* 25

IV. 1.3.1. Test d'activité de ces extraits aqueux sur le puceron noir 25

IV.1. 3.2. Comparaison des taux de mortalité moyens de puceron noir en fonction de l'extrait aqueux et de la dose 25

IV.1.3.3. Taux d'activité des extraits aqueux des feuilles *T. vogelii* et *R. communis* sur la chenille légionnaire **26**

IV.1.3.4. Comparaison des taux journaliers de mortalité moyens de la chenille légionnaire en fonction de l'extrait et de la dose 27

IV.1.3.5. Détermination de la DL_{50} des extraits aqueux de *T. vogelii* sur le puceron noir 28

IV.1. 4. Résultats d'extraction par solvants des principes actifs des feuilles et graines de *T. vogelii et R. communis* 29

IV. 1.4.1. Analyse comparative de l'efficacité des extraits organiques des feuilles rouges et blanches de *R. communis* sur les le charançon du maïs et la bruche de haricot..... 30

IV. 1. 4.2. Analyse comparative de l' efficacité des extraits organiques des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches sur le charançon des maïs et la bruche de haricot 34

IV. 1.4.3. Analyse comparative de l'éfficacité des extraits de feuilles et graines de *T. vogelii* sur le charançon des maïs et la bruche de haricot 38

IV. 1. 4. 4. Analyse comparative de l'efficacité des extraits des graines de *R. communis* à feuilles blanches et de *T. vogelii* sur le charançon du maïs et la bruche de haricot..... 43

IV. 1.5. Comparaison des taux de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs en fonction des extraits des feuilles et des graines de *R. communis* et *T. vogelii* 47

IV.1.6. Comparaison des taux de mortalité moyens de bruche de haricot et de charançonsle charançon du maïs en fonction des extraits..... 48

IV. 1. 7. Détermination des DL_{50} 51

IV.1.7.1. DL50 des extraits au n-hexane de *R. communis* sur la bruche de haricot..... 51

IV.1.7.2. DL_{50} des extraits au n-hexane, à l'acétate d'éthyle de feuilles et des graines de T. vogelii sur la bruche de haricot 52

IV.1.7.3. DL_{50} des extraits au n-hexane des graines de *T. vogelii* sur le charançon de maïs.. 53

IV.2. Discussion des résultats 54

Conclusion et perspectives..... 57

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE 58

ANNEXES..... 64

SIGLES ET ABREVIATIONS

BBN : Bureau Burundais de Normalisation et de contrôle de la qualité

Ex-CRUPHAMET : Ex-Centre de Recherche Universitaire en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle

FAO : Food and Agriculture Organisation

GPS: Geoposition System (Système de Positionnement Géographique)

INADS formation: Institut Africain pour le Développement Economique et Social

MINEAGRIE: Ministère de l'Environnement, de l'Agriculture et de l'Elevage

QGIS: Quantum Geographic Information System

RCFbAcét- : Extrait à acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCFbMéth- : Extrait à méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCFbDichloro-: Extrait à dichlorométhane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCFbHex- : Extrait des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches extrait avec n-hexane

RCFrAcét- : Extrait à acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges

RCFrMéth- : Extrait à méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges

RCFrDichloro- : Extrait à dichlorométhane des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges

RCFrHex- : Extrait au n-hexane des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges

RCGbAcét- : Extrait à acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCGbHex- : Extrait au n-hexane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCGbDichloro- : Extrait à dichlorométhane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

RCGbMéth- : Extrait à méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

TVFAcét- : Extrait des feuilles de *T. vogelii* extrait avec l'acétate d'éthyle

TVFAcét- : Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec l'acétate d'éthyle

TVFDichlo- : Extrait des feuilles de *T. vogelii* extrait avec dichlorométhane

TVFDichlo- : Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec dichlorométhane

TVFHex- : Extrait au n-hexane des feuilles de *T. vogelii* extrait par n-hexane

TVFMéth- : Extrait des feuilles de *T. vogelii* extrait avec méthanol

TVGAcét-: Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec l'acétate d'éthyle

TVGHex- : Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec n-hexane

TVGHex-: Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec l'hexane

TVGMéth-: Extrait des graines de *T. vogelii* extrait avec méthanol

LISTE DES FIGURES

Figure 2. 1. Photo de *Tephrosia vogelii* (Prise par NGENDAKURIYO Alexis, 2023)..... 4
Figure 2.2. Photos de *R. communis* à feuilles rouges (a) et blanches (b)..... 5
Figure 2. 3 : Structures des trois alcaloïdes nicotine, réserpine et caféine (de gauche à droite) 7
Figure 2. 4. Quelques structures de flavonoïdes 8
Figure 2. 5. Structure d'un steroïde (cyclopentanophénanthrène hydrogéné) 8
Figure 2. 6. Traits de différenciation d'un papillon mâle et femelle 10
Figure 2. 7. Photo des grains du maïs infestés de charançon 11
Figure 3. 8. Localisation de la zone d'échantillonnage (Realisée par NGENDAKURIYO Alexis 2023)..... 13
Figure 3. 9. Récolte des feuilles de *T. vogelii* 14
Figure 3. 10. Diminution de la masse des échantillons de plantes en foction du temps de séchage 16
Figure 3. 11. Illustration du dispositif d'extraction des principes actifs 18
Figure 3. 12. Photos illustrant la multiplication de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) dans des graines de haricot et grains du maïs 19
Figure 3.13. Champs de haricots cultivé pour le traitement de puceron noir..... 20
Figure 3. 14. Larves de la chenille légionnaire déposées dans des boîtes transparentes munis de couverture trouée et bouchée de coton stérilisé..... 21
Figure 4. 15. Taux d'activité des extraits des feuilles fraiches à 250; 125 et 62,5 g/l de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur le puceron noir 25
Figure 4. 16. Taux de mortalité journalier de puceron noir en fonction des extraits et de la dose 26
Figure 4. 17. Variation du taux de mortalité en fonction du temps et des extraits à 250; 125 et 62.5g/l des feuilles fraiches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges 27
Figure 4. 18. Variation du taux de mortalité moyen de la chenille légionnaire en fonction de l'extrait et de la dose 28
Figure 4. 19. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane de *R. communis* à feuilles blanches et rouges 31
Figure 4. 20. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait de dichlorométhane de *R. communis* à feuilles blanches et rouges 32
Figure 4. 21. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par l'extrait à acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges..... 33

Figure 4. 22. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits au méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges 34

Figure 4. 23. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches... 35

Figure 4. 24. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à dichlorométhane des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches.... 36

Figure 4. 25. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à acétate d'éthyle des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches..... 37

Figure 4. 26. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à méthanol des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches respectivement..... 38

Figure 4. 27. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane des feuilles et des graines *T. vogelii* 39

Figure 4. 28. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à dichlorométhane des feuilles et des graines *T. vogelii* 40

Figure 4. 29. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles et les graines *T. vogelii* 41

Figure 4. 30. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait le méthanol des feuilles et les graines *T. vogelii* 42

Figure 4. 31. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et des le charançon du maïs (b) traités par les extraits au n-hexane des graines de *R. communis* et *T. vogelii* 43

Figure 4. 32. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits à dichlorométhane des graines de *R. communis* et *T. vogelii* 44

Figure 4. 33. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à l'acétate d'éthyle des graines de *R. communis* et *T. vogelii*..... 45

Figure 4. 34: Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits à méthanol des graines de *R. communis* et *T. vogelii* 46

Figure 4. 35. Variation des taux de mortalité de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) en fonction des extraits à 4mg/ml des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur 10 jours 47

Figure 4. 36. Variation des taux de mortalité de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) en fonction des extraits à 4 mg/ml des feuilles et graines de *T. vogelii* sur 10 jours..... 48

Figure 4. 37. Variation des taux de mortalités journaliers en fonction des extraits des feuilles et graines qui ont décimés 50% et plus de bruche de haricot..... 50

Figure 4. 38. Variation des taux de mortalité journalier en fonction des extraits des feuilles et graines ayant pu décimer 50% et plus de charançon du maïs 51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 4. 1. Résultats du screening phytochimique des extraits aqueux de *T. vogelii* et *R. communis*..... 23

Tableau 4. 2. Résultats du screening phytochimique pour les extraits organiques de *T. vogelii* et *R. communis* 24

Tableau 4.3. Résultats du test de student pour la comparaison des moyennes de mortalité journalier 49

Tableau 4. 4. Paramètres de calcul de la DL_{50} des extraits au n-hexane des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur la bruche de haricot..... 52

Tableau 4. 5. Paramètres de calcul de la DL_{50} des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle des feuilles et des graines de *T. vogelii* sur la bruche de haricot..... 53

Tableau 4. 6. Paramètres de calcul de la DL50 des extraits au n-hexane des graines de *T. vogelii* sur le charançon de maïs 53

AVANT-PROPOS

Le présent travail de mémoire rentre dans le cadre des travaux de recherche pour l'obtention du diplôme de Master en sciences chimiques, orientation : Contrôle et Analytiques Chimiques (CAC). Il porte sur l'évaluation de l'activité des extraits des feuilles et des graines de *T. vogelii* et de *R. communis* sur la chenille légionnaire, le puceron noir, la bruche de haricot et le charançon du maïs. Ce travail est en phase avec l'engagement de notre pays à augmenter et gérer la productivité agricole à travers les coopératives et les centres de conservation des produits agricoles comme solution de la sécurité alimentaire. En effet, l'un des facteurs clés de la sécurité alimentaire demeure une bonne production et une bonne conservation des récoltes. Cependant, les cultures et les récoltes se heurtent à des problèmes divers dont les insectes ravageurs. Pour faire face à ce fléau, les agriculteurs font recours souvent à des pesticides de synthèse qui sont source de problèmes environnementaux et sanitaires.

La lutte chimique expose inévitablement des organismes non-cibles surtout l'homme à des effets secondaires indésirables. Ainsi, des solutions alternatives pour pallier à ces problèmes sont nécessaires. L'utilisation des plantes pesticides, pour une agriculture biologique, est souvent d'actualité pour un environnement sain et la sauvegarde des écosystèmes.

Au Burundi, dans certaines régions, les agriculteurs ont déjà pris les devants dans l'utilisation des plantes pesticides telles que *T. vogelii* et *R. communis* pour la protection de leurs cultures et récoltes contre les insectes ravageurs.

Cependant, l'efficacité de ces plantes sur les ravageurs n'a pas encore été démontrée scientifiquement. De plus, les principes actifs extraits de ces plantes ainsi que la dose nécessaire pour chaque ravageur ne sont pas connus ou maitrisés. Il en résulte que leur utilisation ne satisfasse pas les attentes des agriculteurs. Ainsi, il est nécessaire qu'une étude scientifique et raisonnée fasse la lumière sur l'utilisation des plantes pesticides contre les insectes ravageurs de cultures et de récoltes.

Cette étude contribuerait à l'amélioration et/ou la valorisation de l'utilisation des plantes pesticides dans la lutte contre les ravageurs des cultures et des récoltes. Elle vise à éclairer les agriculteurs sur la meilleure méthode d'utilisation des plantes pesticides afin de mieux protéger leurs cultures et leurs récoltes ainsi que leur santé et l'environnement. Ainsi, le présent travail de recherche permettra de constituer une base de données qui servirait de référence aux études ultérieures sur d'autres plantes pesticides et éclairerait les pouvoirs politiques sur l'importance de la conservation de la biodiversité, surtout les plantes biopesticides.

CHAPITRE I. INTRODUCTION GENERALE

La production agricole est, généralement, saisonnière alors que la consommation s'étend sur toute l'année, d'où la nécessité de stocker les céréales (Mikolo et al., 2007) et autres récoltes comme les légumineuses. Les stocks ont pour but principal d'étaler la consommation des récoltes sur toute l'année (Belouaer et Selahdja, 2000). Mais, l'action des ravageurs peut anéantir, en quelques mois, des stocks destinés aux vivres et aux semences non préalablement traités pour leur protection. Selon Ndomo et al., (2009), les stocks sont souvent attaqués par les ravageurs, mais les dégâts causés par les insectes, sont plus importants. Selon Mossa (2016), les insectes ravageurs des stocks causent des pertes importantes en réduisant la qualité et la quantité des produits stockés. Ainsi, les producteurs font souvent recours aux pesticides de synthèse (Belouaer et Selahdja, 2000). Les pesticides de synthèse sont apparus sur le marché vers les années 1940 (Hayo et Van der Werf, 1997). En raison de leur efficacité, l'utilisation de pesticide de synthèse est plus pratiquée (Redlinger et al., (1988).

Cependant, cette méthode présente des inconvénients,sur la santé humaine et l'environnement, qui limitent son emploi (Kumar, 1991). Les premières accusations d'atteinte à la santé des gens et à l'environnement se firent entendre vingt ans plus tard après leur utilisation (Carson, 1962 in Hayo et Van der Werf 1997). Les dangers causés par ces produits ont conduit l'OMS à interdire l'usage de certains insecticides chimiques (Rihab et Amina, 2020). Face à cette situation, la recherche des méthodes alternatives notamment l'usage des substances végétales à effet insecticide constituerait une voie de solution pour pallier aux problèmes causés par les insectes ravageurs et les pesticides de synthèse. Depuis la fin des années 70, on s'efforce de réduire les intrants comme les engrais et les produits phytosanitaires issus de la chimie (Holland et al., 1994).

L'agriculture biologique exclut l'usage des pesticides de synthèse pour un environnement sain (Martin et al., 2018). La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui retient plus l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale. Ainsi, selon Guèye (2012); Khani et Rahdari (2012), les huiles essentielles des plantes sont, alternativement, à promouvoir contre les insectes ravageurs. L'agriculture biologique est actuellement la méthode favorisée vu ses intérêts économiques et agroenvironnementaux pour un équilibre bioécologique (Amari et al., 2014).

Au Burundi, l'agriculture constitue le pilier de l'économie nationale (Cochet, 2020) et elle est pratiquée par plus de 84% de la population totale. Ce secteur est caractérisé par une baisse de la production suite à différents aléas dont les ravageurs des cultures et récoltes. Pour résoudre ce problème, l'utilisation des pesticides de synthèse est jusque-là la méthode largement adoptée. Cependant, ces pesticides présentent des effets négatifs sur l'environnement et sur la santé humaine (Guèye, 2012). Alternativement, la pratique d'une agriculture biologique utilisant des plantes insecticides pour lutter contre les ravageurs des cultures et des récoltes est à favoriser. De plus, une telle pratique entre dans le cadre du développement durable et de la sauvegarde des écosystèmes. La mise en évidence des molécules bioactives des plantes responsables de l'action pesticide ainsi que de leur efficacité contre les insectes ravageurs viendra renforcer et améliorer les pratiques utilisées dans l'agriculture et la conservation des récoltes au Burundi (PND, 2018).

L'utilisation de certaines plantes à effet pesticide contre les ravageurs, dans certaines régions, constitue une méthode alternative utilisée par certains agriculteurs à faible revenu. Dans les hauts plateaux de l'Ouest-Cameroun, certaines plantes comme *Clausena anisata, Cupressus sempervirens* sont utilisées comme pesticides (Cameroon, 2000). Au Burundi, *Tithonia diversifolia, R. communis*, *Vitex doniana*, *Anthocleista schweinfurtii, T. vogelii* sont utilisés par certains agriculteurs contre les ravageurs. Mais, leur efficacité et la dose nécessaire ne sont pas encore démontrées scientifiquement. En outre, l'utilisation des plantes pesticides à grande échelle assurera à moyen terme la protection de la santé humaine et de l'environnement (PND, 2018).

L'étude de l'activité des extraits de feuilles et de graines de *T. vogelii* et *R. communis* sur la chenille légionnaire, le puceron noir, la bruche de haricot et le charançon du maïs contribuerait à l'amélioration et à la valorisation de l'usage des plantes pesticides pour un environnement sain. Elle vise à éclairer les agriculteurs sur la meilleure méthode d'utilisation des plantes à activité insecticide afin de mieux protéger leurs cultures et les récoltes ainsi que leur santé et l'environnement. Spécifiquement, il s'agit de :

(i) identifier par criblage phytochimique, la présence des principes actifs dans des extraits d'échantillons de *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges,

(ii) évaluer l'efficacité des principes actifs des extraits de différentes concentrations des feuilles fraiches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges en fonction du solvant organique sur les puceron noir et la chenille légionnaire,

(iii) évaluer l'efficacité des principes actifs des extraits des feuilles et graines sèches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges en fonction du solvant organique sur la bruche de haricot et le charançon du maïs,

(iv) déterminer la dose létale (DL_{50}) des extraits efficaces des feuilles fraiches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges ainsi que les doses létales des extraits efficaces des graines sèches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges contre le puceron noir, la chenille légionnaire, le charançon du maïs et la bruche de haricot.

Notre étude est basée sur quatre hypothèses: (i) les extraits *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges auraient des effets toxiques à la fois sur le puceron noir, la chenille légionnaire, la bruche de haricot et le charançon du maïs. (ii) Les extraits des feuilles et graines de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges à une même dose n'auraient pas les mêmes effets toxiques sur la chenille légionnaire et le puceron noir, la bruche de haricot et le charançon du maïs. (iii) Les principes actifs de *T. vogelii* et *R. communis* de feuilles blanches et rouges n'auraient pas les mêmes effets sur tous les insectes ravageurs des cultures du maïs et haricot ainsi que leurs récoltes, (iv) Les principes actifs de *R. communis* à feuilles blanches et rouges auraient différents effets négatifs sur la chenille légionnaire et le puceron noir, la bruche de haricot et le charançon du maïs.

CHAP II : GENERALITES SUR *T. VOGELII* ET *R. COMMUNIS*, PRINCIPES ACTIFS ET INSECTES ETUDIES

II.1. *T. vogelii*

II.1.1. Position systématique et description botanique de *T. vogelii*

T. vogelii est une espèce de la famille des Fabaceae comprenant environ 730 genres et 19400 espèces, embranchement des plantes vasculaires (Tracheoplyta), classe des Magnoliopsida, ordre des Fabales, (Wojciechowski et Henryk, 2004; Baudoin, 2019). C'est un petit arbre ou arbuste ramifié, boisé, à port souple, au feuillage dense, pouvant atteindre 4 m de haut.

L'inflorescence est une pseudo-grappe terminale ou axillaire ayant 8-26 cm de long. Les fleurs de 18 à 26 mm de long, parfumées, blanc-violet-bleu, pédicellées jusqu'à 23 mm de long. Les graines sont marrons foncées à noires, ellipsoïdes ou en forme de rein et mesurent jusqu'à 7 x 5 mm (Anjarwalla et al., 2016). Les tiges et branches portent des poils blancs ou bruns rouillés, longues et courtes alors que les feuilles sont disposées en spirale avec des nervures plus distinctes sur la surface inférieure (Orwa et al., 2009).

T. vogelii est une espèce de plante indigène d'Afrique tropicale. On le trouve dans les régions à pluviométrie annuelle de 850-2650mm et une température moyenne annuelle de 12,5-26,2°C. On le trouve à 2100 m d'altitude et en quantité abondante lorsqu'il est cultivé (Anjarwalla et al., 2016).



Figure 2. 1. Photo de *Tephrosia vogelii* (Prise par NGENDAKURIYO Alexis, 2023)

II. 1.2. Propriétés toxiques de *T. vogelii*

Les feuilles et les racines sont les parties de la plante possédant des propriétés insecticides. Les feuilles et les graines sont des insecticides efficaces contre les aphides, les thrips et les insectes qui perforent la tige du maïs. Cependant, les teneurs plus élevées en principes actifs sont observées dans les feuilles que dans les graines et varient d'une plante à l'autre. Les flavonoïdes extraits des feuilles de *T. vogelii* ont des effets sur le développement et le comportement des insectes (Stoll, 2002).

II.2. *R. Communis*

II. 2.1. Classification systématique et description botanique de *R. communis*

R. communis est une espèce de la famille des Euphorbiaceae comprenant la classe des magnoliopsida, ordre des malpighiales (Thorez 2002). Cette famille comprend environ 10000 espèces regroupées dans 300 genres. Elle est considérée comme l'une des familles les plus vastes et les plus cosmopolites du sous embranchement des Angiospermes (Haba, 2008). Le ricin est un arbuste ou petit arbre possédant une racine pivotante puissante à racines latérales marquées, tige présentant des entre-nœuds et la partie interne est trouée (Weiss, 2000). Certaines variétés ornementales ont des feuilles dont la face inférieure et le pétiole sont colorés en rouge (Maroyi, 2007). Le ricin est une espèce monoïque (Weiss, 2000). Le ricin est une plante originairement développée en Egypte, en Ethiopie et en Inde. La culture du ricin s'est ensuite étendue à de nombreux autres pays (Mutlu et Meier, 2010).



Figure 2.2. Photos de *R. communis* à feuilles rouges (a) et blanches (b)

II. 2.2. Importance médicinale

Pour la médecine traditionnelle, *R. communis* est utilisé comme laxatif et pour la guérison des arthroses (Mutlu et Meier, 2010). En dermatologie, *R. communis* est utilisée pour les soins des durillons, des kystes et de certaines plaies ouvertes (Polvèche, 1996). En Inde, les feuilles, les racines et les graines sont utilisées pour la contraception et l'avortement (Kalita et al., 2011). Selon Kachare et Surywanshi (2010), l'extrait des feuilles mélangé avec du lait et du sucre est une préparation connue en Inde pour le lavage stomacal. En Jordanie, après décoction des fruits de ricin, la solution obtenue est utilisée comme un anti-dysentérique (Al-Qura'n, 2009).

Kota et Manthri (2011) indiquent que les feuilles de ricin soulagent les maux de tête et le rhumatisme. Le ricin est traditionnellement utilisé pour d'autres activités hépato-protectrice (Visen et al., 1992), diurétique (Nath, 2011) et antibactérienne (Khan et al.1978).

II. 2.3. Propriétés toxiques de *R. Communis*

Ses graines, son écorce et ses feuilles sont toutes plus ou moins toxiques en raison de la présence d'un lectine glycoprotéique responsable de la croissance et de la germination. La toxicité est la causé par la ricine et sa concentration est maximale dans les graines qui renferment, par ailleurs, des protéines, de l'eau et des lipides. C'est l'un des poisons naturels les plus toxiques (Windholz, 1983). Mais, le diagnostic est rapide et l'intoxiqué peut être pris en charge à temps en milieu hospitalier (Kopferschmitt et al., 1983). Ces auteurs ajoutent également que la consommation accidentelle, par le bétail ou par les enfants, de graines ou de produits contenant de l'huile de ricin peut provoquer des intoxications graves.

II.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; qui diffèrent d'une espèce de plante à une autre. 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 grande diversification des composés secondaires (Krief et Müller, 2004).

II.3.1. Description de quelques métabolites secondaires majeurs

a. Les terpènes : Ils constituent les métabolites secondaires les plus importants produits par les plantes. Par l'intermédiaire des caroténoïdes, les terpènes absorbent de la lumière bleue (Yamaura et al., 1991).

b. Les composés phénoliques: Ils sont souvent synthétisés en réponse à des attaques de pathogènes et d'insectes et sont présents en grande quantité dans les feuilles. La concentration en phénols d'une plante peut être modifiée par la qualité du spectre lumineux (Park et al., 2019).

c. Les alcaloïdes: ce sont des substances d'origine souvent végétale et se trouvent en concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Ils sont considérés comme une réserve d'azote (Audigié & Zonszain, 1991). Notons que plusieurs alcaloïdes contiennent deux atomes d'azote et plus dans des hétérocycles différents à l'exemple de la nicotine, la réserpine et la caféine (Figure 2.3) . Ils sont souvent amers et ont l'intérêt dans la pharmacopée thérapeutique (Bruneton, 1999).

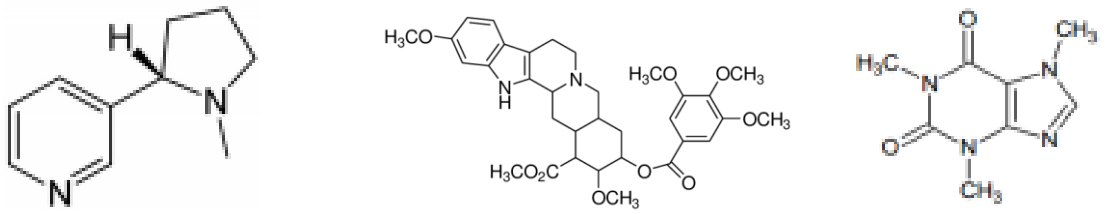
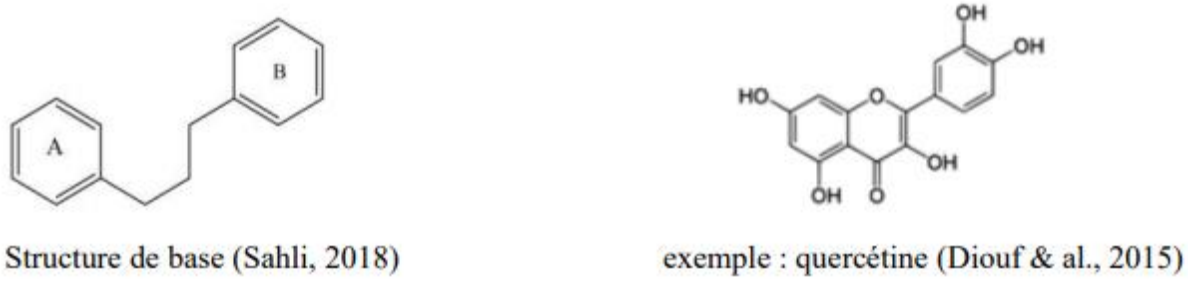


Figure 2. 3 : Structures des trois alcaloïdes nicotine, réserpine et caféine (de gauche à droite)

d. Les saponosides: sont des substances hétérosidiques dont les molécules contiennent des oses et des résidus de composés non glucidiques (Bruneton, 1993). Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs (Krief et Müller, 2004). Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux (Bruneton, 2009). Les saponosides stéroïdiques se retrouvent exclusivement chez les angiospermes monocotylédones et les saponosides triterpéniques principalement chez les angiospermes dicotylédones (Avilov et al., 1997; Yoshiki et al., 1998). Les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes (Krief et Müller, 2004). Les saponosides présentent une action irritante sur les cellules (Paris et Hurabielle, 1981).

e. Les flavonoïdes: Ils se rencontrent dans la nature sous forme d'hétérosides responsables de la coloration jaune des fleurs et autres organes végétaux. Les flavonoïdes sont proches des anthocyanes et des leucoanthocyanes. Les flavonoïdes, les anthocyanes et les leucoanthocyanes se distinguent essentiellement par le degré d'oxydation (Bruneton, 1999).



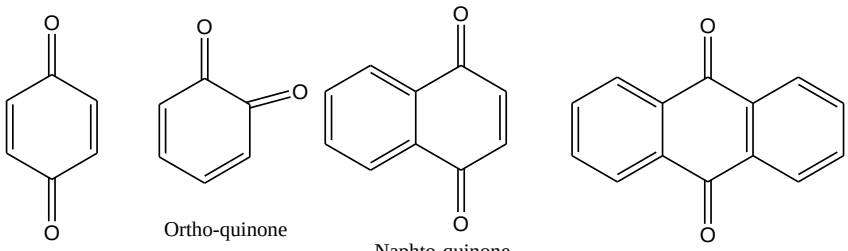
Structure de base (Sahli, 2018) exemple : quercétine (Diouf & al., 2015)

Figure 2. 4. Quelques structures de flavonoïdes

f. **Les leucoanthocyanes:** sont des substances voisines des flavonoïdes. Ils sont responsables de la coloration rouge, bleue ou violette des fleurs (Bruneton, 1999).

g. Les quinones: sont des composés oxygénés qui proviennent de l'oxydation des dérivés aromatiques.Ils sont caractérisés par un motif 1, 4-dicétocyclohexa-2, 5-diénique (para-quinone) ou, éventuellement par un motif 1, 2-dicétohexa-3, 5- diénique. (ortho- quinone).

Les quinones naturelles ont leur dione conjugué aux doubles liaisons dun noyau benzénique ou celle dun système aromatique polycyclique condensé : naphtoquinone, anthraquinone (BRUNETON, 1999).



k. Les stéroïdes : On désigne généralement par stéroïde, un composé comportant le squelette carboné du stérane. Les stéroïdes constituent un vaste ensemble de métabolites secondaires des végétaux (Bruneton, 1993). Le terme «stéroïde» est appliqué aux composés avec un noyau cyclopentano-perhydro-phenathrenique (Perrot et Paris, 1984). On y trouve des antiseptiques, des vermifuges, des abortifs et des stupéfiants (Sofowora , 1982).

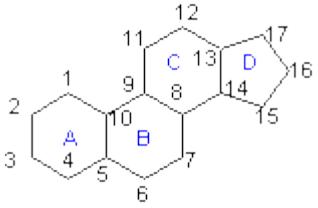


Figure 2. 5. Structure d'un steroïde (cyclopentanophénanthrène hydrogéné)

II. 3. 2. Techniques d'extraction des principes actifs

a. Décoction: La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une matière végétale. Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes: racines, graines, écorce, bois. La décoction permet une extraction plus complète que l'infusion. La décoction dure en moyenne quelques minutes (Sophie, 2003).

b. Infusion: L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs d'un végétal par dissolution dans un liquide bouillant (Sophie, 2003).

c. Macération: La macération consiste à laisser tremper une plante ou une partie d'une plante sèche dans un solvant approprié froid pendant plusieurs heures, jours, voire des semaines. L'intérêt de la macération est la conservation des principes actifs durant le procédé (Sophie, 2003). La solution obtenue est filtrée puis concentrée sous vide à une température qui ne dépasse pas 45°C (Nasri, 2017).

Il est à noter que c'est cette dernière méthode que nous avons utilisée pour extraire les principes actifs dans les echantillons de feuilles et graines.

II. 4. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes

II. 4. 1. Les insectes nuisibles au maïs

Les principaux insectes nuisibles du maïs sont des coléoptères et des lépidoptères. Ils détruisent une quantité importante de grains du maïs provoquant la perte du pouvoir germinatif des grains du maïs infestés.

II. 4.1.1. La chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*)

La chenille légionnaire fait partie des lepidopteres, embranchement des arthropodes, classe des insectes, ordre des lépidoptères, famille des Noctuidae, genre : Spodoptera, espèce : frugiperda. Elles sont des ravageurs polyphages qui se nourrissent des feuilles et des tiges de plus de 80 espèces végétales. La chenille légionnaire cause des dommages importants aux graminées cultivées, d'importance économique, en particulier le maïs. Les mâles et les femelles se différencient sur base des couleurs des ailes (fig.2.6).

L'aile antérieure du mâle est marbrée (brun clair, gris, paille) avec une cellule discale contenant de la couleur de paille sur les trois quarts de la zone et brun foncé sur un quart de la zone. Chez la femelle, l'aile antérieure est marbrée (brun foncé, gris). Les hampes sont de couleur paille avec une marge marron foncé. Pour les deux sexes, les ailes postérieures sont blanches, ornées d'une mince bordure foncée.

On distingue facilement les deux sexes à partir de la touffe abdominale, un ensemble de poils qui ne se trouve qu'à l'extrémité de l'abdomen du mâle (Lena¸ 2021).



Figure 2. 6. Traits de différenciation d'un papillon mâle et femelle

II. 4.1.2. Le charançon du maïs (*Sitophilus zeamais*)

La taxonomie du genre Sitophilus a été confuse jusqu'à récemment, de sorte que la valeur d'une grande partie de la littérature antérieure sur ces insectes a été réduite, en raison de la difficulté à reconnaître l'espèce à laquelle elle se réfère (CABI, 2017).

Récemment, 14 espèces ont été dénombrées dans le genre Sitophilus (Corrêa et al., 2012). Parmi ces espèces, il y en a trois qui forment un groupe monophylétique, à savoir le charançon du blé (*S. granarius),* le charançon du riz (*S. oryzae)* et le charançon du maïs, (*S. zeamais)* (Corrêa et al., 2012). Ils jouent un rôle d'importance agro-économique comme ravageurs de grains de céréales. En effet, ils sont responsables des pertes de denrées stockées qui peuvent atteindre 40% dans les pays tropicaux (Grenier et al., 1986). D'après Bouchard et al. (2011) *Sitophilus zeamais* (Fig.2. 7) est classé dans le règne animal, embranchement des Arthropodes, classe des insectes, ordre des coléoptères, famille des curculionidés, genre : *Sitophilus*.



Figure 2. 7. Photo des grains du maïs infestés de charançon

II. 4. 2. Les insectes infecteurs au haricot

II. 4. 2.1. Le puceron noir ou *Aphis fabae*

C'est un insecte qui appartient au règne animal, embranchement des arthropodes, classe des insectes, ordre des hémiptères, famille des aphididés, genre *Aphis*. Le puceron est un sérieux problème en agriculture bien qu'ils forment un petit groupe d'insectes d'environ 4000 espèces dans le monde (Dedrver et al., 2010) dont près de 250 espèces sont de sérieux ravageurs de culture (Illuz, 2011). Les plantes infectées se développent mal.

Puceron noir envahit les jeunes pousses et surtout sur la face inférieure des feuilles, les pétioles, les fleurs et les gousses de haricots. Les femelles pondent leurs œufs à la surface des graines de haricots en perforant les gousses. L'incubation dure quelques jours et donne une larve primaire. Ils sont uniquement phytophages et se nourrissent de la sève et transmettent ainsi des particules virales à la plante, ce qui leur fait des prédateurs majeurs de cette culture.

II. 4. 2.2. La bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*)

C'est un insecte de la famille des Bruchidae (Chrysomelidae), genre des *Acanthoscelides*, Espèce : *obtectus* (Balachowsky, 1962). Elle est une espèce cosmopolite inféodée au genre végétal *Phaseolus*; elle a été décrite par « Say, 1831» sous le nom spécifique obtectus. C'est un insecte court et ovalaire, de 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, le corps de couleur généralement brun fuligineux foncé, est couvert de soies brillantes à dominance grise, couchées vers l'arrière (Khelil, 1977). Elle fait partie de bruche se développant dans les graines conservées dans les entrepôts.

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

III.1. Matériel

III.1.1. Zone de collecte des échantillons végétaux

Les feuilles et fruits de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges ont été récoltés en dates du 20 Avril 2022 et 10 janvier 2023 dans la zone Kabanga, Commune Giheta, province Gitega (Fig. 3.8). Le choix de la commune Giheta a été motivé par le fait qu'elle fait partie des communes où l'ONG INADS-formation s'applique activement à vulgariser l'utilisation des plantes biopesticides, dont *T. vogelii et R. communis*, pour la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes.

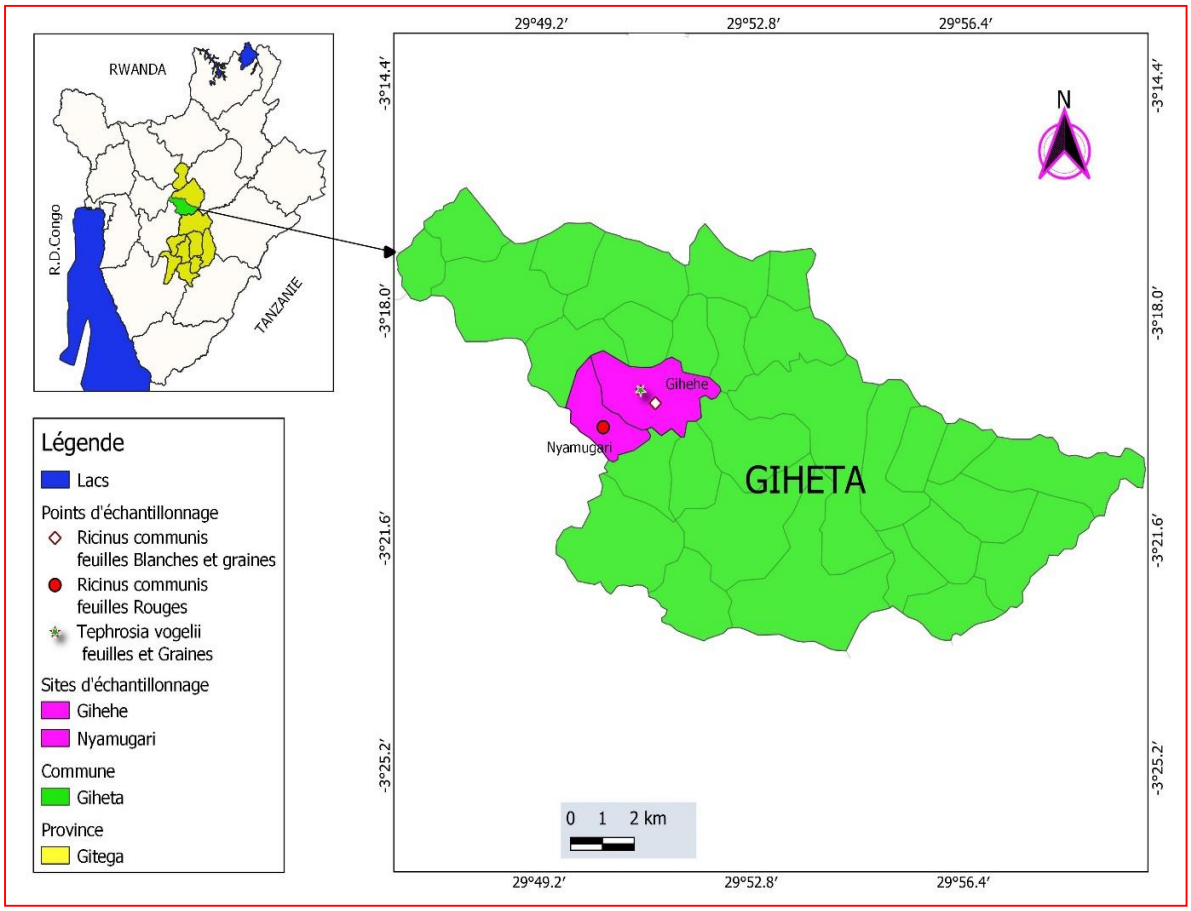


Figure 3. 8. Localisation de la zone d'échantillonnage (Realisée par NGENDAKURIYO Alexis 2023)

III.1.2. Collecte du matériel végétal et extraction des principes actifs

Le choix de *T. vogelii et* de *R. communis* a été motivé du fait que les extraits aqueux de ces deux espèces sont souvent utilisés par les agriculteurs locaux sous la coordination de l'ONG, INADES-Formation comme biopesticides contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes (Mutlu et Meier, 2010). En plus, les recherches documentaires montrent que ces plantes ont des propriétés toxiques contre les insectes ravageurs des cultures et les récoltes (Anjarwalla et al., 2016).

Les feuilles et les graines de *T. vogelii* ont été récoltées à l'aide d'un sécateur (Fig. 3.9) à une altitude de 1573 m, une latitude de 03°19' 15,6" Sud et une longitude de 029° 50' 54,4" Est.

Tandis que les feuilles et les graines de *R. communis* à feuilles blanches ont été récoltées à une altitude de 1605 m, une latitude de 03°19' 27,6" Sud et une longitude de 029° 51' 09,1" Est. Il faut également signaler que des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges ont été récoltées à une altitude de 1596 m, une latitude de 03°19' 50,3" Sud et une longitude de 029° 50' 16,3" Est.

Des sacs très légers ont servi pour le transport séparé des différents échantillons vers le laboratoire ex-CRUPHAMET de l`Université du Burundi où ils ont été sechés sur des séchoirs appropriés. Des papiers journaux ont servi à la confection des herbiers de ces espèces.



Figure 3. 9. Récolte des feuilles de *T. vogelii*

III. 2. Méthode de préparation des extraits aqueux et identifications des principes actifs présents

Au sein du laboratoire ex-CRUPHAMET, une masse de 250 g de l'échantillon de feuilles fraîches de *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges a été pesée. La masse pesée de chacune des échantillons a été pilée dans un mortier à l'aide d'un pilon. Pour piler la deuxième masse de l'échantillon, le mortier et le pilon étaient préalablement bien nettoyés avec de l'eau distillée puis séchés à l'air libre. Après avoir pilé l'échantillon, la patte organique obtenue a été versée dans un seau rempli d'un litre d'eau.

Pour maximiser l'extraction des substances actives par macération pendant 24h, nous avons agité avec la main la solution de chacun des seaux. Nous avons ensuite filtré le liquide de macération à l'aide d'une étoffe en coton. Après avoir eu des solutions bien filtrées, nous avons procédé à des dilutions multiples de ces trois solutions jusqu'à 62,5 g par litre afin de tester l'efficacité de l'extrait à faible dose.

III.2.1. Extraction des principes actifs des feuilles fraîches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges

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

Pour chaque échantillon de plante, trois flacons ont été préparés, l'un contenant une solution mère de 250g/l, un deuxième contenant une solution fille de 125g/l et un troisième contenant une solution de 62.5g/l. Ces trois valeurs ont été choisi du fait qu'elles sont utilisés par INADES-formation.

III. 2. 2. Screening phytochimique des extraits aqueux des feuilles des deux plantes

a. **Test de présence des saponosides:** 1ml d'extrait aqueux de la solution mère de chacun des extraits de *T. vogelii* et *R. communis* mis dans des tubes à essai et mélangé avec 5 ml d'H_2O distillée a été rigoureusement agité. La formation d'une mousse persistante et surnageante à la surface des solutions indique la présence de saponosides. Cela a été le cas pour tous les extraits aqueux.
b. **Test de présence des tanins:** 1ml d'extrait de chacun des extraits mis dans un tube à essai est mélangé avec 20 ml d'H_2O distillée, puis chauffé à l'ébullition. Après, la solution a été laissée refroidir et a été filtrée. La solution ainsi obtenue est mélangée avec $FeCl_3$ à 1%. Une fois que la solution se colore en bleue-noire, nous confirmons la présence des tanins.

c. **Test de présence des flavonoïdes:** 1 ml de chacun des extraits de plante mis dans un tube à essai, mélangé avec 5 ml d'NH_3 dilué à 25% et 2 ml de H_2SO_4 dilué à 63%, a été soumis à l'ébullition pendant 2 minutes. Si la solution se colore en jaune, nous confirmons la présence des flavonoïdes.

d. **Test de présence des glucosides:** un mélange de 1ml de chacun des extraits de plante, 2 ml de chloroforme et 2 ml de H_2SO_4 dilué à 63%, a été agitée doucement. Si la solution se colore en brun rouge, on a la présence d'un noyau stéroïdique qui est la partie glycone du glucoside.

e. **Test de présence des phénols:** 1ml d'extrait de chacun des extraits de *T. vogelii et R. communis* mis dans un tube à essai, est mélangé avec 2 gouttes de $FeCl_3$ à 2%. Si la solution se colore en noir, nous confirmons la présence des phénols.

III. 3. Méthodes de préparation des extraits organiques

III. 3. 1. Séchage des échantillons

Pour le cas des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges**,** on a pesé 3,5 kg et 1,5 kg respectivement puis 2 kg de graines de *R. communis* à feuilles blanches. Pour le cas de *T. vogelii***,** des masses respectives de 4,5 kg de feuilles et 2 kg de graines ont été pesées. Chacune des masses pesées a été séchée à l'air libre au sein du laboratoire d'ex-CRUPHAMET de l'Université du Burundi pendant deux mois afin d'éliminer complètement l'eau organique. A intervalle de 7 jours, chaque masse séchée était pesée. On a arrêté de peser après avoir eu une masse constante au 47 ème indiquant que le séchage est terminé (Fig 3.10).

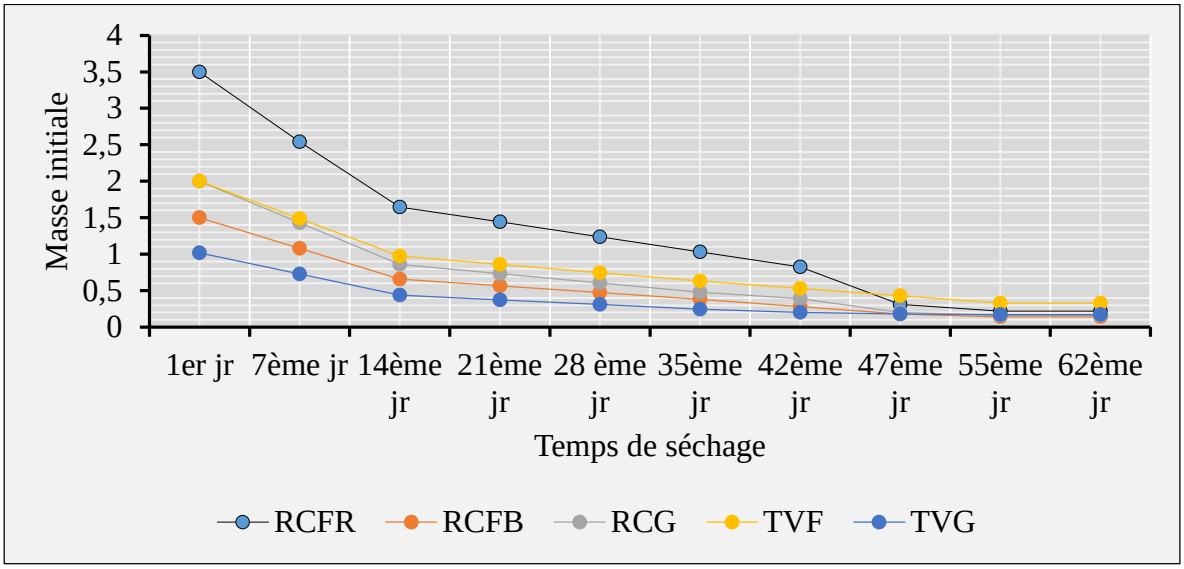


Figure 3. 10. Diminution de la masse des échantillons de plantes en foction du temps de séchage

III. 3. 2. Préparation des poudres

Pour les feuilles, la masse organique sèche obtenue pour chacun des échantillons a été finement broyée dans un mortier avec un pilon. Mais, les graines de *R. communis* à feuilles blanches et ceux de *T. vogelii* ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique de type KRUPS au laboratoire du BBN. D'un broyage à l'autre, le mortier et le pilon étaient proprement lavés avec de l'eau distillée pour éviter la contamination d'un échantillon à l'autre. La poudre obtenue a été tamisée sur un papier en aluminium à l'aide d'un tamis de maille de 1mm de diamètre.

Le papier en aluminium a permis d'éviter la contamination de l'échantillon du fait que le papier en aluminium a une faible réactivité avec les extraits contrairement aux papiers habituels. La poudre obtenue sur chaque masse a été transférée dans des bouteilles opaques qui ne laissent pas passer la lumière pour éviter la dénaturation de la poudre. Au total cinq bouteilles remplies de poudre produite avec les différents échantillons ont été obtenues.

III. 3. 3. Extraction des principes actifs dans les poudres des feuilles et des graines

La méthode d'extraction utilisée pour les différentes poudres des différents organes de plantes a été la macération suivie de l'épuisement. L'extraction a été effectuée à température ambiante en utilisant successivement quatre solvants organiques de polarités croissantes (n-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol). Pour faire l'extraction proprement-dite des principes actifs contenus dans les poudres des échantillons séchés, 100 g de poudre de feuilles de *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges ont été traités successivement par les quatre solvants organiques (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol) selon leur polarité croissante en utilisant un volume d'un litre de chaque solvant.

La même opération a été effectué pour l'extraction de 42 g de poudre de graines de *T. vogelii* et 150 g de poudre de graines de *R. communis*. Pratiquement, la masse de la poudre de l'échantillon était mise dans une ampoule à décanter de 500 ml dans laquelle nous ajoutions le solvant organique qui permettait d'extraire le principe actif par macération pendant 24 h. Pour s'assurer que le solvant organique a complétement épuisé l'extraction des principes actifs dans la poudre, nous avons procédé à un test de chromatographie sur couche mince en utilisant la dernière goutte de l'extrait. La plaque chromatographique était visualisée sous lampe U.V qui permet de bien visualiser la tache non visible à l'œil nu.

Mais, pour se rassurer que l'absence de tâche correspond à l'absence de principes actifs, la plaque chromatographique était pulvérisée avec de l'acide sulfurique comme révélateur de taches, puis séchée à l'air libre.

En cas de présence de taches noires, cela signifie qu'il y avait encore des principes actifs dans le résidu-poudre; donc, du solvant était rajoutée à ce résidu-poudre pour compléter l'extraction pour 24h de macération encore. Après ce délai, on faisait le test d'épuisement comme précédemment.

En absence de taches, la poudre était séchée à l'air libre sur du papier aluminium pour évaporer complétement le solvant. Le résidu de poudre ainsi séché était soumis à l'extraction suivante avec un nouveau solvant de plus grande polarité. Après la macération, nous avons recueilli le mélange solvant- principe actif dans un bécher ou ballon et a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. A la fin de l'extraction, on a obtenu au total 20 extraits séchés à l'aide de l'évaporateur rotatif et d'une étuve réglée à 40°C pour 5 minutes. Ces extraits ont été conservés dans un réfrigérateur à 4°C pour leurs utilisations ultérieures.



Figure 3. 11. Illustration du dispositif d'extraction des principes actifs

III. 3. 4. Screening phytochimique des extraits organiques

Pour le screening phytochimique des extraits organiques, nous avons suivi le même protocole que celui du screening phytochimique des extraits aqueux sauf pour les alcaloïdes et les stéroïdes.

a. **Présence des alcaloïdes:** 0,1 g d'extrait de chacun des extraits de *T. vogelii* et de *R. communis* mis dans un tube à essai et est mélangé avec l'acide chlorhydrique (HCl) à 1%. Les solutions ont été doucement soumises à l'ébullition pendant un temps d'environ une minute. Après refroidissement à l'air libre, les solutions ont été filtrées. Ensuite, trois gouttes de la solution de Dragendorff ont été ajoutées dans chaque filtrat. L'apparition d'une couleur jaune persistante indiquait la présence d'alcaloïdes dans l'extrait considéré.

b. Présence des stéroïdes: 2ml d'extrait de chacun des extraits de *T. vogelii* et de *R. communis* mis dans un tube à essai et mélangé avec 2 ml de $CHCl_3$, 2 ml de H_2SO_4 concentré ont été agités. Après l'agitation des solutions, la formation d'une phase de chloroforme de coloration rouge et une couche acide montrant une fluorescence jaune verdâtre indique la présence des stéroïdes dans l'extrait analysé.

III. 4. Matériel animal (ou insectes ravageurs étudiés) et traitement

Quatre types d'insectes ravageurs à savoir la chenille légionnaire, le puceron noir, la bruche de haricot et le charançon du maïs ont été récoltés. Le choix de insectes a été motivé par le fait qu`ils constituent les principaux destructeurs de cultures et de récoltes chez les agriculteurs pour les deux cultures clé qui sont le maïs et le haricot.

III. 4. 1. Méthode d'élevage et de traitement de bruche de haricot (*Acanthoscelides obtectus*) et le charançon du maïs (*Stophilus Zea maïs*)

a. Elevage

Un élevage de masse des deux insectes, pour les tests biologiques, a été effectué dans les conditions ambiantes du laboratoire adaptées à la méthode utilisée par Ndomo et al., (2009). Il a seulement suffi de conserver pendant une période de 3 mois, un sac contenant 5 Kg du maïs et un sac renfermant 5 Kg de haricot au laboratoire pour obtenir autant de bruche de haricot et le charançon du maïs nécessaires (Fig.3.12a, b).



Figure 3. 12. Photos illustrant la multiplication de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) dans des graines de haricot et grains du maïs

a. Traitement

Pour l'application des principes actifs sur la bruche de haricot et le charançon du maïs, 10 g de grains du maïs et 10 g de graines de haricot non encore envahis par les insectes ravageurs ont été pesés. Ils ont été mis dans des boîtes de pétri, puis enrobés par 1 ml du principe actif. Ensuite, nous avons déposé 6 individus de charançon du maïs et de bruche de haricot dans chaque boîte de pétri contenant les grains du maïs et les graines de haricot biens imbibés par 1 ml de chaque extrait à des doses différentes (4; 2 et 1mg/ml).

Il est a noter que les boites de pétri contenant des témoins ont été préparées. Deux parmi ces dernières contenaient les graines de haricot, l'une imbibée avec de l'eau et l'autre avec le DMSO à 5%. Pour les grains de maïs, les témoins ont été préparés de la même façon.

III. 4. 2. Méthode d'élevage et de traitement de puceron noir

a. Elevage

Un champ de haricot a été préalablement cultivé dans les jardins de la FABI au mois de novembre 2022 (Fig. 3.13). Il était subdivisé en 9 parcelles pour faciliter le contrôle de l'efficacité toxique de chaque extrait à des doses différentes. Un mois après le semis, de puceron noir ont été observés sur la face inférieure des feuilles de haricots.



Figure 3.13. Champs de haricots cultivé pour le traitement de puceron noir

b. Traitement

Après leur dénombrement à la loupe sur une feuille de haricots, des extraits aqueux de *T. vogelii* et de *R. communis* à différentes doses (250; 125; 62,5) g/l ont été appliqués. A chaque dose, trois essais ont été réalisés. En dessous d'une feuille de haricots à pulvériser était étendu un papier aluminium pour recueillir le puceron noir tués. 24h après la pulvérisation, le puceron morts étaient comptés et le nombre était enregistré dans un carnet de terrain. Une petite parcelle non pulvérisée a servi de témoin afin de comparer les plantules de haricots pulvérisées et non pulvérisées par les extraits aqueux.

III. 4. 3. Méthode d'élevage et de traitement de la chenille légionnaire

Pour avoir de la chenille à élever, un champ du maïs a été cultivé et arrosé pendant le mois d'avril 2022 dans les jardins de l'Université du Burundi. Après un mois de semis, des larves de chenille légionnaire sont apparues et récoltées. La récolte des larves avec une pince a été effectuée pendant les heures fraîches (soir) pour éviter de stresser les larves destinées à l'élevage. Les larves de la chenille récoltées ont été déposées dans des boîtes transparentes munis de couverture trouée et bouchée de coton stérilisé (fig.3.14).



Figure 3. 14. Larves de la chenille légionnaire déposées dans des boîtes transparentes munis de couverture trouée et bouchée de coton stérilisé

La récolte des larves a duré deux semaines et les larves récoltées ont été amenées immédiatement au laboratoire C5 du Département de Chimie à l'Université du Burundi. Elles ont été nourries par des feuilles du maïs fraiches et découpées jusqu'à la phase chrysalide appelé également phase de dormance.

Les larves ont été élevées individuellement dans des boîtes en plastique, bien aérées afin d'éviter le cannibalisme. Chaque jour, les boîtes transparentes étaient nettoyées afin de maintenir le milieu d'élevage propre et éviter la perte de chenille. Et de nouveaux morceaux de feuilles fraîches du maïs renouvellés pour nourrir les larves.

Après avoir eu des chrysalides, ces derniers étaent retirés des boîtes d'élevage et un chrysalide à la fois était placé dans un petit tube à essai fermé avec un tampon d'ouate pour continuer la métamorphose. Pour produire de l'humidité pendant les journées trop chaudes, on a aspergé l'ouate d'un peu d'eau distillée. Après l'éclosion des papillons, ces derniers ont été retirés des tubes à essai. Dans de grosses boîtes en plastique, bien aérées et remplies de gros morceaux de feuilles fraîches du maïs servant d'abri et de lieu de ponte, nous y avons mis un seul couple de papillons afin de faciliter la fécondation.

Le couple a été nourri à l'aide du miel placé à l'interieur de la grosse boîte. Mais cette pratique n'a pas abouti à la multiplication des larves de la chenille suite de l'absence de fécondation entre les jeunes couples placés dans les boîtes.

Certains couples ont été retrouvés morts et nous avons pensé que les conditions de vie n'étaient pas probablement remplies. Après ce constat, nous avons mis des couples dans des moustiquaires bien conditionnés. Mais aussi, cette expérience a également échoué. Des papillons étaient retrouvés morts suite à des fatigues liées aux mouvements échapatoires du couple capturé dans un moustiquaire.

Après cet échec d'élevage et de multiplication de la chenille au laboratoire, nous avons opté pour l'utilisation de la chenille légionnaire récoltés directement du champ. Ainsi, pour les tests de toxicité de la chenille légionnaire, nous nous sommes servi d'un champ de maïs cultivé tout près de la FABI. Le dénombrement de la chenille morte était fait une fois 24h après la pulvérisation. Une petite parcelle non pulvérisée a servi de témoin afin de comparer les plantules du maïs pulvérisées et non pulvérisées par les extraits aqueux.

III. 5. Traitement des données

L'outil GPS Garmin a été utilisé pour la prise des coordonnées géographiques des lieux de récolte. Le logiciel d'exploitation «Excel 2013» a servi pour la saisie des données. La carte de la zone d'étude a été réalisée à l'aide du logiciel Quantum GIS 3.20.0.

Le rendement d'extraction est calculé à partir de la formule suivante.

Rendement en % = $\frac{m_0}{m_1} \times 100$ (Bekr et al., 2015) où: m_0: masse en grammes de l'extrait brut; m_1: masse en grammes de la matière végétale initialement pesée.

La mortalité en pourcentage a été calculée selon le rapport du nombre d'individus morts (n) observé sur le nombre total d'individus testés dans chaque boîte de pétri (N).

Taux de mortalité = $\frac{n}{N} \times 100$

Pour l'analyse de la variance (ANOVA), le calcul des moyennes des taux de mortalité des insectes ravageurs des plantes et des récoltes ainsi que la comparaison de deux moyennes par le test de student, le logiciel SPSS a été utilisé.

La DL_{50} a été calculée par la méthode arithmétique de Karber et Behrens (1935)

DL_{50}= $DL_{100} - \Sigma (a \times b)/N$, a: différence entre deux doses successives; b: demi-somme d'individus morts entre deux doses successives; N: effectif total des individus dans une boîte de pétri.

CHAPITRE IV. PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

IV. 1. PRESENTATION DES RESULTATS

IV. 1. 1. Screening phytochimique des extraits aqueux de *T. vogelii et R. communis*

Les extraits aqueux de *T. vogelii (*TVF*)* et *R. communis* à feuilles blanches (RCFb) et rouges (RCFr) montrent que les saponosides sont uniquement présents dans les feuilles de *T. Vogelii*, alors que les glycosides, flavonoïdes, tanins et phénols sont présents dans les trois extraits (Tableau 4.1).

Tableau 4. 1. Résultats du screening phytochimique des extraits aqueux de *T. vogelii* et *R. communis*

	Principes actifs				
Extraits aqueux	**glycosides**	**Saponosides**	**Flavonoïdes**	**tanins**	**Phénols**
TVF	+	+	+	+	+
RCFb	+	-	+	+	+
RCFr	+	-	+	+	+

Légende: - Le signe (+) indique la présence du principe actif dans l'extrait aqueux contrairement au signe **(-)** qui indique l'absence du principe actif dans l'extrait aqueux

IV. 1.2. Screening phytochimique des extraits organiques de *T. vogelii et R. communis*

Le tableau 4.2 montre les résultats du screening phytochimique des extraits organiques des feuilles et graines de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges. Nous constatons que les extraits à méthanol des feuilles de *T. vogelii* (TVF), de *R. communis* à feuilles rouges (RCFr) ainsi que l'extrait au n-hexane des feuilles de *R. comminus* à feuilles blanches (RCFb) présentent à la fois les sept principes actifs analysés : alcaloïdes, saponosides, flavonoïdes, stéroïdes, tanins, phénols etglycosides. Pour les extraits issus des feuilles de *T. vogelii*, les glycosides sont présents dans tous les types d'extraits quel que soit le solvant organique utilisé lors de l'extraction et ce sont les seuls principes à être présents dans l'extrait au n-hexane.

Cependant, les glycosides sont absents dans l'extrait au n-hexane des graines de *T. vogelii*. Les extraits des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges montrent la présence de flavonoïdes et de stéroïdes quel que soit le solvant organique d'extraction utilisé.

En plus des deux principes actifs, l'extrait hexanique contient aussi des alcaloïdes, tandis que l'extrait au CH_2Cl_2 renferme aussi des tanins et des phénols, lorsque l'extrait méthanolique contient tous les sept principes actifs. L'extrait à l'acétate ne renferme que les deux principes actifs, flavonoïdes et stéroïdes.

Enfin, pour les extraits des graines de *R. communis* à feuilles blanches, quel que soit le solvant organique d'extraction utilisé, le screening montre la présence d'alcaloïdes, mais chaque extrait possède l'un ou l'autre des cinq autres principes actifs.

Ainsi, les extraits hexanique et à l'acétate renferment aussi des flavonoïdes, des stéroïdes et des phénols, lorsque l'extrait au CH_2Cl_2 présente en plus des flavonoïdes, tandis que l'extrait méthanolique contient des phénols.

Tableau 4. 2. Résultats du screening phytochimique pour les extraits organiques de *T. vogelii* et *R. communis*

Types d'extrait	**Principes actifs**						
	alcaloïdes	**saponosides**	**flavonoïdes**	**Stéroïdes**	**tanins**	**Phénols**	**glycosides**
TVFHex-	-	-	-	-	-	-	+
TVFDichlo-	+	-	+	+	-	+	+
TVFAcét-	+	-	-	+	+	+	+
TVFMéth-	+	+	+	+	+	+	+
TVGHex-	+	-	+	-	-	-	-
TVGDichlo-	+	-	+	+	-	-	+
TVGAcét-	-	-	-	+	+	-	+
TVGMéth-	+	+	-	-	+	+	+
RCFbHex-	+	+	+	+	+	+	+
RCFbDichlo-	+	-	+	+	-	+	-
RCFbAcét-	+	-	+	+	-	-	+
RCFbMéth-	+	+	-	-	+	+	+
RCFrHex-	+	-	+	+	-	-	-
RCFrDichlo-	-	-	+	+	+	+	-
RCFrAcét-	-	-	+	+	-	-	-
RCFrMéth-	+	+	+	+	+	+	+
RCGbHex-	+	-	+	+	-	+	-
RCGbDichlo-	+	-	+	-	-	-	-
RCGbAcét	+	-	+	+	-	+	-
RCGbMéth-	+	-	-	-	+	-	-

Légende: Le signe (+) indique la présence du principe actif dans l'extrait alors que le signe **(-)** indique l'absence du principe actif dans l'extrait

IV. 1.3. Test d'activité des extraits aqueux des feuilles de *T. vogelii* et *R. communis*

IV. 1.3.1. Test d'activité de ces extraits aqueux sur le puceron noir

Des concentrations d'extraits aqueux de 250; 125 et 62,5g/l des feuilles fraiches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges ont été appliqués séparément sur 20 pucerons noirs. Les résultats ont montré que les extraits des feuilles fraiches de *T. vogelii* sont plus efficaces par rapport aux extraits des feuilles fraiches de *R. communis* à feuilles blanches et rouges. L'augmentation progressive du taux de mortalité de puceron noir pulvérisé par les extraits des feuilles fraiches de *T. vogelii* a été observé dès le 1er jour d'application jusqu'au 5ème jour.
Mais, le taux de mortalité est plus élevé pour les extraits des feuilles fraiches de *T. vogelii* à la dose de 250 g/l pour laquelle tous le puceron noir pulvérisé était mort (Fig. 4. 15) au 4 ème jour d'application.

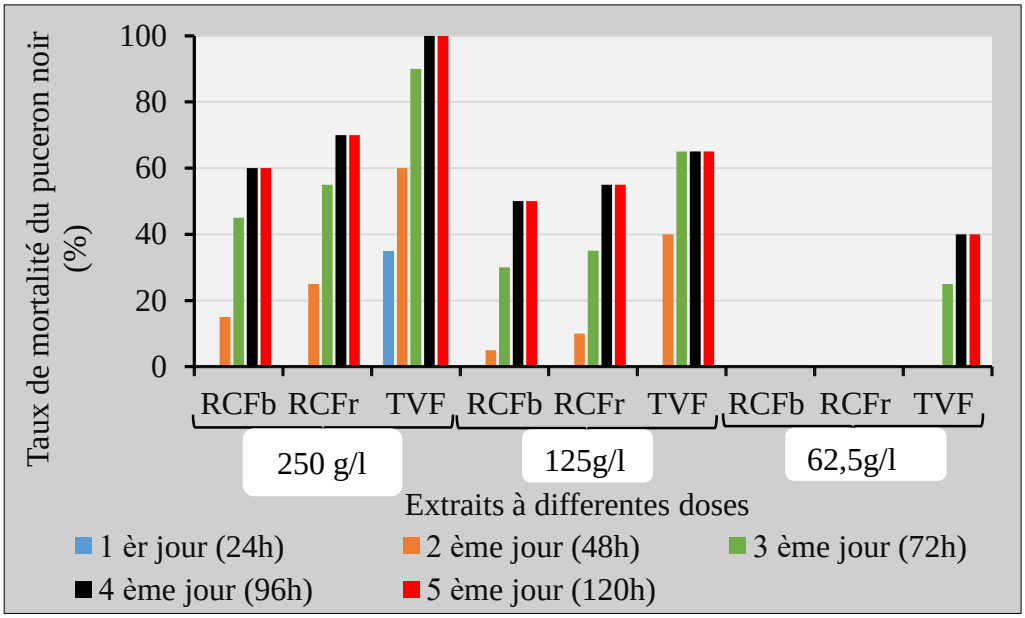


Figure 4. 15. Taux d'activité des extraits des feuilles fraiches à 250; 125 et 62,5 g/l de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur le puceron noir

IV.1. 3.2. Comparaison des taux de mortalité moyens de puceron noir en fonction de l'extrait aqueux et de la dose

Les moyennes des taux de mortalité ont été calculées pour les extraits aqueux de RCFb, RCFr et TVF à 250 g/l et à 125 g/l qui ont décimés au moins 50% de puceron noir durant les 5 jours après l'application (Fig. 4.16). Ces moyennes de taux de mortalité ont permis d'évaluer, chaque jour, l'efficacité de chaque extrait en fonction de la dose sur le puceron noir.

Le tableau 4.3 montre les résultats du test de student pour l'analyse des taux de mortalité de puceron noir aux doses de 250 et 125 g/l.

Les extraits de TVF donnent des moyennes de 20±0,14% et 13±0,18% de puceron noir tués chaque jour respectivement pour les deux doses, alors qu'à la dose de 250g/l, les extraits de RCFb montrent une moyenne de mortalité de puceron noir de 15±0,15% et une moyenne de 16±0,14% de mortalité pour les extraits de RCFr. Ces moyennes ne présentent pas de différence significative (P-value = 0,7). Les extraits du tableau en annexe 1 ayant la même lettre en exposant, sont des extraits qui ne présentent pas de différences significatives sur le taux de mortalité moyen de puceron noir.

La figure 4.16 montre le diagramme des moyennes des taux de mortalité de puceron noir en fonction des extraits de RCFb, RCFr et TVF à 250 et 125g/l pendant 5jours après traitement. Il s'avère nécessaire d'utiliser une dose supérieure à 250 g/l pour une bonne efficacité des extraits aqueux.

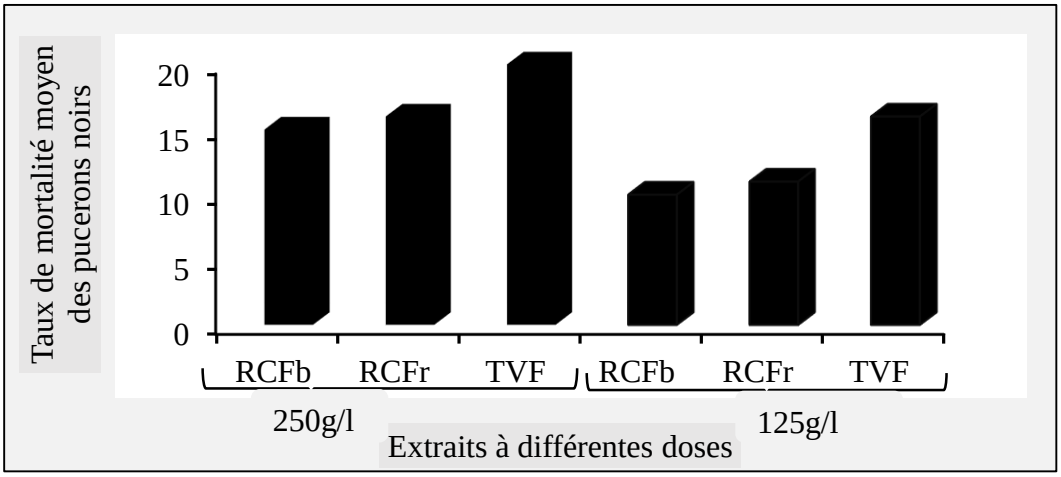


Figure 4. 16. Taux de mortalité journalier de puceron noir en fonction des extraits et de la dose

IV.1.3.3. Taux d'activité des extraits aqueux des feuilles *T. vogelii* et *R. communis* sur la chenille légionnaire

La figure 4.17 montre que les extraits des feuilles fraiches de *T. vogelii* à une dose de 250 g/l sont plus efficaces par rapport aux extraits des feuilles fraiches de *R. communis*. Il y a une augmentation progressive du taux de mortalité de la chenille légionnaire pulvérisées sur la période des cinq jours d'observation.

Il a été remarqué qu'au 4ème jour près de 65% de la chenille légionnaire, pulvérisées par l'extrait des feuilles fraiches de *T. vogelii*, étaient morts.

L'utilisation des extraits des feuilles fraiches de *T. vogelii* à haute dose (250 g/l et plus) serait efficace contre la chenille légionnaire pour les 1ers jours de pulvérisation.

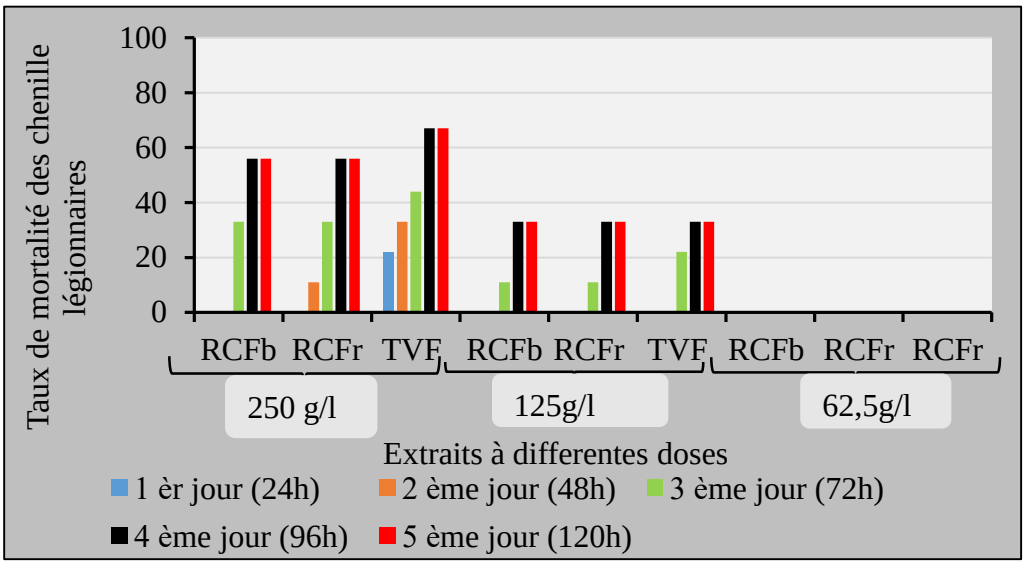


Figure 4. 17. Variation du taux de mortalité en fonction du temps et des extraits à 250; 125 et 62.5g/l des feuilles fraiches de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges

IV.1.3.4. Comparaison des taux journaliers de mortalité moyens de la chenille légionnaire en fonction de l'extrait et de la dose

Les moyennes de taux de mortalité par jour ont permis d'évaluer le pouvoir de chaque extrait en fonction de la dose sur la chenille légionnaire. A la dose de 250 g/l, l'extrait de TVF a une toxicité plus élevée avec un taux de mortalité journalier de 13,4% pour la chenille légionnaire. Pour cette même dose des extraits de RCFb et de RCFr, les résultats du test de student montrent une moyenne de mortalité de 11,2 ± 0,15% et 11,2 ± 0,11% respectivement. Ces deux moyennes ne présentent pas de différence significative (P-value = 1).

Par ailleurs, à la même dose (250g/l) de l' extrait de TVF, la moyenne obtenue du taux journalier de mortalité de 13,4±0,94% ne présente non plus de différence significative (P-value = 0,7). Dans le tableau en annexe 2, les extraits, à la même lettre en exposant, sont des extraits qui n'ont pas statistiquement de différences significatives sur le taux de mortalité moyen de la chenille légionnaire. Aucun des deux extraits n`a atteint un taux de mortalité de 100% même au 5 ^{ème} jour de pulverisation. La figure 4.18 montre le mortalité moyen de la chenille légionnaire en fonction de la concentration des extraits de RCFb, RCFr et TVF pendant 5jours. Les extraits aqueux à la dose de 250 g/l des feuilles de *T. vogelii* ont pu atteindre un taux de mortalité journalier plus élevé que les autres extraits.

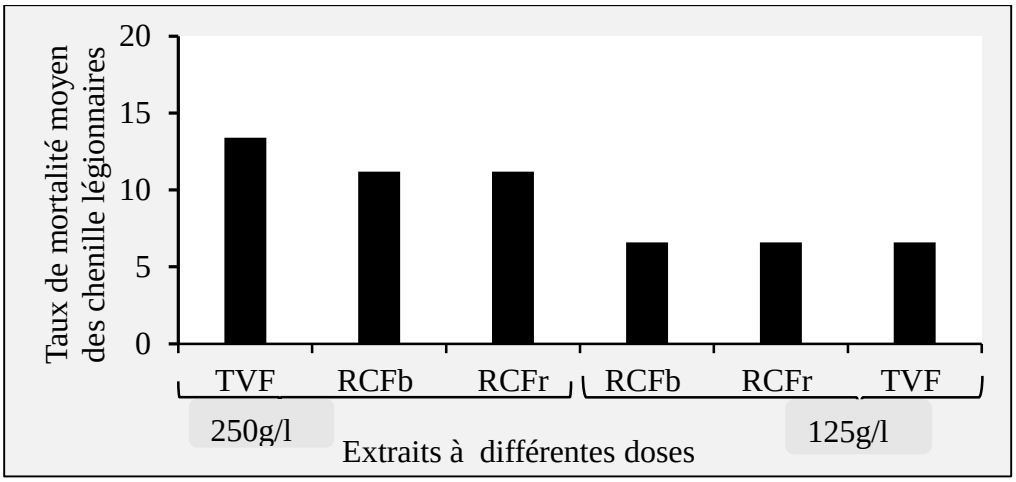


Figure 4. 18. Variation du taux de mortalité moyen de la chenille légionnaire en fonction de l'extrait et de la dose

IV.1.3.5. Détermination de la DL_{50} des extraits aqueux de *T. vogelii* sur le puceron noir

Après 5 jours, le taux de mortalité de puceron noir s'élève à 100% pour les extraits aqueux à 250g/l de *T. vogelii*. La dose nécessaire pour tuer 50% de puceron noir à base des extraits aqueux de *T. vogelii* a été déterminée et elle est de 114,3g/l (Tableau 4.3).

Tableau 4.3. Paramètres de détermination de la dose létale de l'extrait aqueux de TVF pour le puceron noir

Puceron noir							
Extrait	**Doses (g/l)**	**N**	**n**	**%**	**a**	**b**	**(a×b)**
TVFAq-	62.5	20	8	40	62,5	10,5	651
	125	20	13	65	125	16,5	2063
	250	20	20	100			
Σ (a×b)							**2713,5**
DL_{50}							**114,3g/l**

DL_{50}= $DL_{100} - \Sigma (a \times b)/N$, a: différence entre deux doses successives; b: demi-somme des individus morts entre deux doses successives; N: effectif total des individus dans une boîte de pétri, n : nombre d'individus morts dans une boîte de pétri.

IV.1. 4. Résultats d'extraction par solvants des principes actifs des feuilles et graines de *T. vogelii et R. communis*

Le tableau 4.4 donne les rendements d'extraction en pourcentage des principes actifs des extraits des feuilles et des graines de *T.vogelii* et *R.communis* à feuilles blanches et rouges par quatre solvants organiques. Les rendements obtenus varient en fonction de l'extrait organique utilisé et de la masse de la poudre prise comme échantillon.

Tableau 4.4. Rendements d'extraction des principes actifs des feuilles et des graines de *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Espèce	**Organe**	**Masse de la poudre (g)**	**Solvants d'extraction**	**Masse de l'extrait (g)**	**Rendement (%)**
T. vogelii	Feuilles	100	n-hexane	3,82	3,82
		96,18	Dichlorométhane	2,38	2,47
		93,8	Acétate d'éthyle	3,12	3,32
		90,68	méthanol	8,88	9,79
	graines	42	n-hexane	5,42	12,9
		36,58	Dichlorométhane	2,22	6,06
		34,36	Acétate d'éthyle	0,79	2,29
		33,57	méthanol	1,71	5,09
R. communis	Feuilles blanches	100	n-hexane	3,2	3,2
		96,8	Dichlorométhane	3,41	3,52
		93,39	Acétate d'éthyle	4,37	4,68
		89,02	méthanol	2,64	2,96
	Feuilles rouges	100	n-hexane	2,47	2,47
		97,53	Dichlorométhane	4,98	5,1
		92,55	Acétate d'éthyle	4,22	4,55
		88,33	méthanol	4,55	5,15
	graines	150	n-hexane	20,31	13,54
		129,69	Dichlorométhane	21,9	16,88
		107,79	Acétate d'éthyle	18,4	17,07
		89,39	méthanol	4,22	4,72

Il est à signaler qu'avant l'utilisation de ces extraits, on devait les macérer dans le solvant polaire diméthylsulfoxyde (DMSO) à 5% (Ngezahayo, 2016).

IV. 1.4.1. Analyse comparative de l'efficacité des extraits organiques des feuilles rouges et blanches de *R. communis* sur les le charançon du maïs et la bruche de haricot

a. Analyse comparative de l'efficacité des extraits au n-hexane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Les extraits au n-hexane de 4 et 2 mg/ml provoquent un taux de mortalité de plus de 50% pour les deux insectes ravageurs au 4ème jour (Fig. 4.19ab). Les figures montrent que les extraits au n-hexane de 4 mg/ml de *R. communis* à feuilles rouges provoquent un taux de mortalité de 50% au 3ème jour. Après 5 jours de pulvérisation, les extraits n'ont plus aucun effet sur les deux insectes puisque leur taux de mortalité devient stable environ 90% et 70% (Fig.4.19ab).

L'élévation de la dose des extraits de *R. communis* à feuilles rouges serait la meilleure méthode de lutte contre ces ravageurs pendant les premiers jours de pulvérisation. Il est aussi à noter que les extraits hexaniques 4 mg/l de RCFr et RCFb ont la même activité sur la bruche de haricot alors que l`extrait hexanique 4 mg/l de RCFr est plus efficace (70%) contre le charançon du maïs. Cela indique qu'au 5ème jour, il faudrait faire une deuxième pulvérisation afin de tuer tous les ravageurs.

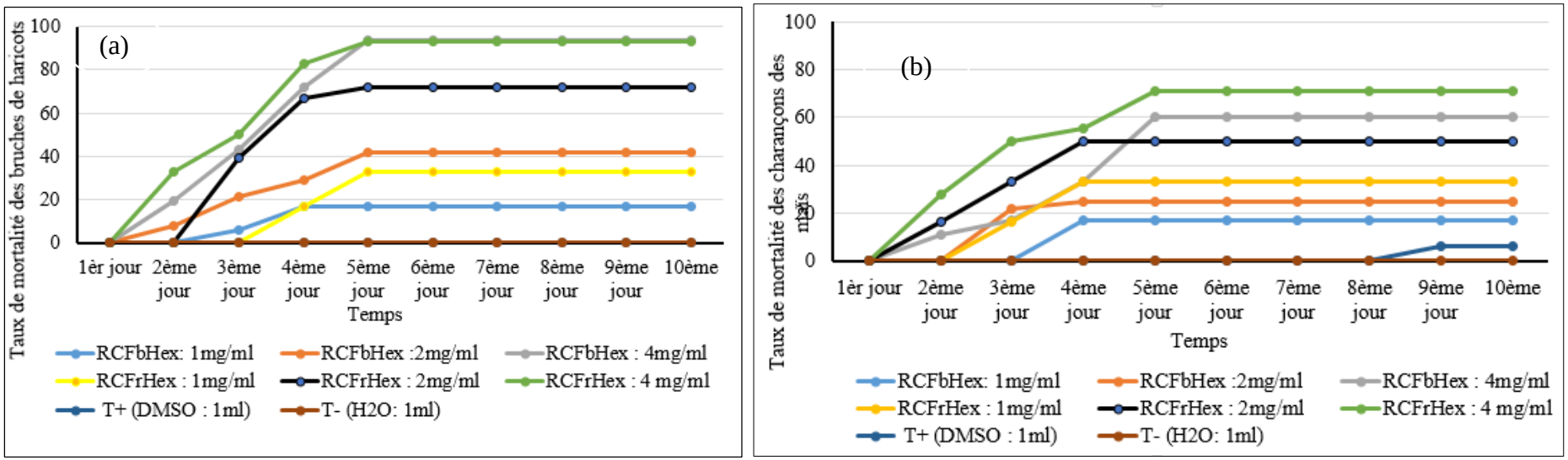


Figure 4. 19. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Légende : T^+ (DMSO) : Répresente le reactif de dissolution des extraits organiques, T^-: témoin à H_2O

b. Analyse comparative de l'efficacité des extraits au dichlorométhane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Pour la bruche de haricot traités par les extraits à 2 et 4 mg/ml des feuilles de *R. communis* à feuilles rouges, un taux de mortalité de 50% et plus au 4ème jour est observé (figure 4.20a).

Pour les le charançon de maïs, seuls les individus traités par *R. communis* à feuilles rouges à la concentration de 4 mg/ml ont atteint un taux de mortalité de plus de 50% et dès le 4ème jour de traitement (Fig.4.20b). Et au 5ème jour, l'extrait de *R. communis* à feuilles rouges à 4 mg/ml provoque aussi une mortalité de plus de 50% de charançon du maïs (environ 60%).

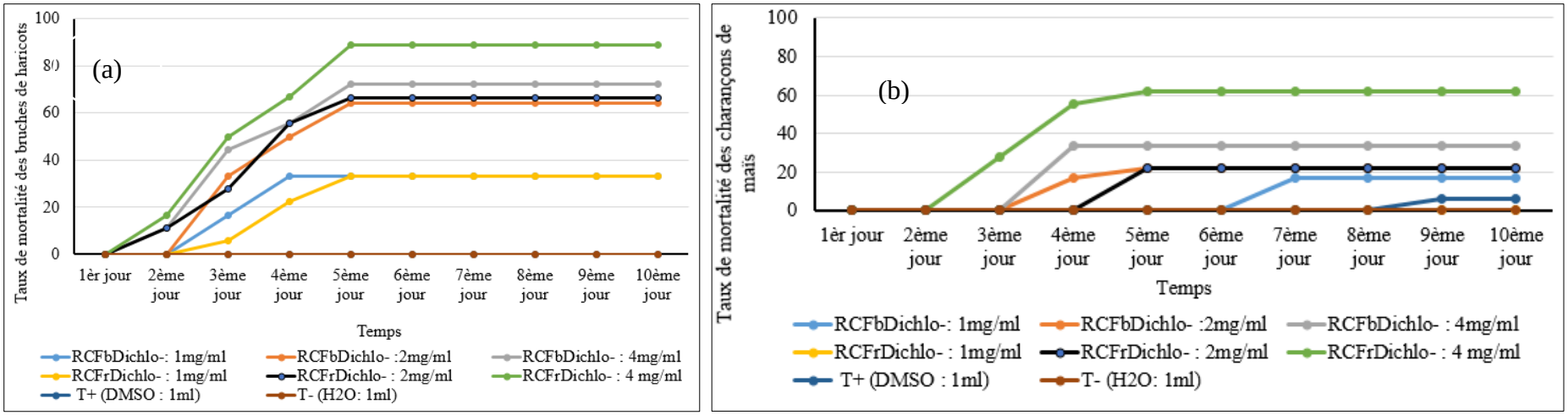


Figure 4. 20. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait de dichlorométhane de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

c. Analyse comparative de l'efficacité des extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Les extraits à l'acétate d'éthyle de *R. communis* à feuilles blanches et rouges à 4 mg/ml sur la bruche de haricot provoquent un taux de mortalité de plus de 50% au 4ème jour de traitement avec stabilité du taux de mortalité inférieur à 100% au 5ème jour (Fig. 4.21a). Pour le charançon du maïs, seuls l' extrait à l'acétate d'éthyle de 4 mg/ml de *R. communis* à feuilles blanches provoque un taux de mortalité de 50% au 5ème jour de traitement. Avec les autres extraits, une stabilité de l'évolution du taux de mortalité qui n'atteind pas 50% s'observe (Fig. 4.21b).

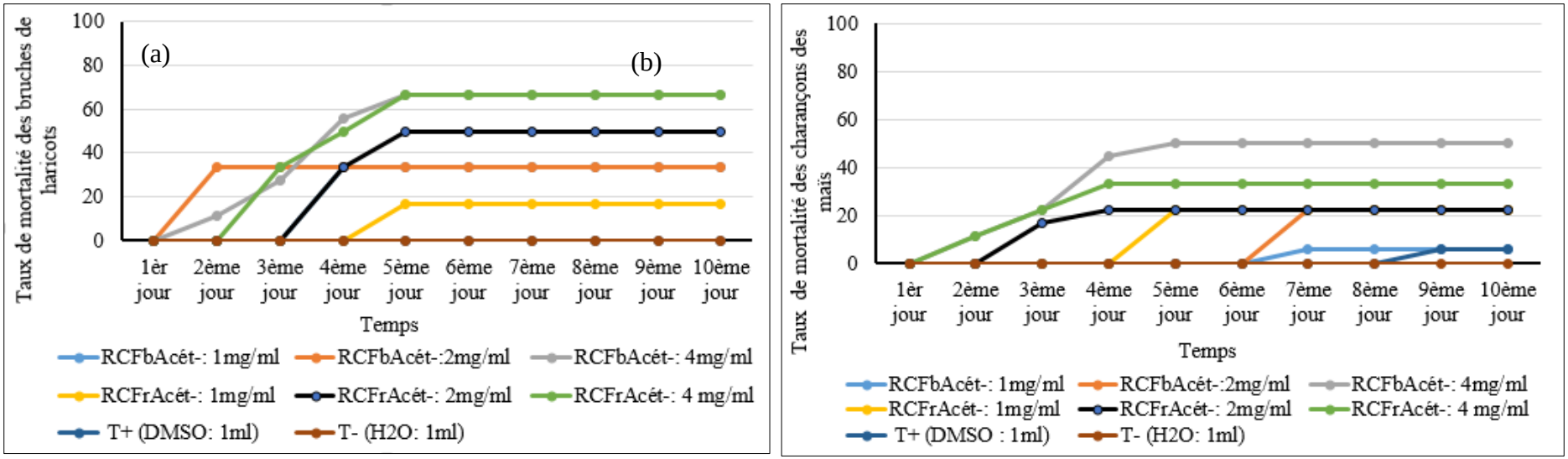


Figure 4. 21. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par l'extrait à acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

d. Analyse comparative de l'efficacité des extraits au méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

Les extraits méthanoliques de 4 mg/ml de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur la bruche de haricot ont provoqué un taux de mortalité de 60% et plus dès le 3ème jour (Fig.4.22a) alors que l'extrait de 2 mg/ml de *R. communis* à feuilles blanches atteind un taux de mortalité de 60% au 5ème jour.

Pour le charançon de maïs, la figure 4.22b montre que seul l'extrait au méthanol de *R. communis* à feuilles blanches de 4 mg/ml provoque un taux de mortalité de 50% au 4ème jour de traitement alors que l'extrait de 2 mg/ml de *R. communis* à feuilles rouges atteind un taux de maortalité de 50% au 5ème jour. On constate que plus l'extrait agit rapidement dans les premiers jours de traitement, plus la stabilité de l'évolution du taux de mortalité de charançon de maïs apparait dans un délai cours.

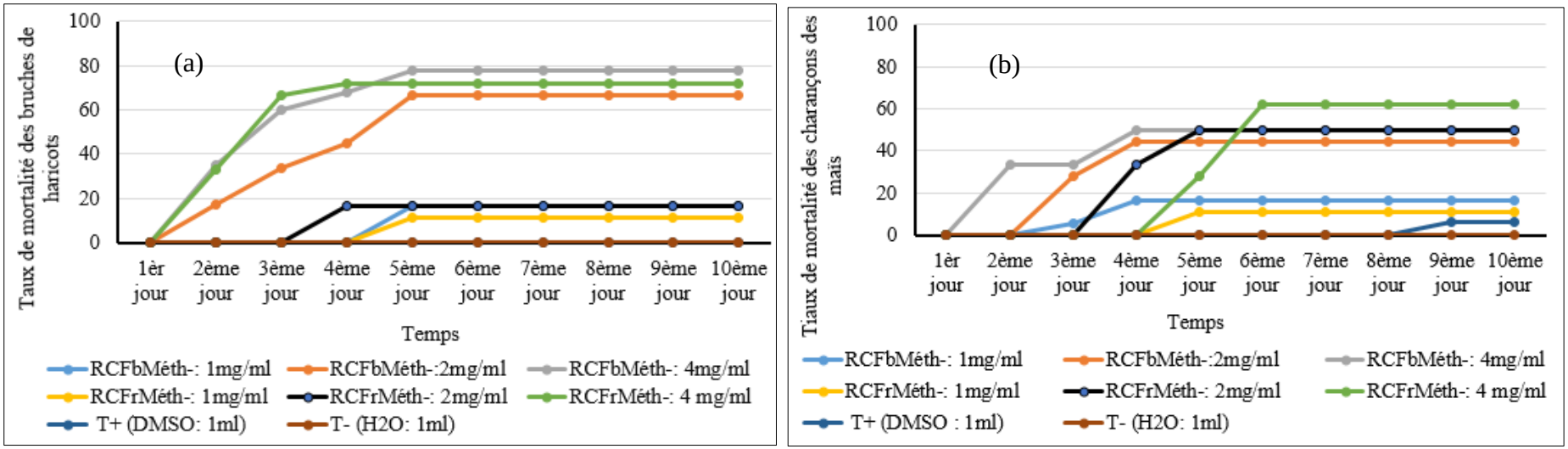


Figure 4. 22. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits au méthanol des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges

IV. 1. 4.2. Analyse comparative de l' efficacité des extraits organiques des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches sur le charançon des maïs et la bruche de haricot

a. Efficacité des extraits au n-hexane des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches

Le traitement de bruche de haricot par les extraits au n-hexane de *R. communis* à feuilles blanches montre un taux de mortalité de 60% et plus au 4ème jour (Fig. 4.23a). Le taux de mortalité est de plus de 80% pour la bruche de haricot traités avec les extraits n-hexane de 2 mg/ml des graines de *R. communis* à feuilles blanches.

Pour le charançon du maïs, seuls les extraits au n-hexane de 4 mg/ml des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches provoquent un taux de mortalité de plus de 50% au 5ème jour (figure 4.23b).

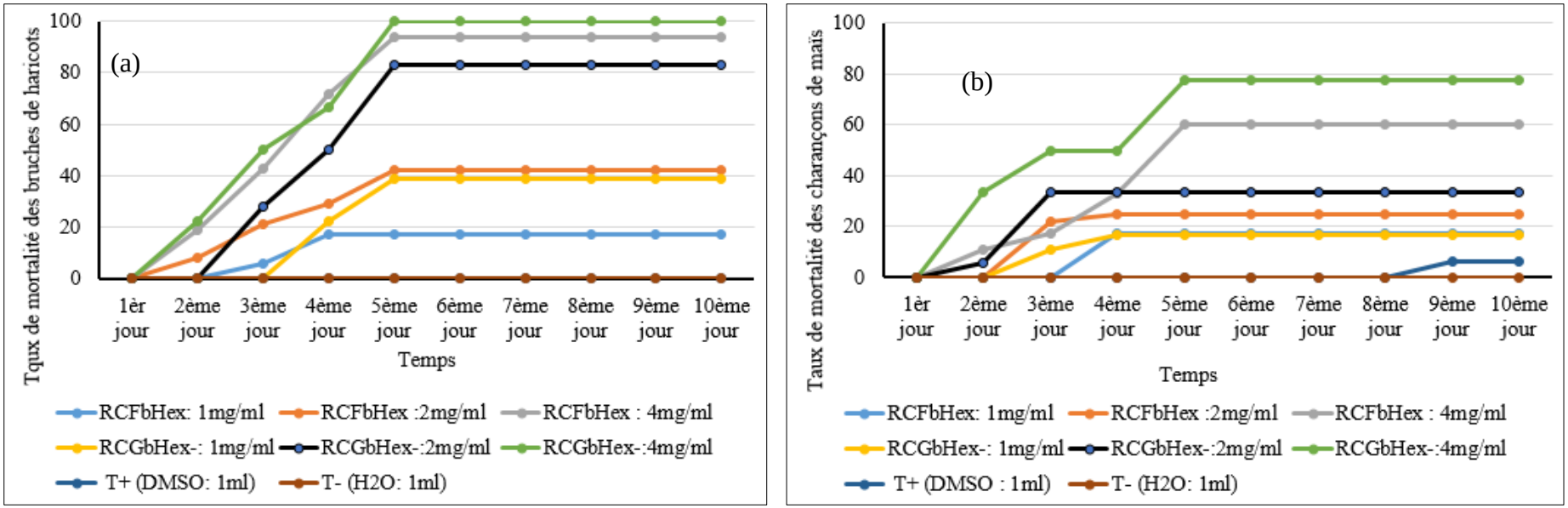


Figure 4. 23. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches

b. Efficacité des extraits au dichlorométhane des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches

Le traitement de bruche de haricot par les extraits au dichlorométhane des graines et de feuilles de *R. communis* à feuilles blanches montre un taux de mortalité égale à 50% et plus au 4ème jour pour les extraits au dichlorométhane de 2 mg/l et 4mg/ml des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches (Fig.4.24a). Pour le charançon du maïs, la figure 4.24b montre que seul l'extrait au dichlorométhane des graines de *R. communis* à feuilles blanches à 4 mg/ml provoque un taux de mortalité de plus de 60% au 4ème jour de traitement.

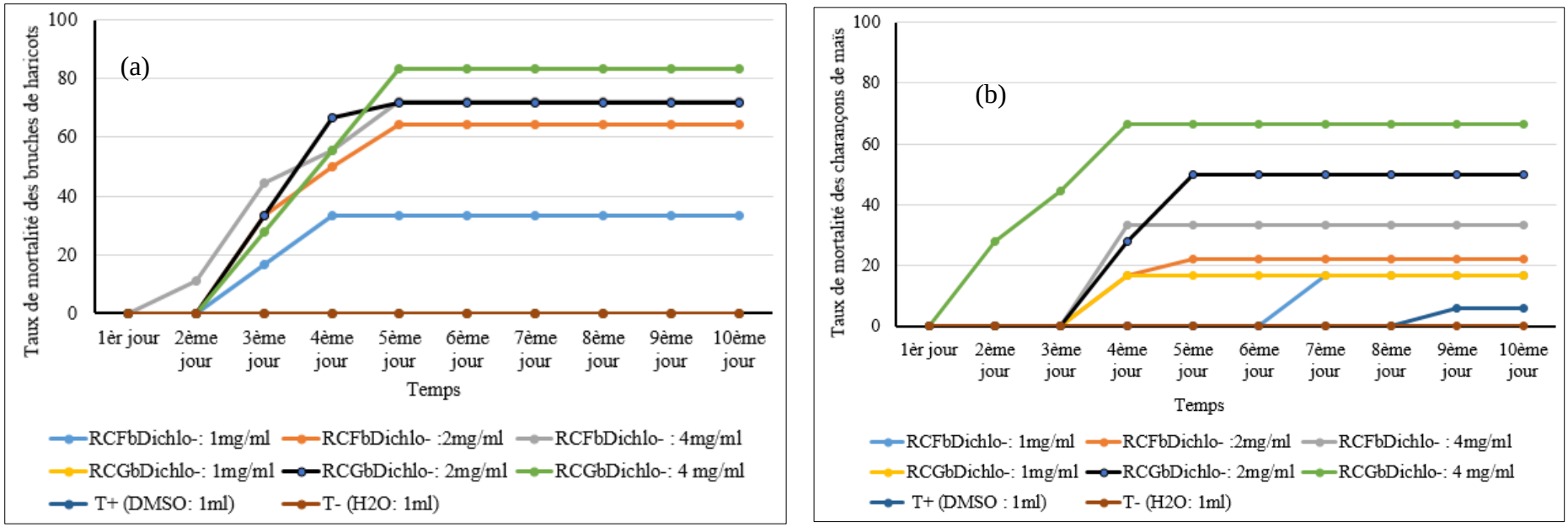


Figure 4. 24. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à dichlorométhane des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches

c. Efficacité des extraits à l`acétate d'éthyle des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches

Les résultats de traitement de bruche de haricot par les extraits d'acétate d'éthyle de 4 mg/ml des graines et des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches montrent, respectivement au 4ème et 5ème jour, un taux de mortalité de plus de 50% (Fig.4.25a). Pour le charançon du maïs, le même extrait provoque un taux de mortalité de 60% au 3ème jour (Fig.4.25a).

Les extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches sont mieux efficaces contre les bruche de haricot. Par contre, les extraits à acétate d'éthyle des graines de *R. communis* à feuilles blanches sont plus efficaces pour le charançon du maïs.

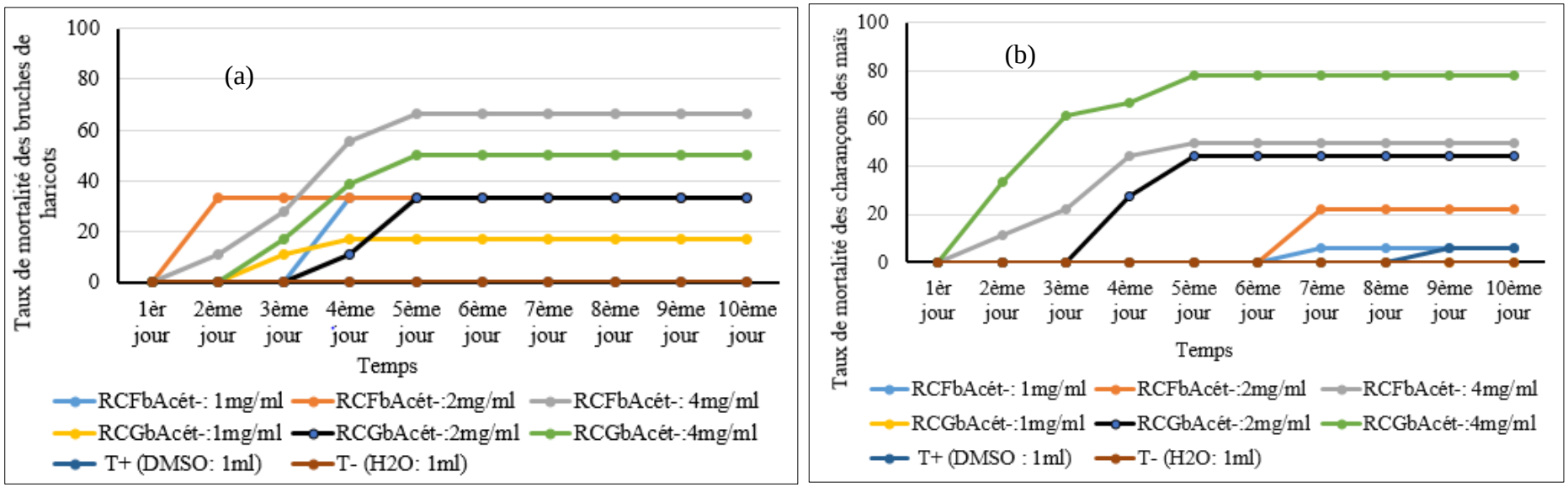


Figure 4. 25. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à acétate d'éthyle des feuilles et les graines *R. communis* à feuilles blanches

d. Efficacité des extraits à méthanol des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches

La figure 4.26a montre un taux de mortalité croissant de bruche de haricot dès le 1er jour pour les extraits à méthanol de 4 mg/ml pour dépasser 50% au 3ème jour. Les extraits au méthanol de 2 mg/ml atteignent aussi un taux de mortalité de 50% au 4ème jour.

Pour le charançon du maïs, la figure 4.26b montre un taux de mortalité de 50 % au 4ème et 5ème jour pour les extraits à méthanol de 4 mg/ml des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches respectivement.

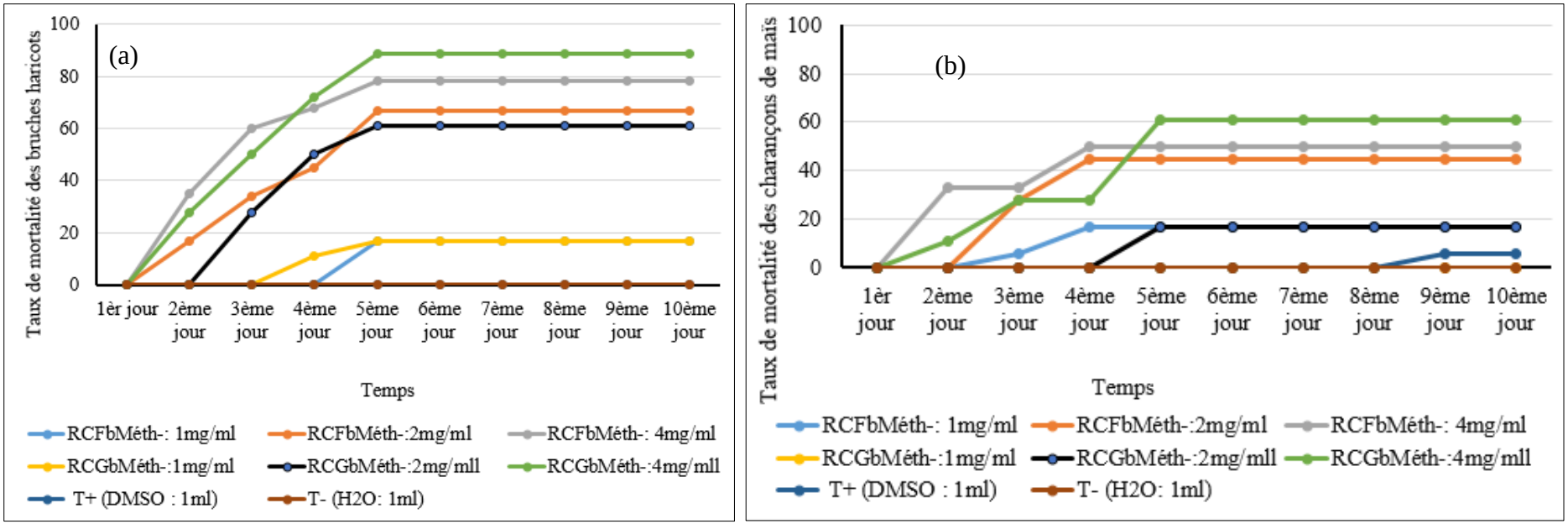


Figure 4. 26. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à méthanol des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches respectivement

IV. 1.4.3. Analyse comparative de l'éfficacité des extraits de feuilles et graines de *T. vogelii* sur le charançon des maïs et la bruche de haricot

a. Analyse compartaive de l'éfficacité des extraits au n-hexane des feuilles et graines de *T. vogelii*

Les extraits au n-hexane de 2 et 4mg/ml des feuilles et de graines de *T. vogelii* montrent un taux de mortalité croissant de bruche de haricot dès le 1er jour de traitement (fig. 4.27a) jusqu'à atteindre 50% et plus au 3 ème jour.

Pour le charançon du maïs (fig.4.27b), l'enregistrement de morts commence au 2ème jour pour les extraits au n-hexane de 2 et 4mg/ml respectivement des feuilles et des graines de *T. vogelii*. 50 % du taux de mortalité de charançon du maïs, a été atteint au 3ème et 4ème jour pour les mêmes extraits au n-hexane de 2 et 4mg/ml des feuilles et des graines de *T. vogelii* respectivement.

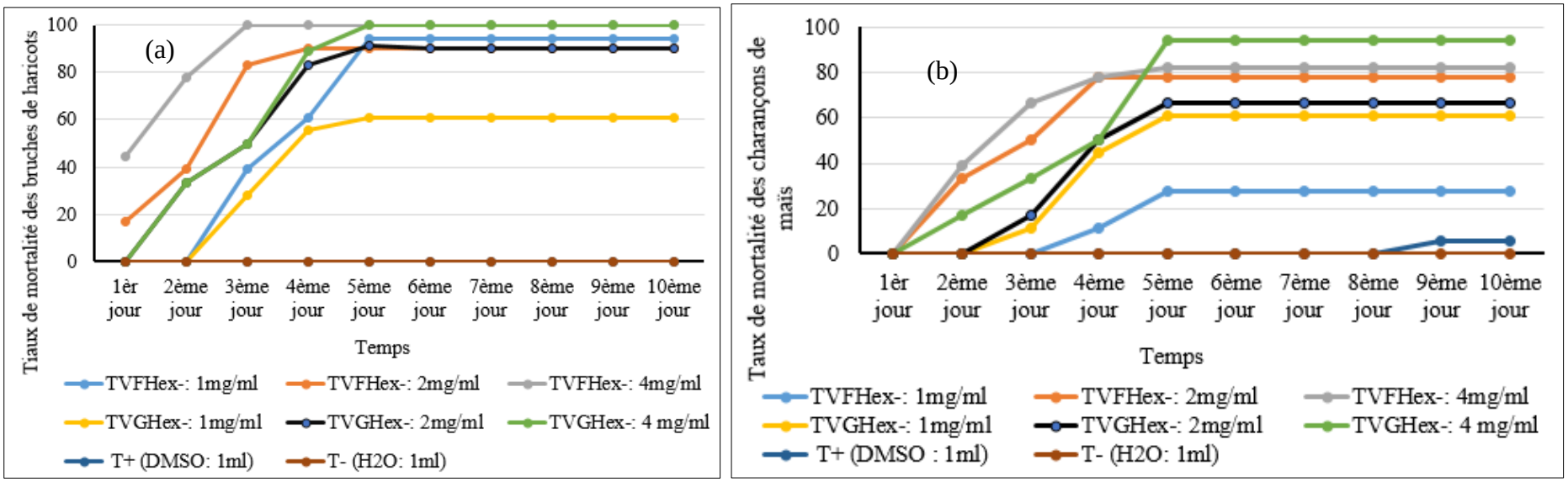


Figure 4. 27. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait au n-hexane des feuilles et des graines *T. vogelii*

b. Analyse comparative de l'éfficacité des extraits à dichlorométhane des feuilles et graines de *T. vogelii*

Des taux croissant de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs s'observent pour les extraits à dichlorométhane de 4mg/ml des feuilles et des graines de *T. vogelii* (Figures 4.28a et 4.28b). Néanmoins, l'extrait des graines semble plus efficace, atteignant plus de 60% de taux de mortalité pour la bruche dès le 3ème jour alors que pour le charançon du maïs, le même extrait n'atteind que presque 50% d'efficacité.

L'extrait des feuilles de la même concentration n'atteint 50% du taux de mortalité pour la bruche qu'au 4ème jour alors que pour le charançon du maïs, cet extrait atteind plus de 50% d'efficacité au 3ème jour. L'extrait au dichlorométhane de 4mg/ml des graines de *T. vogelii* est plus efficace contre la bruche de haricot (82% au 5 ème jour) alors qu'à la même concentration l'extrait des feuilles de cette plante serait plus efficace contre le charançon du maïs (72% au 4ème jour).

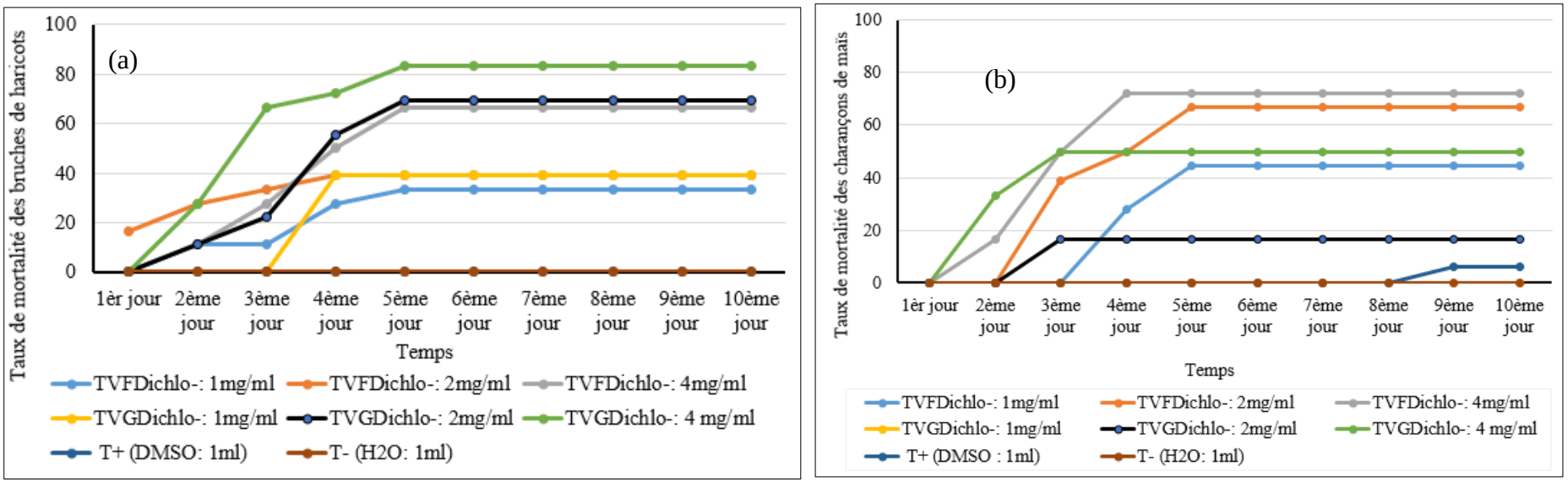


Figure 4. 28. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) par les extraits à dichlorométhane des feuilles et des graines *T. vogelii*

c. Analyse comparative de l'éfficacité des extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles et des graines de *T. vogelii*

La figure 4.29 a montre une évolution progressive des taux de mortalité de bruche de haricot traités par les extraits à 1; 2 et 4mg/ml. Un taux de mortalité maximal de 80 et 100% est observé pour les extraits à l'acétate d'éthyle de 4 mg/ml des feuilles et graines de *T. vogelii* respectivement sur la bruche de haricot.

Pour les mêmes concentrations d'extraits, la figure 4.29b montre également l'évolution progressive des taux de mortalité de charançon de maïs. Pour le charançon, un taux de mortalité maximal de 50% est obtenu au 3 ème jour avec l'extrait des graines alors que l'extrait des feuilles le taux de mortalité maximal de 60% est obtenu au 5ème jour. Ainsi, on pourrait dire qu'à la concentration de 4 mg/ml d'extrait d'acétate, les graines sont plus efficaces contre la bruche alors que les feuilles sont mieux efficaces pour le charançon.

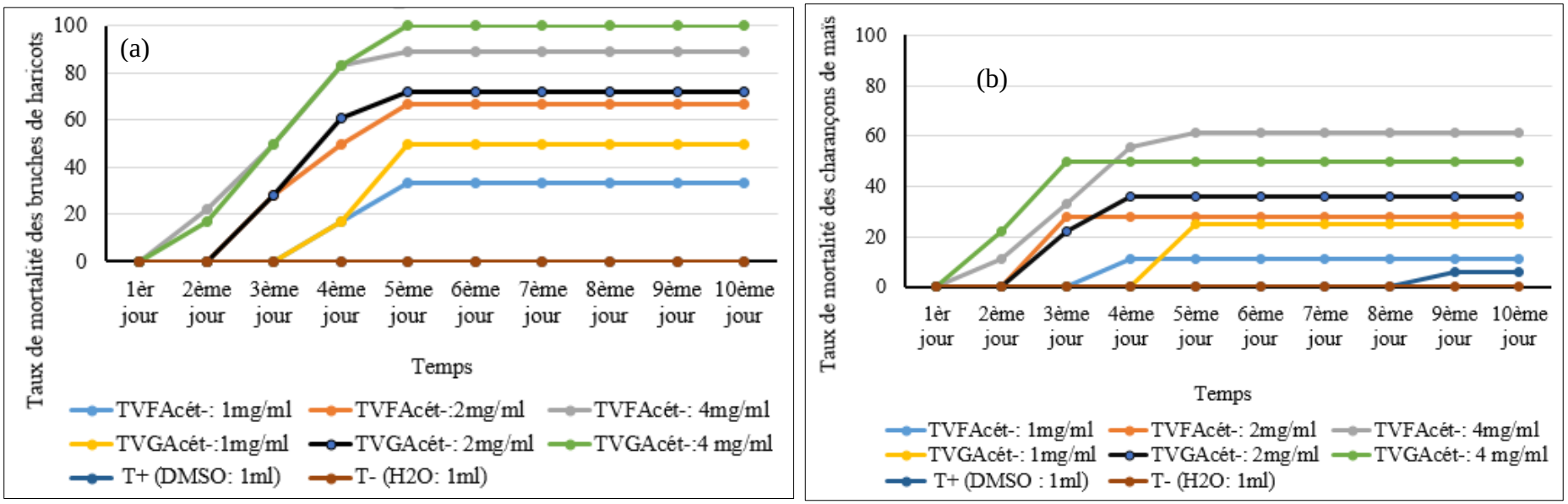


Figure 4. 29. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles et les graines *T. vogelii*

d. Analyse comparative de l'éfficacité des extraits à méthanol des feuilles et graines de *T. vogelii*

Les courbes de taux de mortalité enregistrés dans le temps (Fig. 4.30ab), pour la bruche de haricot et le charançon du maïs traités avec différents extraits méthanoliques, montrent que l'extrait des graines de *T. vogelii* à 4 mg/ml semble être plus efficace pour les deux insectes ravageurs avec un taux de mortalité maximal de 88% au 5ème jour pour la bruche de haricot et un taux de 82% au 5 ème jour pour le charançon.

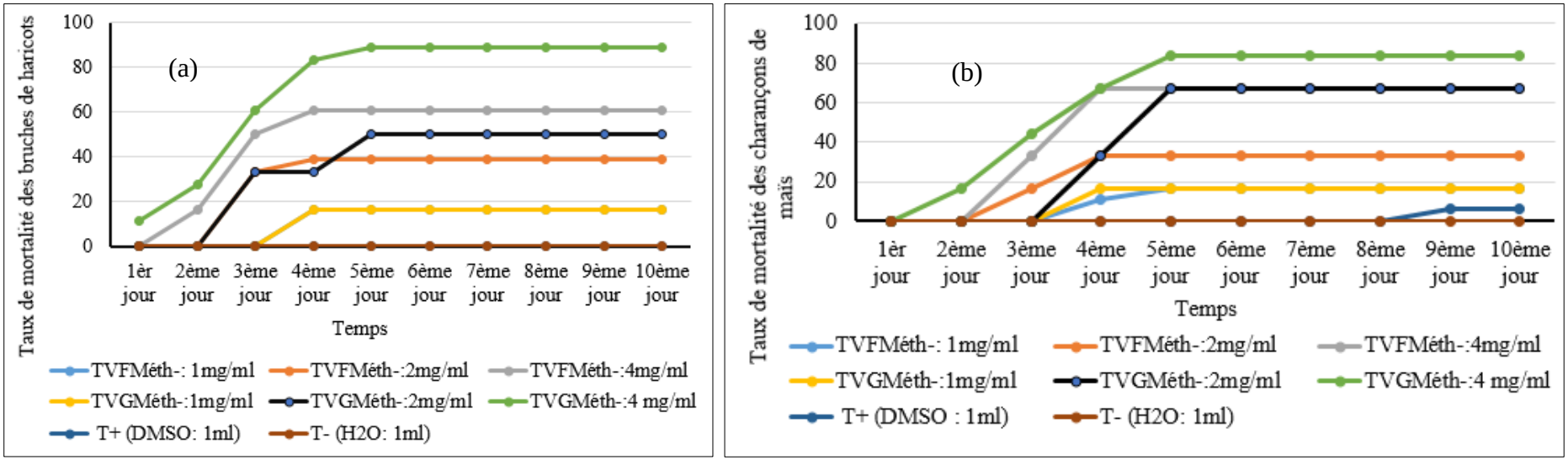


Figure 4. 30. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait le méthanol des feuilles et les graines *T. vogelii*

IV. 1. 4. 4. Analyse comparative de l'efficacité des extraits des graines de *R. communis* à feuilles blanches et de *T. vogelii* sur le charançon du maïs et la bruche de haricot

a. Efficacité des extraits au n-hexane des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*

Le taux de mortalité de 20% et de 38% de bruche de haricot traités respectivement par l'extrait à 4mg/ml des graines de *R. communis* et *T. vogelii* s'enregistre au 2ème jour après traitement (Fig.4.31a). Au 3ème jour, on observe un taux de mortalité de 50% de bruche de haricot pour les extraits au n-hexane de 4mg/ml des graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges ainsi que pour l'extrait à 2mg/ml des graines de *T. vogelii*.

Le taux de mortalité de bruche de haricot est de 100% au 5 ème jour avec les extraits au n-hexane de 4mg/ml pour les graines des deux plantes. Cependant, les extraits de 2mg/ml des graines de *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches atteignent un taux de mortalité dépassant 80%. Pour le charançon de maïs, un taux de mortalité de 50% s'enregistre pour l'extrait de 4mg/ml des graines de *R. communis* à feuilles blanches au 3ème jour et pour ceux de TVG de 4mg/ml et 2 mg/ml au 4ème jour (Fig. 4.31b). Mais, des taux de mortalité de 80% et plus de charançon du maïs s'observent, au 5ème jour, seulement pour les extraits au n-hexane de 4mg/ml des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*.

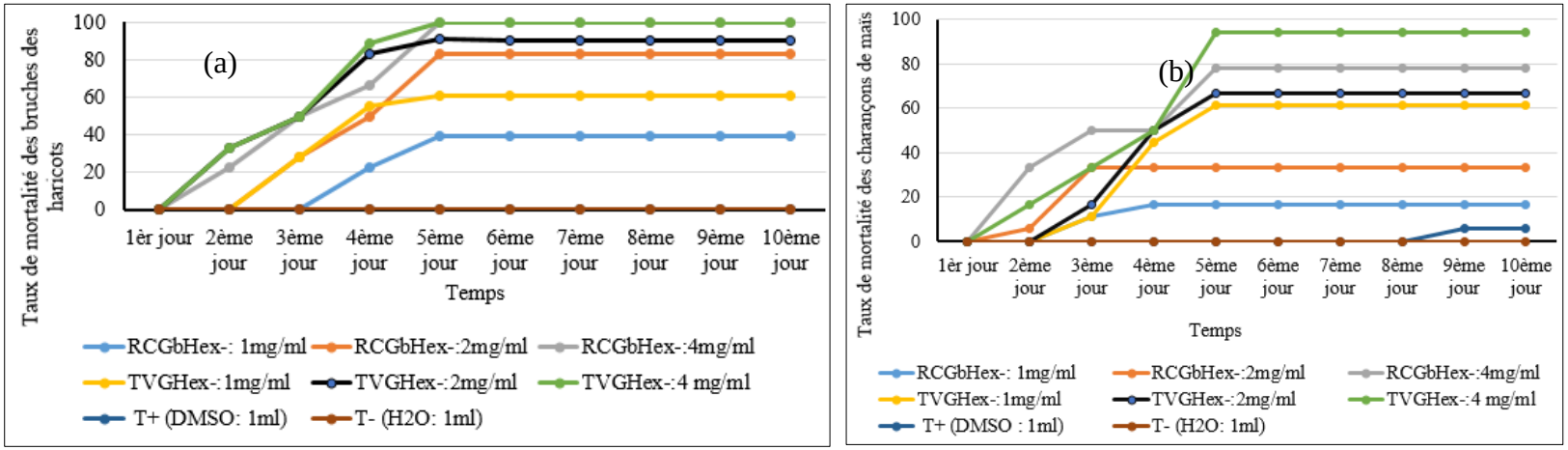


Figure 4. 31. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et des le charançon du maïs (b) traités par les extraits au n-hexane des graines de *R. communis* et *T. vogelii*

b. Efficacité des extraits à dichlorométhane des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*

Des taux de mortalité croissants de bruche de haricot traités par les extraits à 2 et 4mg/ml s'enregistrent dès le 2ème jour (Fig.4.32a). Pour le charançon du maïs traités avec les extraits à 4mg/ml des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*, les taux de mortalité de 30 et 35% s'enregistrent également dès le 2ème jour (Fig.4.32b). L'évolution du taux de mortalité se stabilise au 5ème jour avec le décès de plus de 80% de bruche de haricot.

Pour le charançon de maïs, l'extrait à 4mg/ml des graines de *R. communis* montre une meilleure efficacité avec un taux de mortalité supérieur à 60% (Fig.4.32b). Les extraits de 4mg/ml des graines de *R. communis* et *T. vogelii* montrent une meilleure efficacité sur la bruche de haricot (80%) alors que sur le charançon du maïs, seul l'extrait des graines de *R. communis* à feuilles blanches affiche une meilleure efficacité (plus de 60%).

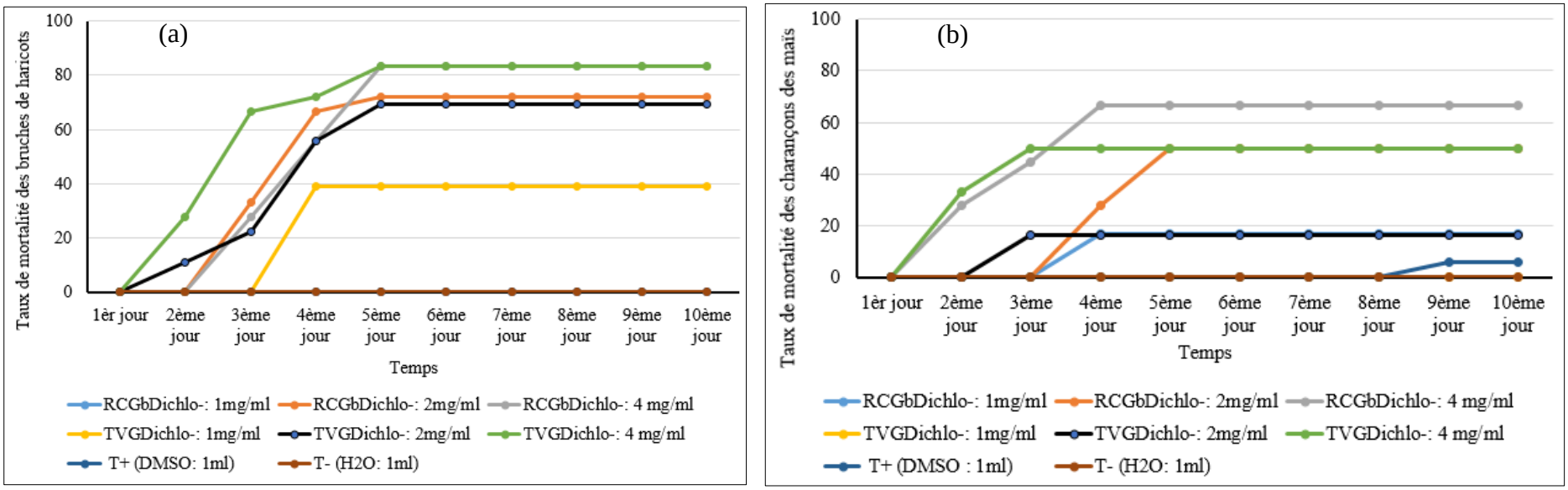


Figure 4. 32. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits à dichlorométhane des graines de *R. communis* et *T. vogelii*

c. Efficacité des extraits à acétate d'éthyle des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*

La figure 4.33a donne l'efficacité relative des extraits à l'acétate d'éthyle de trois concentrations différentes. Les extraits des graines de *T. vogelii* aux concentrations de 2 et 4mg/ml montrent des taux de mortalité maximale respectifs de plus de 70% et 100% pour la bruche de haricot au 5ème jour. De la figure 4.33b, il ressort l'efficacité des extraits à l'acétate d'éthyle de 4mg/ml des graines de *R. communis* et de *T. vogelii* avec des taux de mortalité respectifs de 60% et 50% de charançon du maïs au 3ème jour de traitement. Ce taux de mortalité est constant pour l'extrait de *T. vogelii* mais augmente pour l'extrait de *R. communis* jusqu'à atteindre un maximum de 80% au 5ème jour. Ces résultats montrent que les extraits à l'acétate d'éthyle des graines de *T. vogelii* sont à la fois efficaces contre la bruche de haricot et le charançon du maïs alors que les extraits à l'acétate d'éthyle des graines de *R. communis* seraient seulement efficaces contre le charançon du maïs.

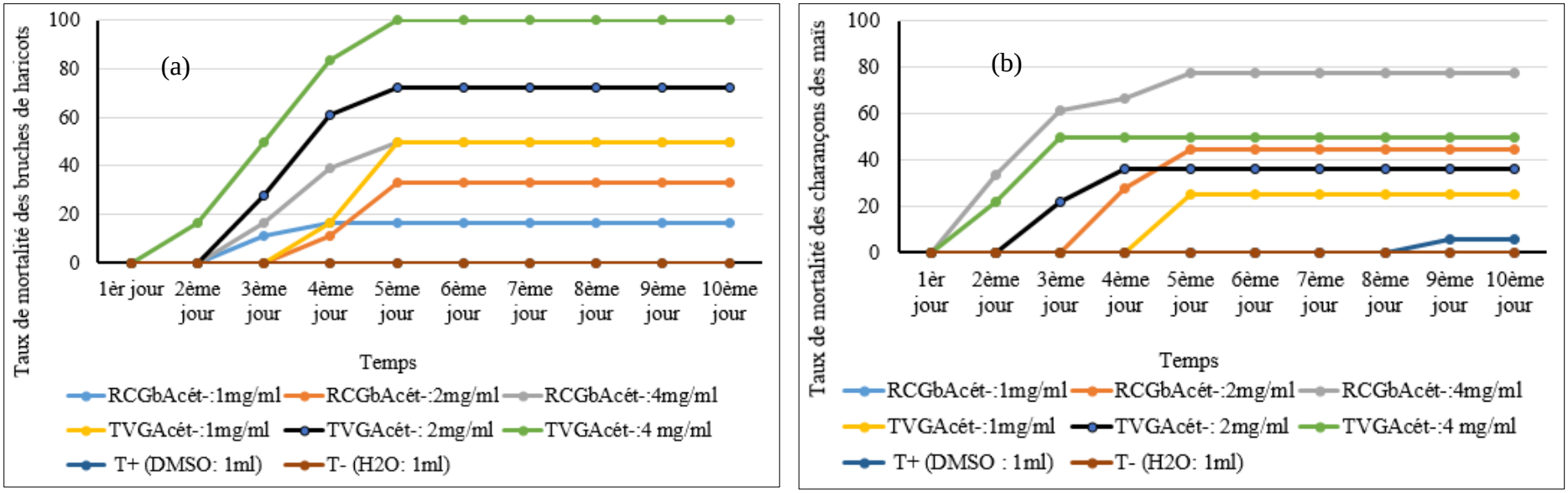


Figure 4. 33. Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par l'extrait à l'acétate d'éthyle des graines de *R. communis* et *T. vogelii*

d. Efficacité des extraits à méthanol des graines de *R. communis* et de *T. vogelii*

La figure 4.34a montre une évolution croissante, dans le temps, du taux de mortalité de bruche de haricot traités par les extraits à méthanol de différentes concentrations. Les extraits de 4mg/ml des graines des deux plantes affichent un taux de 50% au 3ème jour, lequel taux augmente pour se stabiliser à 85% au 5ème jour de traitement. Dans la figure 4.34b montrant l'évolution du taux de mortalité de charançon du maïs, seuls les extraits au méthanol de 2mg/ml et 4mg/ml pour *T. vogelii* ainsi que l'extrait au méthanol de 4mg/ml des graines *R. communis* ont atteint un taux de mortalité de 60% et plus; mais seul l'extrait à 4mg/ml des graines *T. vogelii* atteint un taux maximal de mortalité de 80% au 5 ème jour et il est le seul à avoir atteint un taux de mortalité de 50% au 3ème jour de traitement. Les extraits à méthanol à concentration légérement supérieure à 4mg/ml des graines de *R. communis* et *T. vogelii* seraient à la fois efficaces sur les deux insectes.

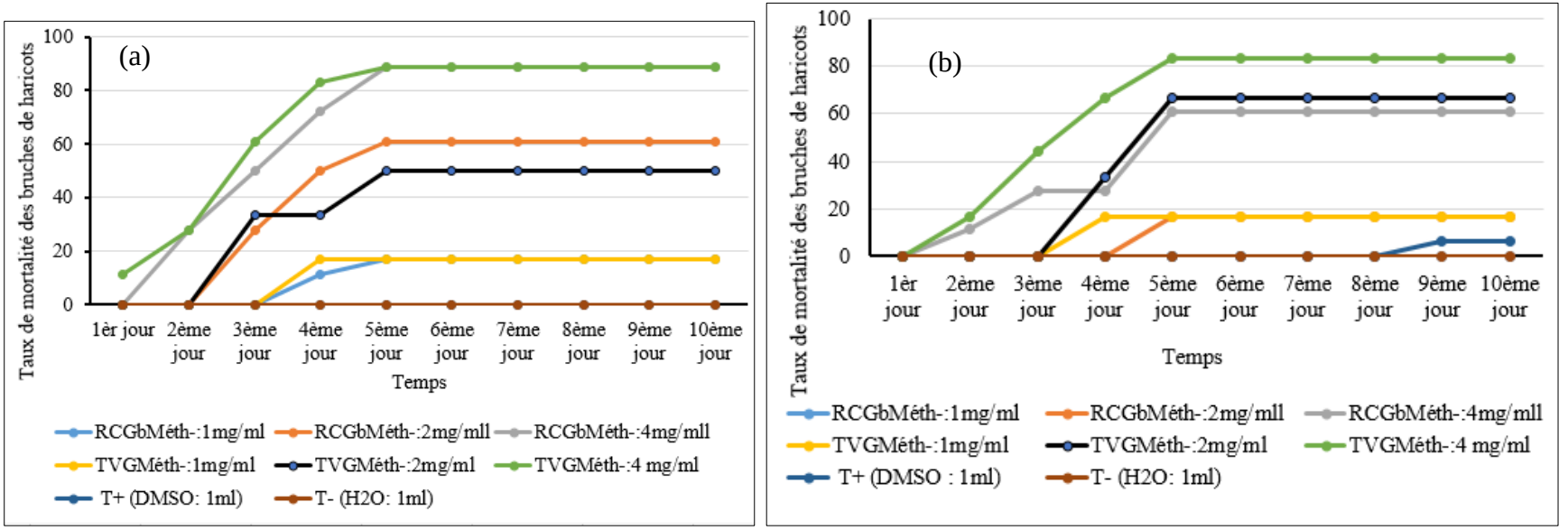


Figure 4. 34: Taux de mortalité cumulé de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) traités par les extraits à méthanol des graines de *R. communis* et *T. vogelii*

IV. 1.5. Comparaison des taux de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs en fonction des extraits des feuilles et des graines de *R. communis* et *T. vogelii*

La comparaison des taux de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs en fonction des extraits de feuilles et de graines de *R. communis* et *T. vogelii* a montré que les extraits à 4 mg/ml sont les plus efficaces sur la bruche de haricot et le charançon du maïs. En effet, après une période de 10 jours, un taux de mortalité de 100% pour la bruche de haricot a été observé pour les extraits hexaniques des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges mais aussi des graines du *R. communis* à feuilles blanches. Par contre, les extraits dichorométhanique et méthanolique des graines du *R. communis* à feuilles blanches atteignent une efficacité de 80% seulement. Ce même taux de mortalité est aussi obtenu avec les extraits au CH_2Cl_2 et méthanolique des feuilles de *R. communis* à feuilles rouge et à feuilles blanches respectivement (Fig.4.35a). Pour la lutte contre le charançon de maïs, les extraits hexanique et d'acétate d'éthyle des graines de *R communis* à feuilles blanches seraient plus efficaces avec un taux de mortalité de 80% sur une période de 10 jours après l'application (Fig. 4.35b).

En considérant les extraits à 4 mg/ml des feuilles et des graines de *T. vogelii*, on constate que l'extrait hexanique des graines de cette plante est efficace contre la bruche de haricot et le charançon du maïs avec un taux de mortalité de 100% (Fig. 4.36a). Par ailleurs, l'extrait hexanique des feuilles et l'extrait à l'acétate de la plante affichent aussi un taux de mortalité de 100% pour la bruche. Il faut également noter qu'un taux de mortalité de 80% est obtenu pour les bruche et le charançon en appliquant l'extrait méthanolique des graines de *T. vogelii* (Fig. 4.36ab).

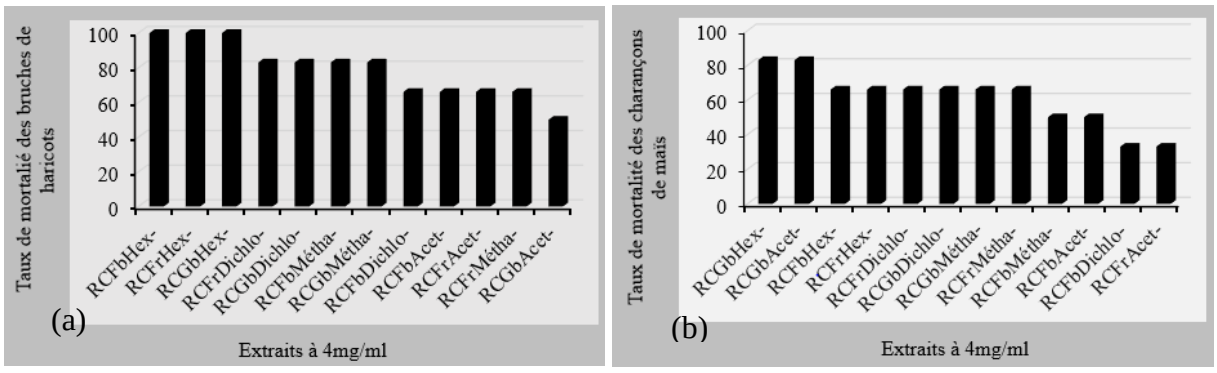


Figure 4. 35. Variation des taux de mortalité de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) en fonction des extraits à 4mg/ml des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur 10 jours

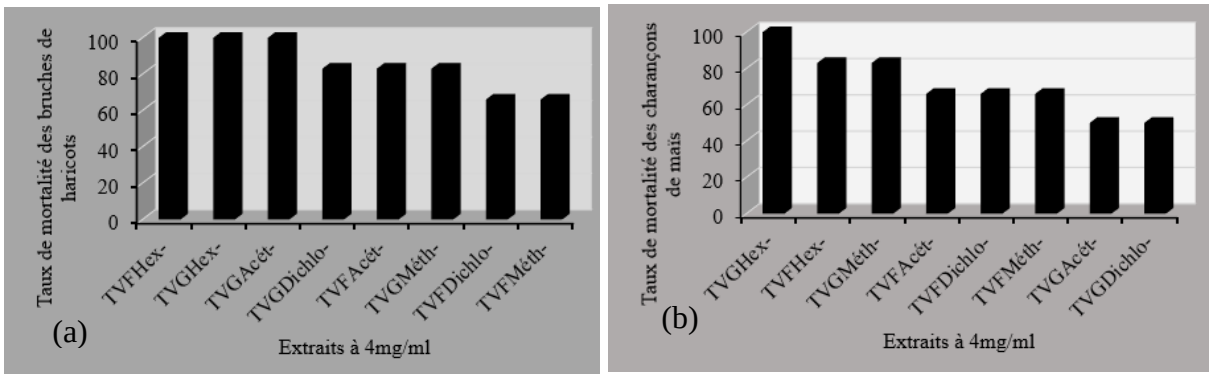


Figure 4. 36. Variation des taux de mortalité de bruche de haricot (a) et de charançon du maïs (b) en fonction des extraits à 4 mg/ml des feuilles et graines de *T. vogelii* sur 10 jours

IV.1.6. Comparaison des taux de mortalité moyens de bruche de haricot et de charançonsle charançon du maïs en fonction des extraits

Les moyennes de taux de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs ont été calculées pour les extraits des *R. communis* et *T. vogelii* qui ont decimés 50 % et plus des individus en 10 jours. Le tableau 4.9. donne les différentes moyennes des taux de mortalité de bruche de haricot et de charançon du maïs. Les résultats d'analyse de la variance (ANOVA) (P-value inférieur à 5%), ont montré que les moyennes des taux diffèrent selon les extraits et la dose. La comparaison des moyennes des taux de mortalité de charançon du maïs et de bruche de haricot entre différents extraits n'a pas montré de différence significative pour une même espèce d'insectes, une même espèce de plantes ainsi que pour un même solvant d'extraction car P-value est superieur à 5% (Tableau 4.7).

Les extraits de RCFbHex (9,4±0,12) et RCFrHex- (9,3±0,13) à 4mg/ml avec p-value = 0,9 par ailleurs, TVGHex- (10,04±0,16) et TVFHex-. (10,03±0,14) à 4mg/ml avec p-value =1, présentent des taux moyens de mortalité plus élevés pour la bruche de haricot. Par contre, l'extrait de TVGHex- (9,97±0,16) a provoqué un taux moyen de mortalité plus élevé pour le charançon de maïs.

Tableau 4.3. Résultats du test de student pour la comparaison des moyennes de mortalité journalier

	Bruche de haricot			**Le charançon du maïs**		
Doses (mg/ml)	**Types d'extraits**	**Moyenne de mortalité / jr (%)**	**P-value au seuil de 5%**	**Types d'extraits**	**Moyenne de mortalité (%)**	**P-value au seuil de 5%**
4	RCFbHex-	9,4±0,12	0,9	RCFbHex-	6±0,9	0,7
	RCFrHex -	9,3±0,13		RCFrHex-	7,08±0,10	
	RCFbMéth-	7,8±0,12	0,6	RCFbMéth-	5,03±0,11	0,8
	RCFrMéth-	7,23±0,13		RCFrMéth-	6,2±0,13	
	TVGDichlo-	8,28±0,9	0,6	TVFHex-	8,19±0,14	0,7
	TVFDichlo-	6,71±0,13		TVGHex-	9,97±0,16	
	TVFAcét-	8,92±0,13	0,4	TVFDichlo-	7,17±0,12	0,5
	TVGAcét-	9,97±0,13		TVGDichlo-	5,03±0,11	
	TVFHex-	10,04±0,16	1	TVGAcét-	5,02±0,10	0,6
	TVGHex-	10,03±0,14		TVFAcét-	6,41±0,9	
	TVFMéth-	6,07±0,11	0,09	TVGMéth-	8,27±0,11	0,5
	TVGMéth-	8,91±0,11		TVFMéth-	6,73±0,14	
2	RCFrHex-	7,2±0,14	0,6	RCFrHex-	4,97±0,8	1
	RCFbMéth-	5,7±0,7		RCFrMéth-	5±0,11	
	TVGDichlo-	6,91±0,11	0,7	TVFHex-	7,83±0,13	0,7
	TVGMéth-	5,03±0,11		TVGHex-	6,67±0,11	
	TVFAcét-	6,68±0,11	0,6	TVGMéth-	6,73±0,11	0,3
	TVGAcét-	7,18±0,12		TVFDichlo-	6,69±0,12	
	TVFHex-	8,97±0,14	0,9			
	TVGHex-	9,13±0,13				
1	TVGAcét-	4,97±0,11		TVGHex-	6,11±0,11	
	TVFHex-	9,39±0,15	0,3			
	TVGHex-	6,08±0,11				

La figure 4.37 montre la variation des moyennes des taux de mortalité de bruche de haricot en fonction des extraits qui ont décimés 50% des individus pendant 5 jours de traitement.

Nous constatons que les extraits hexaniques des graines et des feuilles de *T.Vogelii* à 4mg/ml ont un taux de mortalité journalier de 10% de bruche de haricot traités pendant 10 jours avec le même extrait. Pour cela, il s'avère nécessaire d'utiliser une dose supérieure à 4mg/ml pour obtenir un taux de mortalité de 50% de bruche de haricot par jour.

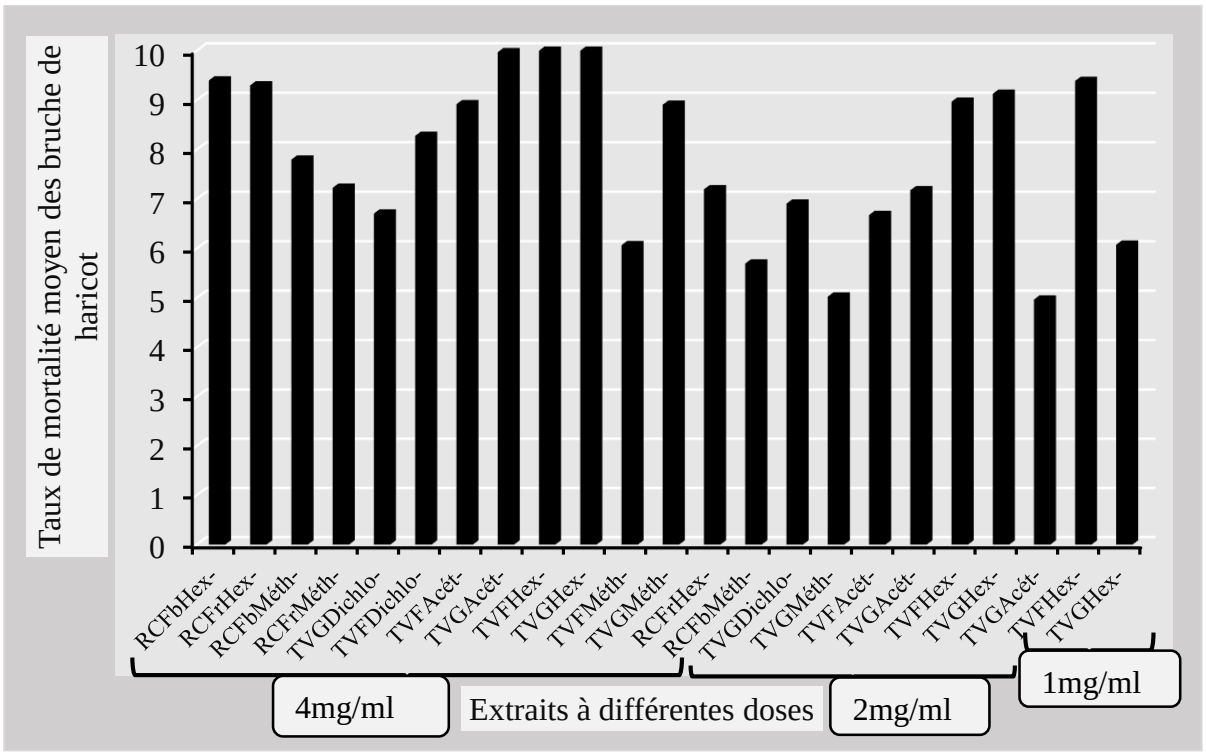


Figure 4. 37. Variation des taux de mortalités journaliers en fonction des extraits des feuilles et graines qui ont décimés 50% et plus de bruche de haricot

La figure 4.38 montre également la variation des moyennes des taux de mortalité de charançon du maïs en fonction des extraits qui ont décimés 50% des individus après 5 jours de traitement. Seul l'extrait TVGHex- à 4mg/ml a pu atteindre un taux de mortalité journalier de 10% des le charançon du maïs traités pendant 10 jours. Ainsi, il s'avère nécessaire d'utiliser une dose supérieure à 4mg/ml pour obtenir un taux de mortalité de 50% de charançon du maïs par jour.

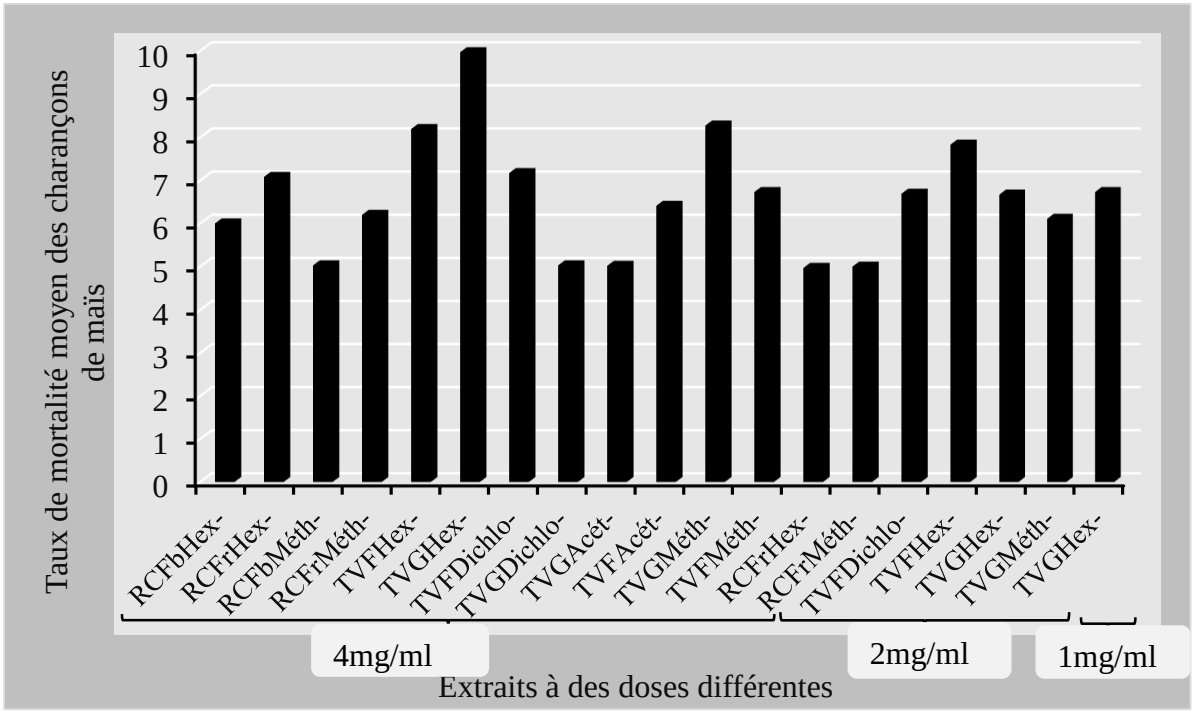


Figure 4. 38. Variation des taux de mortalité journalier en fonction des extraits des feuilles et graines ayant pu décimer 50% et plus de charançon du maïs

IV. 1. 7. Détermination des DL_{50}

IV.1.7.1. DL50 des extraits au n-hexane de *R. communis* sur la bruche de haricot

Le tableau 4.4 présente les DL_{50} déterminées sur chaque extrait hexanique issu des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur la bruche de haricot. Les résultats montrent que les extraits au n-hexane des feuilles de *R. communis* à feuilles blanches et rouges peuvent décimer 50% de bruche de haricot à une dose de 2,16 mg/ml et 1,83 mg/ml respectivement. Par ailleurs, l' extrait au n-hexane des graines de *R. communis* à feuilles blanches pourrait décimer 50% de bruche de à une dose de 1,5 mg/ml. Cette différence de dose montre que les graines de *R. communis* présente une toxicité élevée par rapport à l'extrait des feuilles, mais aussi que les feuilles rouges de *R. communis* seraient plus efficaces contre la bruche de haricot que les feuilles blanches.

Tableau 4. 4. Paramètres de calcul de la DL_{50} des extraits au n-hexane des feuilles et des graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges sur la bruche de haricot

Bruche de haricot							
Types d'extraits	**Dose (mg/ml)**	**N**	**n**	**%**	**a**	**b**	**(a×b)**
RCFbHex-	1	6	1	17	**1**	2	2
	2	6	3	50	2	4,5	9
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							11
DL_{50}							**2,16mg/ml**
RCFrHex-	1	6	2	33	**1**	3	3
	2	6	4	67	2	5	10
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							13
DL_{50}							**1,83mg/ml**
RCGbHex-	1	6	2	33	**1**	3,5	4
	2	6	5	83	2	5,5	11
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							15
DL_{50}							**1,5mg/ml**

DL_{50}= $DL_{100} - \Sigma (a \times b)/N$, a: différence entre deux doses successives; b : la moitié de la somme des individus morts entre deux doses successives; N : effectif total des individus dans une boîte de pétri, n : nombre d'individus morts dans une boîte de pétri.

IV.1.7.2. DL_{50} des extraits au n-hexane, à l'acétate d'éthyle de feuilles et des graines de *T. vogelii* sur la bruche de haricot

Les extraits au n-hexane de feuilles de 1 ; 2 ; et 4 mg/ml et graines de *T. vogelii* de 4mg/ml sur la bruche de haricot présentent un taux de mortalité de 100% après 10 jours de traitement (Tableau 4.5). Un taux de mortalité de 100% de bruche de haricot pendant les 10 jours de traitement a été également constaté pour les extraits à l'acétate d'éthyle des graines de *T. vogelii*. Ce tableau présente également les doses DL_{50} déterminées sur chaque extrait n-hexane ainsi que sur des extraits à l'acétate d'éthyle des feuilles et graines de *T. vogelii* sur la bruche de haricot. Les résultats montrent que les extraits au n-hexane des feuilles et des graines de *T. vogelii* peuvent décimer 50% de bruche de haricot à des doses de 1mg/ml et 1,33mg/ml respectivement. Mais, les extraits à l'acétate d'éthyle des graines *T. vogelii* déciment 50% de bruche de haricot à la dose de 1,75mg/ml. Ces résultats illustrent que n-hexane et l'acétate d'éthyle sont de bons solvants pour extraire des principes actifs dans les feuilles et les graines de *T. vogelii.*

Tableau 4. 5. Paramètres de calcul de la DL_{50} des extraits au n-hexane et à l'acétate d'éthyle des feuilles et des graines de *T. vogelii* sur la bruche de haricot

Bruche de haricot							
Types d'extraits	**Dose (mg/ml)**	**N**	**n**	**%**	**a**	**b**	**(a×b)**
TVFHex-	1	6	6	100	**1**	6	6
	2	6	6	100	2	6	12
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							18,0
DL_{50}							**1mg/ml**
TVGHex-	1	6	4	67	**1**	4,5	4,5
	2	6	5	83	2	5,5	11,5
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							16
DL_{50}							**1,33mg/ml**
TVGAcét--	1	6	3	50	**1**	3,5	3,5
	2	6	4	67	2	5,0	10,0
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							13,5
DL_{50}							**1,75mg/ml**

IV.1.7.3. DL_{50} des extraits au n-hexane des graines de *T. vogelii* sur le charançon de maïs

Pour tous les tests de toxicité sur le charançon du maïs des différents extraits, seul l'extrait au n-hexane à 4mg/ml des graines de *T. vogelii* a décimé100% des individus en 10 jours. Ainsi, la détermination de la DL_{50} des extraits au n-hexane pour le charançon du maïs donne une dose de 1,66 mg/ml (Tableau 4.10).

Tableau 4. 6. Paramètres de calcul de la DL50 des extraits au n-hexane des graines de *T. vogelii* sur le charançon de maïs

Le charançon du maïs							
Types d'extraits	**Dose (mg/ml)**	**N**	**n**	**%**	**a**	**b**	**(a×b)**
TVGHex-	1	6	4	67	**1**	4	4
	2	6	4	67	2	5	10
	4	6	6	100			
Σ (a×b)							14
DL_{50}							**1,66 mg/ml**

DL_{50}= $DL_{100} - \Sigma (a \times b)/N$, a: différence entre deux doses successives; b: moitié de la somme des individus morts entre deux doses successives ; N : effectif total des individus dans une boîte, n : nombre d'individus morts dans une boîte de pétri.

IV.2. Discussion des résultats

Les sept principes actifs alcaloïdes, saponosides, flavonoïdes, stéroïdes, tanins, phénols et glycosides sont tous présents uniquement dans les extraits à méthanol des feuilles de *T. vogelii* (TVF), de *R. communis* à feuilles rouges (RCFr) ainsi que dans l'extrait au n-hexane des feuilles de *R. comminus* à feuilles blanches (RCFb). Il est à constater que les solvants organiques d'extraction, méthanol et n-hexane, sont capables d'extraire en grande quantité les principes actifs présents dans différentes parties des plantes. D'après Stoll (2002), 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.

La teneur en alcaloïdes, saponosides, flavonoïdes, stéroïdes, tanins, phénols et glycosides varient selon l'espèce et l'organe de la plante ainsi que le solvant d'extraction utilisé. En effet, les extraits organiques des graines de *T. vogelii* (TVG) et de *R. comminus* à feuilles blanches (RCGb) obtenus avec n-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol, ne présentent pas à la fois tous ces principes actifs.

Une étude antérieure a montré que les alcaloïdes se trouvent en concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles, mais aussi que leur concentration est variable selon la période de récolte (Audigié et Zonszain, 1991). L'efficacité des extraits aqueux des feuilles fraiches de *T. vogelii* par rapport aux extraits aqueux des feuilles fraiches de *R. communis* sur la chenille legionnaire et le puceron noir serait liée à la présence des saponosides dans les feuilles de *T. vogelii*. Cela serait en accord avec Stoll (2002), qui a mentionné que les feuilles et les racines de *T. vogelii* présentent des propriétés insecticides. Il signale également que les feuilles et les graines de *T. vogelii* sont des insecticides efficaces contre les aphides et les insectes qui perforent la tige du maïs et que la teneur en principes actifs est plus élevée dans les feuilles et varie d'une plante à l'autre.

La présence des flavonoïdes, ayant des effets marqués sur le développement et le comportement des insectes, dans les feuilles de *T. vogelii* a aussi été signalée par Stoll (2002). Par ailleurs, les flavonoïdes provoquent, dans leur mode d'action, une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (Regnault-Roger et al., 2004). Par le goût désagréable des flavonoïdes, ces derniers repoussent certains insectes et jouent un rôle dans la protection des plantes (Macheix et al., 2005). La présence ou non d'un principe actif dans les organes récoltés de *T. vogelii* et *R. communis* serait responsable de l'efficacité de chaque extrait sur le puceron noir et les chenille légionnaire tout comme sur la bruche de haricot et les le charançon du maïs.

En plus, la toxicité des extraits aqueux sur la chenille légionnaire et le puceron noir et celle des extraits organiques sur la bruche de haricot et le charançon du maïs ont également varié en fonction de la plante, de l'organe utilisé et de la dose.

En effet, le taux de mortalité de puceron noir et de lachenille légionnaire est plus élevé pour les extraits aqueux des feuilles de *T. vogelii*, ce qui serait lié à la présence des saponosides dans cette partie de la plante. Selon Krief et Müller (2004) et Bruneton (1993), les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes et l'attaque microbienne et ils sont toxiques pour les animaux. Les plus grandes doses (250g/l) des extraits aqueux de RCFb, RCFr et TVF ont montré des taux de mortalité plus élevés de puceron noir pendant les 5 jours (Tableau 4.3). Pour l'extrait aqueux, TVF à 250g/l, il a fallu attendre 4 jours pour que 100% de puceron noir traités soient décimés. Et, pour la chenille légionnaire, seul l'extrait TVF à 250g/l, a un taux de mortalité plus élevé. Ces résultats corroborent avec les résultats trouvés par Johnson et al., 2006, où la mortalité est élevée avec l'élévation des doses. Ces résultats répondent à l'hypothèse selon laquelle les extraits *T. vogelii* et de *R. communis* à feuilles blanches et rouges n'auraient pas les mêmes effets toxiques à la fois sur le puceron noir et la chenille légionnaire.

Les extraits aqueux des feuilles de *R. communis* et *T. vogelii* sont efficaces sur les chenille légionnaire à l'état larvaire. Selon Tounou et al. (2010), les extraits aqueux et organique de *R. Communis* ont un fort effet larvicide. Par exemple sur *Plutella xylosotella* (Lépidoptère), il a été noté une mortalité de 100% suite au traitement des extraits de *R. communis*. La réduction des larves du deuxième stade des nématodes à galles a été rapportée sur les cultures de tomate et du bananier suite à l'application du *R. communis* (Laghdaf et Ferji, 2005).

Ghnimi et al. (2004) ont également démontré que les extraits aqueux de feuilles et de graines du ricin ont une activité larvicide contre *Culex pipiens* L., avec une mortalité de 100% après 24 heures d'exposition. Les extraits organiques des graines et des feuilles de *T. vogelii* ont montré une bonne efficacité sur la bruche de haricot et le le charançon du maïs par rapport aux extraits des feuilles et graines de *R. communis* à feuilles blanches et rouges. Selon Vettius Valens d'Antioche (2015), *T. vogelii* trouverait sa toxicité dans la présence d'alcaloïdes voisins de la roténone. Cette différence d'efficacité des extraits issus de *R.communis* et de *T.vogelii* répond à l'hypothèse selon laquelle les extraits des feuilles et des graines de *T. vogelii* et *R. communis* à feuilles blanches et rouges à une même dose n'auraient pas les mêmes effets toxiques sur la bruche de haricot et le charançon de maïs.

L'efficacité des extraits à l'hexane par rapport aux extraits à dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol serait liée aux propriétés volatiles de n-hexane capables d'extraire la majorité des principes actifs dans la solution. Il est normal qu'il soit un extrait plus efficace car selon Derraddji (2013), les extraits obtenus à l'aide de solvants organiques volatils sont plus complets puisqu'ils contiennent non seulement les composés volatils tels que les terpènes, mais aussi d'autres constituants (triglycérides, cires et colorants de nature lipidique).

Cette efficacité des extraits au n-hexane répond également à l'hypothèse selon laquelle les principes actifs de *T. vogelii* et *R. communis* de feuilles blanches et rouges n'auraient pas les mêmes effets sur tous les insectes ravageurs des cultures du maïs et de haricot ainsi que de leurs récoltes. Mais, l'efficacité plus élevée des extraits au n-hexane des feuilles et des graines de *R. communis* et *T. Vogelii* n'est pas en accord avec les résultats de Ramos-Lopez (2010), dont le fort effet toxique a été obtenu avec les extraits de méthanol, et d'acétone des feuilles de *R. communis* sur les larves de la chenille légionnaire.

Les extraits organiques à des doses plus élevées des feuilles et des graines de *R. communis* et *T. Vogelii* ont montré l'efficacité contre le charançon du maïs et la bruche de haricot mais à des niveaux différents. Selon Bigi et al. (2004), la ricine de *R. communis* est l'un des principes actifs qui a un effet insecticide très important. La ricine donne aussi un effet très important sur les larves de *Spodoptera frugiperda* (Lépidoptère) (Ramos Lopez, 2010). Les extraits des graines de *R. communis* et de *T. Vogelii* sont plus efficaces par rapport aux extraits des feuilles des mêmes plantes. Cette efficacité plus élevée des extraits de graines de *R. communis* et de *T. Vogelii* s'expliquerait par le temps qu'un organe de plante demeure sur sa plante hôte et qui fait que la plante ait un temps suffisant pour accumuler et concentrer un principe actif donné. L'étude antérieure de Ramos-Lopez (2010) a également montré que les extraits des graines présentaient une meilleure activité insecticide que les extraits des feuilles.

Conclusion et perspectives

Tout développement des cultures de céréales nécessite des méthodes de contrôles efficaces contre les ravageurs et l'un des facteurs clés de la sécurité alimentaire demeure une bonne conservation des récoltes.

Les resultats montrent que des extraits des feuilles et des graines de *R. communis* et de *T. vogelii* contiennent des principes actifs efficaces contre les insectes ravageurs de cultures et de récolte. Mais les principes actifs diffèrent d'une plante à une autre et selon l'organe de la plante. Les saponosides sont, par exemple, uniquement présents dans l'extrait aqueux de TVF. Les extraits aqueux sur le puceron noir, la chenille légionnaire ainsi que les extraits organiques sur la bruche de haricot et le charançon du maïs ont montré une efficacité différente en fonction de la dose et du solvant organique. Les doses de 250 g/l, 125 g/l des extraits aqueux et celle de 4mg/ml des extraits organiques ont donné des taux de mortalité plus élevés. La durée de vie de bruche de haricot et de charançon du maïs a été réduite pendant les 10 jours de traitement. Le même cas a été observé chez le puceron noir et la chenille légionnaire soumis au test de toxicité pendant 5 jours de traitement aux champs. Les extraits aqueux de TVF sont efficaces par rapport aux extraits aqueux de RCF sur la chenille légionnaire et le puceron noir.

Les différents tests de traitement révèlent que les extraits au n-hexane ont une efficacité plus élevée sur les 4 différents insectes par rapport aux extraits à dichlorométhane, à l'acétate d'éthyle et au méthanol. Ainsi, le solvant n-hexane constitue un bon solvant organique pour extraire les principes actifs des feuilles et des graines de *R. communis* et *T. vogelii*.

Nous suggérons (i) la valorisation des plantes insecticides et leur multiplication en vue de les exploiter dans la lutte contre les ravageurs des cultures et des récoltes pour un environnement adapté aux êtres vivants sont avérées nécessaires, (ii) la prévision d'un financement suffisant pour la recherche dans différents domaines en général et surtout dans des projets qui visent à l'amélioration du rendement agricole dont la production plus scientifique et raisonnée d'extraits des plantes insecticides, (iii) les différentes universités et institutions de recherche qui sont impliquées dans le domaine des sciences naturelles, de conjuguer les efforts pour la formation d'un centre de recherche spécialisé dans la recherche des plantes pesticides par l'implantation des jardins botaniques exemplaires (iv) aux chercheurs impliqués dans l'inventaire d'espèces de plantes biopesticides locales et non locales de construire une base de données y relative, (v) Aux chercheurs de différentes universités impliquées dans le domaine des sciences naturelles,

de construire une base de données sur l'inventaire des espèces animales ravageuses des cultures et des récoltes et leur méthode de lutte par l'utilisation des plantes pesticides adaptées.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Al-Qura'n, S. 2009. Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Showbak, Jordan journal ethnopharmacol. 123: 45-50p.
2. Amari N., 2014 : Etude du choix de ponte de la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* en présence de différentes variétés d'haricot et de pois chiche, et influence de quelques huiles essentielles (Cèdre, Ciste, Eucalyptus) sur activité biologique de l'insecte. Mémoire de mastère pp23, 23,25
3. Anjarwalla P, Belmain S, Sola P, Jamnadass R & Stevenson PC. (2016). Guide des plantes pesticides. World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi, Kenya
4. Audigie C. et Zonszain, F., 1991 : Biochimie structurale. Paris. Nouvelle Edition. Doin Editeur. 266p
5. Audigié, C., & Zonszain, F. (1991). Biochimie structurale, Université Mentouri - Constantine, Doin-éditeurs – Berlin.
6. Avilov, S.A., Kalinovsky, A.I., Stonik, V.A., Riguera, R., Jiménez, C. (1997). Koreaside A, a new nonholostane triterpene glycoside from the sea cucumber *Cucumaria koraiensis*. J. Nat. Prod. 60, 808−810.
7. Baudoin W. (2019). Phytosociologie et formulation des équations allometriques de de la biomasse des arbres des savanes des hautes terres de l'Ouest Cameroun. 76p
8. Bekr, A., Tlemcen, B., & Ii, P. (2015). Matériel et méthodes. 16–21.
9. Belouaer R. et Selahdja A. (2000). Synthèse bibliographique sur les méthodes de lutte contre les ravageurs des denrées stockées. 37p.
10. Benabdallah, H. (2015). Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Université Ferhat Abbas, Setif, 14–17.
11. Bendia, S. (2020). Polycopié du Cours : Techniques de séparation Partie du module " Chimie Analytique ". Université Frère Mentouri Constantine 1.
12. Bigi, M., Torkomian, L.V., Groote, TCS., Hebling, MJ., Bueno, O.C., Pagnocca, F.C., Fernandes, B.J., Vieira, C.P., Silva, M.F., 2004: Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant-A*ttasexdents rubropilosa* (*Hymenoptera: Formicidea*) and the symbiotic fung *Leucoagaricus gpogylophorus*. Pest. Manage.Sci. 60. P 933-938.

13. Bouchard P., Bousquet Y., Davies A. E., Alonso-Zarazaga M. A., Lawrence J. F., Lyal C. H. C., Newton A. F., Reid C. A. M., Schmitt M., Slipinski S. A. and Smith A. B. T., (2011): Familygroup names in Coleoptera (Insecta). ZooKeys 88: 1–972.
14. Bruneton J. 2009 : Pharmacognosie- Phytochimie, Plantes Médicinales (4ème édition). Tec and Doc – Éditions Médicales Internationales: Paris, France.
15. Bruneton, j., 1993 : *pharmacognosie-phytochimie : plantes médicinales*. 2ème édition. lavoisier paris.1120pParis, m. et Hurabielle, M., 1981 : *Abrégé des matières médicales (pharmacognosie)*. Masson. Paris.
16. Bruneton, J., 1999 : *Pharmacognosie-phytochimie : plantes médicinales*. 3ème édition. Paris. Lavoisier. 1120 p
17. CABI, (2017) : Sitophilus zeamais. https://www.cabi.org/isc/datasheet/10926
18. Cochet H.,(2020). Secteur agricole au Burundi: enjeu majeur des politiques de développement. Les crises politiques au Burundi et au Rwanda, 1995. pp.107-123.
    Corrêa A. S., Vinson C. C., Guedes R.N.C. and Oliveira L.O., (2012): Characterization and transferability of microsatellite markers in three weevil pest species of the genus Sitophilus (Coleoptera: Curculionidae). Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG 36570-000, Brazil.
19. Dedryver CA, Le ralec A , Fabre F (2010). The conflicting relationships between aphids and men : a review of aphid damageand control strategies .C.R 333:539-553.
20. Ghnimi Wafa., Dicko Amadou., Khouja Mohamed., Larbi et al., 2004: Larvicidal activity. Phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of live populations of *Ricinus communis* L. Introdustrial Crops and Products, vol. 56.P 43-51.
21. Grenier A. M., Nardon P. and Bonnot G., (1986) : Importance de la symbiose dans la croissance des populations de Sitophilus oryzae L. (Coléoptère Curculionidae). Etude théorique et expérimentale. Acta Oecologica Oecol. Applic., (7): 93-110.
22. Guèye MT. 2012 : Gestion intégrée des ravageurs de céréales et de légumineuses stockées au Sénégal par l'utilisation de substances issues de plantes. Thèse de doctorat, Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, 216 p.
23. Haba.H (2008). Thèse de doctorat, université El Hadj Lakhdar Batna.
24. Hayo, M. G., & Van der Werf, G. (1997). Evaluer de l'impact des pesticides sur l'environnement. *INRA, station d'Agronomie*, 18p.
25. Hazard R., 1986. *Précis de thérapeutique et de pharmacognosie. Collection des précis médicaux*. Masson et Cie. 938p

26. Holland J.M., Frampton G.K., Çilgy T., Wratten S.D., 1994. Arable acronyms analysed - a review of integrated arable farming systems research in Western Europe. Ann. appl. Biol., 125, 399-43
27. 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.
28. Thorez J. P. 2002. Puceron, mildiou, limaces, prévenir, identifier, soigne bio, pp: 182
29. Kachare, S.V., Surywanshi, S.R., 2010. Ethnomedicine on jaundice from district Nanded. *Int. J. Current Res*., 10, pp 25-27.
30. Kalita, J.C., Chakrabarty, A., Tanti, B., 2011. Assessment of antifertility activity of some traditionally used plants by different ethnic communities in three districts of Assam. I*ndian J. of Herbal Medicine and Toxicology*, 5, pp 65-72.
31. Khan, M.R., Ndaalio, G., Nkunya, M.H.H., Wevers, H., 1978. Studies on the rationale of African traditional medicine. Part II-preliminary screening of medicinal plants for anti-gonococci activity. Pakistan J. Sci. Res., 27, pp 189-192.
32. Khani, A. & Tahar, R., 2012: Chemical Composition and Insecticide Activity of Essential Oil from *Coriandrum sativum* Seeds against *Tribolium confusum* and *Calosobruchus maculatus*. International Scholarly Reserch Network, ISRN Pharmaceutics, Vol 2012 ,P5
33. Kopferschmitt J.Flesch F., Lugnier A., Sauder P., Jaeger A., Mantz J.M. 1983. Acute voluntary intoxication by ricin. Hum toxicol, 1983 ; 2 : 239-242.
34. Kota & Manthri, (2011). Antibacterial activity of R. *communis* leaf extract. International journal of pharmaceutical sciences and research, Vol. 2(5): 1259-1261p.
35. Krief, S., & Müller, S. K. (2004). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pantroglodytes schweinfurthii) en Ouganda.
36. Kumar, Ray. 1991. *La lutte contre les insectes ravageurs: la situation de l'agriculture africaine*. KARTHALA Editions.
37. Laboratoire d'entomologie appliquée et fonctionnelle (LENA) (2021). Protocole d'élevage de la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda*).
38. Laghdaf, T., Ferji, Z. 2005 : Evolution de plantes nématicides et produits. Nation sur les substances naturelles : La valorisation et développement, Errachidia, Marco. P 29-30.
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. Mabossy-Mobouna, G., Bouyer, T., Latham, P., Roulon-Doko, P., Konda Ku Mbuta, A., & Malaisse, F. (2016). Preliminary knowledge for breeding edible caterpillars in Congo-Brazzaville. *Geo-Eco-Trop: Revue Internationale de Géologie, de Géographie et d'Écologie Tropicales*, *40*(2).
41. 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.
42. Maroyi, A., 2007. R. communis L. [Internet] Fiche de PROTA4U. Van der vossen, H.A.M. & Mkamilo, G.S. (Editeurs). PRORA (Plant Ressources of tropical Africa /Ressources végétales de l'Afrique tropicale), Wageningen, Pays Bas.
43. Martin, P., Sarter, S., Tagne, A., Ilboudo, Z., Marnotte, P., & Silvie, P. (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. AfrONet.
44. Mikolo B., Massamba D., Matos L., Lenga A., Mbani G. et Balounga P., (2007).Conditions de stockage et revue de l'entomofaune des denrées stockées du Congo Brazza ville. J.Sci. 7, N°1, 30-38.
45. Mossa A., 2016: Green Pesticides: Essential Oils as Biopesticides in Insect-pest Management. Journal of Environmental Science and Technology, 9(5), 354-378.
46. Mutlu H, Meier MAR. 2010. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. Europian journal lipid Sciences technologies 2010 ; 112 :10-30
47. Nasri, I. (2017). Etude phytochimique et activités biologiques de *Diplotaxis sp*: application à l'étude des cellules souches coliques pathologiques Imen Nasri. HAL Id : tel-01578064.
48. Nath, S., Manabendra, D.C., Shubhadeep, R.C., Das, A.T., Sirotkin, A.V., Zuzana, B., Kádasi, A., Nora, M., Adriana, K., 2011. Restorative aspect of castor plant on mammalian physiology. J.Microbiol. Biotech. Food Sci., 1, pp 236-246
49. Ndomo, Agnès Flore, A. L. Tapondjou, F. Tendonkeng, et F. Mbiopo Tchouanguep (2009). « Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae) ». *Tropicultura* 27(3):137–143.

50. Ngezahayo J. (2016). Plantes médicinales du Burundi et maladies infectieuses: enquête ethnobotanique et activités antibactériennes directe et indirecte de composés isolés de *Platostoma rotundifolium* (Briq.) A. J. Paton (Lamiaceae). Thèse de doctorat, Université Libre de Bruxelle, faculté de pharmacie, 274p.
51. Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. and Simons A. (2009). Agroforestree Database: a tree reference and selection guide version 4.0
52. PNUD (2018). Plan national de Développement du Burundi. 149p.
53. Polvèche V. (1996). La culture du ricin en Europe. 6, p. 49 - 58p.
54. Ramos-López, M.A., Pérez, S., Rodriguez-Hernánez, G.C., Guevara-Fefer, Zavala Sanchez, M.A. 2010: Activity of *Ricinus communis* (Ephorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae). African Journal of Biotechnolog Y, 9P9.
55. Redlinger, Leonard M., Larry J. Zettler, Robert D. & Richard A. Simonaitis. 1988. « Evaluation of pirimiphos-methyl as a protectant for export grain ». *Journal of economic entomology* 81(2):718–721.
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 Product Research, 40(4), 395–408.
57. Rihab B. et Amina S. (2020). Synthèse bibliographique sur les méthodes de lutte contre les ravageurs des denrées stockées. 37p.
58. Balachowsky, A. S. (1962). Entomologie appliquée à l'agriculture. Tome I. Coléoptères. Premier volume. *Entomologie appliquée à l'agriculture. Tome I. Coléoptères. Premier volume.* Sofowora A, (1982). Medical plants and traditional medicine in Africa, John Wiley § Sons Ltd., New York.
59. Sophie A. et Eherhart N. (2003), La phytothérapie se soigner par les plantes, ed.Eyrolles
60. Stoll, G. (2002). Protection naturelle des végétaux en zones tropicales: vers une dynamiquede l'information. AGRECOL/CTA/Margraf Verlag.
61. Tounou Agbéko Kodjo., Mawussi Gbénonchi., Amadou Stade., Agboka Komi., Gumedzone Yaovi., Mawauena Dieudonné., Sanda Komla. 2011: Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsion of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Ephorbiaceae) on the diamondback. *Plutella xylosotella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semifield conditions.

62. Vettius Valens d'Antioche. (2015). Les Planètes. Anthologies - Livre I, 1957, 26–51. https://doi.org/10.1163/9789004301412_004
63. Visen, P., Shukla, G., Tripathi, S., Kulshreshtha, D., Srimal, R., Dhawan, B., 1992. Hepatoprotective activity of *R. communis* leaves. Int. J. Pharmacogn., 30, pp 241-250.
64. Weiss, E.A., 2000. Oil seed crops. 2nd Edition. Black well Science, London, United Kingdom. pp: 364.
65. Windholz M. 1983. The Merck Index, an encyclopedia of chemicals, drugs and biological, 10 thed. Merck and col, Rhway, NJ, 1993 ; 1067.
66. Wojciechowski et Henryk. Coulomb amplitude representation and nuclear diffraction and refraction. *Canadian journal of physics*, 2004, vol. 82, no 3, p. 177-183.
67. Yoshiki, Y., Kudou, S., Okubo, K. (1998). Relationship between chemical structures and biological activities of triterpenoid saponins from soybean. Biosci. Bioéthanol. Biochem. 62, 2291−2299.
68. Yamaura, A., Isobe, K., Karasudani, H., Tanaka, M., & Komiya, H. (1991). Dissecting aneurysms of the posterior inferior cerebellar artery. *Neurosurgery*, *28*(6), 894-898.
69. Wee, Y., Park, S., Kwon, Y. H., Ju, Y., Yeon, K. M., & Kim, J. (2019). Tyrosinase-immobilized CNT based biosensor for highly-sensitive detection of phenolic compounds. *Biosensors and Bioelectronics*, *132*, 279-285.
70. Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
71. Khelil, M. A. (1977). Influence de la chaleur utilisée comme moyen de lutte contre la bruche du haricot Acanthoscelides obtectus Say (Coleopterae: Bruchidae) sur les différents états et stades de développement. *Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA El Harrach*.

ANNEXES

Annexe 1. Moyennes des taux de mortalité (%) de puceron noir traités par des extraits aqueux de RCFb, RCFr et TVF à 250 et 125g/l

Dose	**250g/l**			**125g/l**		
Type d'extraits	**RCFb** ^{ab}	**RCFr**^{a}	**TVF**^{b}	**RCFb**^{cd}	**RCFr**^{c}	**TVF**^{d}
Taux de mortalité/jour	15±0,15	16±0,14	20±0,14	10±0,1	11±0,11	13±0,18

Annexe 2. . Moyennes des taux de mortalité de la chenille légionnaire traités par RCFb, RCFr et TVF à 250 et 125g**/l**

Dose	**250g/l**			**125g/l**		
Type d'extraits	**RCFb** ^{ab}	**RCFr** ^{ab}	**TVF**^{b}	**RCF**^{c}	**RCFr** ^{c}	**TVF**^{c}
Taux de mortalité/jour	11,2±0,15	11,2±0,11	13,4±0,94	6,6±0,98	6,6±0,98	6,6±0,98