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

Etude photochimique et efficacité bio pesticide des extraits de tithonia diversifolia et de solanum aculeastrum contre les insectes ravageurs des plantes et des récoltes : cas de la chenille légionnaire, des pucerons noirs, des bruches de haricots et des charançons de maïs

Niyimpaye, Régis

2023-08
UB, Faculté des Sciences
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/392

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

UNIVERSITE DU BURUNDI

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET EFFICACITÉ BIOPESTICIDE DES EXTRAITS DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* ET DE *SOLANUM ACULEASTRUM* CONTRE LES INSECTES RAVAGEURS DES PLANTES ET DES RECOLTES : CAS DE LA CHENILLE LEGIONNAIRE, DES PUCERONS NOIRS, DES BRUCHES DE HARICOTS ET DES CHARANÇONS DE MAÏS

Par:

Régis NIYIMPAYE

Sous la direction de :

Dr Manassé NIHORIMBERE

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

Orientation: Contrôle et Analyses Chimiques

Bujumbura, Août 2023

MEMBRES DU JURY

Président : Dr NGEZAHAYO Jérémie,

Directeur : Dr NIHORIMBERE Manassé

Secrétaire : Professeur NIZIGIYIMANA Liberata

DEDICACE

A ma chère épouse et mes enfants

A mon père défunt et ma mère

A mes frères et sœurs

Je dédie ce mémoire

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, mes sincères remerciements vont à l'endroit de toute personne ayant contribué au déroulement et à l'aboutissement de ce mémoire.

Je remercie chaleureusement, Docteur Manassé NIHORIMBERE, promoteur et directeur de ce mémoire pour la qualité de son encadrement, sa constante disponibilité, sa bonne humeur, ses compétences scientifiques, ses conseils et critiques m'ont été fort utiles pour la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont également à l'endroit des membres du jury, Dr NGEZAHAYO Jérémie et Professeur NIZIGIYIMANA Liberata, pour leur disponibilité, leurs conseils et critiques qui sont fort utiles pour l'amélioration de ce travail ainsi qu'au Professeur NDUWARUGIRA Déogratias qui nous a guidé lors de l'élevage des insectes.

Mes sincères remerciements s'adressent, plus spécialement, au Professeur NIZIGIYIMANA Libérata, Coordonnateur du projet « Biopesticides » qui m'a aidé dans la collecte des échantillons, mais aussi dans les différentes analyses ainsi que les agents d'INADES-Formation Burundi de Kirundo qui ont accepté de me guider malgré leurs nombreuses obligations dans mes recherches surtout pour le travail de terrain.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont contribué à ma formation intellectuelle depuis l'école primaire jusqu'à l'Université, et plus particulièrement ceux de la Faculté de Sciences- Département de Chimie, pour la formation scientifique et humaine bénéficiée de leur part.

Je n'oublie pas tous mes proches, toutes mes connaissances qui m'ont permis de souffler, de me changer les idées et de me remotiver.

Enfin, je voudrais exprimer ma haute reconnaissance à mes parents, à mon épouse, à mes frères et sœurs pour leur aide, leurs encouragements et leur soutien moral et matériel.

Régis NIYIMPAYE

RESUME

La culture de maïs et de haricot fait face à des attaques de nombreux ravageurs dans le champ et en stock. Parmi ces ravageurs, la chenille légionnaire d'automne et les pucerons noirs réduisent respectivement le rendement pour le maïs et le haricot dans le champ. Il en est de même pour les charançons de maïs et les bruches de haricots en stock. Ainsi, pour trouver des alternatifs aux insecticides de synthèse utilisés contre ces ravageurs, l'activité pesticide des extraits de *T. diversifolia* (TD) et de *S. aculeastrum* (SA), très utilisées traditionnellement comme pesticide, ont été testés sur ces ravageurs. Pour cela, les extraits organiques et aqueux obtenus par macération ont été criblés pour leurs effets pesticides contre la chenille légionnaire, les pucerons noirs, les charançons et les bruches. Les résultats ont montré que les extraits aqueux des feuilles de TD sont plus efficaces que ceux de SA sur la chenille légionnaire et le puceron noir.

Cette efficacité se remarque à travers une mortalité élevée de chenilles légionnaires (88,9 %) et de pucerons noirs des haricots (91,1 %) avec une dose de 250 g/L. La dose létale 50 est de 149,375 g/L des extraits aqueux des feuilles de TD contre les pucerons noirs et 125,68 g/L des mêmes extraits contre la chenille légionnaire.

De plus, les extraits hexaniques de TD, avec une concentration de 4 mg/mL, ont causé une mortalité élevée de 83,3 % pour les charançons de maïs avec une dose létale 50 de 2,77 mg/mL et une mortalité de 100 % avec une dose létale 50 de 2,09 mg/mL contre les bruches de haricots. Par contre, les extraits hexaniques des feuilles de SA avec une concentration de 4 mg/mL ont entrainé une mortalité élevée de 50 % pour les charançons de maïs et de 88,9 % pour les bruches de haricots. Les extraits hexaniques des fruits de cette même espèce est à l'origine d'une mortalité élevée de 61,1 % pour les charançons de maïs et de 100 % pour les bruches de haricots.

Ces résultats montrent clairement que les deux espèces contiennent des substances à activités pesticides, ce qui expliquerait leur utilisation traditionnelle contre les insectes ravageurs des champs et des récoltes alimentaires au Burundi.

Mots-clés : Plante pesticide, *Tithonia diversifolia, Solanum aculeastrum,* macération, insectes ravageurs

SUMMARY

Maize and bean crops are subject to several attacks by numerous pests in the field and in storage. Among these pests, fall armyworm and black aphids respectively reduce corn and bean yields in the field. The same applies to corn weevils and bean bruchids in stock. So, to find alternatives to the synthetic insecticides used against these pests, the pesticidal activity of extracts of *Tithonia diversifolia* (TD) and *Solanum aculeastrum* (SA), traditionally widely used as pesticides, were tested on these pests. Organic and aqueous extracts obtained by maceration were screened for their pesticidal effects against armyworms, black aphids, weevils and bruchids. The results showed that the aqueous extracts of TD leaves were more effective than those of SA on armyworm and black aphid.

This efficacy can be seen in the high mortality of armyworms (88.9%) and black bean aphids (91.1%) at a dose of 250 g/L. The lethal dose 50 is 149.375 g/L of aqueous extracts of TD leaves against black aphids and 125.68 g/L of aqueous extracts of TD leaves against armyworm.

In addition, hexane extracts of TD with a concentration of 4 mg/mL caused high mortality of 83.3% for corn weevils with a lethal dose 50 of 2.77 mg/mL and 100% mortality with a lethal dose 50 of 2.09 mg/mL against bean bruchids. In contrast, hexane extracts from SA leaves at a concentration of 4 mg/mL resulted in high mortality of 50% for maize weevils and 88.9% for bean leaf bruchids. Hexane extracts from the fruits of the same species caused high mortality of 61.1% for corn weevils and 100% for bean leaf bruchids.

All these results clearly show that both species contain substances with pesticidal activity, which would explain their traditional use against insect pests of fields and food crops in Burundi.

Keys words: Pesticide plant, *Tithonia diversifolia*, *Solanum aculeastrum*, maceration, insect pests

TABLE DES MATIERES

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

DEDICACE ..... **ii**

REMERCIEMENTS ..... **iii**

RESUME ..... **iv**

SUMMARY ..... **v**

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

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

LISTE DES TABLEAUX ..... **xii**

LISTE DES ABRÉVIATIONS ..... **xiii**

AVANT-PROPOS ..... **xv**

CHAPITRE 0 : INTRODUCTION GENERALE **1**

0.1. Présentation du sujet 1

0. 2. Problématique et hypothèse 2

0. 3. But et intérêt de notre travail 3

0. 4. Objectif du travail 4

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES BIOPESTICIDES ETUDIEES ET LES INSECTES RAVAGEURS CIBLES **5**

I.1. Généralités sur les plantes biopesticides étudiées 5

I. 1. 1. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray 5

I. 1. 2. Le *S. aculeastrum* Dunal 7

I. 2. Généralités sur les insectes ravageurs des champs et des récoltes 10

I. 2 .1. Les insectes ravageurs des champs 11

I. 2 .1. 1. La chenille légionnaire d'automne 11

I. 2.1.2. Le puceron noir du haricot 17

I. 2 .2. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes 18

I. 2.2.1. Les bruches du haricot en stock 18

I.2 .2.2. Le charançon des maïs en stock 19

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES 21

II. 1. Matériel végétal 21

II. 1. 1. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage 21

II. 1. 2. Séchage et préparation des échantillons 24

II. 2. Matériel animal 25

II. 2.1. La chenille légionnaire et les pucerons noirs 25

II. 2. 2. Les bruches de haricots et les charançons de maïs 25

II. 2. 3. Elevage des insectes ravageurs 26

II. 2. 3.1. Elevage des chenilles légionnaires 26

II. 2. 3.2. Elevage des characons des maïs (*Stophilus zeamais*) 28

II. 2. 3.3. Elevage des bruches de haricot (*Acanthoscelides obtectus*) 29

II. 3. Préparations d'extraits des plantes étudiées 29

II. 3.1. Préparation d'extrait aqueux des feuilles fraiches 29

II. 3. 2. Test de toxicité des extraits frais sur la chenille légionnaire et les pucerons noirs 30

II. 3. 2. 1. Test de toxicité sur les chenilles légionnaires 30

II.3.2.2. Test de toxicité sur le puceron noir 32

II. 3. 3. Préparation des extraits des parties sèches des plantes 33

II. 3. 3. 1. Les solvants utilisés 33

II.3.3.2. L'extraction de différents groupes chimiques 33

II. 3.4. Test de toxicité des différents extraits au contact des charançons de maïs et des bruches de haricots 34

II. 3.4.1. Préparation des solutions 35

II. 3. 4. 2. Test de toxicité proprement dit 35

II. 4. Calcul du taux de mortalité et de DL_{50} 35

II. 5. Analyses statistiques 36

II. 6. Le criblage phytochimique des extraits frais et secs des feuilles et des fruits des plantes étudiées 36

CHAPITRE III : PRESENTATION ET INTERPRETATION DES RESULTATS 38

III. 1. Présentation des résultats 38

III.1. 1. Rendement d'extraction des principes actifs de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* par les solvants organiques 38

III.1. 2. Effet insecticide des extraits aqueux de *T. diversifolia et* de *S. aculeastrum* sur la chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*) 39

III.1. 3. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait aqueux de TDf pour les chenilles légionnaires 40

III.1. 4. Effet insecticide des extraits aqueux de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le puceron noir 41

III.1. 5. Détermination de la dose létale 50 des extraits aqueux des feuilles de *T. diversifolia* sur les pucerons 42

III.1. 6. Effet insecticide de différents extraits secs de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le charançon de maïs 43

III. 1. 6. 1. Effet insecticide des extraits de TDF, SAcF et SAcFr sur les charançons de maïs en fonction de temps 43

III. 1. 6. 2. Comparaison des espèces de plantes en fonction de leur toxicité 45

III. 1. 6. 3. Comparaison des moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits organiques 46

III. 1. 6. 4. Comparaison des doses de TDF E Hex en fonction de leurs effets toxiques 46

III. 1. 6..5. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait hexanique des feuilles T. diversifolia sur les charançons 47

III.1. 7. Effet insecticide de différents extraits de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le bruche de haricot *Acanthoscelides obtectus* (Say) 47

III. 1. 7. 1. Effet de toxicité par contact sur les bruches de haricots 47

III. 1. 7. 2. Comparaison des différents extraits des deux plantes en fonction de leurs effets toxiques 49

III. 1. 7. 3. Comparaison des moyennes des taux de mortalité journalière pour les différents extraits 50

III. 1. 7. 4. Comparaison des différentes doses de TDF Hex en fonction de leurs effets toxiques 51

III. 1. 7. 5. Détermination de la dose létale 50 51

III.1. 8. Résultats du criblage phytochimique 52

III. 2. Discussion et interprétation des résultats 54

CONCLUSION GENERALE 56

SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES 58

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 59

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1. Feuilles et fleurs de *T. diversifolia* 5

Figure 1-2. Structure de camphene (a) , limonene (b), junipene (c) et 3-carene (d) (Njuguna et al., 2022) 7

Figure 1-3. S. aculeastrum Dunal 8

Figure 1-4. Structure de solamargine (a) et solasonine (b) (Burger et al., 2018) 10

Figure1-5. Propagation de la CLA en Afrique (a1) et les provinces du Burundi plus touchées par la CLA (a2) (FAO/MINEAGRI, 2018) 13

Figure 1-6. Cycle de vie de la chenille légionnaire (Ndayiragije et al., 2019) 15

Figure 1-7. Les différents stades larvaires de la chenille d'automne (Prasanna et al., 2018) 16

Figure 1-8. Cycle de vie du puceron noir (Raval et al., 2006) 18

Figure 1- 9. Cycle de vie d'A. obtectus (Say) (Djilali, 2012) 19

Figure 1-10. Cycle de vie du charançon de maïs (a), Charançon adulte (b) et larvaire (c) (Kouwelton, 2019) 20

Figure 2-11. Matériel : GPS (a) et récolte des différents échantillons de *T. diversifolia* (b) récolte de S. aculeastrum (c) 22

Figure 2-12. Carte de localisation de la zone d'échantillonnage 23

Figure 2-13. Séchage des échantillons : feuilles de T. diversifolia (a), feuilles de S. aculeastrum (b), fruits de S. aculeastrum (c) 24

Figure 2-14. Champ de haricot pour la culture des pucerons noirs (a), haricots déjà infestés par les pucerons noirs (b), champ de maïs infesté par la CLA (c) 25

Figure 2-15. Processus de l'élevage de la chenille légionnaire d'automne 26

Figure 2-16. Elevage des charançons de maïs 28

Figure 2-17. Elevage de bruche de haricot 29

Figure 2-18. Extraction à l'eau (a), Extraits aqueux de 250 g/L (b), différentes doses des solutions aqueuses (c) 30

Figure 2- 19. Subdivision du champ (a), pied des maïs attaqué par la CLA (b), préparation des lots (c) à traiter et pulvérisation (d) 31

Figure 2-20. Dénombrement des pucerons noirs 32

Figure 2- 21. Photos d'ampoule à décanter lors de l'extraction (a) et d'évaporateur rotatif (b) 33

Figure 3-22. Evolution journalière de la mortalité (%) des chenilles légionnaire en fonction des concentrations des extraits aqueux de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* 40

Figure 3-23. Evolution journalière de la mortalité (%) des pucerons noirs en fonction des concentrations des extraits aqueux de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* 42

Figure 3-24. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits de TDF de concentration de 4 mg/ml en fonction du temps 44
Figure 3-25. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits organiques de SAcF de concentration de 4 mg/ml en fonction du temps..... 44
Figure 3-26. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits de SAcFr de concentration de 4mg/ml en fonction du temps 45
Figure 3-27. Comparaison des extraits en fonction des différentes espèces de plantes à une concentration de 4 mg/mL DMSO 45
Figure 3-28. Courbe des taux de mortalité des bruches de haricots traités par les différents extraits de TDF de concentration à 4 mg/mL en fonction du temps..... 48
Figure 3-29. Courbe de taux de mortalité des bruches de haricots traités par les différents extraits de SAcF de concentration de 4 mg/ml en fonction du temps..... 48
Figure 3-30. Courbe de taux de mortalité de bruches de haricot en fonction de temps 49
Figure 3-31. Moyennes de taux de mortalité des bruches de haricot par différents extraits 50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1. Classification de *T. diversifolia* 6

Tableau 1-2. Classification du *Solanum aculeastrum* 8

Tableau 2-3. Variation de la masse des échantillons en fonction du temps du séchage à l'ombre à l'air libre 24

Tableau 3-4. Résultats d'extraction avec les différents solvants organiques 38

Tableau 3-5. Résultats des mortalités CLA en fonction du temps 39

Tableau 3-6. Paramètres de calcul de DL50 41

Tableau 3-7. Paramètres de calcul de DL50 43

Tableau 3-8. Moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL 46

Tableau 3-9. Résultats des moyennes de mortalités en fonction des doses de TDF Hex 46

Tableau 3-10. Données des paramètres de calcul de DL50 47

Tableau 3-11. Moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL 50

Tableau 3-12. Moyennes des taux de mortalité pour différentes doses de TDF Hex 51

Tableau 3-13. Paramètres de calcul de DL50 51

Tableau 3-14. Résultats du criblage phytochimique des extraits aqueux 52

Tableau 3-15. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits organiques des parties de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* 53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AcEt : acétate d'éthyle

CLA : Chenille légionnaire d'automne

DCM : dichlorométhane

DL: dose letale

DMSO: dimethylsulfoxide

FAO: Food and agriculture Organization / Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation

FAW : Fall Army Worm

FIDA : Fonds international des Nations Unies pour le développement agricole

g: gramme

GPS: Global Positionning System

Hex: hexane

IPSS : International Prostate Score Symptoms

J : jours

L: litre

MeOH : méthanol

mg: milligramme

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

mL: millilitre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation non gouvernementale

P H D: Pesticides Hautement dangereux

P.E.S : Protection, Environnement et Santé

PNUE : Programme des Nations Unies pour l'Environnement

S : *Solanum*

SAcF : *Solanum aculeastrum* feuille

SAcFAq : *Solanum aculeastrum* feuille solution aqueuse

SAcFr : *Solanum aculeastrum* fruit

SPSS: Statistical Package for Social Sciences

T : *Tithonia*

TDF : *Tithonia diversifolia* feuille

TDFAq : *Tithonia diversifolia* feuille solution aqueuse

UNEP : United Nations Environment Programme

µg : microgramme

µl : microlitre

AVANT-PROPOS

Ce mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Master en Sciences chimique option contrôle et analyse chimique.

Il étudiera la phytochimie deux plantes biopesticides et l'efficacité des extraits de ces deux plantes biopesticides, *T. diversifolia* (TD) et *S. aculeastrum* (SA), contre la chenille légionnaire, le puceron noir, les charançons de maïs et les bruches de haricots par de test de toxicité afin de déterminer les doses efficaces et spécifiques à chaque extrait et à chaque ravageur

Ce travail de recherche trouve son origine du constat que la culture de maïs et de haricot fait face à attaques de nombreux ravageurs dans le champ et en stock. Parmi ces ravageurs, la chenille légionnaire d'automne et les pucerons noirs qui réduisent respectivement le rendement pour le maïs et le haricot dans le champ. Il en est de même pour les charançons de maïs et les bruches de haricots en stock. Deux espèces de plante, *T. diversifolia* (TD) et de *S. aculeastrum* (SA) sont traditionnellement utilisées au Burundi contre les insectes et plus particulièrement par les agriculteurs de Kirundo contre les ravageurs des plantes et de récoltes Grace à leur activité pesticide. Elles peuvent être des alternatives aux insecticides de synthèse utilisés contre ces ravageurs.

Ce travail de recherche est une contribution à l'étude de ces deux plantes utilisées par les agriculteurs de Kirundo dans la lutte contre les ravageurs des cultures et des récoltes. Son objectif global est de contribuer à la valorisation des biomolécules responsables de l'activité pesticide en étudiant le pouvoir biopesticide de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* utilisés par les agriculteurs dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes.

Ainsi une étude phytochimique et les test d'efficacité des extraits de ces deux plantes biopesticides contre la chenille légionnaire, le puceron noir, les charançons de maïs et les bruches de haricots par de test de toxicité et la détermination des doses efficaces et spécifiques à chaque extrait et à chaque ravageur ont été proposées pour contrôler ces insectes avec les extrait de ce plantes pesticides.

Des difficultés rencontrées, l'élevage des chenilles n'a pas réussi du fait que les papillons n'ont pas pu s'accoupler. Cette situation nous a mené à faire des tests sur les plants de maïs se trouvant dans la Faculté d'Agronomie et Bio-ingénierie (FABI) de l'Université du Burundi.

CHAPITRE 0 : INTRODUCTION GENERALE

0.1. Présentation du sujet

L'agriculture burundaise est la pierre angulaire de l'économie nationale et familiale et demeure la source de croissance des autres secteurs de la vie nationale. Le secteur agricole de la République du Burundi compte 39,6% du produit intérieur brut, 84% de l'emploi et 95% de l'approvisionnement alimentaire du pays (FIDA, 2022). Les ravageurs et les maladies des plantes sont surtout parmi les nombreux facteurs influençant la production vivrière en Afrique et pouvant compromettre la totalité de la récolte.

L'utilisation des pesticides pour combattre les ennemis des plantes constitue une méthode rapide à appliquer, à effet immédiat, mais délicate et dangereuse si elle n'est pas accompagnée d'importantes mesures de contrôle pour réduire les effets négatifs (P.E.S, 2021). Plus de 20 000 décès par an parmi un million de cas d'intoxication par ces produits sont signalés dans le monde (WHO/UNEP, 1989). L'Afrique utilise moins de 10 % de la production mondiale des pesticides mais compte 75 % des cas mortels dus aux pesticides (Savadogo et al, 2016).

Au Burundi, les agriculteurs continuent à faire aussi recours aux insecticides dont 53% des pesticides homologués (P.E.S, 2021). Des PHD sont utilisés en polycultures et aussi dans le stockage des denrées et des cultures sur pieds. En plus de leur dangerosité, les pesticides synthétiques ne sont pas facilement accessibles (Anjarwalla, 2016). Pour ceux qui peuvent en avoir, il n'est même pas facile ni pour les organisations non gouvernementales, ni pour les particuliers, d'obtenir des informations en rapport avec la gestion des produits chimiques, auprès du Gouvernement (P.E.S, 2021). De plus, l'utilisation non raisonnée de pesticides est actuellement combattue aussi bien par les défenseurs de l'environnement, les protecteurs des consommateurs que par l'industrie phytopharmaceutique elle-même (Deravel et al., 2013).

En Afrique, l'espèce *S. frugiperda* entraînait des pertes économiques d'environ 2,5 à 6,2 milliards de dollars américains par an pour seulement 12 grands pays producteurs de maïs en Afrique ; 41 % de perte des maïs au Ghana et en Zambie et 57 % en Tanzanie (Hailu et al., 2018 ; Makirita, 2020). De même, autant que les pucerons noirs dans les champs de haricot, les bruches de haricots ruinent les stocks (Kasongo et al., 2021). En Afrique en général et au Burundi en particulier, les fortes infestations de la chenille observées prouvent qu'il y a un manque d'ennemis naturels suffisants et efficaces. (Ndayiragije et al., 2019).

Après la récolte, les pertes causées par les ravageurs de champs peuvent s'amplifier au cours de la conservation des graines sèches lorsqu'elles ne sont pas protégées des attaques des coléoptères *Bruchidae* qui sont de redoutables ravageurs des graines en pré- et post-récolte pour les espèces sensibles. L'utilisation des plantes biopesticides est très ancienne et gagne aujourd'hui un intérêt auprès du public (Savadogo et al., 2016). Ainsi, ce recours aux pesticides naturels respectueux de l'environnement est une alternative aux pesticides synthétiques (Bélanger et al., 2005).

En Afrique comme ailleurs dans le monde, l'usage des plantes pesticides se révèle être une pratique ancestrale (Deravel et al., 2013). Dans certaines régions, certains agriculteurs à faible revenu font usage des plantes à effet insecticide, comme méthode alternative de lutte, pour protéger les denrées alimentaires en stockage (Ndomo et al., 2009). La flore du Burundi est aussi pleine de plantes diversifiées dont certaines sont des pesticides potentiels. Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides sont identifiées (Fatiha et al., 2013). Ainsi, faire recours aux biopesticides et lutter biologiquement sont actuellement des méthodes à conseiller dans le contrôle des ravageurs des champs et de stocks.

L'exploration de la biodiversité végétale locale pour la résolution des problèmes phytosanitaires permettra de valoriser et de préserver les connaissances et les savoir-faire traditionnels dans les pays et surtout ceux du Sud (Pierre et al., 2018). Malheureusement, les agriculteurs utilisent souvent des extraits provenant de différentes parties de ces plantes (racines, écorces, feuilles, etc.) avec des doses largement supérieures ou inférieures à ce qui est nécessaire (Poisot et al., 2018).

C'est dans cette optique de contribuer aux recherches déjà entreprises que ce travail de fin d'études est intitulé : « Etude phytochimique et efficacité biopesticide des extraits de *Tithonia diversifolia* (mukobwandagowe) et de *Solanum aculeastrum* (umunemberi) contre les insectes ravageurs des plantes et des récoltes: cas de la chenille légionnaire, des pucerons noirs, des bruches de haricots et charançons de maïs ».

0. 2. Problématique et hypothèse

La Chenille légionnaire d'automne (CLA) est un ravageur potentiellement nuisible qui continuera à se répandre en raison de ses caractéristiques biologiques (Ndomo et al., 2009). Le maïs a été particulièrement attaqué par la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda*) dans 90% des communes du Burundi dont 33 ont été touchées à un niveau moyen ou élevé (FAO, 2018).

En dépit de problèmes de disponibilité de stockage et de coût, les produits chimiques sont utilisés d'une façon abusive et impropre dans la plupart des pays africains (Cissokho et al., 2015).

Néanmoins, *S. frugiperda* développe et présente une grande faculté d'adaptation et de résistance aux produits utilisés aussi rapidement (cas de Thiodan, Emacot et Goggat utilisés contre cette chenille) aux insecticides chimiques (Guera et al., 2020 ; Bateman et al., 2018 ; FAO, 2018). L'utilisation des extraits végétaux contre les insectes de stocks, est connue depuis longtemps, selon LIPPERT (1988), la pulvérisation de l'infusion à base de feuilles d'absinthe séchées sur les céréales stockées est utilisée afin d'éloigner les charançons et les vers de la farine (Fatiha et al., 2013).

Un nombre non négligeable de plantes pesticides se retrouve dans les aires protégées du Burundi (PHD, 2021). Parmi ces plantes ayant des propriétés pesticides, il y a le *T. diversifolia* (mukobwandagowe) et le *S. aculeastrum* (umunemberi). L'efficacité de *T. diversifolia* en tant que termiticide a été démontrée (Diby et al., 2015). Le *S. aculeastrum* (umunemberi) est aussi connu comme ayant un pouvoir insecticide surtout contre les pestes (PHD, 1999).

Bien que ces deux plantes soient connues comme biopesticides de même que les ravageurs cibles, une dose serait plus efficace que l'autre.

0. 3. But et intérêt de notre travail

Les problèmes de contamination de l'environnement, de résistance des ravageurs et des effets nocifs sur les organismes non visés ont contribué au renouveau d'intérêt pour les molécules présentes dans les végétaux et les agents de contrôle des insectes.

Le but de ce travail est d'étudier la phytochimie des deux plantes le *T. diversifolia* et le *S. aculeastrum* et d'évaluer leur efficacité biopesticide contre les insectes ravageurs des plantes et des récoltes (impongwa), dont la chenille légionnaire, les pucerons noirs (ubudabuda) et les charançons (ubunyundo).

L'intérêt de ce travail réside dans le fait que les résultats obtenus pourraient contribuer au renforcement et à l'amélioration des pratiques utilisées dans l'agriculture et dans la conservation des récoltes au Burundi. L'utilisation des deux plantes pesticides à grande échelle assurerait à moyen terme la protection de la santé humaine et de l'environnement. Les extraits efficaces de ces plantes pesticides seraient conditionnés de manière à substituer les produits pesticides synthétiques trop coûteux et nuisible à la santé dans le traitement phytosanitaire des cultures.

0. 4. Objectif du travail

Globalement, notre travail va contribuer à la valorisation des biomolécules responsables de l'activité pesticide en étudiant le pouvoir biopesticide de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* utilisés par les agriculteurs dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes.

Spécifiquement, notre étude consiste à :

- Etudier phytochimiquement ces deux plantes biopesticides,
- Tester la toxicité des extraits de ces deux plantes biopesticides contre la chenille légionnaire, le puceron noir, les charançons de maïs et les bruches de haricots,
- Déterminer leurs doses efficaces et spécifiques à chaque extrait et à chaque ravageur.

Notre travail est subdivisé en trois chapitres. Le premier chapitre présente les généralités sur les plantes biopesticides étudiées, les insectes ravageurs ciblés ainsi que les techniques d'extraction des principes actifs. Le second chapitre est consacré au matériel et méthodes. Le troisième chapitre contient les résultats sur le criblage phytochimique, le test du pouvoir pesticide des extraits des deux espèces de plantes ainsi que la discussion sur les résultats.

Ce travail se clôture par une conclusion générale et les différentes perspectives envisageables.

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES BIOPESTICIDES ETUDIEES ET LES INSECTES RAVAGEURS CIBLES

I.1. Généralités sur les plantes biopesticides étudiées

L'homme a depuis longtemps fait recours aux plantes insecticides. Des fermiers chinois utilisaient *Illicium lanceolatum* (dès le 7e siècle av. J.-C) pour protéger leurs cultures contre les insectes, les aconits étaient utilisés (au moyen-âge) contre les rongeurs. Des récits indiens datant du 17e siècle rapportent l'utilisation des racines *de Derris ferruginea* et de *lonchocarpus sericeus* pour leurs propriétés insecticides (Deravel et al., 2013).

Les agriculteurs du café mélangent cinq espèces végétales : *Tephrosia vogelii* (Intaruhunwa)), *Neorautanenia mitis* (Intembe), *Capsicum frutescens* (Pilipili) et *T. diversifolia* pour lutter contre les insectes ravageurs du caféier. Concrètement, dans le cas du traitement des parasites du haricot, le *Tithonia* est combiné avec *Tephrosia vogelii* et le ricin pour traiter les pucerons noirs du haricot (Ndihokubwayo et al., 2021).

I. 1. 1. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray

T. diversifolia (Asteraceae) (Fig.1-1) est une plante envahissante de plus en plus remarquée au Burundi. En plus de quelques utilisations (non publiées) ici au Burundi, des études ont conclu sur ses activités antipaludiques, grâce à sa molécule de Tagitinine C (Goffin et al., 2002) ; et sur ses activités répulsives (Anjarwalla, et al., 2016). Il peut aussi être utilisé pour le traitement des inflammations douloureuses (Owoyele et al., (2004) in Ndihokubwayo et al., 2019).



Figure 1-1. Feuilles et fleurs de *T. diversifolia*

a. Classification de l'espèce

La classification du *T. diversifolia* se résume dans le Tableau1

Tableau 1- 1. Classification de *T. diversifolia*

Règne	**Division**	**Classe**	**Ordre**	**Famille**	**Tribu**	**Genre**	**Espèce**
Plantae	Magnoliophyta	magnoliopsida	Astérales	Astéraceae	Heliantheae	Tithonia	*T.diversifolia*

Nom binominal ou taxonomique: *T. diversifolia* (Hemsl) Gray

Synonyme : *Mirasolia diversifolia Hemsl*

b) Habitat et répartition de *T. diversifolia* (Hemsl) Gray

C'est une espèce des Asteraceae originaire d'Amérique centrale, elle est devenue pantropicale (qui se localise dans toute la zone tropicale). On la trouve par conséquent dans une grande partie des pays d'Afrique, sur la zone tropicale.

c) Utilité de *T. diversifolia*

Plusieurs études sur l'utilisation de *T. diversifolia* ont été faites pour son usage comme engrais vert ou servant de supplémentation dans l'alimentation des animaux (Noumbissi, 2014). *T. diversifolia* est l'une des Astéracées les plus rencontrées dans les exploitations en jachères, au bord des routes et aux alentours des maisons. Il peut également être utilisé pour le traitement des cas d'inflammations douloureuses (Owoyele et al., 2004 in Diouf et al., 2014). Sa présence sur un sol témoigne de la fertilité de ce dernier et est favorable aux cultures telles que : maïs, soja, niébé, gombo, sorgho, coton etc.

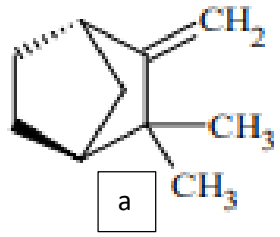
Outre sa potentialité de fertilisation, le *T. diversifolia* a la propriété de protéger les cultures contre les ravageurs et les maladies parfois car toutes les cultures de son entourage ne sont point attaquées et produisent en qualité et en quantité.

Il est utilisé comme termiticide. En effet, son utilisation en arrosage régulier dans les plantations d'arbres fruitiers a montré une meilleure croissance et une réduction importante de l'attaque des termites (Diby et al., 2015). Il agit également contre les insetctes *Aphis gosypii*, *Thrips tabaci* et *Bemisia tabaci* (Njuguna et al., 2022). Les fleurs séchées réduites en poudre sont reconnues pour la conservation des semences, contre le bruche du haricot entre autres.

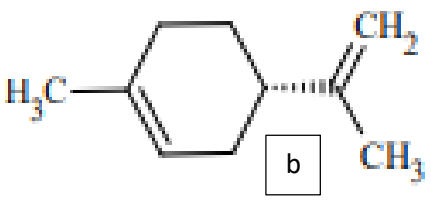
Le *Tithonia* est utilisé comme plante à propriétés insecticides/insectifuges par les paysans du Kivu (RD Congo) dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures contre *Ootheca mutabilis Chrysomelidés* ravageurs de haricot (*Coleoptera Chrysomelidae*) et *Ophiomyia spencerella* contre la mouche du haricot (*Diptera Agromyzida*) (Munyuli et al., 2018).

d) La phytochimie de *T. diversifolia*

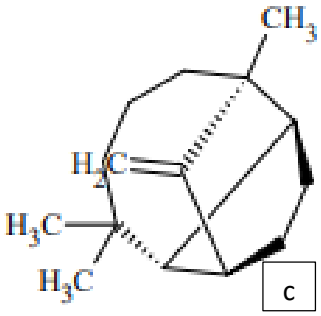
Le *Tithonia* contient des lactones sesquiterpéniques qui sont réputées être de bons insecticides (Diby et al., 2015). Des études ont montré ses activités antipaludiques grâce à sa molécule de Tagitinine C (Goffin et al., 2002) ; et sur ses activités répulsives (Oyewole et al., 2008). Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of the essential oil leaves revealed the presence of different bicyclic monoterpènes, sesquiterpenoids, cyclic monoterpènes and fatty alcohol (Njuguna et al., 2022):



Camphene (terpène bicyclique)

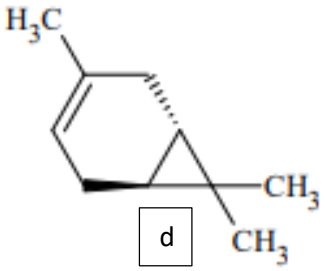


Limonène (monoterpène cyclique)



1,4- méthanoazulene (junipene) :

Sesquiterpène bicyclique



3-carene (monoterpène bicyclique)

Figure 1-2. Structure de camphene (a), limonene (b), junipene (c) et 3-carene (d) (Njuguna et al., 2022)

I. 1. 2. Le *S. aculeastrum* Dunal

Le *S. aculeastrum* (Fig. 1-3), connu sous le nom de « pomme amère de chèvre », est originaire d'Afrique. En Afrique du Sud, il a été utilisé pour traiter diverses maladies humaines et animales, en particulier les troubles de l'estomac et divers cancers (Koduru et al., 2006).



Figure 1-3. *S. aculeastrum* Dunal

a. **Classification de l'espèce**

La classification du *S. aculeastrum* se résume dans le Tableau 1-2.

Tableau 1-2. Classification du *Solanum aculeastrum*

Sous genre	**Classe**	**Ordre**	**Famille**	**Genre**	**Espèce**
Plantae	*Magnoliopsida*	*Solale*	*Solanaceae*	*Solanum*	*Solanum aculeastrum*

b) Répartition géographique

S. aculeastrum, arbrisseau originaire d'Asie tropicale, assez répandu dans la région de Nouméa, le long des pistes, en forêt (Mont Koghi, Mont Mou...), a des propriétés cholagogues (décoction de feuilles). Parmi les autres *Solanum* croissant en Nouvelle-Calédonie, signalons encore une espèce herbacée anthropophile très épineuse, riche en saponine, qui, tout en étant assez toxique constituerait un analgésique et un sédatif nerveux efficace. *S. camptostylum* BIT., sous-arbrisseau de maquis (Tiébaghi) et *S. tetrandtum* R.BR., arbrisseau répandu dans tout le domaine néo-calédonien, y compris les loyautés, surtout sur les pentes rocheuses, ces deux derniers s'étant révélés à l'analyse très riches en alcaloïdes.

Le *S. aculeastrum* est aussi connue dans les vastes étendus d'Afrique de Sud (Savadogo et al., 2016) mais largement décrit par les auteurs kenyans (Wanyonyi A W, 2003, Kama-Kama, Koduru S V et al .2008, Linet T L et al.2015).

c) Utilité de *S. aculeastrum*

Les usages du *S. aculeastrum* sont multiples notamment contre les troubles de l'estomac, divers cancers. Il est aussi antimicrobien (10 germes), antifongique (5 germes), anti leishmanien (Munyantwari et al., 2019). Il est aussi utilisé en médecines traditionnelles en cas de troubles mictionnels des sujets masculins ayant l'âge de plus de 50 ans et soulage même les formes IPSS sévères moyennant 3 prises en 3 mois. La famille des Solanacées est particulièrement intéressante du point de vue pharmacologique, beaucoup d'espèces étant riches en alcaloïdes, certaines d'autres sont très toxiques.

Comme utilité pesticide, le *S. aculeastrum* Dunal agit contre la mouche du haricot (*Diptera : Agromyzida*), le *Megalurothrips sjostedti* thrips contre les ravageurs des haricots et tomates (*Thysanoptera : Thripidae*) (Munyantwari et al., 2019).

e) La phytochimie de *S. aculeastrum*

La chimie du *S. aculeastrum* est faite d'alcaloïdes stéroïdiens glycosidiques dont la tomatidine et la solasodine ont un effet apoptotique. Deux molécules (Solamagine et β-solamarine), extraites des baies et des écorces des racines de *S. aculeastrum* Dunal ont démontré une activité molluscicide (Ndihokubwayo et al., 2021). Deux molécules d'alcaloïdes stéroïdiens glycosidiques ont été identifiées : Solamargine et solasonine (Burger et al., 2018).

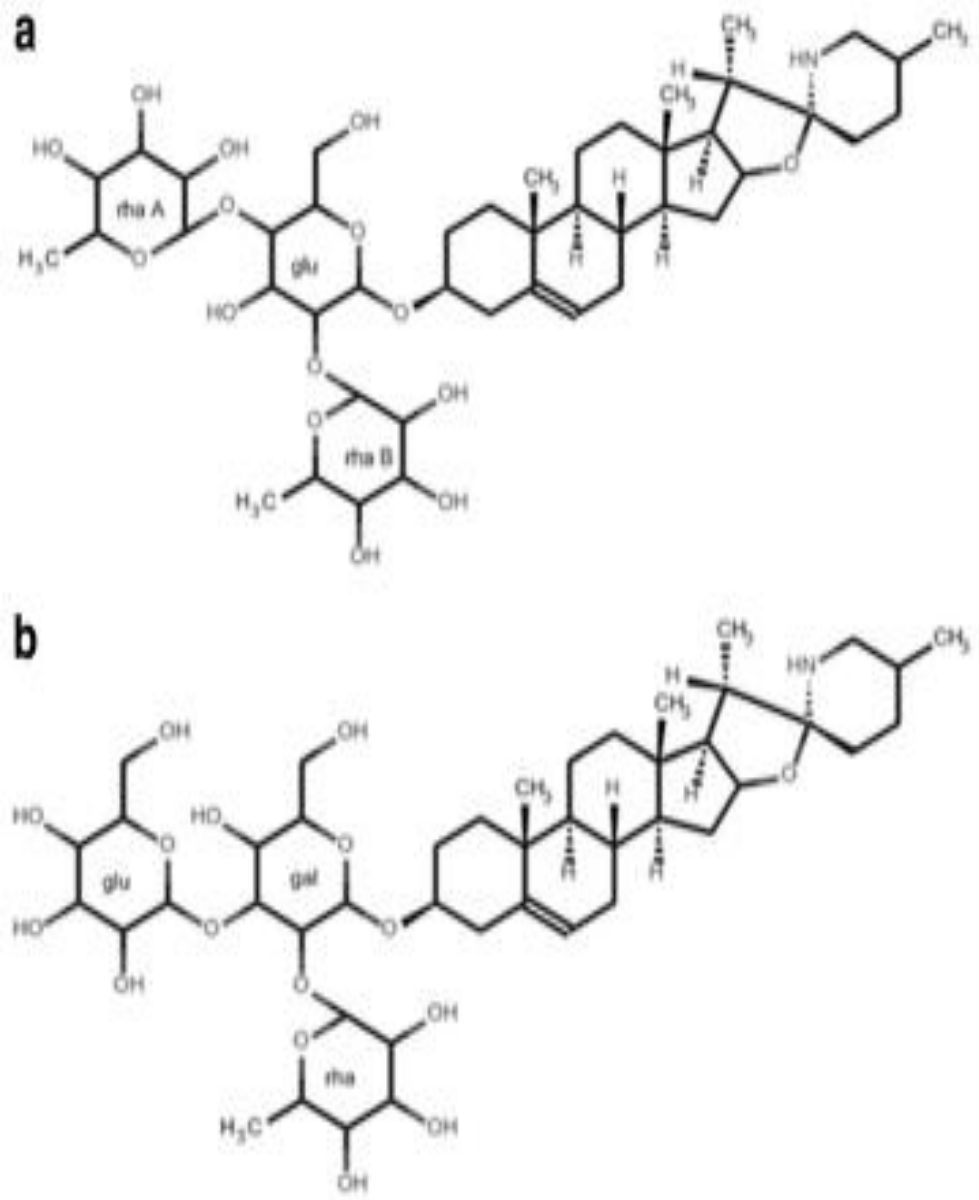


Figure 1-4. Structures de solamargine (a) et solasonine (b) (Burger et al., 2018)

I. 2. Généralités sur les insectes ravageurs des champs et des récoltes

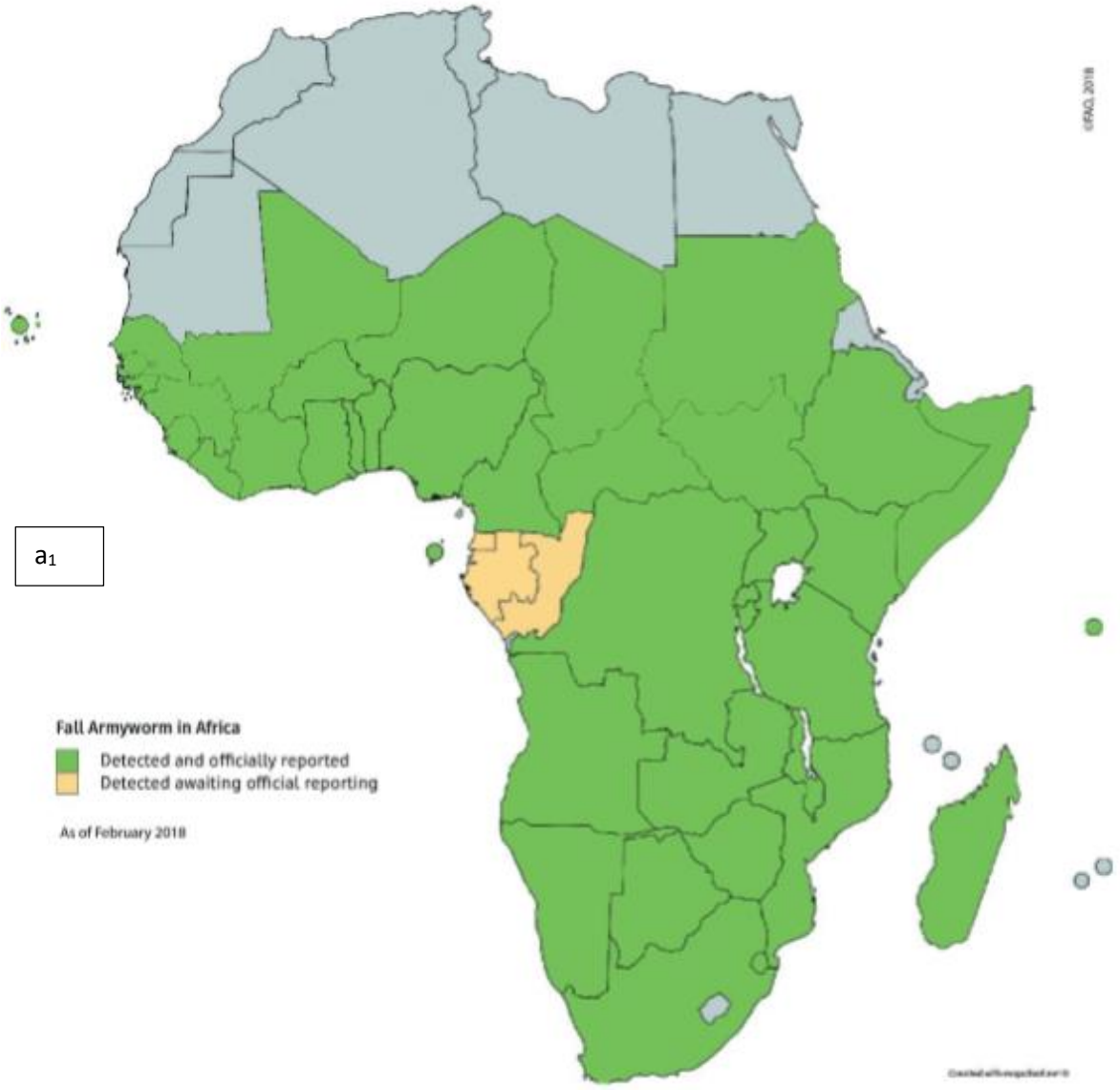
La diminution de la production mondiale des denrées alimentaires causée, par la non-utilisation des produits phytosanitaires, pourrait être à l'origine de la famine chez les populations déjà fragilisées (Patrice et al., 2016).

Cependant, les cultivateurs du haricot et de maïs ont cherché de nombreuses pratiques pour limiter l'expansion et les dégâts des différentes espèces d'organismes appelés ‹‹ ravageurs › › ou ‹‹ bioagresseurs ››. Notre travail porte seulement sur quatre insectes ravageurs : la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda)* et le puceron noir du haricot (*Aphis fabae*) comme ravageurs du champ et le bruche du haricot (*Acanthoscelides obtectus*) et le charançon de maïs (*Stophilus zeamais*) comme les ravageurs post-récolte.

I. 2 .1. Les insectes ravageurs des champs

I. 2 .1. 1. La chenille légionnaire d'automne

La CLA (*Spodoptera frugiperda*) est un insecte originaire des régions tropicales et subtropicales des Amériques. Ses larves se nourrissent plus de 80 espèces de plantes, dont le maïs, le sorgho, le millet, la canne à sucre, les cultures maraîchères et le coton. La CLA peut entraîner d'importantes pertes de rendement si elle n'est pas bien gérée (Poisot et al., 2018). Les figures suivantes montrent la propagation de la chenille en Afrique (Fig. 1-5 a_1) et les dégâts causés par la chenille dans les différentes provinces du Burundi (Fig. 1-5 a_2). Au Burundi, le ravageur y est présent depuis le mois de février 2016 et se trouvent dans toutes les provinces du pays.


©FAO, 2018
Fall Armyworm in Africa
Detected and officially reported
Detected awaiting official reporting
As of February 2018

a_1

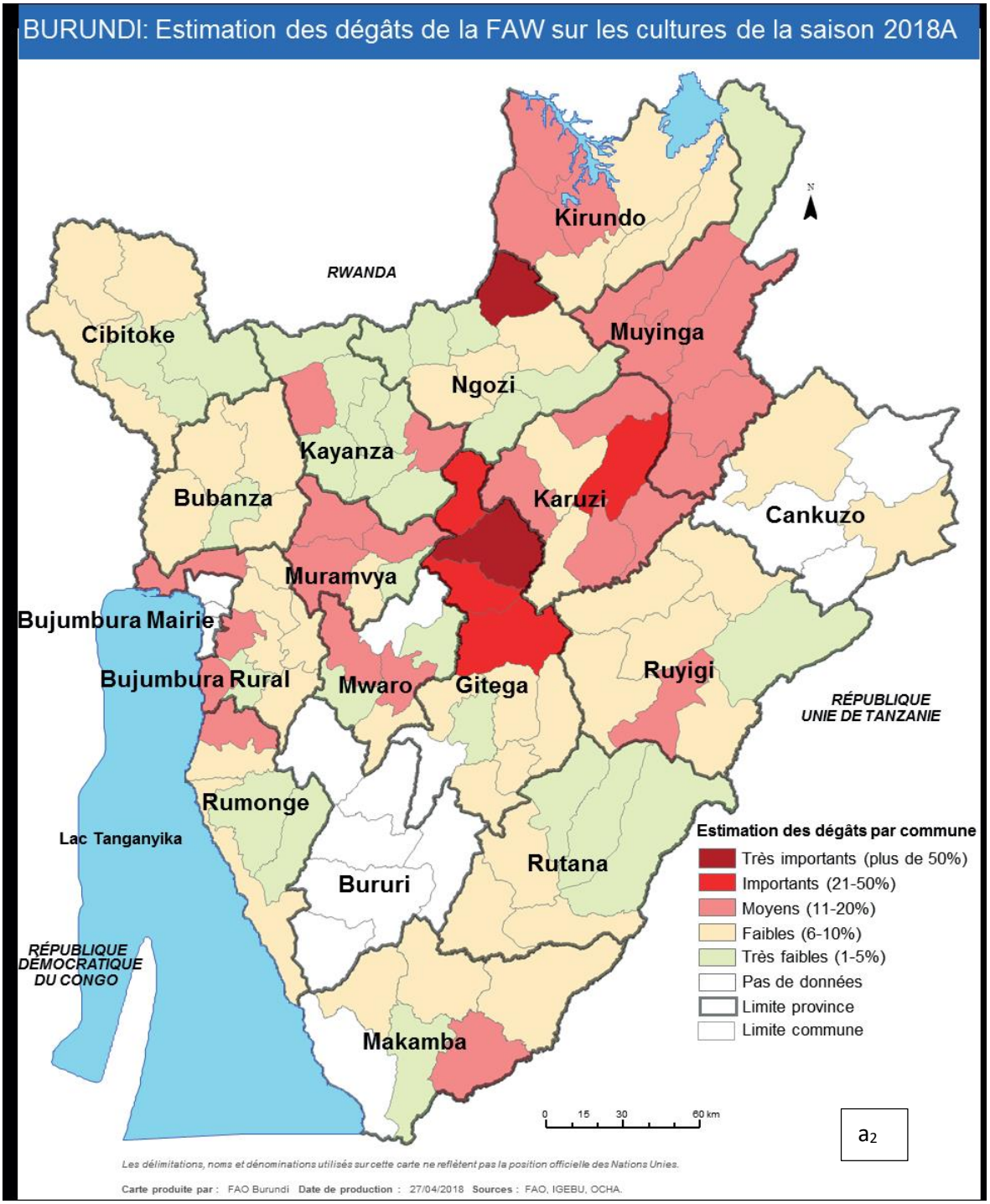


Figure1-5. Propagation de la CLA en Afrique (a_1) et les provinces du Burundi plus touchées par la CLA (a_2) (FAO/MINEAGRI, 2018)

C'est un ravageur polyphage qui attaque plus de 80 espèces de plantes dans son milieu d'origine, causant des dégâts à des céréales cultivées d'importance économique avec une préférence au maïs. Il existe deux souches pour le ravageur : la souche « maïs » qui est inféodée principalement au maïs, sorgho, canne à sucre, cultures maraîchères et coton.

La souche « riz » s'attaque surtout au riz et aux graminées spontanées comme le *Cynodon dactylon*. Ainsi, jusqu'aujourd'hui, c'est la première souche qui est connue au Burundi.

Il est pratiquement impossible de distinguer les deux souches à base des critères morphologiques, c'est l'analyse moléculaire qui permet de reconnaitre les deux formes de ravageur. Les agents biologiques bénéfiques comme composés de prédateurs comme les fourmis, les perce-oreilles, les punaises, etc. Ces derniers limitent sa prolifération (Kasongo, et al, 2021).

Il y a également des parasitoïdes comme les microhyménoptères et des microorganismes entomopathogènes comme les bactéries, les champignons, les protozoaires, les virus et les nématodes. Ces nématodes et ces organismes pouvant être utilisés contre la CLA ne sont encore explorés ni en Afrique ni au Burundi. Il est pratiquement impossible de l'éradiquer, il faut concevoir un plan stratégique pour gérer cet organisme exotique qui est reconnu comme redoutable à la culture du maïs. C'est ainsi que le Plan d'Action National pour le contrôle de la chenille légionnaire d'automne, *Spodoptera frugiperda* a été validé (Ndayiragije et al., 2019).

La chenille légionnaire d'automne pond des œufs sur les plantes, qui éclosent sous forme de larves et commencent à attaquer les plantes. De fortes infestations peuvent entraîner des pertes importantes de rendement. Les plantes infestées présentent un tissu foliaire mangé du bord vers l'intérieur par les larves et une défoliation étendue avec apparence déchiquetée et déchirée ; les épis peuvent aussi être attaqués.

La chenille légionnaire d'automne a typiquement six stades larvaires. Les jeunes larves sont verdâtres avec une tête noire (Fig. 1-7e), la tête devenant plus orange au deuxième stade. La largeur des capsules de tête s'étend d'environ 0,3 mm (stade 1) à 2,6 mm (stade 6), et les larves atteignent des longueurs d'environ 1 mm (stade 1) à 45 mm (stade 6) (Fig. 1-7f). Dans le second stade, mais en particulier le troisième, la face dorsale du corps devient brunâtre, et les lignes blanches latérales commencent à se former. Du quatrième au sixième stade, la tête devient brune rougeâtre, tachetée de blanc, et le corps brunâtre porte des lignes subdorsales blanches et latérales. Des pinacles dorsaux apparaissent sur le corps ; elles sont généralement de couleur foncée et portent des épines.

Le front de la larve mature peut également être marqué d'un "Y" blanc inversé et l'épiderme de la larve est rugueux ou granulaire dans la texture lorsqu'il est examiné de près (Figure 1-7g).

Cycle de développement (Fig. 1-7b) de la CLA et les différents stades larvaires de la chenille sont respectivement illustrés (Fig. 1-6 et Fig. 1-6)



Figure 1-6. Cycle de vie de la chenille légionnaire (Ndayiragije et al., 2019)



Œufs déposés sur la tige (a) et la feuilles (b)

Masse d'œufs (c) et éclosion des larves (d)



Larves à tête noirs



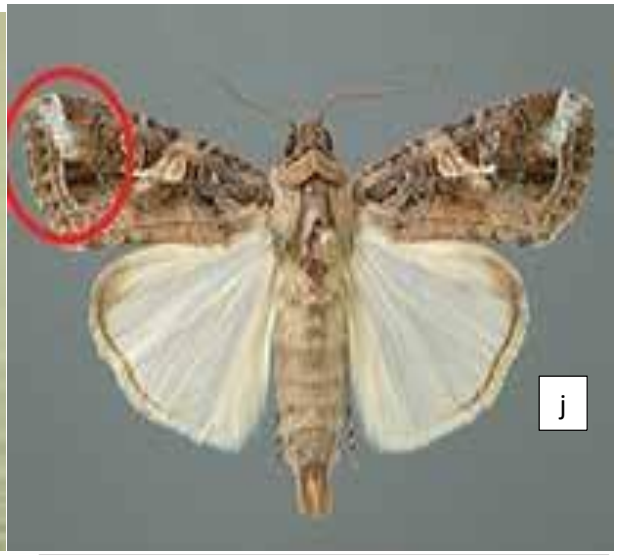
Stades larvaires



Marques distinctives des larves



Chrysalide brun rougeâtre



Papillon mâle avec une tache blanche visible

Figure 1-6. Les différents stades larvaires de la chenille d'automne (Prasanna et al., 2018)

a) Dégâts causés par la chenille légionnaire

Au Burundi, 12 provinces étaient beaucoup touchées par la chenille légionnaire tandis que le reste était moins touché (FAO, 2018) avec une rapide propagation (Fig. 1-5a).

b) Les moyens de lutte contre la chenille légionnaire

D'après l'ISABU, les moyens de lutte préconisés sont : (i) une plantation et une récolte précoce et/ou les variétés de maturation précoce (lutte agronomique) ; (ii) un piégeage par des para-phéromones (lutte mécanique) ; (iii) une pulvérisation à base de pyréthrinoïdes de synthèse : Dursuban 5G, Imidaclopride, Décis, Orthène (lutte chimique).

S'agissant d'une culture de subsistance, il est peu probable que les agriculteurs et leurs familles acceptent d'abandonner le maïs. Mais il existe des méthodes de gestion de la chenille légionnaire d'automne sur le maïs, comme cela a été démontré aux Amériques.

I. 2.1.2. Le puceron noir du haricot

Les colonies d'*Aphis fabae* envahissent les jeunes pousses sur la face inférieure des feuilles, les pétioles et les jeunes gousses. Les plantes fortement infestées végètent mal, leurs feuilles se recroquevillent et se boursoufflent. Le miellat poisseux et luisant excrété par les pucerons recouvre la végétation, et est colonisé par un champignon saprophyte noir (fumagine) qui gêne les fonctions chlorophylliennes et respiratoires de la plante. Les attaques se développent surtout en période sèche.

L'incidence de cet insecte peut atteindre 15 %. En saison pluvieuse, les colonies denses *d'Aphis fabae* sont souvent détruites par des champignons parasites tels que *Erynia neoaphidis* ou *Neozygites fresenii*. Les larves ou adultes de coccinelles et les larves de syrphes (diptères) dévorent les pucerons et peuvent également contribuer au contrôle naturel de leur population.

Le cycle de reproduction du puceron noir de haricot est illustré sur Fig. 1-8.

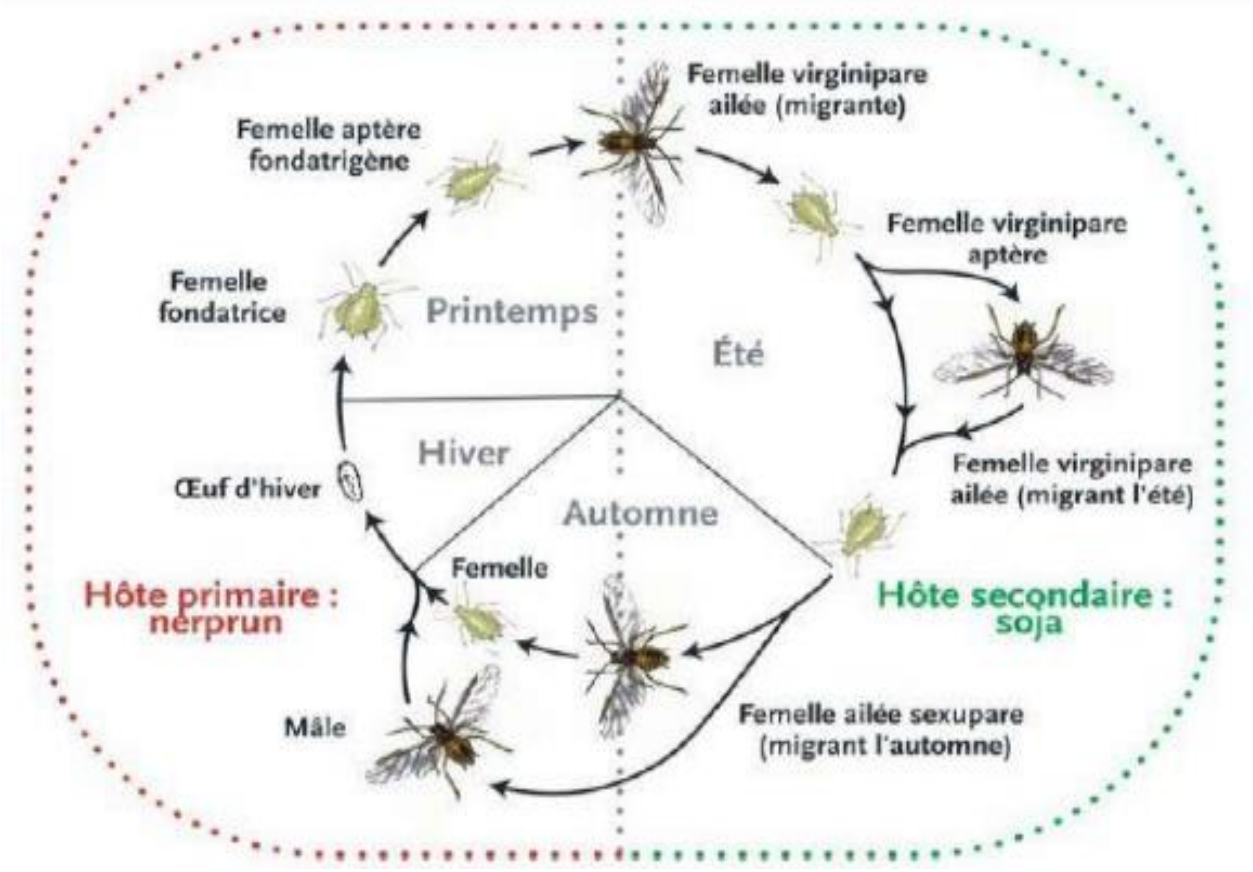


Figure 1-7. Cycle de vie du puceron noir (Raval et al., 2006)

La principale méthode de lutte se basera essentiellement sur le respect du calendrier cultural ; on évitera à tout prix les semis tardifs. Les pulvérisations à base de diméthoate ou d'un aphicide spécifique comme le pyrimicarbe (200 à 300 g m. a. /ha) qui a l'avantage de respecter la faune auxiliaire, éliminent rapidement les pucerons. Le délai d'attente entre le dernier traitement et la récolte est de 14 jours.

Quant aux dégâts causés par le puceron, 9 provinces étaient beaucoup touchées par le puceron noir sur les haricots et les cultures maraichères (FAO, 2018).

I. 2 .2. Généralités sur les insectes ravageurs des récoltes

I. 2.2.1. Les bruches du haricot en stock

Les bruches du haricot sont des coléoptères de deux espèces : *Acanthoscelides obtectus* et *Zabrotes subfasciatus*. Les femelles pondent des œufs minuscules dans les gousses mures en champs ou les déposent par paquets sur les graines des haricots entreposées. La larve fait des creusements dans les graines en se développant, puis elle se rapproche de la surface de la graine. Devenue adulte, elle soulève un petit opercule circulaire puis s'échappe.

Les dégâts causés par les larves des deux espèces sont similaires. Des pratiques agricoles simples permettent de limiter les risques d'infestation des graines, il faut récolter les gousses de haricot dès qu'elles sont mures, les sécher et les écosser rapidement. Le nettoyage des récipients utilisés pour la conservation du haricot et leur désinsectisation sont aussi recommandés.

Ainsi, les insectes susceptibles de causer des dégâts au grain stocké appartiennent à deux familles principales : les coléoptères et les lépidoptères ou papillons (Berhautetal, 2003). Le bruche du haricot commun, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (*Coleoptera; Bruchidae*) (Fig. 1-9) est l'une des espèces les plus importantes sur les stocks des haricots communs (*Phaseolus vulgaris L*.) On la rencontre en zones tropicales et subtropicales.

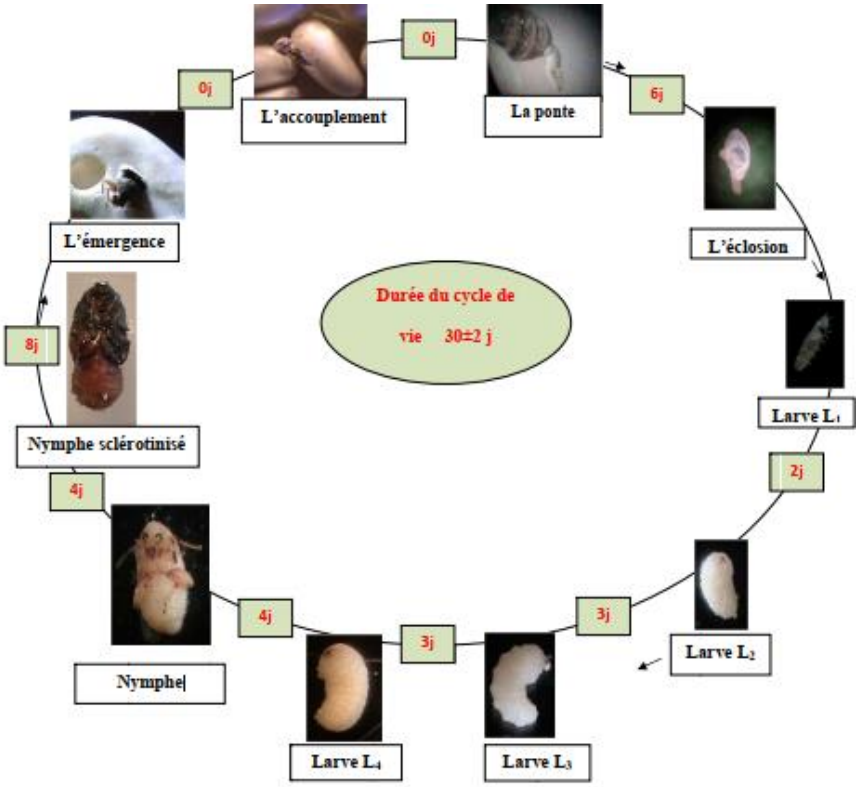


Figure 1- 8. Cycle de vie d'*A. obtectus* (Say) (Djilali, 2012)

I. 2.2.2. Le charançon des maïs en stock

Les principaux insectes du maïs en stock dans la zone du projet sont l'alucite des céréales, *Sitotroga cerealella* (Lépidoptère) et les charançons, *Sitophilus oryzae, S. zeamais* (Coléoptères). Les attaques commencent au champ et continuent dans les milieux de stockage causant des dégâts importants pouvant atteindre 100% (Ndomo et al., 2009).

Les principaux insectes nuisibles au maïs durant le stockage sont les insectes qui appartiennent à l'ordre des coléoptères et des lépidoptères.

Au niveau des coléoptères, les principaux insectes nuisibles rencontrés sont :*Rhizopertha dominica*, *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus* zeamais, *Trogoderm agranarium*, *Tribolium castaneum* et *T. confusum.*

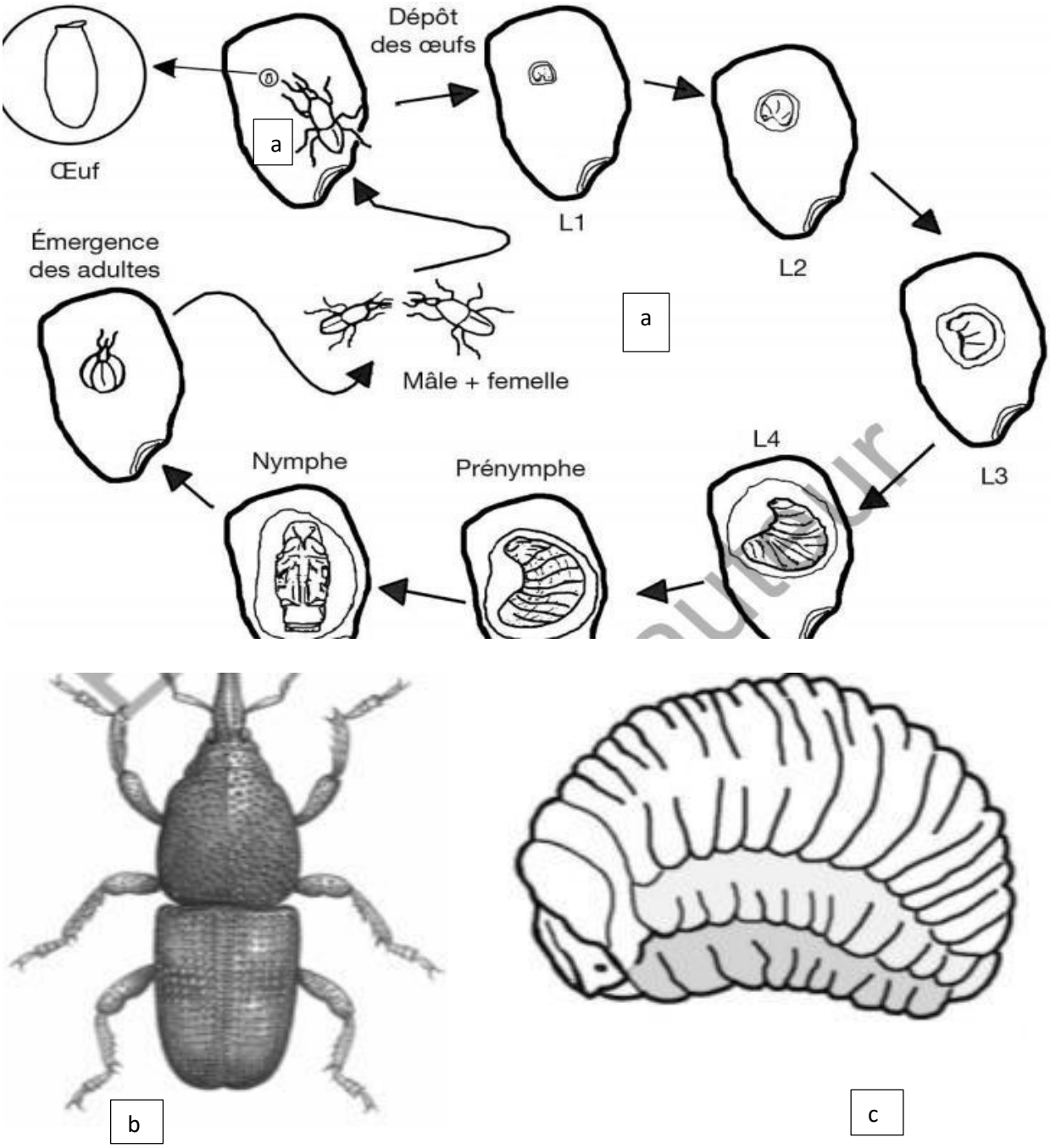


Figure 1-9. Cycle de vie du charançon de maïs (a), Charançon adulte (b) et larvaire (c) (Kouwelton et al., 2019)

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II. 1. Matériel végétal

II. 1. 1. Récolte et localisation de la zone d'échantillonnage

a) Matériel de récolte

La récolte des échantillons s'est effectuée. La récolte des échantillons des deux plantes (Fig. 2-11) faisant l'objet de cette étude a été effectuée, à l'aide d'un sécateur, le 20 avril 2022 et le 30 novembre 2022 dans la région naturelle de Bugesera, commune et Province de Kirundo. La période de récolte et le lieu de récolte sont des paramètres qui influent sur la variabilité qualitative et quantitative de la composition chimique des plantes (Foutse, 2017). Pour la conservation de nos échantillons, nous avons utilisé les matériaux ci-après : des papiers journaux pour l'échantillon à déposer dans l'herbarium du Département de Biologie, Faculté de Sciences, de l'Université du Burundi et des sacs en plastique pour le transport des échantillons servant à l'expérimentation.



Figure 2-10. Matériel : GPS (a) et récolte des différents échantillons de *T. diversifolia* (b) et de *S. aculeastrum* (c)

La récolte était guidée par un agent d'INADES-Formation de cette localité. Les feuilles de *T. diversifolia* ont été récoltées au centre urbain de Kirundo à 02°34' 46, 4'' de longitude et à 030°04'40,0'' de latitude avec une altitude de 1460 m.

Les feuilles et fruits du *S. aculeastrum* ont été récoltés sur la colline Kinyinya à 02° 35' 15.3'' de longitude et à 030°05'12.1'' de latitude à une altitude de 1432 m (Fig. 2- 12).

Les plantes portant les feuilles normales et / ou jeunes ou des fruits ont été sélectionnées. Les feuilles surabondantes ont été prélevées en prenant soin de les sectionner avec un sécateur au-dessus de la base du limbe pour faciliter l'identification.

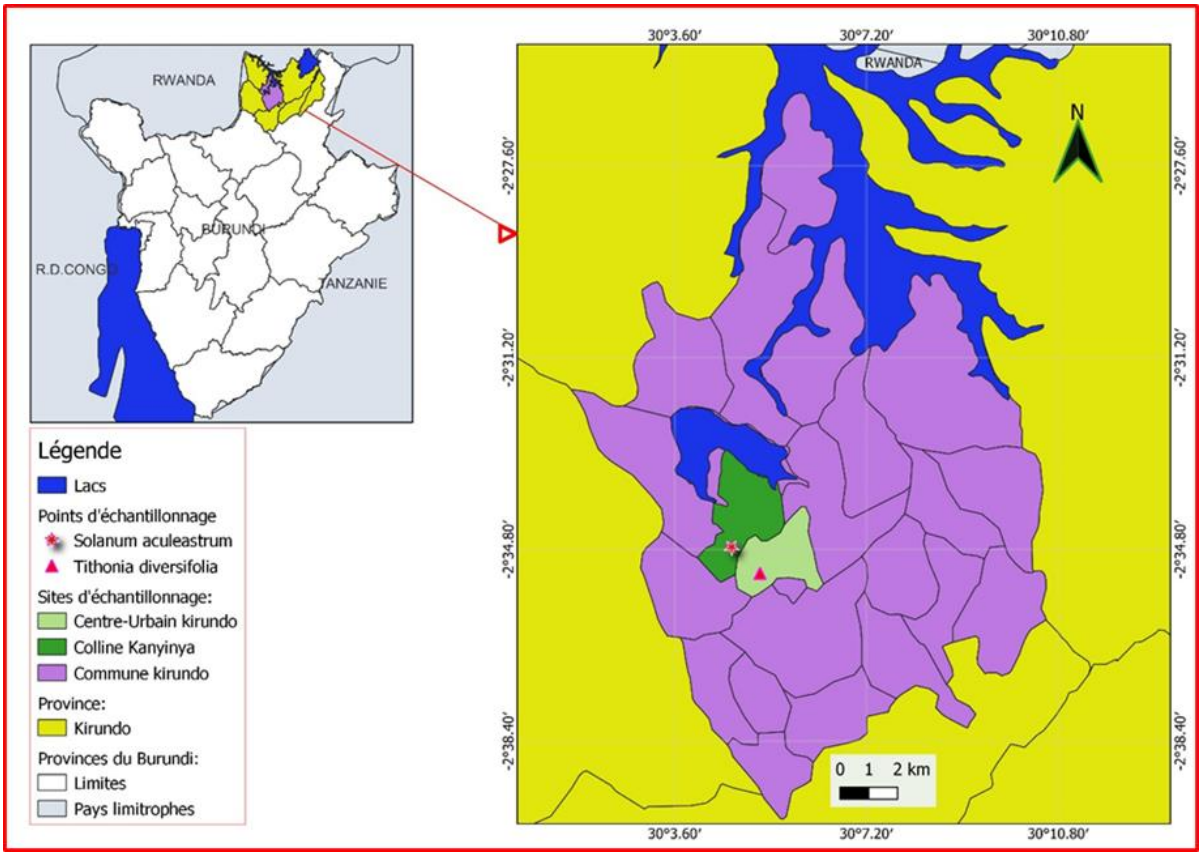


Figure 2-11. Carte de localisation de la zone d'échantillonnage

Les coordonnées ont été marquées et les échantillons ont été conservés dans l'herbier du Département de Biologie à la Faculté des Sciences de l'Université du Burundi.

b) Identification des plantes biopesticides récoltées

L'identification des deux échantillons est réalisée à l'herbier de la Faculté des Sciences, département de Biologie. Les échantillons récoltés ont été comparés à d'autres échantillons du même type déjà entièrement identifiés et stockés à l'herbier (Foutse, 2017) et surtout pour l'identification du *S. aculeastrum*.

II. 1. 2. Séchage et préparation des échantillons

Après la récolte, le séchage s'est fait sur les séchoirs du laboratoire d'EX- CRUPHAMET de la Faculté des Sciences (Fig. 2-13). Les conditions de séchage des plantes (luminosité, température, hygrométrie) peuvent également être à l'origine des modifications de la composition chimique de la drogue végétale (Foutse, 2017). Cependant, nous avons effectué le séchage à l'air libre à l'ombre et à température ambiante. Le suivi des échantillons était régulier (Tableau 2-3) afin de suivre la variation de masse**.**



Figure 2-12. Séchage des échantillons : feuilles de *T. diversifolia* (a), feuilles de *S. aculeastrum* (b), fruits de *S. aculeastrum* (c)

Tableau 2-3. Variation de la masse des échantillons en fonction du temps du séchage à l'ombre à l'air libre

Espèce	**Partie de la plante**	**30-nov**	**07-dec**	**14-dec**	**21-dec**	**28-dec**	**01-dec**	**08-janv**	**15-janv**	**22-janv**
T. diversifolia	Feuille	999,9	644,4	288,9	209,9	131,2	66,3	59,9	59,9	59,9
S. aculeastrum	Feuille	552,2	363,8	175,5	134,2	93,03	50,7	50,3	50,3	50,3
	Fruit	1332,2	1020,4	708,0	338,7	269,4	175,7	175,5	175,5	175,5

Les valeurs de ce tableau ont permis de calculer la perte en eau (P.E) pour chaque espèce en utilisant la formule suivante :

$$P.E\ (\%) = \frac{m1-m2}{m1} X100$$

Où : m_1 : masse de l'échantillon avant le séchage ;

M_2 : masse de l'échantillon après le séchage

Ainsi, pour les feuilles *T. diversifolia* (TDF)

P.E (%) = $\frac{999,9-59,9}{999,9} X100$= 94,004 %

Pour les feuilles *S. aculeastrum* (SAcF)

P.E (%) = $\frac{552,2-50,3}{552,2} X100$= 90,89 %

Pour les fruits *S. aculeastrum* (SAcFr)

P.E (%) = $\frac{1332,2-175,5}{1332,2} X100$= 86,82 %

Après séchage, les échantillons ont été transformés en poudre fine par broyage et cette dernière a été utilisée pour les tests de détection (screening phytochimique) des substances éventuellement présentes.

II. 2. Matériel animal

II. 2.1. La chenille légionnaire et les pucerons noirs

La chenille légionnaire et le puceron noir ont été traités dans le champ d'expérimentation préparé et suivi à la FABI à l'Université du Burundi (Fig. 2-14).

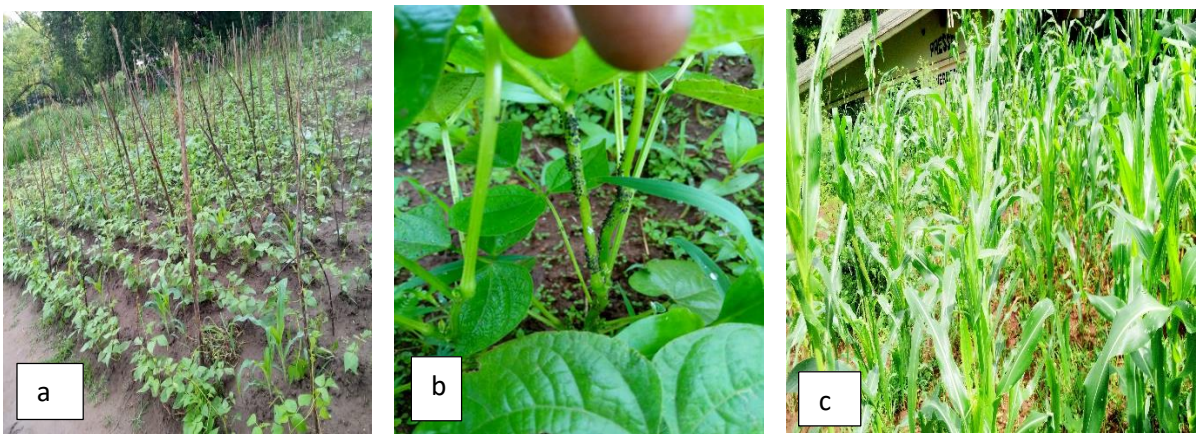


Figure 2-13. Champ de haricot pour la culture des pucerons noirs (a), haricots déjà infestés par les pucerons noirs (b), champ de maïs infesté par la CLA (c)

II. 2. 2. Les bruches de haricots et les charançons de maïs

Les bruches ont été obtenus à partir de l'élevage de masse réalisé au niveau du laboratoire C5 du Département de Chimie. L'élevage s'est fait sur les graines de haricots. Quant aux charançons, ils ont également été obtenus par l'élevage de masse qui s'est effectué au niveau du même laboratoire C5 sur les graines de maïs.

II. 2. 3. Elevage des insectes ravageurs

L'élevage portait sur quatre insectes à savoir la chenille légionnaire, les pucerons noirs (*Aphis fabae*) (ubudabuda), les bruches de haricot (*Acanthoscelides obtectus*) et les charançons de maïs (*Stophilus zeamais*).

II. 2. 3.1. Elevage des chenilles légionnaires

a. Production de larves

L'élevage de la chenille légionnaire d'automne a été effectué au laboratoire Ex-CRUPHAMET. Elle avait comme but de produire une grande quantité des larves (Fig. 2-15).



Figure 2-14. Processus de l'élevage de la chenille légionnaire d'automne

La récolte des larves de la CLA (Fig. 2-15b) de préférence du dernier stade dans les champs infestés par la chenille légionnaire d'automne.

Les larves récoltées ont été placées dans les bocaux en plastique minus des trous d'aération et contenant des morceaux de feuilles tendres de maïs (Fig. 2-15 c et d). La récolte des larves s'est faite pendant les heures fraîches (le soir) afin de ne pas trop stresser les larves destinées à l'élevage (Boyombe et al., 2022). Les larves récoltées sur terrain ont été ramenées immédiatement au laboratoire C5. Pour éviter le cannibalisme, les larves ont été élevées individuellement dans les boîtes en plastic bien aérées.

Ces larves étaient alimentées par les morceaux de feuilles tendres de maïs (Boyombe et al., 2022) jusqu'à l'obtention des chrysalides (Fig.2-15e). Chaque jour, les boites étaient nettoyées et de nouveaux morceaux des feuilles de maïs mis dans les boites afin de maintenir le milieu d'élevage propre et éviter ainsi la mort des chenilles tout en suivant le protocole d'élevage de la chenille légionnaire d'automne du Laboratoire d'entomologie appliquée et fonctionnelle (LENAF) (Boyombe et al., 2022).

b. Conditionnement des chrysalides

Les chrysalides ont été retirées des boites d'élevage suivant le rythme de métamorphose des larves. Ces chrysalides sont placées en petit nombre dans les tubes à essai couvert d'ouate ou encore dans une grande boite en plastique bien aérée puis placée dans un endroit frais (à température ambiante) et calme aussi bien aéré (Fig. 2-15 f, g et h).

Le suivi d'émergence des papillons a été fait régulièrement. L'humidité des boites pendant les journées trop chaudes a été gardé en aspergeant légèrement un peu d'eau distillée sur le coton (Fig.2-15g) qui couvre les tubes à essai et en plongeant la base de ces tubes dans un récipient contenant un peu d'eau froide pendant quelques heures afin de protéger les chrysalides contre les chocs thermiques (Fig.2-15h).

Après l'éclosion des papillons, ces derniers ont été retirés des tubes à essai et placés dans des grosses boites en plastic bien aérées. Des gros morceaux de feuilles fraîches de maïs qui vont servir d'abri et de lieu de ponte y ont été déposés. Des couples ont été identifiés et mis chacun dans une boite dont la paroi est recouverte de quelques gouttes de miel servant de nourriture pour les papillons. Toute manipulation des papillons a été faite sous une moustiquaire (non imprégnée d'insecticide) afin d'éviter la fuite des papillons.

Cependant l'élevage des chenilles n'a pas réussi du fait que les papillons n'ont pas pu s'accoupler.

Ce non-aboutissement serait dû aux conditions environnementales : l'espace limité qui aurait occasionné l'absence de la parade nuptiale qui précède l'accouplement), climatiques (température, humidité, …) et alimentaires (l'usage de miel constitué du nectar et de pollen comme nourriture). Après ce constant d'échec, nous avons procédé au traitement de la chenille légionnaire au niveau du champ.

II. 2. 3.2. Elevage des characons des maïs (*Stophilus zeamais*)

Le but de cet élevage est d'obtenir une population homogène et suffisante d'insectes adultes pour les différents tests aux pesticides biologiques. Ainsi, un élevage de masse (Fig.2-16) a été réalisé avec des insectes adultes collectés dans le stock des maïs d'un marchand de la zone Gihosha. Sur des graines de maïs acheté chez un marchand, cet élevage a été réalisé à l'obscurité et dans les conditions de température ambiante du laboratoire C5 où le test de toxicité a été réalisé.



Figure 2-15. Elevage des charançons de maïs

II. 2. 3.3. Elevage des bruches de haricot (*Acanthoscelides obtectus*)

Dans le souci d'obtenir une population homogène et suffisante d'insectes adultes pour les différents tests d'extraits biologiques, un élevage de masse (Fig.2-17) a été effectué à l'obscurité à une température ambiante avec des insectes adultes collectés dans des haricots infestés achetés au marché.



Figure 2-16. Elevage de bruche de haricot

II. 3. Préparations d'extraits des plantes étudiées

II. 3.1. Préparation d'extrait aqueux des feuilles fraiches

Les feuilles relativement saines et fraiches de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* ont été utilisées pour la préparation des extraits aqueux (Fig. 2-18). 250g des feuilles de *T. diversifolia* récoltées a été broyé dans un mortier puis la pâte obtenue a été mise dans un récipient dans lequel 1 litre d'eau de robinet a été ajouté. Après avoir bien mélangé, le tout a été laissé macérer pendant 24h.

Ensuite, l'enlèvement des débris de feuilles ont été effectués par filtrage du mélange à travers un tissu fin (Fig. 2-18a) et enfin nous avons obtenu 1 litre d'extrait des feuilles de *T. diversifolia*. Le procédé a été le même pour la préparation d'extraits aqueux des feuilles fraîches de *S. aculeastrum.* Pour obtenir des solutions à pulvériser, une dose de 250 g de feuilles dans un litre d'eau (dose 1) a été préparée. Deux autres doses (dose 2 : 125 g/L et dose 3 : 62.5 g/L) ont été obtenues par dilution. (Fig. 2-18c).

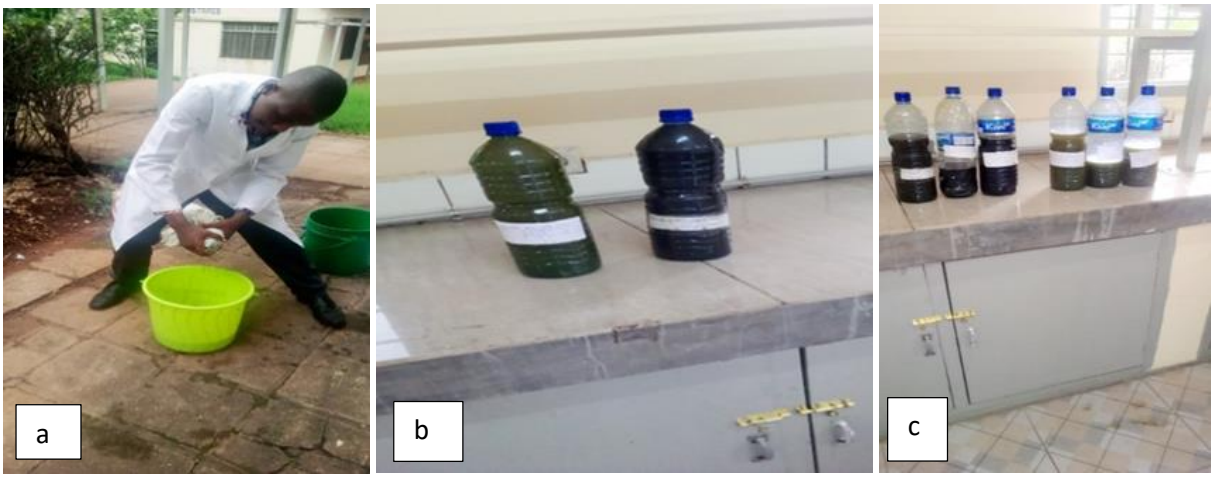


Figure 2-17. Extraction à l'eau (a), Extraits aqueux de 250 g/L (b), différentes doses des solutions aqueuses (c)

II. 3. 2. Test de toxicité des extraits frais sur la chenille légionnaire et les pucerons noirs

II. 3. 2. 1. Test de toxicité sur les chenilles légionnaires

a) Visite et délimitation de champ

L'incidence et la sévérité des dégâts occasionnés par la chenille a été observée (Fig.2-19 a et b) lors d'une visite effectuée avant le traitement.

Les essais de lutte étaient intervenus après cette visite. La densité d'infestation par parcelle de maïs n'était pas sur l'ensemble du champ expérimental. Le traitement des maïs infectés a eu lieu le soir (Fig. 2-19) afin d'épargner les chenilles de stress car pendant la journée, ils se réfugient dans les endroits cachés des feuilles tendres. Le test a été donc réalisé sur les plants d'un champ de maïs se trouvant dans la Faculté d'Agronomie et Bio-ingénierie (FABI) de l'Université du Burundi.



Figure 2- 18. Subdivision du champ (a), pied des maïs attaqué par la CLA (b), préparation des lots (c) à traiter et pulvérisation (d)

Quant aux solutions à pulvériser, il s'agit d'une dose de 250 g de feuilles dans un litre d'eau (dose 1) et deux autres doses (dose 2 : 125 g/l et dose 3 : 62.5 g/l) sont obtenues par dilution. Les solutions obtenues étaient immédiatement appliquées sur les maïs attaqués dans chaque lot de maïs à traiter tout en respectant les traitements suivant le dispositif expérimental utilisé. Les lots de maïs témoins bien qu'infestées par la CLA au même titre que les autres lots de maïs de la parcelle, n'ont subi aucun traitement insecticide.

b) Traitement des lots infestés

Ce traitement consistait à mouiller les parties de la plante par la solution biopesticide à l'aide d'un pulvérisateur (Fig.2-19d). Ce traitement a été fait le soir afin que le produit se conserve longtemps sur la plante sans être séché ou détruit par le soleil. Le lendemain, après 24h, le dénombrement des chenilles mortes commençait. Ce dénombrement s'est réalisé jour après jour jusqu'au dixième jour. Trois essais pour chaque dose ont été réalisés afin de mieux évaluer l'efficacité de ces doses. Pour ce qui est de l'efficacité de la lutte, pour chaque traitement, nous avons évalué le nombre de larves mortes et le taux de mortalité.

II.3.2.2. Test de toxicité sur le puceron noir

Le test a été réalisé aux champs de haricot se trouvant dans la Faculté d'Agronomie et Bio-ingénierie (FABI) de l'Université du Burundi. Avant le traitement, le nombre de pucerons sur la feuille ou la tige de haricot était dénombré à l'aide d'une loupe pour ne rester que quinze pucerons sur la feuille ou tige de haricots à traiter. Le dénombrement a été effectué à l'aide d'une loupe binoculaire (Fig. 2-20). Un papier en aluminium était étendu en bas de la partie pulvérisée de la plante pour faciliter le dénombrement et une bonne visualisation de pucerons morts. Le suivi et le dénombrement est fait après chaque 24h jusqu'au dixième jour.



Figure 2-19. Dénombrement des pucerons noirs

II. 3. 3. Préparation des extraits des parties sèches des plantes

II. 3. 3. 1. Les solvants utilisés

Quatre solvants de différente polarité par l'ordre croisant : n-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol ont été utilisés. Plusieurs extractions avec des solvants organiques de polarité croissante (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et le méthanol) ont été effectuées en vue des études phytochimiques et biopesticides.

II.3.3.2. L'extraction de différents groupes chimiques

Lors de l'extraction, 50 g de poudres des feuilles de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* ont été successivement mis dans une ampoule à décanter (Fig. 2-21a) où nous avions préalablement introduit une petite quantité de coton filtrant stérilisé. La macération a duré 24h et nous avons obtenu des extraits. De même, l'extraction d'une masse de 31,163 g de fruits de *S. aculeastrum* a suivi la même procédure. Tous les extraits obtenus ont été concentrés, puis pesés pour connaître le rendement de chaque extraction. Enfin, les extraits sont conservés dans des flacons à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 2- 20. Photos d'ampoules à décanter lors de l'extraction (a) et d'évaporateur rotatif (b)

Les feuilles de *T. diversifolia* sont préalablement séchées et broyées dans un mortier et tamisées par un tamis de maille de 0,80 mm N°3903061 (ISO 565. DIN 3310-1) pour avoir une poudre beaucoup plus fine. Les poudres fines des feuilles et fruits secs de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* ont été utilisés pour la préparation des extraits.

Il est, en effet, fréquent d'épuiser la drogue végétale, à l'aide de l'utilisation successive de solvants de polarité croissante (Foutse, 2017).

Les extraits de feuilles *S. aculeastrum* ont été préparés suivant le même mode opératoire que celui de *T. diversifolia*. Les fruits sont à leur tour moulu dans un moulin et tamisés avec le même tamis de 0,80 mm avant que leurs poudres soient macérées. Cependant, le choix des solvants est important car l'efficacité des molécules bioactives diffère selon le type d'extrait. En effet, différentes masses des poudres des échantillons ont été macérées successivement avec quatre solvants à savoir le n-hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol selon le degré croissant de leur polarité. Pour chaque extrait, le solvant a été évaporé sous pression réduite à 39°C à l'aide d'un évaporateur rotatif (Fig.2-21b). L'évaporation totale du solvant dans les extraits a été réalisée à l'air libre, à l'abri de la poussière et de la lumière jusqu'à obtention d'un résidu sec. Ce dernier est conservé au réfrigérateur à + 4 °C jusqu'à son utilisation ultérieure.

Pour passer d'un solvant à l'autre ; un test de révélation par UV visible a été effectué sur la plaque de silice. En effet, la présence d'une tache à une longueur d'onde de 254 nm et /ou à 365 nm, montre la présence encore des substances à extraire. En revanche, l'absence de tâches brillantes, à la fois, à une longueur d'onde de 254 nm et celle de 365 nm est suivi d'un autre test, test de révélation, consistant à pulvériser la plaque avec l'acide sulfurique.

Après ce test de révélation, à la température ambiante s'il n'y a pas de tâche, le marc est séché puis macéré ensuite par le solvant de polarité supérieure (Ngezahayo, 2016).

Nous avons obtenu douze extraits à base des quatre solvants organiques (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et le méthanol) sur les trois échantillons (poudres des feuilles de *T. diversifolia*, poudre des feuilles et celle de fruits de *S. aculeastrum*).

II. 3.4. Test de toxicité des différents extraits au contact des charançons de maïs et des bruches de haricots

Les tests ont été effectués dans des boites de pétri au laboratoire Ex-CRUPHAMET. Les extraits sont dilués dans du DMSO. Six insectes étaient mis dans chaque boite de Pétri. Les paramètres analysés étaient le nombre d'insectes tués ainsi que leur taux de mortalité respectif. Le contrôle négatif est fait sur six insectes traités par l'eau distillée. Le contrôle positif est fait à son tour sur six insectes traités par le DMSO.

II. 3.4.1. Préparation des solutions

Les solutions d'extraits ont été préparées à la concentration de 4 mg/mL (Ngezahayo, 2016). D'autres études sur test de pouvoir insecticide des extraits des plantes ont été effectuées avec une dose 0,002 g/mL soit 2 mg/mL (Tshimenga et al., 2018). En se référant sur cette dose, deux autres doses : dose de 2 mg/mL et celle de 1 mg/mL par dilution multiple. Le solvant de dilution utilisé a été le DMSO pour tous les extraits.

En effet, les solutions d'extraits présumés insecticides étaient préparées en diluant séparément 0.2 g avec un volume inférieur ou égal à 2.5 mL de DMSO de chaque extrait dans un erlenmeyer de 50 mL. Puis, nous avons porté au trait de jauge avec de l'eau distillée ce qui a donné une solution de 4 mg/L (solution-mère). De cette solution, deux autres doses ont été préparées par dilution : une dose de 2 mg/mL et celle de 1 mg/mL. Les solutions ainsi obtenues ont servi de solution présumée insecticide à pulvériser.

II. 3. 4. 2. Test de toxicité proprement dit

1 ml de chaque extrait a été ajouté et mélangé dans chaque boîte de pétri avec les graines (de maïs pour les charançons ou de haricots pour les bruches). Nous avons introduit six insectes (charançons de maïs ou bruches de haricots) par boîte de Pétri en verre de 90 mm de diamètre contenant 8 g de graines (maïs ou haricots).

Nous avons effectué trois essais pour chaque dose. Deux témoins n'ayant pas reçu de traitement, ont été parallèlement réalisés : l'un avec une boite de Pétri où le DMSO a été ajouté) et l'autre dans une boite où l'eau distillée a été ajoutée. L'exposition des denrées au rayonnement solaire intense favorise le départ des insectes adultes qui ne supportent pas les fortes chaleurs ni la lumière intense en stock. Les insectes se cantonnent souvent dans les zones sombres (Savadogo et al., 2016). Cependant, l'ensemble des boites de Pétri a été couvert par des tissus qui ne laissent pas passer la lumière pour que ces boites restent dans l'obscurité.

II. 4. Calcul du taux de mortalité et de DL_{50}

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

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

DL_{50} est déterminée sur base de dose-mortalité en utilisant la méthode arithmétique de Karber et Behrens (1935) avec comme formule :

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

a : différence entre deux doses successives,

b : moitié de la somme des charançons morts entre deux doses successives

n : effectif total des charançons dans la boîte de Pétri.

II. 5. Analyses statistiques

Les données ont été analysées avec le logiciel SPSS version 16.0 en utilisant l'analyse de variance (ANOVA) pour comparer les moyennes au seuil de significativité de 5 %.

L'analyse des données sera réalisée pour comparer les extraits et deux hypothèses seront posées :

* H_0 : tous les extraits ont les mêmes effets toxiques.

* H_1 : au moins un des extraits présente un effet toxique différent.

II. 6. Le criblage phytochimique des extraits frais et secs des feuilles et des fruits des plantes étudiées

Plusieurs études faites sur les plantes ont révélé que certaines plantes possèdent des substances chimiques, des métabolites secondaires dont les fonctions sont très diversifiées. Certains métabolites grâce à leurs propriétés biopesticides représentent une source importante de molécules utilisables pour l'homme dans différents domaines tels, médical, et agroalimentaire, mais aussi dans la protection des végétaux (Poisot, 2018). Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante. Ces techniques permettent de détecter, dans la plante, la présence des produits appartenant à des classes de composés physiologiquement actifs. Les tests de caractérisation sont basés en partie sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant des réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration (Badiaga, 2011).

L'étude phytochimique a été réalisée sur les extraits des feuilles et fruits de *S. aculeastrum* et sur ceux de feuilles de *T. diversifolia*. Elle a permis de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques des différents extraits organiques et aqueux par les différents tests de caractérisations. Les douze extraits sont utilisés pour les tests de détection des diverses substances.

Ces tests de détection ont porté sur la recherche des alcaloïdes par révélation par le réactif de Dragendorff® ; des flavonoïdes par le test à la soude ; des saponines par l'indice de mousse ; des tanins par réaction au chlorure ferrique 1 % ; des terpénoïdes par réaction à l'anhydride acétique et acide sulfurique concentré.

Quant au protocole de détection, la procédure suivie a été effectué sur les différents extraits comme décrit ci-dessous selon Evans (2009). Pour les saponines, on ajoute de l'eau distillée (5 mL) à l'extrait (1 mL) dans un tube à essai et la solution est secouée vigoureusement pour observer une mousse persistante stable sur une période de 30 minutes.

Pour détecter les tanins, on ajoute 20 ml d'eau distillée à l'extrait (1 mL) dans un tube à essai puis on fait bouillir. Le mélange est ensuite filtré et quelques gouttes de $FeCl_3$ 0,1 % ont été ajoutées au filtrat et des observations sont faites. Une coloration bleu-noire indique la présence de tanins.

Pour les flavonoïdes : A l'extrait (1 mL) dans un tube à essai est ajouté de l'ammoniac dilué (5 mL) suivi d'acide sulfurique concentré (2 mL). Le mélange est chauffé pendant 2 minutes. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence de flavonoïdes. La détection des glycosides est faite comme suit : l'extrait (0,1 g) est mélangé avec du chloroforme (2 mL) et de l'acide sulfurique concentré (2 mL) est ajouté avec précaution en agitant doucement. Une couleur brune rouge indique la présence d'un cycle stéroïdien (partie aglycone du glycoside).

Concernant les alcaloïdes, l'extrait (0,1 g) est mélangé avec 1mL de HCl à 1 % dans un tube à essai. Ce mélange est chauffé doucement et filtré. Puis, 3 gouttes de la solution de Dragendorff sont ajoutées au filtrat. La couleur jaune persistante s'est formée.

Par ailleurs, les stéroïdes sont détectés en ajoutant du chloroforme (2 mL) à l'extrait (2 mL) suivi d'acide sulfurique concentré (2 mL) et le mélange est secoué. Une couche de chloroforme rouge apparait et la couche acide montre une fluorescence jaune verdâtre.

Détection des phénols : A l'extrait (1 mL) mis dans un tube à essai, sont ajoutées 2 gouttes de 2 % de $FeCl_3$ pour détecter les phénols. Une coloration noire indique la présence de phénols.

CHAPITRE III : PRESENTATION ET INTERPRETATION DES RESULTATS

III. 1. Présentation des résultats

III.1. 1. Rendement d'extraction des principes actifs de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* par les solvants organiques

Le rendement, en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ (Tableau 3-4), est déterminé par la formule suivante :

R (%) = poids sec extrait (g) X 100 / poids sec de la poudre (g)

Cette formule nous a permis de quantifier la part des métabolites secondaires compatibles avec les quatre solvants utilisés (n-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et le méthanol) selon l'ordre croissant de leur polarité. Ce rendement a varié en fonction de l'espèce et de la partie de la plante, ainsi que du solvant utilisé. L'étude a montré que les rendements peuvent varier en fonction des conditions environnementales (Ait Taadaouit et al., 2012) chez la même espèce.

Pour chaque drogue végétale, 4 extraits ont été obtenus soit 12 extraits pour les trois échantillons. Les rendements d'extraction sont présentés dans le Tableau 3-4

Tableau 3-4. Rendements d'extraction avec les différents solvants organiques

Plantes		**Extraction**		**Extrait obtenu**	
Espèce	**Organe**	**Solvant**	**Masse de l'échantillon (g)**	**Masse extraite (g)**	**Rendement (%)**
T. diversifolia	Feuille	Hex	50,004	2.907	5.81
		DCM	47,097	1.312	2.78
		AcEt	45,785	1.626	3.55
		MeOH	44,159	3.102	7.02
S. aculeastrum	Feuille	Hex	31,163	2,718	8.72
		DCM	28,445	1,828	6.08
		AcEt	26,617	1.994	3.54
		MeOH	24,623	2.574	6.12
	Fruits	Hex	50,005	2,326	4.65
		DCM	47,679	1,176	2.46
		AcEt	46,503	1.701	3.65
		MeOH	44,802	5.047	11.26

D'après les données du Tableau 3-4, pour les fruits *S. aculeastrum*, l'extrait méthanolique a donné le rendement élevé (11.26 %) suivi par l'extrait hexanique (4.65%).

Pour les feuilles de *S. aculeastrum*, l'extrait hexanique a un rendement élevé 8.72% suivi de l'extrait méthanolique avec 6.12%.

Pour les feuilles de *T. diversifolia*, l'extrait méthanolique a donné un rendement plus élevé (7.02 % suivi par l'extrait hexanique 5.81%.

Les rendements les plus faibles sont enregistrés pour les extraits de DCM respectivement 2.46% pour les fruits de *S. aculeastrum* et 2.78 %. pour les feuilles *de T. diversifolia*

III.1. 2. Effet insecticide des extraits aqueux de *T. diversifolia et* de *S. aculeastrum* sur la chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*)

Les extraits aqueux issus des feuilles de ces deux plantes ont agi sur les larves de la CLA (Tableau 3-5) de manière différente. Pour la même dose (250 g/L), les extraits TDFAq ont été plus efficaces que ceux de SAcFAq après 4 jours d'observation (Tableau 3-5). Il n'y avait pas de variation de taux de mortalité après le quatrième jour (Tableau 3-5).

Tableau 3-5. Mortalité observée pour la CLA en fonction du temps

Jours / Type d'extraits (g/L)	1Jr	2Jrs	3Jrs	4Jrs	5Jrs	6jrs	7Jrs	8Jrs	9Jrs	10Jrs
TDFAq: 62,5 g/L	0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
TDFAq: 125 g/L	11,1	11,1	22,2	22,2	33,3	33,3	44,4	44,4	44,4	44,4
TDFAq: 250 g/L	22,2	55,6	77,8	88,9	88,9	88,9	88,9	88,9	88,9	88,9
SAcFAq: 62,5 g/L	0	0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
SAcFAq: 125 g/L	0	11,1	22,2	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3
SAcFAq: 250 g/L	0	11,1	33,3	66,7	66,7	66,7	66,7	66,7	66,7	66,7
T- : 0 g/L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Nous constatons que le taux de mortalité varie de 11.1 % avec une dose de 62.5 g/L à 88.9 % avec une dose de 250 g/L pour les extraits TDFAq et de 11.1 % avec une dose de 62.5 g/L à 66.7 % avec une dose de 250 g/L pour les extraits SAcFAq pendant 10 jours d'observation. Les extraits aqueux TDF sont plus efficaces que ceux de SAcF.

La figure 3-22 montre l'évolution journalière de la mortalité % des CLA en fonction des concentrations des extraits aqueux de *T. diversifolia et* de *S. aculeastrum.*

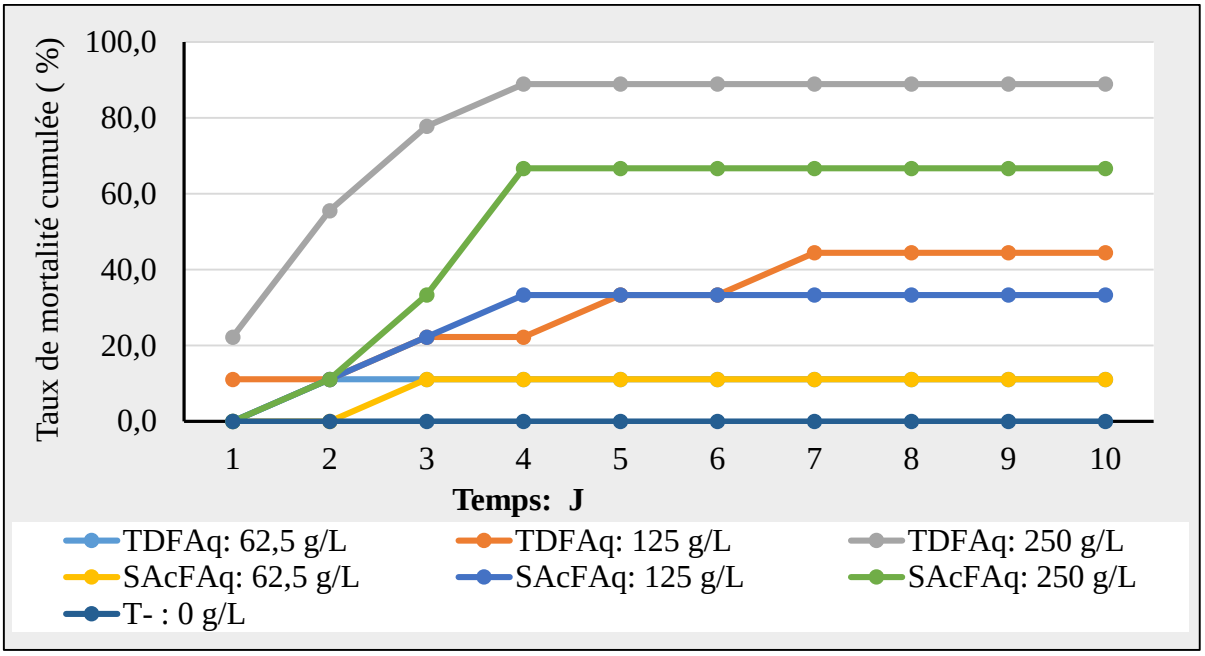


Figure 3-21. Evolution journalière de la mortalité (%) des chenilles légionnaire en fonction des concentrations des extraits aqueux de T. *diversifolia* et de S. *aculeastrum*

D'après la Figure 3-22, il est clair que la dose de 250 g/L est optimale après quatre jours de traitement. Pour une même dose et pour la CLA, les extraits aqueux TDF sont plus efficaces que ceux de SAcF.

L'extrait à base des feuilles de *Tithonia* a été le plus efficace que celui du *S. aculeastrum* après quatre jours d'application. En effet, l'extrait de feuilles de *Tithonia* a provoqué entre 11,1 et 88,9 % de mortalité tandis que celui de *S. aculeastrum* entraîne entre 0 et 66.7 % de mortalité. En revanche, les chenilles ont présenté une résistance au traitement avec une dose de 62.5 g/L par une faible mortalité observée soit 11,1 %.

III.1. 3. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait aqueux de TDf pour les chenilles légionnaires

La dose létale 50 a été déterminée en fonction des différentes doses de l'extrait la plus efficace. Cette dose a été calculée à base de la formule suivante : $DL_{50}=DL_{100}-\Sigma$ (a x b)/n et les résultats sont reportés dans le Tableau 3-6.

Tableau 3-6. Paramètres de calcul de DL_{50}

	Doses (g/L)	**n**	**Moyenne des nombres de chenilles mortes**	**% de mortalité**	**a**	**b**	**(a x b)**
	62.5	3	0,33	11,1±0,2	62,5	0,83	51,875
	125	3	1,33	44,4±0,07	125	2	250
	250	3	2,67	88,9±0,04			
Σ							301,875

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

1 mg/ml x (250-301.875/3) =149.375 g/L

Le DL_{50} est de 149.375 g/L.

Les analyses statistiques ont montré qu'il y a eu des différences numériques entre les résultats de l'effet insecticide de ces extraits végétaux. La dose qui a causé un taux de mortalité élevée est celle de 250 g/L de l'extrait aqueux de *T. diversifolia*.

III.1. 4. Effet insecticide des extraits aqueux de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le puceron noir

Nous avons pulvérisé différentes doses de nos extraits avec les extraits aqueux des feuilles de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* sur les pucerons noirs. Les extraits issus des feuilles de ces deux plantes ont agi différemment sur les pucerons et cela selon les doses (Fig. 3-23). Dans l'ensemble, le taux de mortalité des pucerons a varié de 35 à 91,1 % pour les extraits de *T. diversifolia* et 5 à 77,8 % pour *S. aculeastrum*

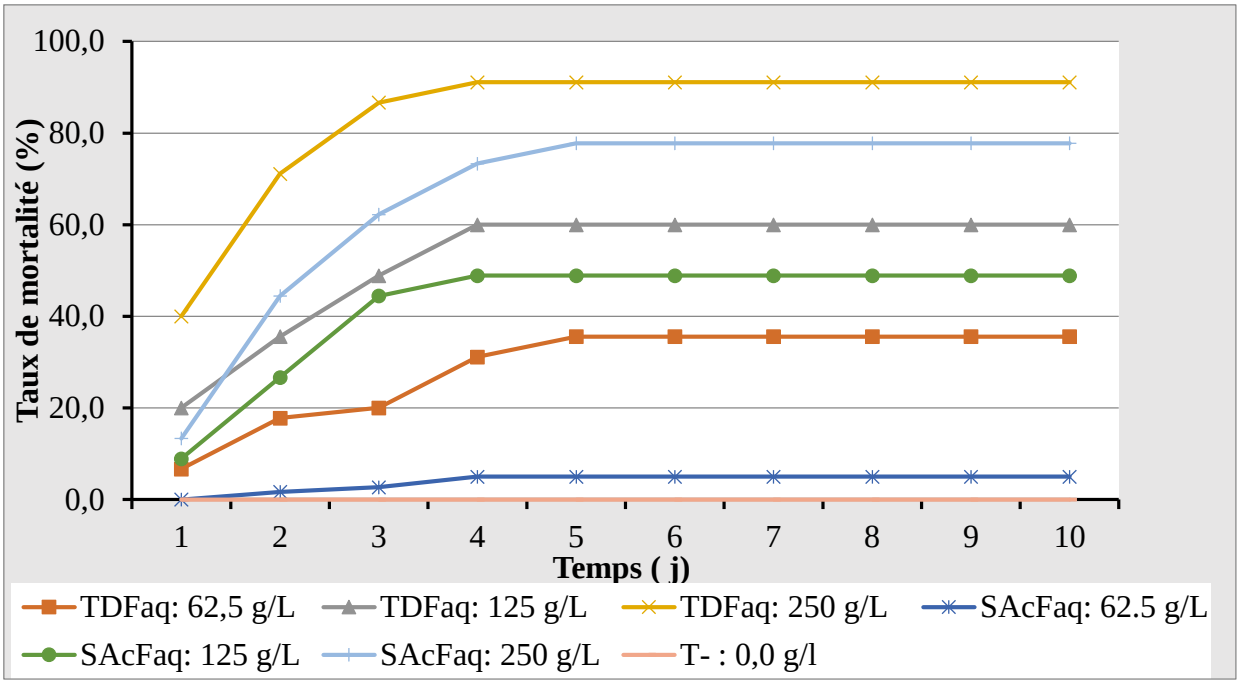


Figure 3-22. Evolution journalière de la mortalité (%) des pucerons noirs en fonction des concentrations des extraits aqueux de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum*

Le taux de mortalité le plus faible était observé avec la dose de 62.5 g/L pour TDFaq après 5 jours d'application et avec la dose de 62.5 g/L pour SAcFaq après quatre jours de traitement. Le taux de mortalité des pucerons noirs a varié de 5 à 91,1 %. L'extrait des feuilles à 250 g/L de *Tithonia* a été plus efficace que celui du *S. aculeastrum* et a provoqué entre 40 et 91,1% de mortalité. Cependant, les pucerons ont présenté une résistance au traitement avec une dose de 62.5 g/L par une faible mortalité observée soit 35,6 % pour *T. diversifolia* et 5% pour *S. aculeastrum*.

III.1. 5. Détermination de la dose létale 50 des extraits aqueux des feuilles de *T. diversifolia* sur les pucerons

La dose létale 50 a été déterminée en fonction des différentes doses de l'extrait la plus efficace. Cette dose a été calculée à base de la formule suivante : $DL_{50}=DL_{100}-\Sigma$ (a x b)/n et les résultats sont reportés dans le Tableau 3-7.

Tableau 3-7. Paramètres de calcul de DL_{50}

	Doses (g/L)	**n**	**Moyenne des nombres de pucerons morts**	**% de mortalité**	**a**	**b**	**(a x b)**
	62,5	15	5,33	35,6±0,13	62,5	7,165	447,8125
	125	15	9	60±0,03	125	11,335	1416,875
	250	15	13,67	91,1±0,06			
Σ							1864,6875

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

1mg/ml x (250-1864, 69 /15) =125, 68 g/L

La DL_{50} est 125,68 g/L

Les analyses statistiques ont montré qu'il y a eu des différences numériques entre les résultats de l'effet insecticide d'extraits. La dose qui a causé une mortalité élevée est celle de 250 g/L des extraits aqueux de *T. diversifolia*. La dose létale est de 125,68 g/L.

III.1. 6. Effet insecticide de différents extraits secs de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le charançon de maïs

Les tests de toxicité ont été réalisés en utilisant les solutions préparées à base des extraits secs obtenus à partir des quatre solvants organiques utilisés à tour de rôle par macération selon le degré de leur polarité. Ces tests sont effectués sur les charançons de maïs et sur les bruches de haricot.

III. 1. 6. 1. Effet insecticide des extraits de TDF, SAcF et SAcFr sur les charançons de maïs en fonction de temps

Les figures suivantes Fig. 3-24, Fig. 3-25 et Fig. 3-26 illustrent l'évolution des taux des mortalités cumulées en fonction du temps et de la dose de différents extraits organiques des feuilles de *T. diversifolia* (TDF), des feuilles de *S. aculeastrum* (SAcF) et des fruits de *S. aculeastrum* (SAcFr) sur les charançons de maïs. Les courbes de taux de mortalité des charançons montrent un effet biopesticide qui croit différemment selon le type d'extrait pour une même concentration. On observe une variation du taux de mortalité avec la dose des extraits et le temps. La plus forte dose (4mg/ml) occasionne une mortalité élevée (83,3%) des charançons traités avec l'extrait hexanique des feuilles *T. diversifolia* au cinquième jour de contact. Aucune mortalité n'a été observée chez les témoins pendant les dix jours de contact.

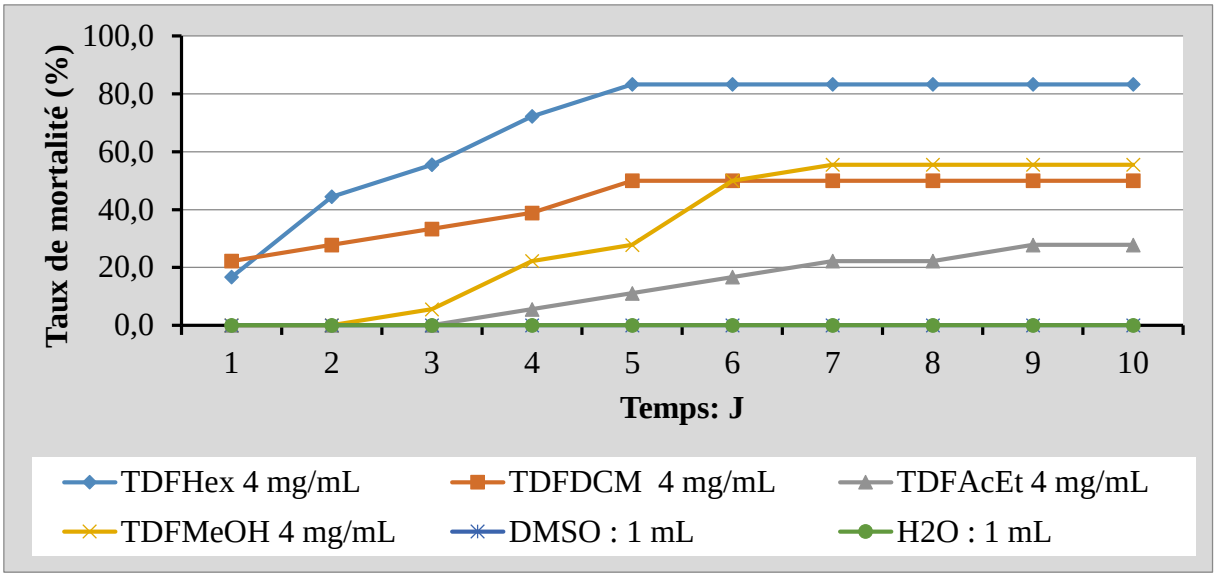


Figure 3-23. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits de TDF de concentration de 4 mg/ml en fonction du temps

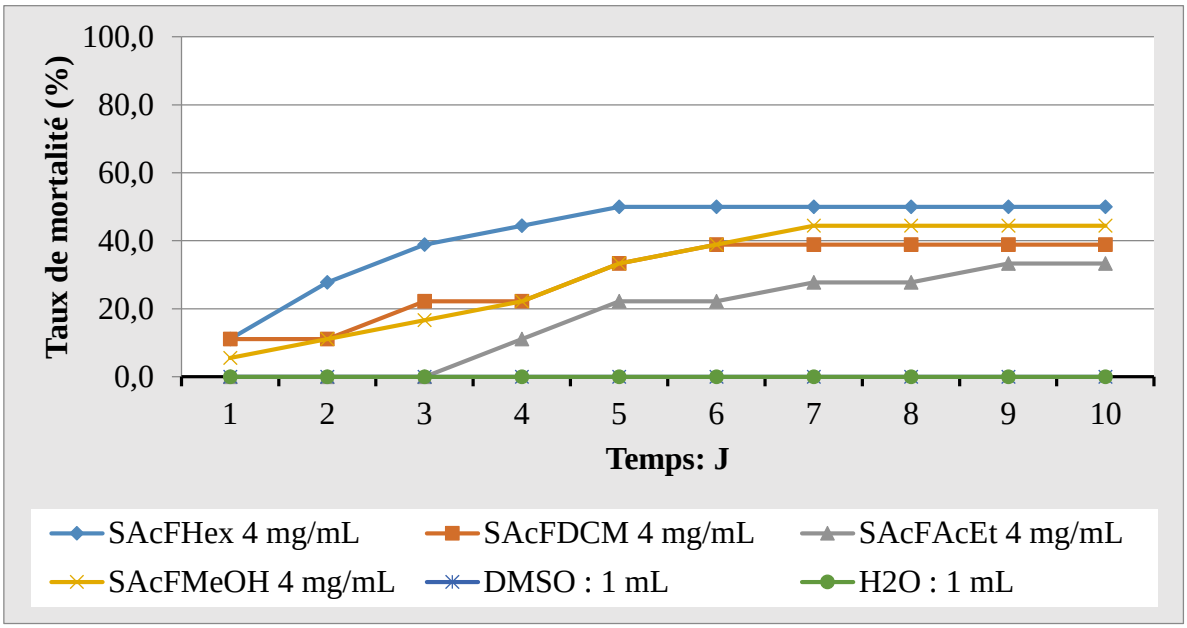


Figure 3-24. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits organiques de SAcF de concentration de 4 mg/ml en fonction du temps

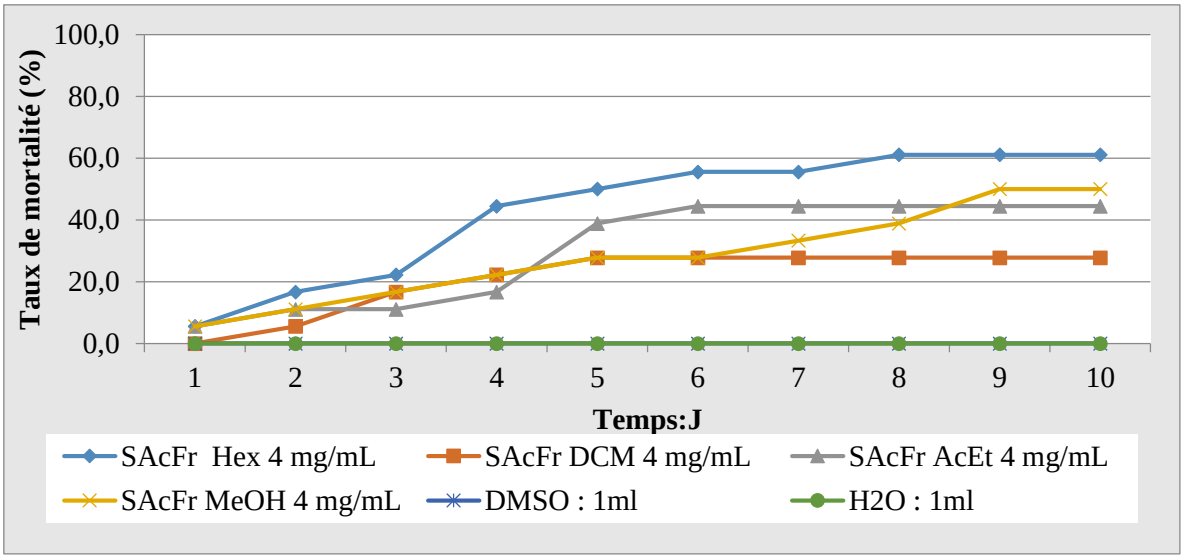


Figure 3-25. Courbe de mortalité des charançons traités par les différents extraits de SAcFr de concentration de 4mg/ml en fonction du temps

Ces figures (Fig. 3-24, Fig. 3-25 et Fig. 3-26) montrent que l'évolution des mortalités n'est pas identique. De plus, les courbes montrent également que les extraits hexaniques présentent une forte activité biopesticide par rapport aux autres extraits pour une dose de 4 mg/mL.

III. 1. 6. 2. Comparaison des espèces de plantes en fonction de leur toxicité

Pour savoir l'espèce la plus efficace, nous avons fait une étude comparative des taux de mortalité des charançons traités par des extraits de TDF, SAcF et SAcFr à 4 mg/mL. D'après la Figure 3-27, il est clair que l'extrait hexanique de TDF est très toxique par rapport aux extraits d'autres solvants (DCM, AcEt et MeOH).

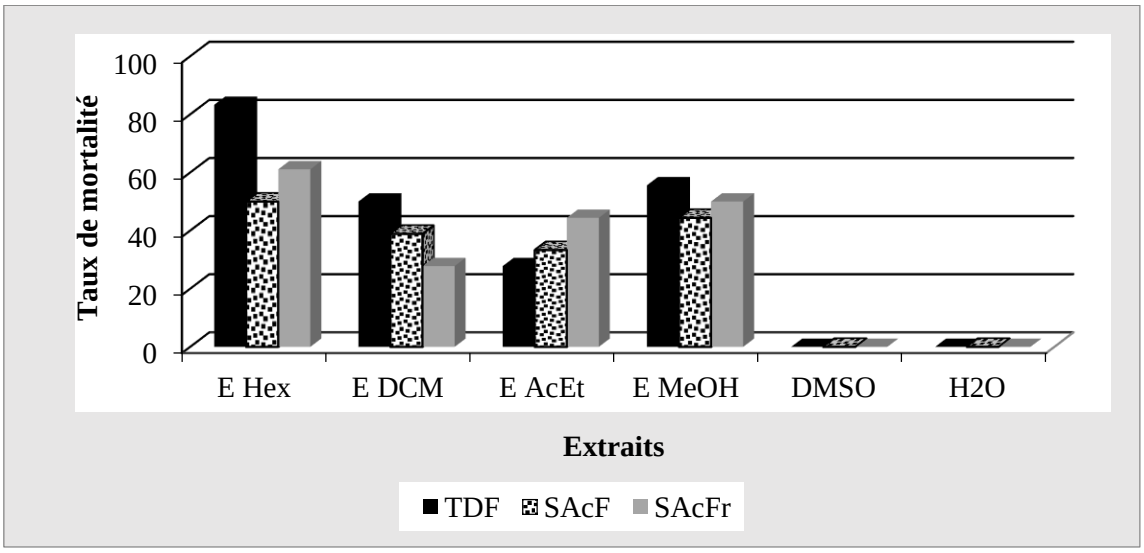


Figure 3-26. Comparaison de la toxicité des différents extraits organiques des deux espèces de plante à une concentration de 4 mg/mL DMSO

III. 1. 6. 3. Comparaison des moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits organiques

Le tableau 3-8 montre les différentes moyennes des taux de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL.

Tableau 3- 8. Moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL

Espèce	**Type d'extrait**	**Taux de mortalités journalier (%)**
TDF	TDF Hex	8,4±0,11
	TDF DCM	5,1±0,07
	TDF AcEt	3,4±0,06
	TDF MeOH	5±0,10
SAcF	SAcF Hex	5,1±0,06
	SAcF DCM	3,4±0,06
	SAcF AcEt	3,4±0,06
	SAcF MeOH	5,1±0,07
sAcFr	sAcFr Hex	6,8±0,03
	sAcFr DCM	3,4±0,06
	sAcFr AcEt	5,1±0,07
	sAcFr MeOH	3,4±0,06

Ce tableau montre que les extraits hexaniques ont une moyenne de taux de mortalité journalière plus élevée.

III. 1. 6. 4. Comparaison des doses de TDF E Hex en fonction de leurs effets toxiques

Pour identifier la dose la plus efficace de l'extrait le plus toxique (TDF E Hex), une étude comparative des pourcentages des moyennes de mortalité pour différentes doses a été effectuée (Tableau 3-9).

Tableau 3-9. Résultats des moyennes de mortalités en fonction des doses de TDF Hex

Doses (mg/ml)	**Moyennes de mortalités (%)**
4	83.3±0,11
2	22.2±0,07
1	11.1±0,55

Les résultats de ce tableau montrent que le taux de mortalité augmente proportionnellement avec la dose où il atteint 83,3 % de mortalité pour les charançons traités à la plus forte dose (4 mg/mL).

Les analyses statistiques ont montré qu'il y a eu des différences numériques entre ces des extraits de TDF, SAcF et SAcFr à 4mg/mL, mais statistiquement, aucune différence significative (P>0.05) n'a été observée entre ces traitements.

III. 1. 6..5. Détermination de la dose létale 50 de l'extrait hexanique des feuilles *T. diversifolia* sur les charançons

La dose létale 50 a été déterminée en fonction des différentes doses de l'extrait la plus efficace. Cette dose a été calculée à base de la formule suivante : $DL_{50}=DL_{100}-\Sigma$ (a x b)/n et les résultats sont reportés dans le Tableau 3-7.

Tableau 3-10. Données des paramètres de calcul de DL_{50}

	Doses (mg/mL)	**N**	**Moyenne des nombres de charançons morts**	**% de mortalité**	**a**	**b**	**(a x b)**
	1	6	0,67	11,1±0,55	1	1	1
	2	6	1,33	22,2±0,07	2	3,165	6,33
	4	6	5	83,3±0,11			
Σ							7,33

$DL_{50}=DL_{100}-\Sigma$ (a x b)/n = 1 mg/mL x (4-7, 33 /6) = 2, 77 mg/mL

La dose létale 50 est de 2,77 mg/mL après une période de 10 jours d'observation. Cette valeur de la DL_{50} à 4 mg/mL calculée après 10 jours de contact confirme le degré élevé de toxicité de ces extraits sur les graines vis-à-vis de ces charançons.

III.1. 7. Effet insecticide de différents extraits de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* sur le bruche de haricot *Acanthoscelides obtectus* (Say)

III. 1. 7. 1. Effet de toxicité par contact sur les bruches de haricots

Les figures 3-33, 3-34, et 3-35 illustrent l'évolution des taux des mortalités cumulées en fonction du temps et de la dose de différents extraits organiques des feuilles de *T. diversifolia* (TDF) et des feuilles de *S. aculeastrum* (SAcF) et des fruits de *S. aculeastrum* (SAcFr) sur les bruches de haricots. Il apparaît comme dans le cas précédant une augmentation du pourcentage de mortalité des bruches de haricot en fonction du temps et de la dose des différents extraits de TDF et SACF&Fr.

Aucune mortalité n'a été observée chez les témoins pendant les dix jours de contact. La plus forte dose (4 mg/mL) des extraits hexaniques a occasionné une mortalité élevée (de 100 % avec les extraits de TDF (Fig. 3-33), 83,3 % avec SAcF (Fig. 3-34) et 100 % avec SAcFr (Fig. 3-35) des bruches au 8ème jour de contact.

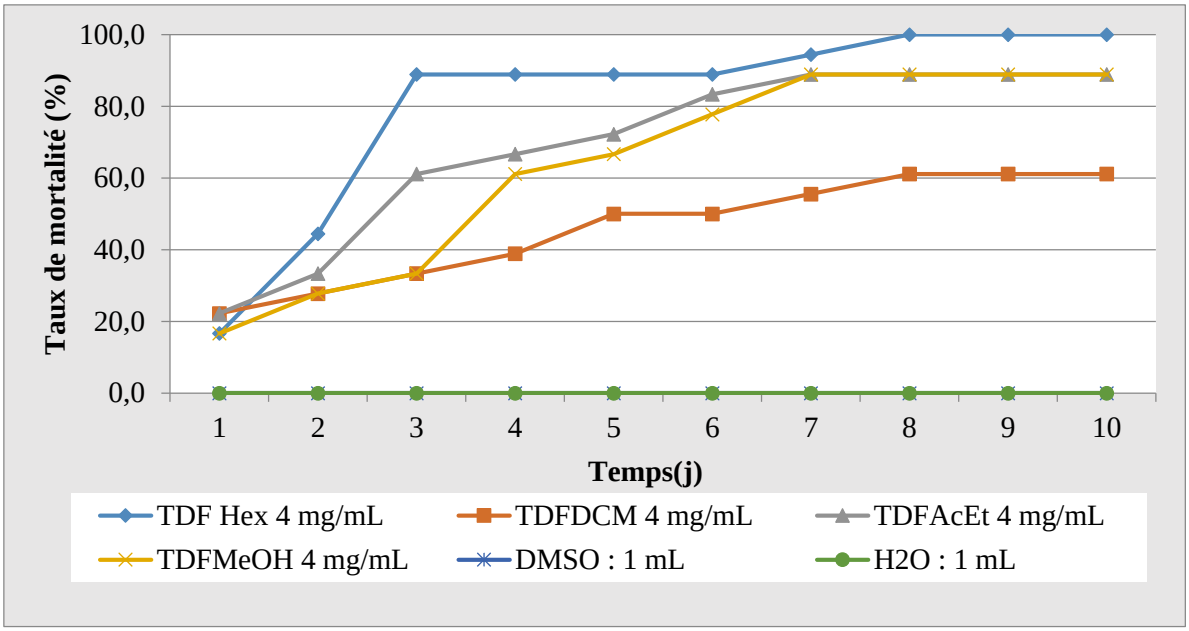


Figure 3-27. Courbe des taux de mortalité des bruches de haricots traités par les différents extraits de TDF de concentration à 4 mg/mL en fonction du temps

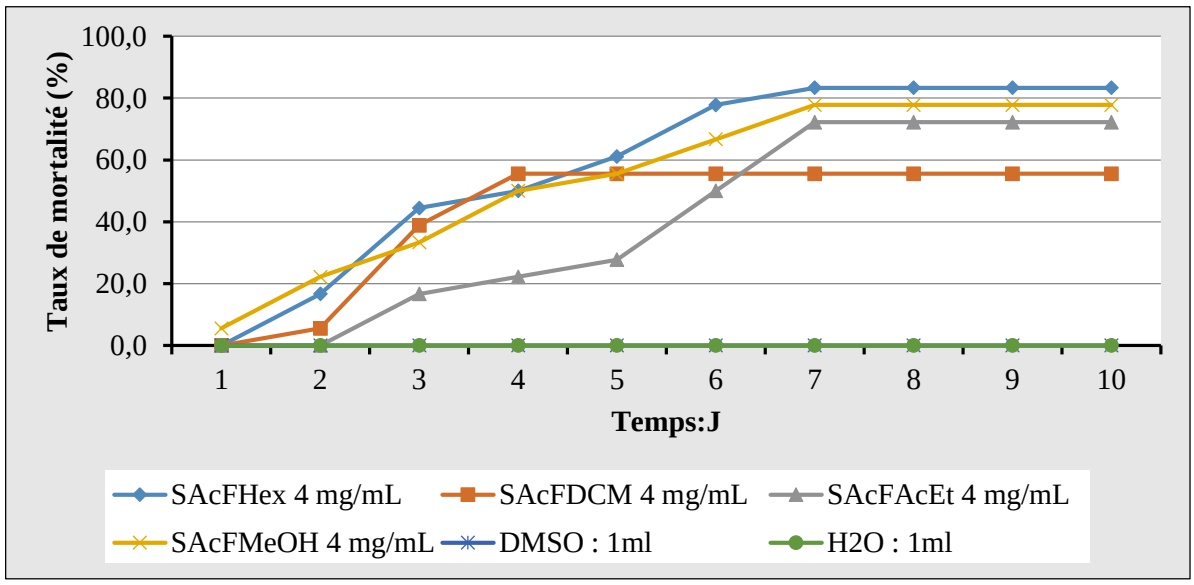


Figure 3-28. Courbe de taux de mortalité des bruches de haricots traités par les différents extraits de SAcF de concentration de 4 mg/mL en fonction du temps

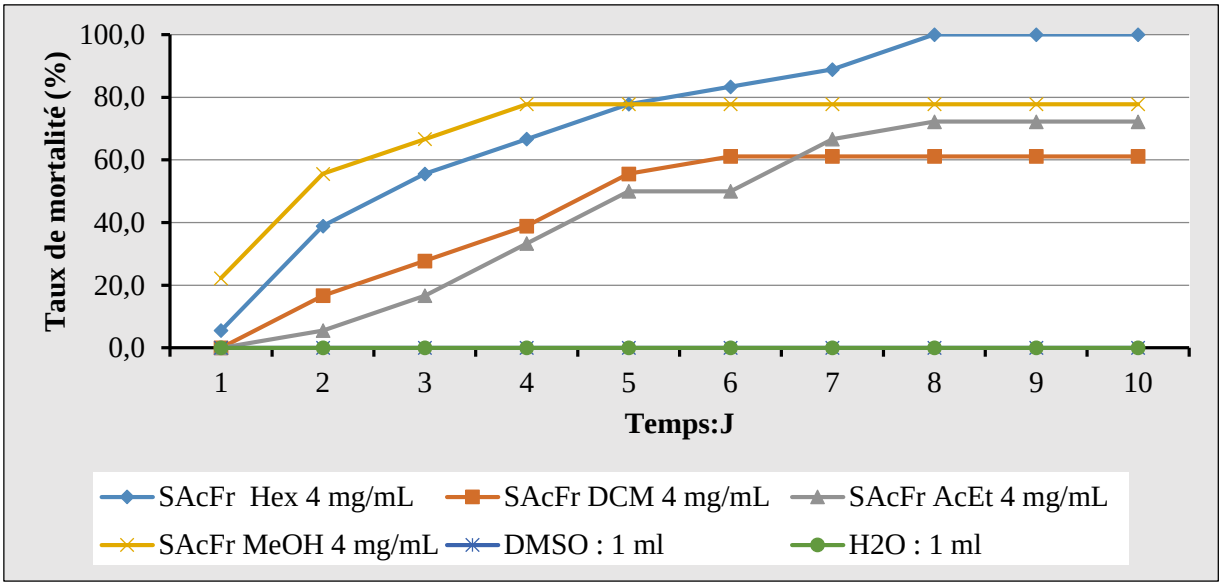


Figure 3-29. Courbe de taux de mortalité de bruches de haricot en fonction de temps pour les extraits SAcF de concentration 4mg/L

Les figures (Fig. 3-7, 3-8 et 3-9) montrent que l'évolution de taux de mortalité n'est pas identique. De plus, les courbes montrent également que les extraits hexaniques présentent une plus forte activité biopeticide par rapport aux autres extraits pour une même dose de 4 mg/mL.

III. 1. 7. 2. Comparaison des différents extraits des deux plantes en fonction de leurs effets toxiques

Pour identifier l'extrait le plus efficace parmi les extraits utilisé, une étude comparative du taux de mortalité pour 10 jours d'observation a été réalisée. La figure 3-31 montre que les extraits hexaniques sont les plus efficaces par rapport aux extraits du dichlorométhane, d'acétate d'éthyle et du méthanol.

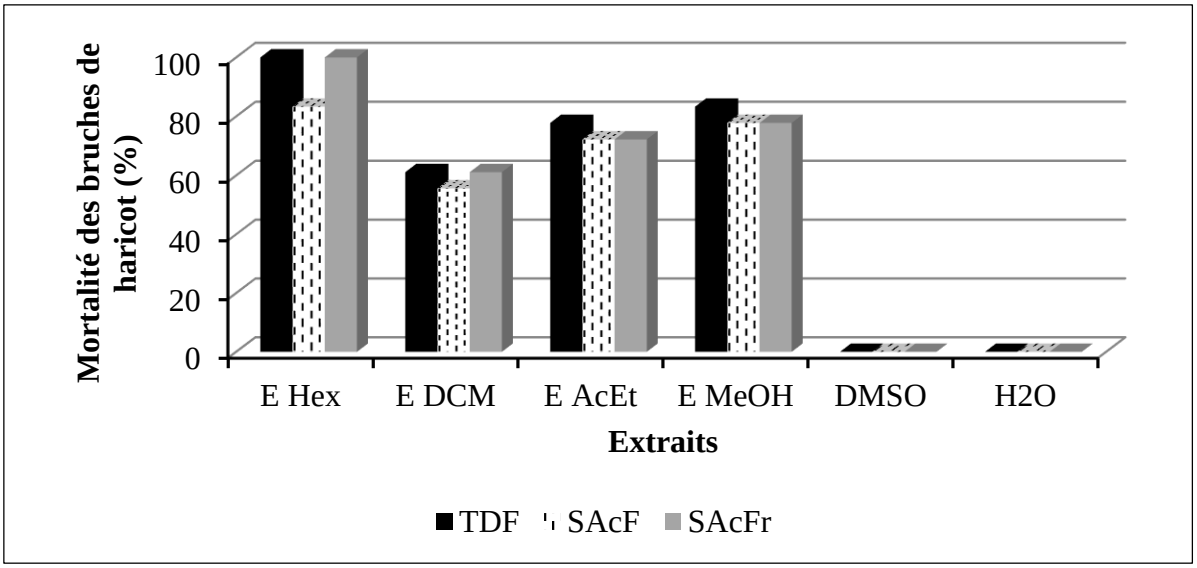


Figure 3-28. Moyennes de taux de mortalité des bruches de haricot pour différents extraits

III. 1. 7. 3. Comparaison des moyennes des taux de mortalité journalière pour les différents extraits

Le tableau 3-8 montre les différentes moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL.

Tableau 3-11. Moyennes de mortalités journalières pour les différents extraits à une dose de 4 mg/mL

Espèce	**Type d'extraits**	**Taux de mortalité**
TDF	TDF Hex	10±0,13
	TDF DCM	8,3±0,13
	TDF AcEt	8,4±0,11
	TDF MeOH	8,5±0,08
SAcF	SAcF Hex	8,5±0,13
	SAcF DCM	5,1±0,07
	SAcF AcEt	8,4±0,01
	SAcF MeOH	6,7±0,11
SAcFr	SAcFr Hex	10±0,11
	SAcFr DCM	6,8±0,08
	SAcFr AcEt	6,8±0,09
	SAcFr MeOH	8,4±0,11

Les résultats de ce tableau montrent que les extraits hexaniques ont une moyenne de mortalité journalière élevée par rapport aux autres extraits.

III. 1. 7. 4. Comparaison des différentes doses de TDF Hex en fonction de leurs effets toxiques

Pour identifier la dose la plus efficace de l'extrait le plus toxique de l'extrait hexanique de *T. diversifolia*, une étude comparative des moyennes de mortalité pour les différentes doses de l'extrait hexanique a été réalisée pendant 10 jours d'observation (Tableau 3-12)

Tableau 3-12. Moyennes des taux de mortalité pour différentes doses de TDF Hex

Doses (mg/ml)	**Moyennes de mortalité (%)**
4	100±0,00
2	55,6±0,5
1	16.7±0,9

Les résultats de ce tableau montrent que le taux de mortalité augmente proportionnellement avec la dose. Il atteint 100 % de mortalité pour les bruches de haricots traitées à la plus forte dose (4 mg/mL) (Tableau 3-12).

Les analyses statistiques ont montré qu'il y a eu des différences numériques entre les extraits de TDF, SAcF et SAcFr à 4 mg/mL, mais statistiquement, aucune différence significative ($P>0.05$) n'a été observée entre les traitements.

III. 1. 7. 5. Détermination de la dose létale 50

La dose létale 50 a été déterminée en fonction des différentes doses de l'extrait la plus efficace. Cette dose a été calculée à base de la formule suivante : $DL_{50} = DL_{100}-\Sigma (a \times b) /n$ et les résultats sont reportés dans le Tableau 3-13.

Tableau 3-13. Paramètres de calcul de DL_{50}

	Doses (mg/mL)	**n**	**Moyenne des nombres de bruches morts**	**% de mortalité**	**a**	**b**	**(a x b)**
	1	6	1	16,7±0,9	1	2,15	2,15
	2	6	3,3	55,6±0,5	2	4,65	9,3
	4	6	6	100±0,00			
Σ							11,45

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

1 mg/ x (4-11, 45 /6) = 2, 09 mg/mL

La dose létale 50 est de 2,09 mg/mL après une période de 10 jours. Cette valeur de la DL_{50} (4 mg/mL) a été calculée après 10 jours de contact confirme le degré élevé de toxicité de ces extraits sur les graines vis-à-vis de ces bruches de haricot.

III.1. 8. Résultats du criblage phytochimique

L'étude phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires aux niveaux des feuilles de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum.* La détection de ces composés est basée sur des réactions de changement de couleur spécifique et de précipitation. Les résultats sont reportés dans les tableaux 3-14 et 3-15.

Le criblage phytochimique réalisé sur les différents extraits organiques de feuilles de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum* a révélé la présence de différents principes actifs comme le montre le tableau 3-14.

Tableau 3-144. Résultats du criblage phytochimique des extraits aqueux

Extraits	**Principes actifs**				
	Gluc.	**Sap.**	**Flav.**	**Tan.**	**Phén.**
TDF	+	+	+	+	+
SAF	+	+	+	-	-

Légende : Sap.: saponosides Flav.: Flavonoïde Tan.: Tanins Glyc.: Glycosides Phen. : Phénol +: présence - : absence

Les résultats de ce tableau montrent que l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *T. diversifolia* révèle la présence des saponosides, des glycosides, des flavonoïdes, des tanins et des phénols tandis que l'extrait aqueux de *S. aculeastrum* révélant la présence des glycosides, des saponosides et des flavonoïdes.

Les essais phytochimiques effectués sur les extraits secs des feuilles de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum* ainsi que ceux des fruits de *S. aculeastrum* ont révélé la présence de différents composés selon le solvant d'extraction comme le montre le tableau 3-15.

Tableau 3-155. Résultats de la caractérisation des groupes chimiques dans les extraits organiques des parties de *T. diversifolia* et *S. aculeastrum*

	Principes actifs						
Types d'extrait	**Alc.**	**Sap.**	**Flav.**	**Stér.**	**Tan.**	**Glyc.**	**Phen.**
TDF Hex	+	-	-	-	-	+	-
TDF DCM	+	-	+	-	-	-	-
TDF AcEt	+	-	+	-	-	-	+
TDF MeOH	+	+	+	+	+	+	+
SAF Hex	+	-	+	+	-	-	-
SAF DCM	+	-	+	+	-	-	-
SAF AcEt	+	-	+	+	+	-	+
SAF MeOH	+	+	+	-	+	-	+
SAFr Hex	+	-	+	-	-	-	-
SAFr DCM	-	-	+	-	-	+	-
SAFr AcEth	+	-	+	+	+	+	+
SAFr MeOH	-	+	+	+	-	+	-

Légende : Alc. : alcaloïdes, Sap.: saponosides, Flav. : flavonoïdes, Stér. : stéroïdes Tan. : Tanins, Glyc: glycosides, Phen. : Phénols, + : présence, - : absence

III. 2. Discussion et interprétation des résultats

Un fort taux de mortalité pour les CLA (88,9 %) et pour les pucerons noirs (91,1 %) a été causé par la concentration la plus élevée (250 g/ L) et le faible taux de mortalité (11,11 % pour les deux insectes) a été provoqué par la plus faible concentration (6.25 g/ L). Cette mortalité serait due à la présence des saponosides, flavonoïdes, tanins des glycosides et des phénols dans les extraits aqueux des feuilles de *T. divsersifolia*. Par ailleurs, des saponosides, des flavonoïdes, et des glycosides sont présents dans les extraits aqueux des feuilles de *S. aculeastrum*. L'efficacité de *T. diversifolia* en tant que termiticide a été démontrée (Diby et al., 2015). Cela serait dû à la présence des glycosides, saponosides et flavonoïdes.

La rémanence de l'extrait aqueux du *T. diversifolia* a été plus efficace. Cela serait dû à la présence des glycosides, saponosides et flavonoïdes.

Un fort taux de mortalité (83,3 % pour les charançons de maïs et 100 % pour les bruches de haricots) a été remarqué avec le traitement par la concentration la plus élevée (4 mg/ mL) et le faible taux de mortalité (11,11 % pour les deux insectes) a été provoqué par la plus faible concentration (1 mg/ mL).

Cela peut être expliqué par la présence, dans cet extrait, de certains métabolites secondaires tels que les polyphénols, les alcaloïdes et les tanins dont la toxicité vis-à-vis des insectes a été démontrée dans plusieurs travaux (Bouchelta et al., 2005 ; Nsambu et al., 2014). De plus, certaines espèces de plantes ont des propriétés insectifuges ou insecticides (toxique, répulsive, anti-appétant) vis-à-vis d'une large gamme de bioagresseurs (Boni et al., 2017) et sont de ce fait utilisées par la population dans la lutte contre les insectes (Savadogo et al., 2016).

La présence des métabolites secondaires et surtout des flavonoïdes peuvent aussi avoir un effet négatif comme substances antiappétantes, comme réducteurs de la digestion et comme toxines (Sylvie et al., 2011).

Etant donné que les composés phénoliques sont connus pour avoir des propriétés ovicides, larvicides, nymphocides et adulticides contre différentes espèces d'insectes (Akono et al., 2012) ; leur présence dans les extraits préparés aurait été la cause des mortalités des bruches de haricots et des charançons de maïs.

Les travaux de Regnault-Roger (2008) qui montrent que les polyphénols ubiquitaires dans la nature, provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. Par ailleurs, les

tanins présentent un effet direct toxique pour certaines espèces d'insectes (Toumnou, et al., 2011).

Le *S. aculeastrum* fait partie des Angiospermes. Ce qui pourrait expliquer ses effets insecticides car les Angiospermes contiennent des alcaloïdes qui sont des métabolites secondaires constitués des atomes d'azote secondaire, tertiaire ou quaternaire dans leurs structures (Bruneton, 2014). Ils sont métaboliquement actifs et jouent un rôle important dans la physiologie des plantes ou des organismes. Les alcaloïdes possèdent des propriétés répulsives ou anti-appétantes à l'égard des insectes ravageurs (Diouf et al., 2020).

L'extrait aqueux de *T. diversifolia* contiendrait des sesquiterpènes lactones et composés phénoliques (tanins) (Adoyo et al., 1997 ; Ziemons et al., 2005). Sa toxicité serait due à la présence de ces métabolites. Ces dernières seraient à l'origine de la faible valeur de la DL 50 (4 mg/ml) calculée après 10 jours de contact confirme le degré élevé de toxicité de ces extraits sur graines vis-à-vis de ces bruches. La faible valeur de la DL_{50} (4 mg/mL) calculée après 10 jours de contact confirme le degré élevé de toxicité de ces extraits sur les graines vis-à-vis des charançons.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a porté sur l'étude phytochimique et le pouvoir biopeticide de *T. divsersifolia* (feuille) ,*S. aculeastrum* (feuille et fruit) dans le but de contribuer à la valorisation des biomolécules responsables de l'activité biopesticide de leurs extraits utilisés par les agriculteurs dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures dans les champs cas de *Spodoptera frugiperda*, *Aphis fabae*) et des récoltes en stock cas de charançons de maïs *Stophilus zeamais* et les bruches du haricot *Acanthoscelides obtectus*.

Etant donné la menace des ravageurs des plantes aux champs et dans les stocks, la toxicité des pesticides synthétiques ainsi que la résistance de certains de ces ravageurs à ces insecticides, l'utilisation biopesticides est une nécessité.

Les échantillons des deux plantes faisant l'objet de cette étude ont été collectés le 20 avril 2022 et le 30 novembre 2022 dans une région naturelle de Bugesera, commune et Province de Kirundo. Ces échantillons ont été soumis à l'extraction par macération dans différents solvants (eau pour les feuilles fraiches et l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol pour les parties sèches) afin d'obtenir deux extraits aqueux (de feuilles fraiches de *T. diversifolia* et de *S. aculeastrum*) et les douze extraits qui ont servi à leur tour à l'étude phytochimique ainsi qu'aux différents tests de toxicité**.**

L'étude phytochimique sur l'extrait aqueux de *T. divsersifolia* nous a donné cinq groupes chimiques qui sont les glycosides, les saponosides, les flavonoïdes, les tanins et les phénols. Le même screening sur l'extrait aqueux de feuilles de *S. aculeastrum* a révélé aussi la présence de trois groupes chimiques qui sont les glycosides, les saponosides, les flavonoïdes.

Les tests de toxicité avec les différents extraits de ces deux plantes biopesticides contre les quatre insectes (la chenille légionnaire, le puceron noir, les charançons de maïs et les bruches de haricots) ont montré la mortalité est en fonctions de l'espèce, de la concentration et du temps.

Les extraits aqueux de *T. divsersifolia* ont montré une toxicité élevée de 88,9 % contre les chenilles légionnaires et celle de 91,1 % contre les pucerons noirs des haricots pour la dose de 250 g/L. La dose létale 50 des extraits aqueux des feuilles de *T. divsersifolia* est de 125,68 g/L contre les pucerons noirs et 149.37 g/L contre la chenille légionnaire.

Cette mortalité serait due à la présence des saponosides, flavonoïdes, tanins, des glycosides et des phénols dans les extraits aqueux de *T. divsersifolia*. L'efficacité de *T. diversifolia* serait dû à la présence des glycosides, saponosides et flavonoïdes.

Les tests insecticides des douze extraits organiques des feuilles et fruits des deux plantes montrent que les extraits hexaniques donnent un meilleur taux de mortalité sur les bruches de haricots et les charançons de maïs. Les extraits hexaniques de *T. divsersifolia* ont entrainé une toxicité élevée de 83.3 % contre les charançons de maïs *Stophilus zeamais* et de 100 % contre les bruches de haricots *Acanthoscelides obtectus* avec une concentration de 4 mg/mL. La dose létale 50 est de 2.77 mg/mL contre *Stophilus zeamais* et 2.09 mg/mL contre *Acanthoscelides obtectus.* Cette mortalité serait due à la présence des métabolites secondaires qu'ils contiennent surtout la présence des alcaloïdes et flavonoïdes.

Néanmoins, nous ne pouvons pas dire que notre recherche a été épuisée, une étude plus approfondie sur les espèces de plantes biopesticides en général et en particulier *T. diversiforia* et *S. aculeastrum* pourrait être envisagée. Cette étude pourrait permettre d'isoler et identifier les différents principes actifs responsables du pouvoir pesticide et déterminer leurs structures moléculaires.

SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

SUGGESTIONS

Pour les agriculteurs

- Visiter leurs champs et contrôler leurs récoltes fréquemment pour observer et prendre des mesures adéquates en cas de présence des insectes ravageurs.

Pour le gouvernement :

- Financer les recherches et vulgariser les plantes insecticides

  Multiplier les occasions pour la sensibilisation des petits exploitants agricoles sur l'importance de l'usage des produits phytochimiques en agriculture.

PERSPECTIVES

Pour les chercheurs :

- Continuer les recherches pour isoler et déterminer les structures moléculaires des principes actifs responsables du pouvoir pesticides se trouvant dans ces deux espèces de plantes
- Formuler des nouveaux produits phytochimiques pour faire face aux insectes ravageurs types
- Déterminer le calendrier d'application pour aider les agriculteurs de savoir la bonne période de traitement

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Ait Taadaouit, N., Hsaine, M., Rochdi, A., Nilahyane, A., & Bouharroud, R. (2012). Effet des extraits végétaux méthanoliques de certaines plantes marocaines sur T uta absoluta (L epidoptera, G elechiidae). *EPPO bulletin*, *42*(2), 275-280.
2. Akono Ntonga, P., Belong P, Tchoumbougnang, F., Bakwo E – M., Henri Fankem . Laboratory of Animal Biology, Department of Animal Biology, Faculty of Science, University of Douala, Cameroon.
3. Amel, M. & Zina, Y. Screening biologique et phytochimique des plantes à alcaloïdes (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf-M'Sila).
4. Anjarwalla, P., Belmain, S., Sola, P., Jamnadass, R., & Stevenson, P. C. (2016). Guide des plantes pesticides. *World Agroforestry Centre (ICRAF)*, Nairobi, Kenya, 74.
5. Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
6. Bélanger, A., & Musabyimana, T. (2005). Le Neem contre les insectes et les maladies. *Journées Horticoles au Canada.*
7. Boni, B.Y., Silvie, P., Assogba, F., Mensah, A., Taofic, A., Verheggen, F., Francis, F. , (2011). Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique), Univ. Liège – Gembloux Agro-Bio Tech. Département AgroBiochem. Entomologie fonctionnelle et évolutive. Passage des Déportés, 2. BE-5030 Gembloux (Belgique).
8. Bremer, E., Janzen, H. H., & Johnston, A. M. (1994). Sensitivity of total, light fraction and mineralizable organic matter to management practices in a Lethbridge soil. *Canadian journal of soil science*, *74*(2), 131-138.
9. Bruneton J., (2014). Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales, Tec & Doc Lavoisier; 5e édition : Tec & Doc. Lavoisier, Paris, France.
10. Burger, T., Mokoka, T., Fouché, G., Steenkamp, P., Steenkamp, V., & Cordier, W. (2018). Solamargine, a bioactive steroidal alkaloid isolated from Solanum aculeastrum induces non-selective cytotoxicity and P-glycoprotein inhibition. *BMC complementary and alternative medicine*, *18*(1), 1-11.
11. Chidambaram, K., Alqahtani, T., Alghazwani, Y., Aldahish, A., Annadurai, S., Venkatesan, K., & Kandasamy, G. (2022). Medicinal plants of Solanum species: the promising sources of phyto-insecticidal compounds. *Journal of Tropical Medicine*, *2022*.

12. Cissokho, P. S., Gueye, M. T., Sow, E. H., & Diarra, K. (2015). Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *9*(3), 1644-1653.
13. Crozier, L. G., Hendry, A. P., Lawson, P. W., Quinn, T. P., Mantua, N. J., Battin, J., ... & Huey, R. (2008). Potential responses to climate change in organisms with complex life histories: evolution and plasticity in Pacific salmon. *Evolutionary Applications*, *1*(2), 252-270.
14. Deravel, J., Krier, F., Jacques, P. (2013). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*.
15. Derradji-Heffaf, F. (2016).Composition chimique et insecticide de trois extraits végétaux à l'égard de *Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera : Curculionidae),* les informations supplémentaires et mises à jour sur la CLA en Afrique se trouvent : http://www.fao.org/foodchain-crisis/how-we-work/plant-protection/fallarmyworm/
16. Diby, Y., Kan S., Tahiri Yamousso, A., Akpesse Akpa, A-M., Crolaud, S., Kouassi, P. (2018) Évaluation de l'effet insecticide de l'extrait aqueux de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) gray (*Asteracee*) sur les termites en culture du riz (NERICA) au centre de la Côte d'Ivoire, Université de Cocody, Laboratoire de Zoologie et de Biologie Animale, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire
17. Diouf, F-G, Samba Sylla,O., Kafia, A-E., Diop, M, Seckd et Nguessan, K, (2019)Test phytochimique et insecticide de trois extraits organiques de feuilles de Ficus thonningii sur *Callosobruchus maculatus Fabricius* Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté des Sciences et Techniques Département de Chimie, Laboratoire des Produits Naturels, Dakar, Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6), 2588-2596.
18. Evans, (2009). W.C. Trease and Evan's pharmacognosy.Elsevier Health Sciencess.
19. FAO. (2018). Evaluation des récoltes, des approvisionnements alimentaires pour la saison 2018a et de la mise en place de la saison 2018b.
20. FAO/MINEAGRIE. (2018) Evaluation des récoltes de la saison 2018A
21. Fatiha, D –H., (2015). Composition chimique et insecticide de trois extraits végétaux à l'égard de *Sitophilus oryzae* (L.) (*Coleoptera : Curculionidae*). ,

22. Foutse, Y. (2017). Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales utilisées dans la région de l'ouest Cameroun: étude phytochimique et pharmacologique d'Afzelia africana JE Smith ex Pers (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).
23. Frodin, D. G., (2004). History and concepts of big plant genera. *Taxon*, *53*(3), 753-776.
24. Helali, A., Mokhtari, C., Ghoul, M., & Belhadef, M. S. (2020). Prévenir l'infection par le COVID19: quelle place pour les plantes médicinales selon la population Algérienne. *Algerian journal of pharmacy*, *3*(1), 2602-795X.
25. Kama-Kama, F., Omosa, L. K., Nganga, J., Maina ,N., Osanjo, G., Yaouba, S., Naessens, J. (2017). Antimycoplasmal Activities of Compounds from *Solanum aculeastrum* and *Piliostigma thonningii* against Strains from the Mycoplasma mycoides Cluster. *Frontiers in Pharmacology*, *8*, 920.
26. Kasongo. Munyinga, Y., Kizungu Vumilia, R., Muengula, M., Fiaboe, M., Kabongo Tshiabukole, J-P., Frangoie Ngoie, A., Ngoyi Lumami, H., Kalonji Mbuyi, A., (2021). Détermination de la présence et du mode de gestion de la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) par les agriculteurs des zones périphériques de l'Université de Kinshasa, Université de Kinshasa. Faculté des Sciences Agronomiques. Département de Phytotechnie. BP 117 Kinshasa XI (RDC).
27. Khursheed, A., Rather, M. A., Jain, V., Rasool, S., Nazir, R., Malik, N. A., & Majid, S. A. (2022). Plant based natural products as potential ecofriendly and safer biopesticides: A comprehensive overview of their advantages over conventional pesticides, limitations and regulatory aspects. *Microbial Pathogenesis*, 105854.
28. Koduru, S. , Grierson, D. S., Van de Venter, M., & Afolayan ,A. J. (2007). Anticancer activity of steroid alkaloids isolated from Solanum aculeastrum. *Pharmaceutical Biology*, *45*(8), 613-618.
29. Koduru, S., Grierson, D. S., & Afolayan, A. J. (2006). Antimicrobial Activity of *Solanum aculeastrum*. *Pharmaceutical biology*, *44*(4), 283-286.
30. Kouwelton, P. F. O. K. (2019). Applications des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et antihypertensives de la pharmacopée ivoirienne, Institut national polytechnique Felix Houphouët-Boignyen Sciences des procédés chimiques, alimentaires et environnementaux, thèse de doctorat.
31. Krishna, M., Khemchandani, T., & Raja, B. R. (2013). Extraction of a novel biopesticide obtained from agricultural weeds useful for medicinal plants. *Journal of Medicinal Plant Research*, *7*(30), 2236-2242.

32. Launay, A. (2017). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales—cinquième édition J. Bruneton, Éditions Lavoisier Tec & Doc, 2016, 1 488 p, 195, Phytothérapie, *15*,316.
33. Mangambu, M. D. D., Mushagalusa, K. F., & Kadima, N. J. (2014). Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, *75*, 6211-6220.
34. Mehdi, A. A., Khetabi, A., Belmalha, S., & Lahlali, R. (2021). Utilisation des extraits de plantes contre les maladies de post-récolte des fruits. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, *9*(2).
35. MINAEGRI, (2019). Plan de gestion des pestes (PGP) : programme de croissance agricole intégrée dans les grands lacs projet régional (BURUNDI).
36. Munyantwari, A. E., Mushagalusa, K. F., Swedi, M. E., & Kalau, W. A. (2019). La Phytotherapie dans les troubles mictionnels chez les sujets masculins de plus de 50 ans à Goma. *Revue Africaine de Médecine et de Santé Publique*, *2*(1), 92-98.
37. Mushambanyi, T. M. B. (2003). Effet de différentes poudres végétales sur l'infestation des semences de légumineuses et de céréales au cours de la conservation au Kivu (République démocratique du Congo). *Cahiers Agricultures*, *12*(1), 23-31.
38. Ndayiragije, P. (2019). Manuel de formation des formateurs sur la lutte intégrée contre la chenille légionnaire d'automne, Spodoptera frugiperda, FAO
39. Ndihokubwayo, S., Havyarimana, T., Windbühler, S., Niragira, S., Habonimana ,B., Kaboneka, S., & Megerle, H. E. (2021). Farmers' Perception of Coffee Agroforestry Systems in an Area Targeted for Organic Certification in Burundi. *East African Journal of Forestry and Agroforestry*, *3*(1), 40-53.
40. Ndomo, A. F., Tapondjou, A. L., Tendonkeng, F., & Tchouanguep, F. M. (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.
41. Ngom, A., Mbaye, D. M. S., Assogbadjo, A. E., & Noba, K. (2021). Chorologie, Ecologie et Usages des espèces sauvages apparentées aux légumes feuilles cultivées du genre Solanum L. au Sénégal : Cas de la zone des Niayes.
42. Njuguna, M- J., Muriuki, M., Karenga, S., (2020).Contact toxicity of Essential Oils from *Tithonia diversifolia* against Aphis gosypii, Thrips tabaci and Bemisia tabaci, Department of Physical and Mathematical Sciences, School of Pure and Applied Sciences, Mount

Kenya University P. O. Box 342-01000, Thika, Kenya *in International Journal of Advanced Research*, *5*(1), 10-20.

43. Nourou, K. N. A., Alain, H., Bertrand, M. S., & Patrice, N. D. J. (2022). Evaluation of the Insecticidal Potential of *Jatropha curcas* seed extracts on pests of Okra in the field.
44. Nsambu, M., Muhigwa, B., Rubabura, K., Bagalw, M. and Bashwira S. (2014). Evaluation in vitro de l'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpenoïdes et steroïdes extraits de *capscicum frutescens* l. (*Solanaceae*) contre *antestiopsis orbitalis ghesquierei*, insectes ravageurs des cafeiers Faculté des Sciences Agronomiques et Environnement, Programme de Maitrise, Université Evangélique en Afrique, U.E.A./Bukavu, Bukavu, Sud Kivu, RD Congo.
45. Patrice, A. . (2016). Développement et utilisation de biopesticides dans le secteur de la pomme de terre Centre de Recherche et de Développement de Québec Agriculture et Agroalimentaire Canada Colloque sur la pomme de terre Lévis.
46. Peng, Z. Y., Huang, S. T., Chen, J. T., Li, N., Wei, Y., Nawaz, A., & Deng, S. Q. (2022). An update of a green pesticide: Metarhizium anisopliae. *All Life*, *15*(1), 1141-1159.
47. Pierre, M., 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.
48. Prasana, J-E. Hnesing, Regina Eddy, V.M., Poschke. (2018). La chenille légionnaires d'automne en Afrique: un guide pour une lutte intégrée contre les ravageurs.
49. Proestos, C., & Komaitis, M. (2008). Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT-food science and technology*, *41*(4), 652-659.
50. Radhort. (2012). La Production et Protection Intégrées appliquée aux cultures maraîchères en Afrique soudano-sahélienne, Centre pour le développement de l'horticulture Cambérène – Dakar.
51. Rageau, J. (1973). Plantes médicinales de la Nouvelle-Calédonie (Vol. 23). Paris : Orstom.
52. Rakotondravelo, D. J. C. (2019). Contraintes et opportunités (Doctora dissertation, Université d'Antananarivo).
53. Rambur. Yarou, B. B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F. (2017). Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 21(4).

54. Regnault-Roger, C., Philogene, B.J.R. and Vincent, C. (2008) Biopesticides of Vegetable Origin. 2nd Edition, Lavoisier, Paris, 550.
55. Savadogo, S., Sambare, O., Sereme, A., & Thiombiano, A. (2016). Méthodes traditionnelles de lutte contre les insectes et les tiques chez les Mossé au Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, *105*, 10120-10133.
56. Séraphin, D. Y. K., Annick, T. Y., Alexandre, A. A., Moïse, T. R. A., & Philippe, K. K. (2015). Évaluation de l'effet insecticide de l'extrait aqueux de Tithonia diversifolia (Hemsl.) gray (Asteracee) sur les termites en culture du riz (NERICA) au centre de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal &Plant Sciences*, *25*(3), 3966-3976.
57. Sylvie, M. (2011). Etude phytochimique et évaluation biologique de Derris ferruginea Benth. (Fabaceae). Biochimie, Biologie Moléculaire. Université d'Angers
58. Tahiri, A., Amissa Adima, A., Adje, A. F., & Amusant, N. (2011). Effet pesticide et screening des extraits d'Azadirachta indica (A.) Juss. sur le termite Macrotermes bellicosus, Université de Cocody Ufr Biosciences Laboratoire d'endocrinologie et de biologie de la reproduction 22 BP 582, Abidjan Côte d'Ivoire
59. Tahiri, A., Amissa Adima, A., Adje, A. F., & Amusant, N. (2011). Effet pesticide et screening des extraits de *Azadirachta indica* (A.) Juss. sur le termite *Macrotermes bellicosus*, Université de Cocody Ufr Biosciences Laboratoire d'endocrinologie et de biologie de la reproduction 22 BP 582, Abidjan Côte d'Ivoire
60. Toumnou, A. L., Seck, D., Namkosserena, S., Cisse, N., Kandioura, N., & Sembene, M. (2012). Utilisation des plantes indigènes à effet insecticide pour la protection des denrées stockées contre des insectes ravageurs à Boukoko (Centrafrique). *International Journal of biological and chemical sciences*, 6(3), 1040-1050.
61. Troupin, G. (1978). Flore du rwanda sper1atophytes volume l glossaire des termes techniques clës de détermination des familles gymnospermes angiospermes (des casuarinaceae aux caesazpiniaceae) in-8° - economische wetenschappen - nr 9.
62. Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *97*, 159-178.
63. White, A. F., Heath, J. P., & Gisborne, B. (2006). Seasonal timing of bald eagle attendance and influence on activity budgets of glaucous-winged gulls in Barkley Sound, British Columbia. *Waterbirds*, *29*(4), 497-500.