

Effets Insecticide et Insectifuge des Huiles Essentielles de Cinq Plantes Aromatiques Sur la Bruche de Haricot Cultivé en République du Congo

Mpika Joseph
Mboussy Tsoungould Feldane Gladrich
Landou Mankessi Joe Emmanuelle
Ongouya Liana Dalcantara épouse Makanga
Attibayeba Attibayeba

Laboratoire de biotechnologie et production végétale, Faculté des sciences et techniques, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo

[Doi:10.19044/esj.2023.v19n6p294](https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n6p294)

Submitted: 10 October 2022
Accepted: 17 February 2023
Published: 28 February 2023

Copyright 2023 Author(s)
Under Creative Commons BY-NC-ND
4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Joseph M., Gladrich M.T.F., Emmanuelle L.M.J., Makanga O.L.D. & Attibayeba (2023). *Effets Insecticide et Insectifuge des Huiles Essentielles de Cinq Plantes Aromatiques Sur la Bruche de Haricot Cultivé en République du Congo*. European Scientific Journal, ESJ, 19 (6), 294. <https://doi.org/10.19044/esj.2023.v19n6p294>

Résumé

La bruche (*Acanthoescides obtectus* Say) infeste le haricot au champ et en stock. Les dégâts causés par cet insecte sont présents dans toutes les zones de production-du Congo. Outre le tri des graines bruchées fait par les producteurs, les feuilles de *Lippia multiflora* L., *Cymbopogon citratus* Steud., *Chenopodium ambrosioides* L., *Ocimum gratissimum* L. et les rhizomes de *Zingiber officinale* Rosc. sont aussi utilisés comme ingrédients pour lutter contre la bruche. L'étude vise à évaluer l'efficacité des huiles essentielles extraites de cinq plantes sur les bruches. Ces huiles sont extraites par l'hydro distillation sur les feuilles ou les rhizomes à l'état frais ou sec. Leurs effets contre la bruche sont évalués *in vitro* par test de répulsion, de contact et de fumigation avec ou sans graines. Il ressort une forte répulsion de cinq huiles vis-à-vis des bruches. L'huile de *C. ambrosioides* extraite à l'état sec a un taux de répulsion de 98,13%. A 0,007 µl/cm², les taux de mortalité des bruches de 78,75% et 61,25 % sont notés avec *C. ambrosioides* extraites à l'état sec et à l'état frais. A l'état sec, ceux-ci de 78,75 % et 71,25 % sont observées avec *C. ambrosioides* et *L. multiflora*. A 0,01 µl/g de graines, les taux de mortalité de

61,25 %, 50 %, 42,50 % et 38,25 % sont observées avec *C. ambrosioides*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *Z. officinale* extrait à l'état sec. A 0,002 μ/cm^3 après 6 h d'inhalation, les taux de mortalité de 78,75 %, 71,25 %, 51,25 %, 48,75 % et 48,75 % sont enregistrés avec *C. ambrosioides* et *L. multiflora*, *O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale* extraites à l'état frais. A l'état sec, les taux de 61,25% et 50 % sont obtenus avec les huiles de *C. ambrosioides* et *C. citratus*. L'efficacité *in vitro* avérée de cinq huiles est en cours d'évaluation en plantation contre la bruche.

Mots-clés: Bio insecticide, fumigation, contact avec graines, répulsion, mortalité des bruches

Insecticidal and Repellent Effects of Essential Oils of Five Aromatic Plants on Bean Weevil Grown in the Republic of Congo

Mpika Joseph

Mboussy Tsoungould Feldane Gladrich

Landou Mankessi Joe Emmanuelle

Ongouya Liana Dalcantara épse Makanga

Attibayeba Attibayeba

Laboratoire de biotechnologie et production végétale, Faculté des sciences et techniques, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo

Abstract

The coleopteron (*Acanthoescides obtectus* Say) infests beans in the field and in storage. The damage caused by this insect is present in all production areas of Congo. In addition to the sorting of seeds by producers, leaves of *Lippia multiflora* L., *Cymbopogon citratus* Steud, *Chenopodium ambrosioides* L., *Ocimum gratissimum* L. and rhizomes of *Zingiber officinale* Rosc. are also used as ingredients to control bruchid. The study aims to evaluate the efficacy of essential oils extracted from five plants on bruchids. These oils are extracted by hydro distillation of fresh or dried leaves and rhizomes. Their effects against *Acanthoescides obtectus* are evaluated *in vitro* by repulsion, contact and fumigation tests with or without seeds. Five oils were found to be highly repellent to bruchids. The *C. ambrosioides* oil, extracted in the dry state had a repulsion rate of 98.13%. At 0.007 μ/cm^2 the mortality rates of 78.75% and 61.25% were noted with dried and fresh extract of *C. ambrosioides*. In the dry state, *C. ambrosioides* and *L. multiflora* recorded 78.75% and 71.25% at 0.01 μ/g of seed. Moreover, the mortality rates of

61.25%, 50%, 42.50% and 38.25% were observed with *C. ambrosioides*, *C. citratus*, *O. gratissimum* and *Z. officinale* when extracted dry. At 0.002 μ g/cm³ and after 6h of inhalation, mortality rates of 78.75%, 71.25%, 51.25%, 48.75% and 48.75% were recorded with fresh extracts of *C. ambrosioides* and *L. multiflora*, *O. gratissimum*, *C. citratus* and *Z. officinale*. In the dry state, mortality rate of 61.25% and 50% are obtained with *C. ambrosioides* and *C. citratus* oils. The proven *in vitro* efficacy of five oils against *A. obtectus* is being evaluated in plantations.

Keywords: Bio insecticide, fumigation, seed contact, repellency, bruchid mortality

1. Introduction

Le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) est une légumineuse cultivée pour ses graines comestibles. Ces graines occupent une place importante dans l'alimentation humaine et animale. Elles sont riches en protéines (teneur deux à trois fois plus élevée que la plupart des céréales), constituent une bonne source d'énergie, et fournissent de nombreux éléments minéraux essentiels comme le fer et le calcium (Stanton, 1950 ; Anonyme, 2001). Dans la plupart des pays à faibles revenus, près de 10% de la consommation journalière de protéines et près de 5% de l'apport énergétique proviennent des légumineuses (Anonyme, 2001). Outre la valeur nutritionnelle, les légumineuses sont principalement cultivées pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique grâce aux rhizobiums, et pour rompre les successions céréalières préjudiciables aux rendements et aux productions à travers les assolements (Demol et al. 2002 ; Freytag & Debouck, 2002). Malheureusement ces légumineuses dont les cultures de haricots se caractérisent très souvent par des rendements faibles et instables (Baudoin, 2001 ; Bouwmeester et al. 2009). Cela s'explique, en particulier, par leur sensibilité aux contraintes biotiques et abiotiques (Mbukula et al. 2018 ; Bayuelo-Jiménez et al. 2003). Pour les contraintes biotiques, les cultures de haricots sont sujettes à des nombreuses attaques de divers insectes nuisibles et des maladies qui peuvent entraîner d'importants dégâts en l'absence de moyens de lutte appropriés (Mahuku et al. 2002 ; Caixeta et al. 2003 ; Beebe et al. 2013 ; Mwanauta et al. 2015). Les pertes dues aux insectes sont considérables dans les pays où les techniques modernes de stockage ne sont pas encore introduites. Les coléoptères Bruchidae, dont les larves ne consomment et ne se développent que dans les graines, sont l'une des très rares familles à avoir colonisé les légumineuses (Caswell, 1960). Parmi ceux-ci, la bruche du haricot, *Acanthoscelides obtectus* Say est un insecte cosmopolite potentiellement ubiquitaire, pouvant infester les graines de sa plante hôte *Phaseolus vulgaris* à la fois au champ et en stock. Le Congo n'est pas épargné des dégâts causés par ces bruches dans les régions

productrices de haricots. Les dégâts importants sont enregistrés sur les deux localités pilotes, Boko-Songho et Loudima, retenues dans le cadre du projet « Petits fermiers » conduit par le Programme des Nations Unies pour l'alimentation (PAM). L'importance des dégâts occasionnés par la bruche du haricot en culture et en stock contraint l'agriculteur à recourir à des mesures de protection (Ferron & Deguine, 2004). Les pratiques culturales sont utilisées pour aider à réduire l'incidence d'infestation de bruches de haricots. Ces pratiques incorporent la destruction des résidus de récolte qui peuvent contenir les bruches, la stratégie de récolte des gousses récoltées au fur et à mesure de leur maturité ou récolte groupée des gousses matures et un planting précoce. Toutefois, il est difficile de supprimer effectivement toutes les sources de bruches pour obtenir une bonne protection en condition de forte pluviosité favorable à la pullulation. Le tri des haricots est une pratique habituelle dans les zones de production au Congo. Mais les grains bruchés sont rejetés, et elles peuvent éventuellement constituer une source de ré-infestation (Delobel & Epoua-Mouinga, 1984). Au regard des insuffisances des méthodes de lutte ci-dessus mentionnées, la lutte chimique par l'utilisation des insecticides représente l'une des méthodes la plus utilisée contre ces insectes ravageurs. Mais, il existe des espèces parmi *Acanthoscelides obtectus* présentant une grande résistance aux insecticides classiques (Regnault-Roger & Hamraoui, 1995). Par ailleurs, leur toxicité et leur usage intensif et abusif engendrent des effets néfastes secondaires, scientifiquement démontrés, sur la santé humaine, la biocénose, la perturbation des niches écologiques et de l'environnement (Sun & Davidson, 1996). Les exigences environnementales et sanitaires obligent l'usage phytobiocides ou phyto-insecticides qui sont éco-compatibles, non toxiques pour l'homme et plus efficaces que les insecticides de synthèses (Hall & Menn, 1999). Les plantes aromatiques sont couramment utilisées par les producteurs congolais comme phytobiocides ou phyto-insecticides pour lutter contre les bruches du haricot. Les effets insecticides ou insectifuges avérés ou non vis-à-vis des bruches du haricot n'ont pour fondement leurs connaissances empiriques. Les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques seraient impliquées dans leur usage comme ingrédients dans les méthodes de lutte traditionnelle contre les bruches du haricot dans des zones productrices du Congo. L'étude vise à évaluer l'efficacité des huiles essentielles extraites des cinq plantes aromatiques utilisées par les producteurs congolais sur les bruches du haricot.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) utilisées ont été extraites des feuilles de *Lippia multiflora* L. « Bulukutu », *Cymbopogon citratus* Steud. « Citronnelle », *Chenopodium ambrosioides* L. « Makaya mukuyu » et

Ocimum gratissimum L. « Matsusu-tsusu » ainsi que des rhizomes de *Zingiber officinale* Rosc. « Tangawiss ». Les cinq plantes sont identifiées comme ingrédients dans les méthodes traditionnelles de lutte contre les bruches dans les régions productrices de haricots au Congo. Les feuilles (4kg) de ces quatre plantes ont été récoltées à AgriCongo-Mayanga dans la zone périurbaine de Brazzaville. 8 kg des rhizomes de *Zingiber officinale* ont été achetés au marché de Bacongo (arrondissement n°2) de Brazzaville. Avant l'extraction des HE, les organes ont été transportés au laboratoire, rincés deux fois à l'eau de robinet pour enlever les débris inertes (poussières) et vivants (fourmis...). Ces organes ont été divisés en deux lots. Les organes du premier lot ont été utilisés à l'état frais ; ceux du second lot ont été séchés à l'abri de la lumière pendant 10 jours. Pour ces deux lots, l'extraction est faite par hydro distillation sur un extracteur de type Clevenger (Clevenger, 1908). C'est ainsi que, 500 g d'organe frais ou séché ont été introduits dans un ballon de 6 litres contenant 2 litres d'eau du robinet. Le mélange a été porté à ébullition pendant 3 h 30 minutes (soit 1h30 pour le chauffage du ballon et 2h pour l'extraction). La vapeur émise a monté jusqu'à un condensateur formant un condensat. Le condensat a été retombé dans la petite burette. L'huile flottante sur l'eau dans la burette a été progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale. Après 2 h d'extraction, l'HE a ensuite été récupérée avec de l'éther diéthylique pour favoriser le flottement de l'huile sur l'eau grâce à une micropipette. Pour sécher toutes les traces d'eau contenues dans l'huile recueillie, le sulfate de magnésium anhydre $MgSO_4$ a été utilisé. L'HE extraite a été conservée dans un flacon hermétiquement fermé à 4°C au réfrigérateur avant l'évaluation de leur action insecticide ou insectifuge sur labruche du haricot.

2.2. Analyse physico-chimique des huiles essentielles extraites

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (Kaid, 2004).

$$R = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \text{ où}$$

R : rendement en HE exprimé en %

m 1: masse totale des HE en gramme

m 2 : masse totale d'échantillon en gramme

Pour déterminer les composés chimiques, 10 mg d'échantillon d'HE ont été dérivatisés par addition de 250 µl de N, O-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide, Trimethylchlorosilane (BSTFA + TMCS, 99 :1) et de 250µl de pyridine. Le mélange a été homogénéisé pendant 2 mn à l'aide d'un vortex, puis porté à 70 °C à l'étuve pendant 30 min. Ainsi, 1µl de la solution obtenue a été injecté dans la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) pour séparer les molécules de ce mélange

gazeux ainsi que pour détecter et identifier des composés en fonction de leur rapport masse sur charge. L'analyse par GC-MS est réalisée sur un appareil de marque Perkin Elmer, modèle Clarus 680GC 600C MS doté d'une colonne Restek Rtx-5ms de 60 m de longueur, d'un diamètre intérieur de 0,25 mm et d'une épaisseur de film de la phase stationnaire de 0,25 µm.

2.3. Élevage de masse des bruches

Les imagos de bruche (*A. obtectus*), utilisés pour l'évaluation de l'action insecticide ou insectifuge des HE extraites, sont obtenus à partir des graines colletées sur les pieds de plantations d'essai dans les localités de Kimongo, Lissièmi et Boko songho en République du Congo. L'élevage des bruches de haricots est effectué au sein du laboratoire afin d'obtenir une population massive et homogène. Ces graines ont été triées pour éliminer les bruchées, puis lavées pour éliminer les graines endommagées et enlever toutes les traces de résidus des produits chimiques utilisés lors du stockage. Ensuite, les graines ont été placées au réfrigérateur pendant une semaine, puis à l'étuve à 50°C pendant 2 heures pour éliminer les œufs résiduels et les larves de bruches. Avant l'usage, les graines traitées ont été conditionnées dans des bocaux en verre de 1000 cm³. L'élevage en masse a été effectué dans ces bocaux en verre. En effet, dans un bocal de 1000 cm³, 60 bruches ont été mises en contact avec 100g des graines de haricot. Ces bruches sont de sexes confondus et d'âges indéterminés. Elles constituent ainsi la première génération. Les bocaux en verre ont été ~~soit~~ placés à la température de 25±2°C, l'hydrométrie moyenne de 70±5% et en photophase de 12h (LD12 :12). Après 15 jours d'incubation, le contenu des bocaux a été tamisé afin d'éliminer les bruches vivantes et mortes. Les individus de la 2^e génération ont été utilisés pour les tests biologiques. Le cycle complet de l'élevage de masse est de 45 jours.

2.4. Effets des huiles essentielles sur les bruches de haricot

L'effet insecticide et insectifuge des HE extraites de cinq plantes aromatiques sur les bruches est évalué par trois tests *in vitro*. Le premier test, est un test de répulsion des HE vis-à-vis des bruches sur les deux moitiés du papier filtre réunies dont l'une contient l'huile et l'autre non. Le second test de contact de l'HE sur papier filtre avec ou sans graines de haricot. Le test consiste à mesurer la toxicité à *A. obtectus* selon la dose et la durée d'exposition des HE. Le troisième test de fumigation avec ou sans graines de haricot. Il consiste à évaluer la toxicité sur la bruche de haricot par inhalation en présence de l'HE.

Le test de répulsion HE vis à vis *A. obtectus* a été réalisé dans des boîtes de pétri de 9 cm. Ce test permet d'évaluer l'effet insectifuge des huiles vis-à-vis d'imagos d'*A. obtectus* en déterminant le taux de répulsion par la

méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par (McDonald et al. 1970). Des disques de papier filtre (Whatman HPL3.1) de 9 cm de diamètre ont été coupés en deux parties égales (31,80 cm² chacune). Quatre solutions ont été préparées avec des volumes respectifs de 0,5 ; 1 ; 2 et 4 µl des HE diluées respectivement dans l'acétone 0,5 ml. Chacune de solutions obtenues est répartie uniformément sur l'un de demi-disque du papier filtre. L'autre moitié du papier reçoit uniquement de 0,5 ml d'acétone servant de témoin. Après 10 minutes d'évaporation complète de l'acétone, les concentrations respectives de 0,015 ; 0,031 ; 0,062 et 0,125 µl/cm² de surface ont été obtenues par les demi-disques traités par la solution (HE + acétone). Les deux demi-disques ont été rassemblés par une bande adhésive transparente et placés dans les boîtes de pétri. Ensuite, 20 imagos *A. obtectus*, de sexe confondus, âgés deux jours ont été disposés au centre de chaque boîte de pétri. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque volume de chacune de ces huiles. Les boîtes de pétri ont été placées sur la palliasse à une température moyenne de 25 ± 2° C avec une humidité relative moyenne de 75 ± 5 %. Au bout deux heures, le dénombrement des *A. obtectus* présents est réalisé sur les deux demi-disques. Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé par la formule de McDonald et al. (1970) suivante:

$$PR (\%) = \frac{Nc - Nt}{Nc + Nt} \times 100$$

Nc : nombre d'insectes présents sur la partie du disque traité uniquement à l'acétone ;

Nt : nombre d'insectes présents sur la partie du disque traité uniquement avec la solution (acétone + HE).

Le taux de répulsion pour chaque HE vis-à-vis d'*A. obtectus* a été calculé et attribué à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à 5 (McDonald et al. 1970).

Tableau 1. Classification de la répulsivité des huiles essentielles selon (McDonald et al. 1970)

Classe	Intervalle de répulsion	Propriétés
0	PR ≤ 0,1%	N'est pas répulsive
I	00,1 < PR ≤ 20%	Très faiblement répulsive
II	20,1 < PR ≤ 40%	Faiblement répulsive
III	40,1 < PR ≤ 60%	Modérément répulsive
IV	60,1 < PR ≤ 80%	Répulsive
V	80,1 < PR ≤ 100%	Très répulsive

L'évaluation de l'action insecticide des HE sur la bruche a été réalisée par les tests par contact sur papier filtre avec ou sans graines de haricot. Sur papier filtre sans graines, les volumes des HE 0 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4 µl ont été dilués chacun dans 1 ml d'acétone. Les concentrations respectives de 0 ; 0,007 ; 0,015 ; 0,031 et 0,062 µl/cm² des HE obtenues sont répandues

identiquement (1 ml) sur les disques de papier filtre Whatman (HPL3.1) de 9 cm de diamètre (63,6 cm² de surface). Après 20 minutes d'évaporation complète d'acétone, 20 bruches de haricots âgées de deux jours ont été introduites et placées au centre des disques. Un lot témoin non traité (0 µl) a été réalisé. Quatre répétitions sont effectuées par concentration. L'incubation des boîtes de Pétri a été effectuée sur la paillasse à une température moyenne de 25 ± 2° C avec une humidité relative moyenne de 75 ± 5 % pendant 48 heures. Les mortalités ont été dénombrées toutes les 12 heures.

Sur papier filtre avec graines, 50 g de graines du haricot ont été introduites dans le bocal en verre de 250 cm³ de volume. Les solutions (HE + acétone) sont préparées en mélangeant les volumes de 0,5 ; 1 ; 2 et 4 µl de l'HE et 1 ml d'acétone servant de solvant. Il est prélevé 1 ml de chaque solution et répandue sur les graines contenues par bocal en verre. Après l'agitation du mélange pendant 5 minutes pour faciliter l'imprégnation des graines par l'HE, il est procédé à l'évaporation de l'acétone pendant 20 minutes. Des doses des HE de 0, 0,01 ; 0,02 ; 0,04 et 0,08 µl/g de graines ont été obtenues. Après l'évaporation de l'acétone, 20 imagos âgées de deux jours ont été introduits dans chaque bocal en verre recouvert d'un tissu poreux. Un lot témoin a été réalisé uniquement à l'acétone (1 ml) et quatre répétitions sont effectuées par dose. L'ensemble des bocaux en verre a été placé sur la paillasse à une température moyenne de 25 ± 2° C avec une humidité relative moyenne de 75 ± 5 %. Les imagos morts ont été dénombrés toutes les 12 heures pendant 2 jours.

L'évaluation de l'action insecticide des HE sur bruches est réalisée par le test par fumigation ou inhalation avec ou non des graines de haricot. Ce test a été effectué sur des bocaux en verre de 270 cm³ de volume à couvercle étanche. Pour la fumigation en absence des graines, 0,5 µl, 1 µl, 2 µl et 4 µl HE ont été dilués à 0,1 ml d'acétone. Ainsi, 10 µl de chaque solution a été répandu sur ces carrés de papier filtre (Whatman HPL3.1) de 4 cm² de surface. Ces carrés sont fixés chacun à l'aide d'un fil noir au centre de la face interne des couvercles afin qu'ils prennent la mi-hauteur du bocal en verre. Après 20 minutes d'évaporation complète d'acétone, les concentrations respectives de 0,002 ; 0,004 ; 0,007 et 0,015µl/cm³ des HE sont obtenues au sein de ces bocaux. Parallèlement, le témoin reçoit uniquement 0,1 ml d'acétone. Après l'évaporation, 20 imagos de sexes confondus et âgés de trois jours ont été déposés dans chacun un bocal. Chaque dose est répétée quatre fois. L'ensemble des bocaux en verre a été placé sur la paillasse à une température moyenne de 25 ± 2° C avec une humidité relative moyenne de 75 ± 5 % pendant 24 heures. Dans chaque bocal, le dénombrement des individus morts a été effectué après 6, 12 et 24 heures. Pour la fumigation ou inhalation avec des graines, 50 g des graines du haricot et 20 imagos de sexes confondus et âgés de trois jours ont été introduits dans chacun des bocaux en verre de 270

cm³ de volume à couvercle étanche. L'incubation et le dénombrement des bruches mortes ont été effectués dans les mêmes conditions.

Pour les tests de contact ou fumigation avec ou sans graines du haricot, après le dénombrement des bruches mortes, le taux de mortalité par bocal ou boîte de pétri a été calculé. Les taux de mortalité des bruches dans les bocalaux traités sont exprimés par la formule d'Abbott (1905) citée par (Ndomo et al. 2009) en pourcentage de mortalité corrigée (MC), en tenant compte du pourcentage de mortalité naturelle enregistré dans les bocalaux témoins (Mt) :

$$MC = \frac{M0 - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

La méthode de Bliss (1938) citée (Ndomo et al. 2009) a été utilisée pour déterminer la DL50 telle que décrite ci-dessous.

Soit $y = ax + b$ (2) l'équation de la droite de régression définie par l'équation :

$$x = \frac{y - b}{a}$$

Où

x = log (concentration) ;

y = probit de mortalité ;

a = pente de la droite ;

b = insertion de la droite de régression avec l'axe des ordonnées.

Où

x = log (concentration) ;

y = probit de mortalité ;

a = pente de la droite ;

b = insertion de la droite de régression avec l'axe des ordonnées.

Pour concentration = DL50, on a :

$$\text{Log DL50} = \frac{y - b}{a} \leftrightarrow \text{DL50} = 10^{\frac{y-b}{a}}$$

4. Analyse des données

Le logiciel XLSTAT version 7.5.3-a été utilisé pour toutes les analyses statistiques. Pour l'extraction et les tests confrontation directe ou indirecte entre les HEs et les bruches, l'analyse de variance (ANOVA) ont porté sur le taux moyen d'extraction, le taux de répulsion et le taux de mortalité des bruches du haricot. Après vérification de la normalité de distribution des résidus et celle de l'homogénéité des variances des sous populations analysées, la comparaison de moyennes des variables mesurées a été réalisée par le test-Student Newman et Keuls au seuil de risque de 5%. Le modèle linéaire s'écrit $Y = \mu + T + \varepsilon$. Où, Y est la variable réponse; μ la moyenne générale; T, représente le traitement; ε , l'erreur ; ε_{ij} est supposé être normalement distribué avec une moyenne nulle et une variance σ^2 , c'est à dire, $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

5. Résultats

5.1. Caractéristiques physico chimiques des huiles essentielles extraites

Toutes les HE extraites des cinq espèces végétales sont de couleurs jaune et blanc d'œuf. Pour une espèce végétale donnée, il existe une nuance de la couleur entre l'HE extraite d'organes frais et secs. Les HE extraites d'organes secs sont jaunes ocres comparées à celles obtenues d'organes frais (Tableau 1).

Tableau 2. Couleur des huiles essentielles extraites d'organes frais ou secs

Espèces végétales	Couleurs	
	Organe frais	Organes sec
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Jaune poussin	Jaune moutarde
<i>Cymbopogon citratus</i> Steud.	Blanc d'œuf	Jaune poussin
<i>Lippia multiflora</i> L.	Jaune clair	Jaune de Naples
<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Blanc d'œuf	Jaune poussin
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Blanc	Jaune champagne

On note une amélioration du rendement d'extraction des HE extraites d'organes secs (Figure 1). Avec l'HE d'*Ocimum gratissimum*, le taux d'extraction est de 1,01% et 0,46 % sur les feuilles sèches et fraîches. Il y a aussi une différence dans le taux d'extraction selon la plante aromatique. Les taux de 0,94% et 1,01% sont enregistrés avec les HE de *Lippia multiflora* et d'*O. gratissimum* extraite des feuilles séchées à l'abri du soleil. Ces taux sont élevés à 0,36%, 0,36% et 0,32% indiquées chez *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale* et *Chenopodium ambrosioides*. Les résultats de l'analyse statistique révèlent un effet « espèce de plante » et « état d'organe » significatif dans le rendement d'extraction de l'HE. Pour *O. gratissimum*, le rendement de 1,01% est plus significatif par rapport à ceux des autres plantes. Sur les organes frais ou secs, l'analyse de variance permet de distinguer cinq groupes homogènes (a, b, c, d et e) des espèces de plantes étudiées groupes distincts selon le rendement d'extraction des HE (Figure 1).

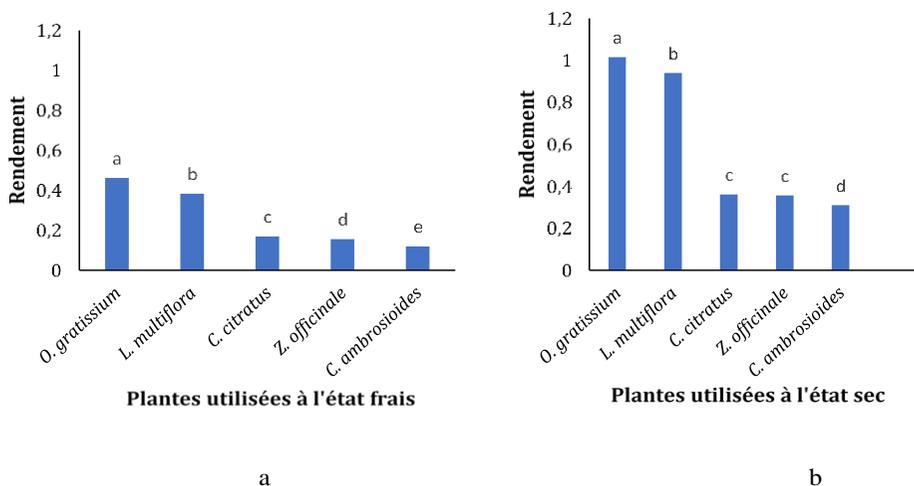


Figure 1. Taux d'extraction des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques

Excepté *C. citratus*, l'analyse chromatographique des HE permet de mettre évidence le thymol et o-cymene dans les quatre plantes aromatiques (Tableau 3). Le thymol est représenté à plus de 90 % dans les HE d'*O. gratissimum* extraites sur les feuilles fraîches ou sèches. Les proportions de 71,1 % et 52,6% du thymol sont enregistrées dans l'HE de *Z. officinale* extraite des rhizomes secs et de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches. L'o-cymene est représenté à 17,4% dans l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches. Avec une proportion inférieure à 5%, l'o-cymene est présent dans toutes les autres HE testées. Outre *O. gratissimum*, les composés β -citral et α -citral sont identifiés dans les quatre autres HE. Mais, le β -citral est absent d'HE de *C. ambrosioides* et *C. citratus* extraites des feuilles sèches. Avec ce composé, l'occurrence 32,6% est observée dans l'HE de *C. citratus*. Cette occurrence est plus importante par rapport à 24,2 % et 26,2 % enregistré dans les HE de *C. ambrosioides* et *L. multiflora*.

Excepté l'huile de *L. multiflora* extraite des feuilles sèches, le α -citral est identifiée dans toutes les HE. Avec les feuilles fraîches, le α -citral est représenté à une forte proportion de 40,5%, 47,1% et 52,6% dans l'HE de *C. ambrosioides*, *L. multiflora* et *C. citratus*. Le (2Z)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene) n'est identifié qu'à 44,6% dans l'HE de *C. citratus* extraite des feuilles sèches. Il en est de même pour les composés 1-imidazol-1-yl-2,2-dimethylpropan-1-one, D-carvone et 2,4-ditert-butyl-2,4-adamantanediol identifiés dans l'HE de *L. multiflora*. Avec *Z. officinale*, sur les rhizomes secs et frais, il est identifié zingiberene, β -sesquiphellandrene et tert-butyl (2E)- 3,7-dimethyl-2,6-octadienoyl. Cependant, le constituant α -curcumene n'est identifié dans l'HE de *Z. officinale* extraite de rhizomes secs.

Toutes ces molécules ne sont pas présentes dans les HE de *C. ambrosioides*, *C. citratus*, *L. multiflora* et *O. gratissimum* (Tableau 3).

Tableau 3. Composés majeurs d'huiles essentielles de 5 plantes aromatiques extraite des organes frais et secs

Nom de composés	<i>Chenopodium ambrosioides</i>		<i>Cymbopogon citratus</i>		<i>Lippia multiflora</i>		<i>Ocimum gratissimum</i>		<i>Zingiber officinale</i>	
	Frais	Sec	Frais	Sec	Frais	Sec	Frais	Sec	Frais	Sec
β-Citral	24,2	0	32,6	0	26,2	0	0	0	2,0	0,7
α-Citral	40,5	1,9	53,7	30,0	47,1	0	0	0	3,5	1,1
Thymol	27,8	52,6	0	0,4	7,7	21,9	92,6	93,7	0,8	71,1
o-Cymene	3,2	17,4	0	4,5	0,3	4,9	3,0	2,4	0,8	2,7
2-Bornene	0	13,9	0	0	0	0	0	0	0	0
(2Z)-2-(3,3-Dimethylcyclohexylidene) ethanol	0	0	0	44,6	0	0	0	0	0	0
1-Imidazol-1-yl-2,2-dimethylpropan-1-one	0	0	0	0	0	16,9	0	0	0	0
D-Carvone	0	0	0	0	0	10,9	0	0	0	0
2,4-Ditert-butyl-2,4-adamantanediol	0	0	0	0	0	10,9	0	0	0	0
α-Curcumene	0	0	0	0	0	0	0	0	10,9	
Zingiberene	0	0	0	0	0	0	0	0	18,7	5,9
β-Sesquiphellandrene	0	0	0	0	0	0	0	0	11,8	2,8
tert-Butyl(2E)-3,7-dimethyl-2,6-octadienoyl	0	0	0	0	0	0	0	0	12,3	1,7
Total identified compounds (%)	92,5	83,9	86,3	74,6	81	60,6	95,6	96,1	53,7	77

5.2. Effet insectifuge des huiles essentielles sur bruches de haricot

Les HE se sont montrées répulsives vis à vis des bruches d'*A. obtectus* même à la plus faible dose de 0,015 µl/cm² (tableau 4). Cette activité augmente avec les doses de l'HE après 2 heures d'exposition. A la plus forte dose de 0,125µl/cm², la répulsion varie de 85% à 100% avec les HE de *Z. officinale* et *C. ambrosioides* extraites d'organes frais. Le taux de répulsion des HE extraites d'organes secs est plus important comparé à celui obtenu sur les organes frais. A l'état frais, les taux moyens de répulsion de 61,81% et 93,75 % sont enregistrés avec l'HE de *C. citratus* et *C. ambrosioides*. Cette dernière HE est très répulsive. A l'état sec, il en ressort que les HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides* sont très répulsives avec des taux de 93,13% et 98,13% ; celle d'*O. gratissimum* l'est à 65,62% et celles de *Z. officinale* et *C. citratus* le sont à 51,88% et 56,25% (Tableau 4).

Tableau 4. Classification de taux de répulsion (%) des bruches du haricot en fonction des doses d'huiles essentielles (HE) extraites d'organes frais ou secs

Espèces végétales	Dose (μcm^3)	Organes à l'état frais				Organes à l'état sec			
		Taux de répulsion (%)	TMR	Classe	Qualification	Taux de répulsion (%)	TMR	Classe	Qualification
<i>Zingiber officinale</i>	0,125	85d±5,8	49,83	III	MR	85c±5,77	51,88	III	MR
	0,062	65c±5,8				57,5 b±5			
	0,031	35b±12,9				37,5a±5			
	0,015	14,32a±1,2				27,5a±9,6			
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,125	90c±8,16	61,81	IV	R	100b	93,13	V	TR
	0,062	82,5c±15				100b			
	0,031	50b±8,16				100b			
	0,015	24,75a±5				90a±8,2			
<i>Ocimum gratissimum</i>	0,125	92,5d±5	58,75	III	MR	90d±8,2	65,62	IV	R
	0,062	67,5c±5				67,5c±5			
	0,031	45b±5,8				57,5b±5			
	0,015	30a±8,17				47,5a±4,3			
<i>Lippia multiflora</i>	0,125	82,5c±17	54,37	III	MR	87,5c±5	56,25	III	MR
	0,062	67,5bc±2,4				67,5bc±2,4			
	0,031	40ab±14				50b±8,16			
	0,015	27,5a±19				20a±21,6			
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	0,015	100c	93,75	V	TR	100b	98,13	V	TR
	0,007	100c				100b			
	0,004	92,5b±5				100b			
	0,002	82,5a±5				92,5a±5			

Légende. TMR : Taux moyen de répulsion ; MR : Modérément répulsive; R : Répulsive; TR : Très répulsive. Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman & Keuls

5.3. Toxicité des huiles essentielles sur la bruche de haricot par test contact avec ou sans graines

Les HE extraites d'organes frais sans contact avec les graines donnent un taux de mortalité des bruches proportionnel à la dose testée (Figure 2). A la dose de 0,0007 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, les taux de mortalité de 61,25 % et 71,25% sont notés avec les HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides* en 12 heures d'exposition. Ces taux sont plus importants comparés à 47,5%, 43,75% et 38,75 % observés avec les HE d'*O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale* (Figure 2a). Pour la même dose, on note un taux de mortalité supérieure à 50 % avec toutes les HE en 48 heures d'exposition. Un taux de mortalité de 81,75 % est enregistré avec l'HE de *C. ambrosioides*. Avec cette HE, le taux de 100 % est observé après 48 heures d'exposition à 0,007 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$. Pour toutes les HE, les taux de mortalité augmentent avec les doses et la durée d'exposition. A la

dose de $0,015 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, le taux de 100 % est noté après 48 heures d'exposition avec les HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. Pour la même dose, en 24 heures d'exposition, les taux de 75%, 78,75% et 88,75% sont obtenues avec les HE d'*O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides*.

Pour les HE extraites d'organes secs, à $0,0007 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ dissoute dans 1ml d'acétone, on observe des taux de mortalité des bruches de 78,75 % et 71,25 % avec *C. ambrosioides* et *L. multiflora* après 12 heures d'exposition (figure 2a). Ces taux sont plus importants que 48,75% observés avec les HE de *Z. officinale* et *C. citratus*. Pour cette faible dose, quel que soit l'HE, les taux de mortalité des bruches augmentent avec la durée d'exposition. En effet, le taux de mortalité des bruches de 100 % est noté à la 36^e et 48^e heure d'exposition à l'HE de *C. ambrosioides*. Après 48 heures d'exposition, un taux de 97,5 % est observé avec l'HE de *L. multiflora*. Aussi, les résultats révèlent une variabilité de la mortalité des bruches d'une HE selon la dose et la durée d'exposition. Pour l'HE de *C. ambrosioides*, après 12 heures d'exposition, la mortalité des bruches de 87,5%, 92,5% et 98,75% est observée à la dose de $0,015 \mu\text{l}/\text{cm}^2$, $0,031 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ et $0,062 \mu\text{l}/\text{cm}^2$. Pour toutes les HE, le taux de mortalité des bruches de 100 % est observé à $0,031 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ après 48 heures d'exposition (Figure 2a).

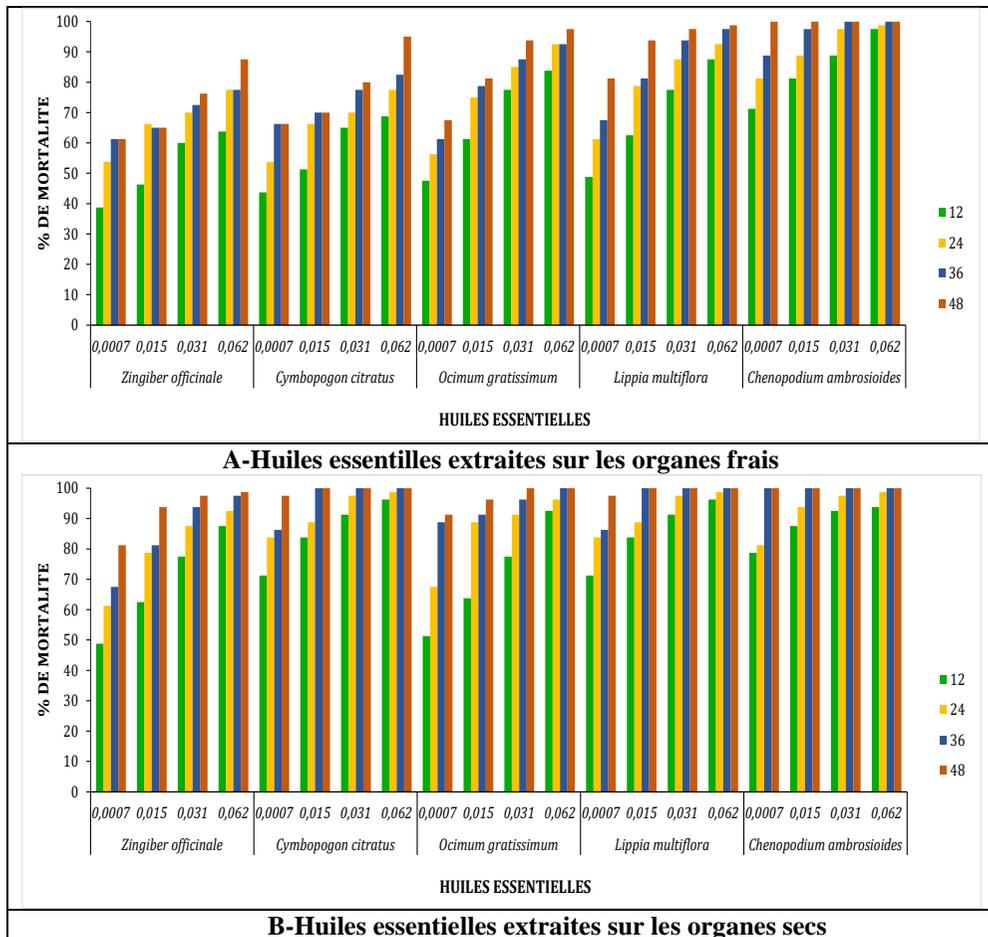


Figure 2a. Mortalité (%) des bruches par contact sans graines de haricots en fonction de la dose et de la durée d'exposition des huiles essentielles extraites d'organes frais ou secs

Après 12 heures d'exposition, à 0,01 µl/g, les taux de mortalité de 35%, 31,25%, 13,75% et 1,25 % sont enregistrés avec les HE de *C. ambrosioides*, *L. multiflora*, *C. citratus* et *Z. officinale* extraites d'organes frais (figure 2b). Il n'est noté aucune mortalité avec l'HE d'*O. gratissimum*. Pour la même dose, après 24 heures d'exposition, une mortalité de 56,25 % est obtenue avec l'HE de *C. ambrosioides*. Après 48 heures d'exposition, une mortalité de 75 % des bruches est enregistrée avec les plus faibles doses des HE de *C. ambrosioides* et *C. citratus*. Pour les 5 HE, quelle que soit la durée d'exposition, les taux de mortalité des bruches de haricot augmentent avec les doses. Le taux de mortalité de 100 % est enregistré à 0,08 µl/g d'HE testées au bout de 48 heures d'exposition (figure 2a).

Avec les HE extraites d'organes secs, il ressort une forte mortalité des bruches de haricot à 0,01 µl/g après 12 heures d'exposition. Pour cette même durée, les mortalités de 61,25 %, 50 %, 42,50% et 38,25 % sont notées en

présence de *C. ambrosioides*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *Z. officinale*. Ces taux sont plus importants que les 23,75 % obtenus avec l'HE de *L. multiflora*. A 0,01 µl/g, une mortalité de 78,75% des bruches est observée à 24 heures d'exposition avec l'HE de *C. ambrosioides*. Cette mortalité est plus élevée que 48,75 % obtenue avec l'HE de *L. multiflora*. Avec cette dose, une mortalité de 100 % des bruches est enregistrée avec l'HE de *C. ambrosioides* après 48 heures d'exposition. Les résultats révèlent une forte mortalité des bruches de haricot avec les fortes doses de 5 HE testées. Après 36 heures d'exposition, Il est observé une mortalité de 100 % à 0,08 µl/g d'HE de *C. citratus*, *O. gratissimum*, *L. multiflora* et *Z. officinale*. Ce taux de 100% avec l'HE de *C. ambrosioides* aux doses 0,02 µl/g, 0,04 µl/g et 0,08 µl/g est atteint après 48, 36 et 12 heures d'exposition (figure 2b).

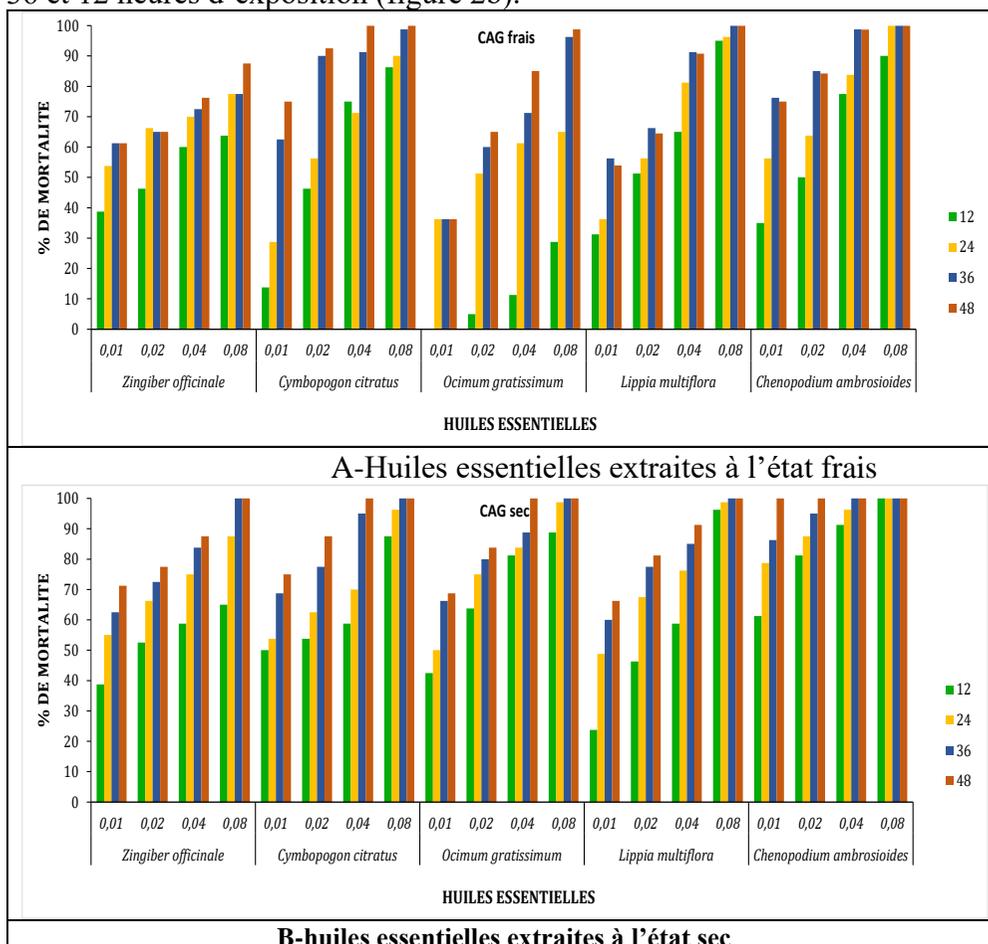


Figure 2b. Taux de mortalité (%) des bruches de haricot par contact avec graines en fonction de la dose et la durée d'exposition des huiles essentielles extraites d'organes frais ou secs

Sans les graines de haricot, les résultats de l'analyse statistique montrent une différence significative de la mortalité des bruches selon l'HE testée. Pour l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles fraîches, les taux de mortalité varient de 0 % à 98,44 % à la dose de 0,0007 et 0,062 µl/cm². La dose a permis de discriminer le taux de mortalité de bruches en 5 groupes homogènes (a, b, c, d et e). Il est noté le même groupe homogène chez les HE de *C. citratus*, *L. multiflora*, *O. gratissimum* et *Z. officinale*.

En présence des graines, le résultat révèle que la dose des HE extraites d'organes secs améliore significativement la mortalité des bruches du haricot. Pour *C. ambrosioides*, les taux de mortalité varient de 1,25 à 97,19 % avec les doses de 0 à 0,08 µl/g (Tableau 5). L'analyse de variance met en évidence l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c et d). La dose permet de discriminer en 4 et 5 groupes de taux de mortalité des HE de *C. citratus*, *L. multiflora*, *O. gratissimum* et *Z. officinale*.

Tableau 5. Classification de taux de mortalité (%) des bruches avec ou sans graines de haricot en fonction des doses des huiles essentielles extraites d'organes frais et secs de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Test de contact sans graines			Test de contact avec graines		
	Dose (µl/cm ³)	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Dose (µl/g)	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	0,000	00,00a	00,00a	0,00	01,25a	01,25a
	0,007	52,50b	64,69b	0,01	36,25b	56,87b
	0,015	59,37c	79,06c	0,02	48,75c	67,19c
	0,031	69,06d	89,06d	0,04	63,44d	76,25d
	0,062	76,56e	94,06e	0,08	73,44d	88,12e
<i>Cymbopogon citratus</i>	0,000	0,00a	0,00a	0,00	1,25a	01,25a
	0,007	57,50b	65,31b	0,01	27,19b	61,87b
	0,015	64,37c	80,00c	0,02	45,31c	70,31c
	0,031	73,12d	92,50d	0,04	57,19d	80,99d
	0,062	80,94e	96,87e	0,08	72,19e	95,94e
<i>Ocimum gratissimum</i>	0,000	0,00a	0,00a	0,00	1,25a	01,25a
	0,007	58,12b	58,12b	0,01	41,56b	56,87b
	0,015	74,06c	74,06c	0,02	58,44c	75,62c
	0,031	85,94d	85,94d	0,04	80,62d	88,43d
	0,062	91,87e	91,87e	0,08	97,19e	96,87e
<i>Lippia multiflora</i>	0,000	00,00a	00,00a	0,00	01,25a	01,25a
	0,007	64,69b	80,06b	0,01	45,00b	49,69b
	0,015	79,06c	84,69bc	0,02	70,94c	68,12c
	0,031	89,06d	87,69bc	0,04	84,37d	77,81d
	0,062	94,06e	94,00c	0,08	93,75e	98,75e
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	0,000	00,00a	00,00a	0,00	01,25a	01,25a
	0,007	77,81b	90,00b	0,01	60,62b	81,56b
	0,015	87,50c	95,31c	0,02	70,00c	90,34c
	0,031	94,69d	97,50c	0,04	88,12d	97,50d
	0,062	98,44e	98,12c	0,08	97,19d	99,06d

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman & Keuls

Avec ou sans graines de haricot, les résultats des analyses statistiques montrent un effet hautement significatif de la durée d'exposition des HE sur la mortalité des bruches de haricot (tableau 6). La durée d'exposition améliore la mortalité d'*A. obtectus* selon l'HE testée. Sans les graines de haricot, avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles fraîches, les taux de mortalité varient de 67,75% et 75,76% après 12 et 48 heures d'exposition. Au bout de 12 h d'exposition, il est enregistré le taux de mortalité de 42,25%, 47,75%, 54% et 55,25% avec l'HE de *Z. officinale*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*. Avec *C. ambrosioides*, l'analyse de variance du taux de mortalité révèle l'existence de quatre groupes homogènes (a, b et c). L'effet le plus marqué est observé à la 48^e heure d'exposition (groupe c). Avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches, le taux de mortalité des bruches est supérieur à 70 % après 12 heures d'exposition. Les taux de mortalité varient de 71,45% et 79,36% à la 12^e et 48^e heure d'exposition. Pour les autres HE, il est aussi observé une amélioration de la mortalité de bruches avec la durée d'exposition (Tableau 5). Pour la durée d'exposition, l'analyse de variance révèle l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c et d). Les HE extraites d'organes secs sont plus efficaces que celles d'organes frais.

Avec les graines de haricot, les taux de mortalité varient de 50,50 à 73 % à la 12^e et 48^e heure d'exposition avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles fraîches. L'analyse de variance révèle l'existence de quatre groupes homogènes (a, b, c et d). Après 48h d'exposition, il est noté une mortalité de 68%, 58%, 63% et 74,57% respectivement avec l'HE de *Z. officinale*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*. A la même durée d'exposition, il est observée une mortalité de 68%, 73,5%, 71,5%, 68% et 81% avec les HE de *Z. officinale*, *C. citratus*, *O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides* extraites d'organes secs (Figure 6).

Tableau 6. Classification de taux de mortalité (%) des bruches avec ou sans graines du haricot selon le temps d'exposition aux huiles essentielles extraites d'organes frais et secs de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Temps (Heure)	Test de contact sans graines		Test de contact avec graines	
		Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	12	42,25a	55,25a	18,00a	43,00a
	24	50,50b	64,00b	34,25b	56,75b
	36	55,25c	68,00c	57,75c	63,75c
	48	58,00d	74,25d	68,50d	68,25d
<i>Cymbopogon citratus</i>	12	45,75a	58,50a	09,00a	50,00a
	24	53,50b	63,25b	42,75b	56,50b
	36	59,25c	71,00c	52,75c	68,25c
	48	62,25d	75,00d	58,00c	73,50d
<i>Ocimum gratissimum</i>	12	54,00a	54,00a	48,50a	55,25a
	24	61,75b	61,75b	54,00b	61,50b

	36	64,00b	64,00b	57,00b	67,00c
	48	68,25c	68,25c	63,75c	71,50d
<i>Lippia</i>	12	55,25a	51,90a	44,25a	45,00a
<i>multiflora</i>	24	64,00b	68,50b	49,25a	58,25b
	36	68,00c	77,25bc	68,25b	64,50c
	48	74,25d	79,50c	74,50b	68,75d
<i>Chenopodium</i>	12	67,75a	71,45a	50,50a	66,75a
<i>ambrosioides</i>	24	69,00a	74,57b	60,50b	72,25b
	36	73,25b	79,36c	69,75c	76,25c
	48	76,75c	79,36c	73,00d	81,00d

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman & Keuls

Tableau 7 consigne la dose létale (%) entraînant 50 % de mortalité d'*A. obtectus* par contact avec ou sans graines de haricot en présence les HE extraites d'organes frais ou secs. Il ressort que les faibles doses sont nécessaires pour obtenir 50% de mortalité des bruches. Par contact sans graines, la plus faible dose de 1,77 % est observée avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite d'organe sec. Il est observé une dose de 2,4 % avec la même HE extraite à d'organes frais. Ainsi, les HE extraites d'organes frais, il est requis la dose de 5,25%, 5,37%, 6,92% et 6,92% pour une mortalité de 50% chez *L. multiflora*, *O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale*. Par contre, pour les HE extraites d'organes secs, cette mortalité est de 1,90%, 2,24%, 3,47% et 5,37% (tableau 6). En présence des graines de haricot, la DL50 est dépendante à l'HE testée. A 50% de mortalité des bruches, il faut 6,92%, 3,80%, 5,37%, 1,43% et 2,41% correspondant aux HE de *L. multiflora*, *C. ambrosioides*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *Z. officinale* extraites d'organes frais. A l'état sec, les HE requièrent 2,39%, 1,25%, 1,19%, 1,27% et 0,67% (Tableau 7).

Tableau 7. Dose létale (%) à 50% de mortalité des bruches par contact avec ou sans graines de haricot selon les huiles essentielles extraites d'organes frais et secs de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Test de contact sans graines		Test de contact avec graines	
	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	6,92	5,37	6,92	2,39
<i>Cymbopogon citratus</i>	6,92	3,47	3,80	1,25
<i>Ocimum gratissimum</i>	5,37	2,24	5,37	1,19
<i>Lippia multiflora</i>	5,25	1,90	1,43	1,27
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	2,4	1,77	2,4	0,67

5.4. Toxicité des huiles essentielles sur la bruche de haricot par test de fumigation avec ou sans graines

Sans graines de haricot, il est enregistré le taux de mortalité des bruches de 61,25% et 50 % avec HE de *C. ambrosioides* et *L. multiflora* extraites d'organes frais à $0,002\mu/\text{cm}^3$ après 6 heures d'inhalation (figure 3). Ces taux sont plus importants que 42,5%, 38,37% et 23,75% observé en présence d'HE d'*O. gratissimum*, *Z. officinale* et *C. citratus* après 12 heures d'exposition. Aux doses de $0,02\mu/\text{cm}^3$, $0,04\mu/\text{cm}^3$ et $0,007\mu/\text{cm}^3$, il est noté une mortalité des bruches de 100 % avec l'HE de *C. ambrosioides* après 48 heures d'exposition. Pour les autres huiles, ce taux de mortalité des bruches est atteint à la forte dose de $0,015\mu/\text{cm}^3$ à 18 et 24 h d'inhalation (figure 3a).

A la dose de $0,002 \mu/\text{cm}^3$ après 6 heures d'inhalation, on note un taux de mortalité de 78,75 % et 71,25% avec *C. ambrosioides* et *L. multiflora* extraites d'organes secs. A la même dose et la même durée d'exposition, ces taux de mortalité sont plus élevés par rapport à 51,25%, 48,75% et 48,75 % observés avec l'HE d'*O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale*. Avec la faible dose de $0,002 \mu/\text{cm}^3$, le taux de mortalité est de 100% avec l'HE de *C. ambrosioides* après 18 et 24 heures d'exposition (figure 3a). Pour toutes les HE testées, les taux de mortalité des bruches augmentent avec les doses HE inhalées. A la dose de $0,004 \mu/\text{cm}^3$, le taux de mortalité de 100 % est noté avec *L. multiflora* à partir de la 18^e heure d'exposition. Ce taux de mortalité est observé à la dose $0,007\mu/\text{cm}^3$ des HE de *C. citratus* et d'*O. gratissimum* à partir de 24 heures d'exposition (figure 3a).

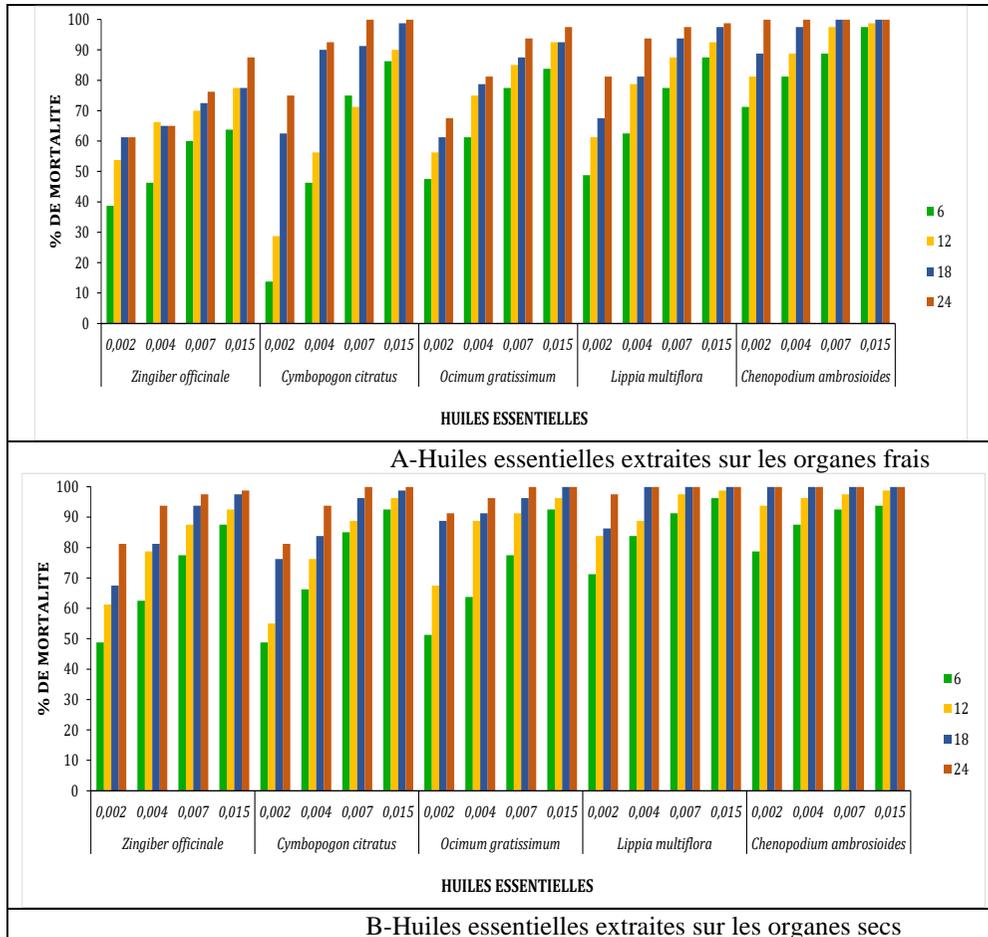


Figure 3a. Taux de mortalité (%) des bruches par fumigation sans graines de haricot selon la dose et la durée d'inhalation des huiles essentielles extraites sur les organes à l'état frais ou sec

En présence des graines de haricot, il est observé aucune mortalité d'*A. obtectus* à la dose de 0,002μ/cm d'HE de *C. ambrosioides*, *L. multiflora* et *C. citratus* extraites d'organes frais. La forte mortalité de *A. obtectus* de 70% est observée à la dose de 0,015μ/cm³ chez l'HE de *C. ambrosioides* (figure 3b). Ce taux est plus important que 57,5 % obtenue avec l'HE de *L. multiflora*. A la dose de 0,002μ/cm³ d'*O. gratissimum*, il est noté une mortalité de 6,25 % après 24 heures d'inhalation. A 0,015μ/cm³ d'HE d'*O. gratissimum*, le taux de mortalité de 37,5 % est noté à 24 heures d'inhalation. Cette mortalité est inférieure à celles observées chez *C. ambrosioides* et *L. multiflora* (Figure 3b). Après 24 heures d'exposition, la mortalité d'*A. obtectus* de 23,75 % est enregistrée à la dose de 0,002μ/cm³ d'HE de *C. ambrosioides* extraites d'organes secs. Avec cette HE, les taux de mortalité d'*A. obtectus* par inhalation augmentent avec les doses. Il est observé une mortalité de 73,75 %

à $0,015\mu/cm^3$ après 48 heures d'inhalation. A la même dose et la même durée d'inhalation, les taux de 53,75% et 60% sont enregistrés respectivement en présence des HE de *C. citratus* et *L. multiflora*. A $0,015\mu/cm^3$ d'HE de *L. multiflora*, il est signalé une mortalité de d'*A. obtectus* de 16,24 % après 6 heures d'exposition. A ce même temps d'inhalation, il est observé une mortalité d'*A. obtectus* de 51,25 % à $0,015\mu/cm^3$ d'HE de *C. ambrosioides* (Figure 3b).

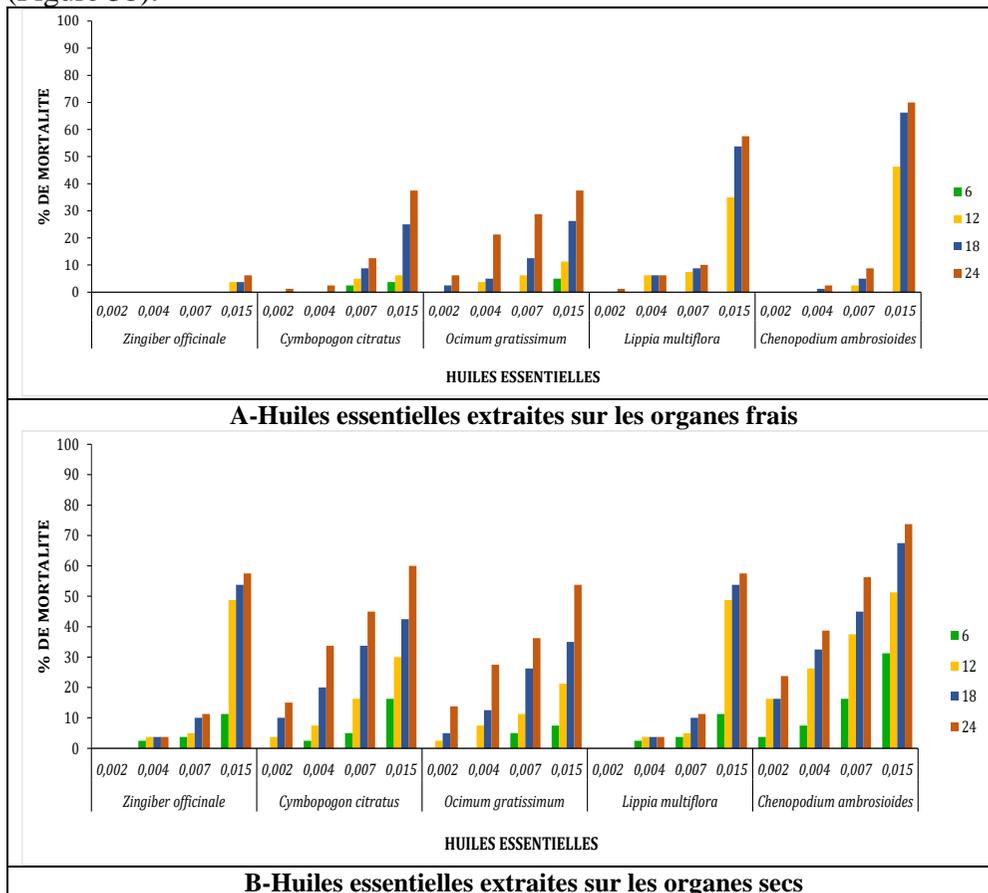


Figure 3b. Mortalité (%) des bruches par fumigation avec les graines de haricot en fonction de la dose et la durée d'exposition des huiles essentielles extraites sur les organes à l'état frais ou sec

Pour la fumigation sans graines de haricot, ce résultat révèle un effet « dose » des HE extraites d'organes frais ou secs hautement significatif sur la mortalité des bruches (tableau 8). Avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles fraîches, le taux de mortalité varie de 90 % à 98,12 % respectivement à la dose de $0,002\mu/cm^3$ et $0,015\mu/cm^3$. Chez le témoin, aucune mortalité n'est enregistrée. L'analyse de variance a permis d'établir trois homogènes (a, b et c) (tableau 8). Avec les HE de *Z. officinale*, *C. citratus* et *O. gratissimum*,

l'effet plus marqué est observé à la dose de 4 µl/ml (groupe e). Dans ce groupe, la mortalité est supérieure à 90 %. Par contre à l'état sec, le taux de mortalité varie de 81,56 % à 99,06 % respectivement à 0,002 µl/cm³ et 0,015 µl/cm³ d'HE de *C. ambrosioides*. Ces taux sont supérieurs à 1,25 % observé chez le témoin ou la mortalité naturelle. L'analyse de variance permet de distinguer les taux de mortalité en 4 groupes homogènes (a, b, c et d) selon les doses de *C. ambrosioides*. L'effet plus marqué est noté avec la forte dose (groupe d). Avec les HE de *C. citratus*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*, les analyses de variances ont permis de discriminer les taux de mortalité des bruches en 5 groupes homogènes (a, b, c, d et e) selon la dose. A forte dose de ces HE, il est noté le taux de mortalité des bruches supérieur à 95% (Tableau 8).

Par fumigation avec graines de haricot, le taux de mortalité varie de 0 % à 45,62 % respectivement à 0,002 et 0,015 µl/cm³ d'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles fraîches (tableau 8). Pour la forte dose de 0,015 µl/cm³, les taux de mortalité de 3,44%, 18,12%, 20% et 36,56 % sont notés chez l'HE extraite de *Z. officinale*, *C. citratus*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*. Pour *C. ambrosioides*, l'analyse de la variance a permis de discriminer les taux de mortalité en trois groupes homogènes (a, b et c). Le taux de mortalité le plus marqué est observé à la dose de 0,015 µl/cm³ (groupe c). Pour les HE extraites d'organes secs, la mortalité de 55,94 % des bruches est enregistrée à 0,015 µl/cm³ d'HE de *C. ambrosioides*. Cette mortalité est plus importante que celles observées pour d'autres HE. Les taux de mortalité des bruches de 16,87%, 29,37%, 42,81% et 37,19% sont notés chez *Z. officinale*, *C. officinale*, *O. gratissimum* et *L. multiflora*. A 0,002 µl/cm³ d'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches, une mortalité des bruches de 15% a été obtenue par inhalation avec graines (Tableau 8).

Tableau 8. Classification de la mortalité (%) des bruches en présence ou non des graines du haricot selon les doses inhalées d'huiles essentielles extraites d'organes secs ou frais de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Dose (µl/cm ³)	Test de fumigation sans graines		Test de fumigation avec graines	
		Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	00,000	00,000a	01,250a	00,000a	00,000a
	00,002	64,690b	56,870b	00,000a	01,870b
	00,004	79,060c	67,190c	00,000a	04,370c
	00,007	89,060d	76,250d	00,00a	08,750d
	00,015	94,060e	88,120e	03,440b	16,870e
<i>Cymbopogon citratus</i>	00,000	00,000a	01,250a	00,00a	00,000a
	00,002	65,310b	61,870b	00,310a	05,310b
	00,004	80,000c	70,310c	00,620a	11,870c
	00,007	92,500d	80,990d	07,190b	19,690d
	00,015	96,870e	95,940e	18,120c	29,370e
	00,000	00,000a	01,250a	00,000a	00,000a

<i>Ocimum</i>	00,002	58,120b	56,870b	02,500b	00,000a	
<i>gratissimum</i>	00,004	74,060c	75,620c	07,500c	03,440a	
	00,007	85,940d	88,430d	11,870d	07,500b	
	00,015	91,870e	96,870e	20,000e	42,810c	
	00,000	00,000a	01,250a	00,000a	00,000a	
<i>Lippia</i>	<i>multiflora</i>	00,002	80,060b	49,690b	00,310a	07,190b
		00,004	84,690bc	68,120c	04,690ab	15,940c
		00,007	87,690bc	77,810d	06,560b	25,000d
		00,015	94,000c	98,750e	36,560c	37,190e
<i>Chenopodium</i>	<i>ambrosioides</i>	00,000	00,000a	01,250a	00,000a	00,000a
		00,002	90,000b	81,560b	00,000a	15,000b
		00,004	95,310c	90,340c	00,940a	26,250c
		00,007	97,500c	97,500d	04,060b	38,750d
	00,015	98,120c	99,060d	45,620c	55,940e	

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman & Keuls

Les résultats d'analyse statistique révèlent un effet de temps d'exposition hautement significatif pour toutes les HE testées par fumigation sans graines de haricot (Tableau 9). Après 6 heures d'exposition, les HE extraites d'organes frais causent une mortalité d'*A. obtectus* d'ordre de 71,75 % à 51,90% chez les HE de *C. ambrosioides* et *L. multiflora*. Au bout de 24 heures d'inhalation, ce taux est de 79,50 %. Pour les HE testées, l'analyse de variance a discriminé le taux de mortalité en 3 groupes (a, b et c) et 4 groupes homogènes (a, b, c et d). L'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches cause une mortalité d'*A. obtectus* de 66,67 % à 6 heures d'exposition. Le taux de 81% est observé après 24 heures d'exposition. Pour l'HE de *C. ambrosioides*, l'analyse de la variance a mis en évidence 4 groupes homogènes (a, b, c et d) de taux mortalité selon la durée d'exposition. Cette analyse a aussi révélé l'existence de 4 groupes homogènes de taux de mortalité d'*A. obtectus* exposition de *Z. officinale*, *C. officinale*, *O. gratissimum* et *L. multiflora* (tableau 8).

Par fumigation avec graines de haricot, il est noté aucune différence significative des taux de mortalité d'*A. obtectus* en présence de *Z. officinale* extraite de rhizomes frais (tableau 8). Par contre, une variabilité des mortalités est observée avec les HE de *C. officinale*, d'*O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. Le taux de mortalité d'*A. obtectus* de 1% à 18,75 % est enregistré respectivement après 6 h et 24 heures de fumigation avec l'HE de *O. gratissimum*. L'analyse de variance met en évidence l'existence de trois groupes (a, b et c) des taux de mortalité des bruches. Pour l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles séchées, il est observé une mortalité de 11,75 % et 38 % après 6 et 24 heures d'inhalation. Les taux de mortalité d'*A. obtectus* augmentent selon la durée d'inhalation. Pour les autres HE, une

variabilité des taux de mortalité des bruches est observée selon la durée de fumigation (Tableau 9).

Tableau 9. Classification de taux de mortalité (%) des bruches en présence ou non des graines du haricot selon la durée d'inhalation d'huiles essentielles extraites d'organes frais ou secs de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Temps (Heure)	Test de fumigation sans graines		Test de fumigation avec graines	
		Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	6	55,250a	43,000a	00,000a	00,750a
	12	64,000b	56,750b	00,750a	03,000b
	18	68,000c	63,750c	00,750a	06,750c
	24	74,250d	68,250d	01,250a	15,000d
<i>Cymbopogon citratus</i>	6	58,500a	50,000a	01,250a	02,500a
	12	63,250b	56,500b	02,250a	08,500b
	18	71,000c	68,250c	06,750b	15,750c
	24	75,000d	73,500d	10,750c	26,250d
<i>Ocimum gratissimum</i>	6	54,000a	55,250a	01,000a	03,500a
	12	61,750b	61,500b	04,500b	11,500b
	18	64,000b	67,000c	09,250c	13,500b
	24	68,250c	71,500d	18,750d	14,500b
<i>Lippia multiflora</i>	6	51,900a	45,000a	00,000a	04,750a
	12	68,500b	58,250b	09,750b	11,500b
	18	77,250bc	64,500c	13,750c	21,250c
	24	79,500c	68,750d	15,000c	30,750d
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	6	71,450a	66,750a	00,000a	11,750a
	12	74,570b	72,250b	09,750b	26,250b
	18	79,360c	76,250c	14,500c	32,250c
	24	79,360c	81,000d	16,250c	38,500d

Les moyennes de la même colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Student Newman & Keuls

Par fumigation sans graines de haricot, il ressort des faibles doses létales à 50 % avec l'HE de *C. ambrosioides* (Tableau 10). Pour cette HE, la dose létale à 50% de 1,77 % et 0,67 % est notée des HE extraites des feuilles fraîches et sèches. Il est observée la dose létale à 50% de 1,77%, 1,90%, 2,24%, 3,47% et 5,37% d'HE de *C. ambrosioides*, *L. multiflora*, *O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale* extraite des organes frais. Ces doses sont plus élevées que 0,67% ; 1,27% ; 1,19% ; 1,25% et 2,39 % obtenues chez les HE extraites d'organes secs. Avec la fumigation avec graines de haricot, la DL50 est dépendante l'HE testée. A 50% de mortalité, il faut 2,4% ; 5,25% ; 5,37% ; 6,92% et 6,92% correspondant aux HE de *C. ambrosioides*, *L. multiflora*, *O. gratissimum*, *C. citratus* et *Z. officinale* extraites d'organes frais. Par contre, les doses de 1,77% ; 1,90% ; 2,24% ; 3,47% et 5,37% sont enregistrées avec ces HE extraites d'organes secs (figure 10).

Tableau 10. Dose létale (%) à 50% de mortalité des bruches par inhalation en présence ou non des graines du haricot selon les huiles essentielles extraites d'organes frais et secs de cinq espèces végétales

Espèces végétales	Test fumigation sans graines		Test fumigation avec graines	
	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec	Organes d'extraction à l'état frais	Organes d'extraction à l'état sec
<i>Zingiber officinale</i>	5,37	2,39	3,47	3,19
<i>Cymbopogon citratus</i>	3,47	1,25	2,31	2,08
<i>Ocimum gratissimum</i>	2,24	1,19	3,68	2,70
<i>Lippia multiflora</i>	1,90	1,27	1,59	1,37
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	1,77	0,67	1,69	0,92

6. Discussion

Les effets insecticide et insectifuge des HE extraites des plantes aromatiques ont été évalués contre *A. obtectus*, espèce des bruches de haricot. Les extractions faites sur les organes frais ou secs révèlent une variabilité du rendement en HE de *L. multiflora* L., *C. citratus* Stapf., *C. ambrosioides* L., *O. gratissimum* L. et *Z. officinale* Rosc. De plus, les teneurs en HE extraites d'organes secs sont plus importantes comparées à celles obtenues d'organes frais. Le rendement en HE de 1,01%, 0,94%, 0,36%, 0,36% et 0,32% sont enregistrés respectivement de *O. gratissimum*, *L. multiflora*, *C. citratus*, *Z. officinale* et *C. ambrosioides*. Avec *O. gratissimum*. Il est noté le rendement en HE de 1,01% et 0,46 % sur les feuilles sèches et fraîches. Il ressort une augmentation du rendement d'extraction en HE durant le séchage des feuilles et des rhizomes à l'abri du soleil. Les résultats similaires sont obtenus par Singh et al. (1977), Shiva et al. (1983), Zrira et al. (1992, 1995), Silou et al. (2002), Dutta et al. (2014) et Goudjil et al. (2015). Cette augmentation s'expliquerait par l'accélération de la biosynthèse des composés terpéniques constituant l'HE quand les feuilles et rhizomes sont en stress hydrique en période de séchage (Zrira et al., 1995 ; Bourkhiss et al. 2009). Aussi, il est démontré une continuité de la biosynthèse en HE dans les feuilles ou rhizomes après leur récolte. La comparaison des coupes de feuilles réalisées à l'état frais et à l'état sec montre que la structure des poches sécrétrices n'est pas affectée par le séchage. De plus, le rendement de 1,01% enregistré sur les feuilles séchées d'*O. gratissimum* est plus important que celui observé chez les autres plantes. Cette différence serait due à des facteurs génétiques. La synthèse et l'accumulation HE sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (poils sécréteurs, poches sécrétrices, canaux sécréteurs, cellules à huiles essentielles). L'espèce *O. gratissimum* posséderait un grand nombre des poches sécrétrices d'HE comparé à celles de *L. multiflora*, *C. citratus*, *Z. officinale* et *C. ambrosioides*. Les résultats sont

similaires à ceux obtenus par Loumouamou et al. (2010) et Nguimale (2016). Pour ces auteurs, le rendement varie entre 0,2 - 0,3 %. Outre *O. gratissimum*, le rendement d'extraction est plus important chez *L. multiflora*. Lucchesi (2005) estime une forte teneur d'HE de *L. multiflora* comparé à celle d'autres espèces de plantes à effet insecticide ou répulsif. L'analyse chimique a identifié le thymol et o-cymène dans l'HE extraite d'organes frais ou secs de cinq plantes aromatiques testées. L'HE extraite d'organes secs est plus riche en thymol et en o-cymène. Pour ces composés, le séchage à l'abri du soleil des feuilles ou des rhizomes améliorerait leur proportion dans l'HE d'*O. gratissimum*, *L. multiflora*, *C. citratus*, *Z. officinale* et *C. ambrosioides*. L'effet du séchage sur la qualité chimique des HE est mentionné par Silou et al. (2002), Nébié et al. (2007), Bourkhliss (2009), Dabire et al. 2011 & Ouafi et al. (2017). Ainsi, il est noté l'effet bénéfique du stress hydrique sur la biosynthèse ou l'accumulation du composé o-cymène et surtout du thymol. Par contre, le séchage d'organes à l'abri du soleil a réduit voire annulé l'accumulation de β -citral et α -citral, qui sont les composés majeurs des HE de *L. multiflora*, *C. citratus* et *C. ambrosioides* extraites des feuilles fraîches. Cette diminution voire la perte peut être due à l'évaporation des composants β -citral et α -citral, les plus volatiles à température du séchage. Cet impact du processus de séchage est rapporté par certains auteurs (Blanco et al. 2002; Okoh et al. 2008; Khorshidi et al. 2009; Bagher et al. 2010 ; Fathi et al. 2012 ; Pirbalouti et al. 2013; Dutta et al. 2014; Ouafi et al. 2017).

L'influence des HE d'*O. gratissimum*, *L. multiflora*, *C. citratus*, *Z. officinale* et *C. ambrosioides* est étudiée pour leurs activités insecticide ou insectifuge contre les imagos de *A. obtectus*. Il ressort une très forte répulsion des HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides* extraites des feuilles sèches avec des taux de 93,13% et 98,13%. L'HE d'*O. gratissimum* est répulsive avec un taux de 65,62%. Les HE de *Z. officinale* et *C. citratus* sont moyennement répulsives avec des taux respectifs de 51,88% et 56,25%. L'activité répulsive certaines huiles végétales a été constatée par McDonald et al. (1970) et Ndomo et al. (2009). Ces auteurs rapportent qu'après 2h d'exposition, de 0,031 à 0,125 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ d'HE des organes de *Callistemon viminalis* ont occasionné une répulsion dont le taux varie de 36,6 à 80% vis-à-vis des adultes de *A. obtectus*. Ils montrent clairement que le taux de répulsion augmente en fonction de la dose. De même, Tapondjou et al. (2003) constatent que l'HE de *C. ambrosioides* a des propriétés répulsives relativement plus élevées (PR= 89%) que celle de *E. soligna* (PR= 71%), bien que les deux soient fortement répulsives vis-à-vis des bruches du niébé (*C. maculatus*). L'effet répulsif des HE de *C. citratus* et d'*O. gratissimum* est mentionnées dans la littérature (Tchoumbougnand et al. 2009 ; Mikolo et al. 2009; Pandey et al. 2014). Les HE extraites des plantes aromatiques agissent par répulsion en émettant des substances volatiles (terpènes) qui constituent une barrière empêchant les

insectes et les autres arthropodes de se mettre en contact avec la surface de l'hôte (Brown et Herbert, 1997). L'action répulsive des huiles testées contre les imagos d'*A. obtectus* serait due à la présence du thymol. Le thymol, appartenant au groupe des terpénoïdes, est un monoterpène cyclique possédant une fonction phénol. Le thymol est un composant le plus volatil identifié dans ces HE, présente une forte répulsion des bruches de haricot.

Les tests de confrontations directes sans graine de haricot réalisés *in vitro* ont mis en évidence une forte action insecticide des HE extraites sur les organes à l'état sec vis-à-vis d'*A. obtectus*. Après 12 heures d'exposition, à 0,007 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, il est noté le taux de 51,25%, 71,25% et 78,75% respectivement sur les HE extraites des feuilles séchées d'*O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. Le taux de mortalité de 48,75% est enregistré pour les HE extraites sur les organes à l'état sec de *C. citratus* et *Z. officinale*. La mortalité élevée d'*A. obtectus* en présence de *O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides* pourrait s'expliquer par les fortes concentrations du thymol et o-cymène. L'action de deux mono terpènes dans l'HE de *C. ambrosioides* agirait en synergie avec α -citral et 2-bornène. Les monoterpènes ainsi que les composés poly-phénoliques provoquent une perturbation de la motricité naturelle des bruches. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Regnault-Roger et al. (2002). De plus, une exposition prolongée à ces composés même à faible dose provoque une mortalité *A. obtectus* de 97,5 % avec les HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. Aucune bruche de haricot n'a survécu au-delà de 0,031 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ avec l'HE de *O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. *C. citratus* et *Z. officinale*. Pour les deux dernières HE, la mortalité d'*A. obtectus* nécessiterait une synergie du thymol, de l'o-cymène, du zingibérène et du β -sesquiphellandène présents chez *Z. officinale*. Outre la faible occurrence du thymol chez *C. citratus*, la présence de α -citral et (2Z)-2-(3,3-diméthylcyclohexylidène) éthanol se révélerait toxique à *A. obtectus*. Par contre, il est observé une mortalité de cette bruche, relativement faible lors des confrontations directes en présence des graines de haricot. Le taux de mortalité de 61,25 % est enregistré avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite à l'état sec à 0,01 $\mu\text{l}/\text{g}$ après 12 heures d'exposition. Ce taux est plus important comparé à 50 %, 42,50%, 38,25 % et 23,75% noté respectivement pour les HE extraites d'organes sec de *C. citratus*, *O. gratissimum*, *Z. officinale* et *L. multiflora*. L'HE de *C. ambrosioides* est plus toxique vis-à-vis d'*A. obtectus* en présence graines de haricot. Cette toxicité serait due au thymol (52,6%), l'o-cymène (17,4%) et 2-bornène (13,9%). Les constituants de cette HE formeraient un film imperméable sous forme de cuticule isolant *A. obtectus* de l'air et provoqueraient son asphyxie. De plus, les HE sont riches en groupements fonctionnels et ont des propriétés à diffuser facilement à travers les membranes cellulaires (Boyom et al. 2007). Pollack et al. (1990) ont démontré que la forte toxicité de cette HE serait essentiellement attribuée à

l'ascaridole qui en constitue généralement 45 à 75 %. Des résultats analogues sont obtenus par Delobel et Malonga (1987), Tapondjou et al. (2002), Chaisson et al. (2004), Denloye et al. (2010) et Santiago et al. (2014). L'HE extraite des feuilles de *C. ambrosioides* a révélé des propriétés insecticides très intéressantes contre une grande variété d'insectes de stock des denrées alimentaires (Regnault- Roger et al. 2002). Avec toutes les HE extraites d'organes frais, la réduction du taux de mortalité d'*A. obtectus* s'expliquerait par dissémination de cette bruche sous les graine de haricot et entraînerait l'action lente de la formation du film imperméable sur la cuticule. Par ailleurs, il est observé une mortalité relativement faible lors des tests de confrontations directes (avec ou sans graine de haricot) entre *A. obtectus* et HE extraites d'organes frais. Après 12h d'exposition à la concentration de 0,007 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$, le taux de mortalité de 61,25 % et 71,25% est noté respectivement avec les HE de *L. multiflora* et *C. ambrosioides*. Ce taux est de 35% avec l'HE de *C. ambrosioides* à la dose 0,01 $\mu\text{l}/\text{g}$. Cette réduction serait due à la modification de la composition et de la teneur des mono terpènes dans les HE extraites sur les feuilles et les rhizomes à l'état frais. Excepté *O. gratissimum*, il est noté une réduction des occurrences du thymol et de l'*o*-cymène dans les HE de *C. ambrosioides* et *L. multiflora*. Il est observé une absence de 2-bornène mais une prédominance de β -citral et α -citral dans les HE de *L. multiflora*, *C. ambrosioides* et *C. citratus*. Ces deux derniers composés n'auraient dans l'immédiat une action insecticide contre *A. obtectus*. Ainsi, les doses de 5,37%, 1,43% et 2, 24% sont nécessaires aux HE d'*O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides* pour obtenir une mortalité de 50 % de la population d'*A. obtectus*. Cette mortalité est provoquée avec les faibles doses 1,19 %, 1,25% et 0,67 % de ces HE extraites d'organes secs. Avec les confrontations directes avec ou sans graine, l'HE de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches est plus toxique vis-à-vis *A. obtectus* avec les DL50 de 1,17% et 0,67%.

Pour le test de fumigation en absence des graines, il est noté les mortalités de 78,75 % et 71,25% d'*A. obtectus* exposées à 0,002 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$ des HE de *C. ambrosioides* et *L. multiflora* extraites à l'état sec après 6 heures d'inhalation. A la même dose et durée d'exposition, les taux de mortalité de 61,25% et 50 % sont enregistrés avec HE de *C. ambrosioides* et *C. citratus* extraites à l'état frais. Nos résultats révèlent une forte mortalité d'*A. obtectus* par inhalation quel que soit l'état d'extraction des HE testées. Cette mortalité serait due à la présence des monoterpènes volatiles contenus dans ces HE. L'activité insecticide des substances volatiles des HE a été démontrée par plusieurs auteurs (Gillij et al. 2007 ; Tia et al. 2013 ; Kanko et al. 2017). En présence des graines après 24 heures d'exposition, il est enregistré la mortalité de 70 % et 73,75% d'*A. obtectus* exposées à la plus forte dose (0,015 $\mu\text{l}/\text{cm}^3$) avec l'HE de *C. ambrosioides* extraite respectivement à l'état frais et à l'état

sec. Par contre, cette mortalité est très faible après 6 heures d'inhalation à $0,002\mu\text{l}/\text{cm}^3$ de *C. ambrosioides*. La faible mortalité s'expliquerait par la dispersion des monoterpènes volatiles contenus dans ces HE sur les graines entraînant ainsi leur faible inhalation par *A. obtectus*. De plus, cette bruche se dissimule sous les graines du haricot n'exposant pas leurs organes olfactifs aux substances volatiles des huiles testées.

Conclusion

Cette étude a révélé les effets insecticides et répulsifs des HE de *Z. officinale*, *C. citratus*, *O. gratissimum*, *L. multiflora* et *C. ambrosioides* extraites des feuilles ou rhizomes frais ou secs. Le rendement des HE varie selon l'espèce utilisée et l'état d'organes utilisés pour l'extraction. Le taux d'extraction plus élevé est enregistré chez *O. gratissimum* avec 1,01% et 0,46% sur les feuilles séchées et fraîches. Les HE *O. gratissimum* et *L. multiflora* ont exprimé les meilleurs taux d'extraction. Les HE extraites d'organes frais ou sec sont répulsives vis-à-vis d'*A. obtectus*. La plus répulsive est celle de *C. ambrosioides* extraite des feuilles séchées avec un taux de répulsion de 98,13%. Les tests par contact avec ou sans graines, l'utilisation des HE extraites d'organes sec a un effet plus marqué sur la mortalité de *A. obtectus*. La plus efficace l'HE est celle de *C. ambrosioides* extraite des feuilles sèches. Pour la toxicité par contact sans graines, cette HE enregistre le taux de mortalité de 78,75% à la dose de $0,007\mu\text{l}/\text{cm}^2$ après 12 heures d'exposition. Cette mortalité est de 61,25 % à la dose de $0,01\mu\text{l}/\text{g}$ pour le test de contact avec graines du haricot. Pour les tests de fumigation avec ou sans graines de haricot, les HE extraites d'organes secs montrent des effets inhalateurs plus importants que celles extraites à l'état frais. La plus marquée est l'HE de *C. ambrosioides* extraite à l'état sec avec un taux de mortalité de 78,75 % d'*A. obtectus* après 6 heures d'inhalation à $0,002\mu\text{l}/\text{cm}^3$ en absence des graines. Cette mortalité est de 73,75% après 24 heures d'inhalation à la plus forte dose ($0,015\mu\text{l}/\text{cm}^3$) en présence des graines. Pour tous les tests biologiques effectués, l'HE de *C. ambrosioides* extraite sur les feuilles sèches s'est avérée plus efficace contre *A. obtectus*. Cette efficacité se traduit avec un fort pouvoir insecticide et répulsif vis-à-vis d'*A. obtectus*. L'efficacité dans la lutte contre *A. obtectus* des HE de *Chenopodium ambrosioides*, *Lippia multiflora* et *Ocimum gratissimum* est en cours d'évaluation en milieu réel.

Remerciements: Les auteurs remercient l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et le FAO-Congo pour le financement et co-financement de ce projet de recherche.

Conflits d'intérêt: Il n'y a aucun conflit d'intérêt

References:

1. Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide; *Journal of Economic Entomology*, 18:265-267
2. Anonyme (2001). Laboratoire Bivea, extraction des huiles essentielles des agrumes (Citrus.Sp).http://www.bivea.fr/info_bivea/pranarom/principe_extraction_huilesessentielles.php
3. Bagher, M.H., Hassani, A., Vojodi, L., & Farsad-Akhtar N. (2010). Drying Method Affects Essential Oil Content and Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.), *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13 (6): 759 – 766
4. Blanco, M.C.S.G., Ming, L.C., Marques, M.O.M., & Bovi, O.A. (2002). Drying Temperature Effects in Rosmary Essential Oil Content and Composition, *Acta Horticulturae*, 569: 95 – 98
5. Baudoin, J.P. (2001). Contribution des ressources phytogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement* 5(4) : 221-230
6. Bayuelo-Jiménez, J.S., Debouck, D.G., Lynch, J.P. (2003). Growth, gas exchange, water relations, and ion composition of Phaseolus species grown under saline conditions. *Field Crop Resistance* 80 (3): 207-222
7. Beebe, S.E., Rao, I.M., Blair, M.W., & Acosta-Gallegos, J.A. (2013). Phenotyping common beans for adaptation to drought. *Front. Physiol.* 4:35. doi: 10.3389/fphys.2013.00035
8. Bouwmeester, H., Van asten, P., & Ouma, E. (2009). Mapping key variables of banana based cropping systems in the Great Lake Region, partial outcomes of the base-line and diagnostic surveys, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria. 50 pp
9. Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A., & Satrani, B. (2009). Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters ; *Agrosolutions* 20 (1): 44-48
10. Boyom, F., Ngouana, V., Amvam, Z.P.H., Menut, C., Bessiere, J.M., & Gut, J. (2007). Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry* 64:1269-1275
11. Brown, M., & Herbert, A.A. (1997). Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 36: 243-249
12. Caixeta, E.T., Borém, A., Azevedo Fagundes, S., Niestche, S., Barros, E.G., Moreira, M.A. (2003). Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean line BAT 332 and identification of RAPD marker linked to the resistance gene. *Euphytica* 134: 297-303.

13. Caswell G. H. (1960). The infestation of cowpeas in the Western region of Nigeria Trop. Sei, pp 154-158.
14. Chiasson, H., Vincent, C., & Bostanian, N.J. (2004). Insecticidal properties of a Chenopodium-based botanical. J Econ Entomol. 97(4): 1378-138
15. Clevenger, J.F. (1928). Determination of volatile oil. J. Ann. Pharm. Assoc. 17(4) :346-351
16. Dabire C., Nebie R.H., Belanger, A., Nacro M., & Sib, S.F. (2011). Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. Int. J. Biolo. Chem. Sci, 5 (3) : 1082-1095
17. Delobel, A., & Epouna-Mouinga, S. (1984). Les structures de stockage en République Populaire du Congo. Ronéo, ORSTOM, Brazzaville, 19 pp.
18. Delobel, A., & Malonga, P. (1987). Insecticidal properties of six plant materials against *Caryedon serratus* (Ol.) (Coleoptera : Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 23 (3) :173-176.
19. Demol, J., Baudoin, J.P., Louant, B.P., Maréchal, R., Mergeai, G., & Otoul E. (2002). Amélioration des plantes : application aux principales espèces cultivées en régions tropicales. Gembloux : Presses Agronomiques de Gembloux, 583p
20. Denloye Abiodun A., Makanjuola, W.A., Teslim, O.K., Alafia, O.A., Kasali, A.A., & Eshilokun, A.O. (2010). Toxicity of *Chenopodium ambrosioides* L. (chenopodiaceae) products from Nigeria against three storage insects. Journal of plant protection research, 50 (3) :289-384
21. Dutta, D., Pawan Kumar, A., Nath, N., Verma, B., & Gangwar. (2014). Qualities of lemongrass (*Cymbopogan citratus*) essential oil at different drying conditions. International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology 7(4): 903-909
22. Fathi, E., & Sefidkon, F. (2012). Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus sargentii*, Journal of Agricultural Science and Technology, 4 (5) : 1035 - 1042
23. Ferron, P., & Deguine, J.P. (2004). Protection des cultures et développement durable bilan et perspective in : Le courrier de l'environnement de l'INRA, 52 : 57-65
24. Freytag, G.F., & Debouk, D.G. (2002). Taxonomy, distribution, and ecology of the genus Phaseolus (Leguminosae- Papilionodeae) in North America, Mexico and Central America. Sida, Botanical Miscellany 23. Botanical Research Institute of Texas.

25. Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., & Zygadlo, J.A. (2007). Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresour Technol.* 99 (7): 2507-2515
26. Goudjil, M.B., Segni L., Salah, E.B., & Souad, Z. (2015). Influence du séchage sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Mentha piperita*. 5ème Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage (SMSTS'2015) Ouargla (Algérie), du 22 au 24 Novembre, 2015
27. Hall, F.R., & Menn, J.J. (1999). Biopesticides: Present status and future prospects, pp. 1-10. In *Methods in biotechnology* (5): Biopesticides Ed. by F. R. Hall and J. J. Menn. Totowa New Jersey, Human Press
28. Kaid S.L. (2004). Contribution à l'étude de la composition chimique et du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Cistus ladaniferus* de la région de Tlemcen, Thèse. Ing. Biologie, option Contrôle de Qualité et Analyse, Université de Tlemcen, pp 17.
29. Kanko, C., Kouamé, O.R., Akcah, J., Boti, J.B., Badama, S.K.P., & Casanova, J. (2017). Structure des composés majoritaires et activité insecticide des huiles essentielles extraites de sept plantes aromatiques de Côte D'ivoire. *International Journal of Engineering and Applied Sciences*, 4 (10) :27-34
30. Khorshidi, J., Mohammadi R., Fakhr T.M., & Nourbakhsh, H. (2009). Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), *Nature and Science*, 7 (11) :42 - 44
31. Loumouamou, A.N., Biassala, E., Silou, T., Ntondele-Nsansi, P., Diamouangana, J., Nzikou, J. M., Chalchat, J.C., & Fiquérédo, G. (2010). Characterisation of a giant Lemon acclimatised in the Congo-Brazzaville. *Advence Journal of Food Science and technology*, 2 (6):312-371.
32. Lucchesi, E.M. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat. Université de la Réunion, 143 p.
33. Mahuku, G.S., Jara, C.E., Cajiao, C., & Beebe, S. (2002). Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. *Plant Disease* 86:1383-1387.
34. Mbukula, M., Matondo, N.K., Buruchara, R., Rubyogo, J.C., Lunze L., Nitumfuidi, S., & Matuta, S. (2018). Influence des différentes doses d'engrais minéraux et des fréquences d'arrosage sur le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* l.). *International Journal of Development Research*, 08 (7): 21677-21686

35. McDonald, L.L., Guy, R.H., & Speirs, R.D. (1970). Preliminary evaluation of new candidate materials and toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing. Res. Rep. n°88. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric, 183p
36. Mikolo, B., Massamba, D., Matos, L., Bani, G., Maloumbi, M.G., Glitho, I.A., Lenga, A., Chalchat, J.C., & Miller, T. (2009). Toxicity and repellent activity of essential oil from Waya (*Plectranthus grandifolius* Handel-Mazzetti) against *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Biopestic Int* 5:52–59
37. Mwanauta, R.W., Mtei, K.M., & Ndakidemi, P.A. (2015). Potential of controlling common bean insect pests (Bean Stem Maggot (*Ophiomyia phaseoli*), Ootheca (*Ootheca bennigseni*) and Aphids (*Aphis fabae*)) using agronomic, biological and botanical practices in field. *Agricultural Sciences*, (6) :489-497.
38. Ndomo, A.F., Tapondjou, A.L., Tendonkeng F., & Mbiopo, T.F. (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
39. Nguimale, K.B.T. (2016). Evaluation de l'activité insecticide de l'huile essentielle de citronnelle (Variété géante Lemon Grass) contre les larves de *Desmestes* sp. Mémoire de Master, Faculté des Sciences et Techniques, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, République du Congo, 36p. Nebie R.H., Belanger, A., & Sib, S.F. (2007). Effet du séchage sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *Science et technique série Sciences appliquées et technique*, 2 :12-20
40. Okoh, O.O., Sadimenko A.P., Asekun O.T., & Afolayan A.J. (2008). The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L., *African Journal of Biotechnology*, 7 (10): 1500 - 1502
41. Ouafi, N., Moghrani H., Benaouda, N., Yassaa, N., & Maachi, R. (2017). Evaluation qualitative et quantitative de la qualité des feuilles de Laurier noble Algérien séchées dans un séchoir solaire convectif. *Revue des Energies Renouvelables*, 20 (1) : 161 – 168
42. Pandey, A.K., Uma, T., & Palni, N.N. (2014). Tripathi Repellent activity of some essential oils against two stored product beetles *Callosobruchus chinensis* L. and *C. maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) with reference to *Chenopodium ambrosioides* L. oil for the safety of pigeon pea seeds. *J Food Sci Technol*, 51(12): 4066–4071
43. Pirbalouti, A.G., Oraie M., Pouriamehr M., & Babadi, E.S. (2013). Effects of drying methods on qualitative and quantitative of the

- essential oil of Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.). Industrial Crops and Products, 46:324 – 327
44. Pollack, Y., Segal, R., & Golenser, J. (1990). The effect of ascaridole on the *in vitro* development of *Plasmodium falciparum*. Parasitology Res; 76: 570-2
 45. Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1995). Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research, 31: 291-299
 46. Regnault- Roger, C., Bernard, J.R., & Phylogène, C.V. (2002). Biopesticides d'origine végétale. Tec et Doc Eds, Paris, 337p
 47. Santiago, J.D.A., Graças, C.M.D., Da Silva, F.A.C., Campos de Moraes, J., Aparecida de Assis, F., Teixeira, M.L., Douglas, S.W., Sales, T.A., Camargo, K.C., Lee Nelson, D. (2014). Chemical Characterization and Application of the Essential Oils from *Chenopodium ambrosioides* and *Philodendron bipinnatifidum* in the Control of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). American Journal of Plant Sciences, 5 : 994-4002
 48. Silou, T., Taty-Loumbou, F., & Chalchat, J.C. (2002). Etude de l'effet du séchage solaire sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus citriodora*. Ann. Fals. Exp. Chim., n° 960: 287-301
 49. Shiva, M.P., Jain, P.P., Suri, R.K., Jagat, R., & Gulati, N.K. (1983). Effect of storage of Eucalyptus hybrid leaves on their essential oil. Indian Forester, 109 (12):926- 932
 50. Singh, A., Singh, S.R., Duve, R.N., Vithalbha, C.L., & Drysdale, P. (1977). The distillation and properties of *Eucalyptus citriodora* oil. Fiji. Agric. J. 39, 33-38
 51. Stanton (1950) - Les légumineuses à graines en Afrique, Pul. F.A.O. 197p.
 52. Sun, W.Q., & Davidson, P. (1996). Protein inactivation in amorphous sucrose and trehalose matrices: effects of phase separation and crystallization. Biochimica et Biophysica Acta 1425 : 235–244.
 53. Taponjou, L.A., Adler, C., Bouda, H., & Fontem, D.A. (2003). Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des organes de *Chenopodium ambrosioides* et *Eucalyptus saligna* à l'égard de la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus* Fab (Coleoptera, Bruchidae). Cahiers d'études et de recherches francophones, Agricultures, 12 (6) : 401-407.
 54. Taponjou, L.A., Adler, C., Bouda, H., & Fontem, D.A. (2002). Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as

- post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. J. Stored Prod. Res. 38: 395 – 402
55. Tchoumboungang, F., Dongmo, J.P.M., Sameza, M.L., Mbanjo, N.E.G., Fotso, G.B.T., Amvam, Z.P.H., & Menut, C. (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun, BASE 1 (13) :77-84.
 56. Tia, E.V., Lozano, P., Lozano, Y.F., Martin, T., Niamké, S., & Adima, A.A. (2013). Potentialité des huiles essentielles dans la lutte biologique contre la mouche blanche *Bemisia tabaci* Genn. Phytothérapie, 11 (1) : 31-38
 57. Zrira, S. (1991). Effects of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. J. Ess. Oil. Res., 3(2) :117-118.
 58. Zrira, S., Benjilalp, B., & Lamaty, G. (1995). Effet du séchage à l'air libre des feuilles d'*E. camaldulensis* sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. Actes Inst. Agron. Veto,15 (4) :27-35