

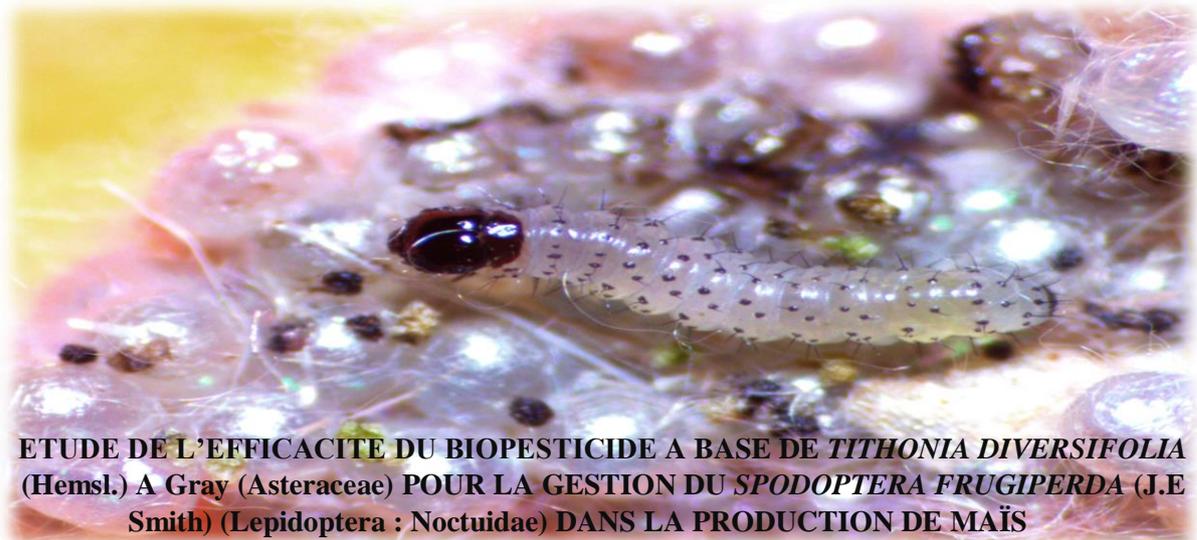


UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

ECOLE SUPERIEURE DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mention Agroécologie Biodiversité et Changement Climatique

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de
Master II en Agroécologie, Biodiversité et Changement Climatique



ETUDE DE L'EFFICACITE DU BIOPESTICIDE A BASE DE *TITHONIA DIVERSIFOLIA* (Hemsl.) A Gray (Asteraceae) POUR LA GESTION DU *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (J.E Smith) (Lepidoptera : Noctuidae) DANS LA PRODUCTION DE MAÏS

Présenté par Sitraka Mampionona Olivia RAKOTOARISON

Soutenu le 04 mai 2023

Devant le jury composé de :

Président : Professeur Joelisoa RATSIRARSON

Rapporteur : Docteur Manoa Arifetra RAMINOARISON

Encadrant professionnel : Docteur Santatra RAVELOMANANTSOA

Examineur : Docteur Vonifanja RAMANOELINA



III^{ème} promotion de la mention ABC



REMERCIEMENTS

Mes sincères reconnaissances et gratitude sont destinées à toutes ces aimables personnes ci-dessous :

- A Monsieur Jeannin RANAIVONASY, Enseignant chercheur, ancien chef de la mention Agroécologie – Biodiversité – Changement Climatique.
- A Madame Volatsara RAHETLAH, professeur, enseignant chercheur à l'ESSA, actuellement cheffe de la mention Agroécologie – Biodiversité – Changement Climatique, d'avoir autorisé la soutenance. Veuillez recevoir, Madame, mes sincères remerciements.
- A Monsieur Joelisoa RATSIRARSON, professeur à l'ESSA. Malgré vos lourdes responsabilités, vous avez fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.
- A Madame Manoa Arifetra RAMINOARISON, docteur et enseignante à l'ESSA, encadrant et rapporteur de la présente étude, pour son partage et sa grande assistance. Je vous remercie profondément.
- A Madame Santatra Herilalaina RAVELOMANANTSOA, docteur, chercheur au CENRADERU/FOFIFA, encadrante technique et scientifique de la présente étude, de m'avoir acceptée comme stagiaire au sein du Département des Recherches Agronomiques. Malgré vos lourdes tâches, vous étiez toujours disponible pour suivre mes recherches et pour me donner des conseils. Je vous suis très reconnaissante.
- A Madame Vonifanja RAMANOELINA, docteur et enseignante à l'ESSA, d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens également à adresser mes chaleureux remerciements à :

- Tous les collègues au sein du Département des Recherches Agronomiques Ambatobe.
- Tojonirina ANDRIAMAMPIONONA qui m'a bien aidé durant cette étude.
- Ma famille et amis, particulièrement Johan RAKOTONIAINA, qui m'ont soutenu du début de mes études à l'ESSA jusqu'à ce jour de soutenance de mémoire.

PRESENTATION DE LA MENTION AGROECOLOGIE, BIODIVERSITE ET CHANGEMENT CLIMATIQUE

La Mention Agroécologie, Biodiversité et Changement Climatique (ABC) est une des Mentions de l'Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques (ESSA) de l'Université d'Antananarivo, en partenariat avec le Laboratoire des Radio-Isotopes (LRI), lancée en Octobre 2015, avec douze étudiants en première promotion.



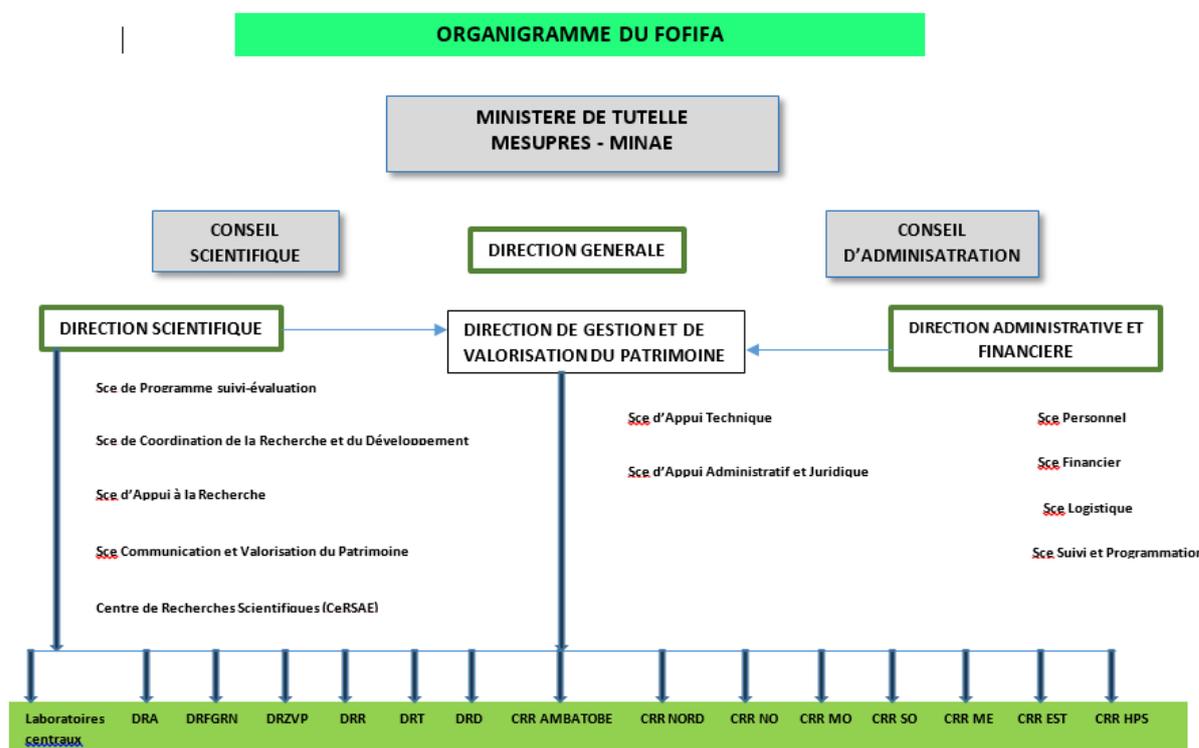
Les changements environnementaux et sociaux contemporains, dont le changement climatique, affectent profondément les conditions de production et les modes de vie des populations humaines, ainsi que les écosystèmes et communautés naturels. Les défis relatifs aux problématiques agricoles et la conservation de la biodiversité qui y sont liés sont fortement imbriqués, et nécessitent le développement d'approches de formation et de recherche multidisciplinaires.

Le Master ABC a pour objectifs de renforcer les capacités des futurs praticiens et décideurs à comprendre les concepts et réalités, et maîtriser les stratégies et actions sur les causes, manifestations et enjeux du changement climatique pour la gestion des ressources naturelles ; les implications environnementales, sociales et économiques du CC, des risques, vulnérabilité et résilience dans les secteurs agriculture et biodiversité, les approches intégrées entre l'agroécologie, la conservation de la biodiversité dans le cadre de l'adaptation et l'atténuation des impacts du changement climatique dans les secteurs agriculture et biodiversité. Le Master ABC est mis en œuvre en partenariat avec le programme de formation européen de Master ACT (Agriculture Climate Change Transition). A ce titre, des programmes d'échanges sous forme de mobilités et enseignements conjoints existent entre les institutions impliquées à Madagascar et dans les autres pays concernés.

PRESENTATION DU CENTRE FOFIFA, DEPARTEMENT DES RECHERCHES AGRONOMIQUES

FOFIFA/CENRADERU ou Centre National de Recherche Appliquée au Développement Rural était créé en 1974 par le décret 74-184 du 10/6/74. Le FOFIFA, est un Etablissement Public à caractère Industriel et Commercial. Il est placé sous la double tutelle du Ministère chargé de la Recherche Scientifique (MESUPRES) et du Ministère chargé de l'Agriculture (MINAE), par le décret 2015-1166 du 4/8/15.

FOFIFA intervient surtout sur la production végétale (Riz et autres cultures), les productions animale et piscicole, la foresterie, la socio-économie et les transformations agro-alimentaires.



DRA : Département de Recherches Agronomiques

DRFGRN : Département de Recherches Forestières et de la Gestion des Ressources Naturelles

DRZVP : Département de Recherches Zootechniques, Vétérinaires et Piscicoles

DRR : Département de Recherches Rizicoles

DRT : Département de Recherches Technologiques

DRD : Département Socio-Economie

CRR : Centre Régional de Recherche

CRR Antsirabe : Centre Régional de Recherche Antsirabe (Vakinankaratra)

CRR Nord : Centre Régional de Recherche Nord

CRR NO : Centre Régional de Recherche Nord-Ouest

CRR MO : Centre Régional de Recherche Moyen Ouest

CRR SO : Centre Régional de Recherche Sud-Ouest

CRR ME : Centre Régional de Recherche du Moyen Est

CRR Est : Centre Régional de Recherche Est

CRR HPS : Centre Régional de Recherche des Hauts Plateaux Sud

Les organes de conseil du FOFIFA comprennent :

- **le Conseil d'Administration** est investi des pouvoirs les plus étendus pour administrer le FOFIFA et agir en son nom, et pour faire autoriser tous les actes ou opérations relatifs à son objet. Le Conseil d'Administration se réunit au moins deux fois par an, à la demande de son Président ou celle du Directeur Général ou encore à celle de la majorité des membres.

- **le Conseil Scientifique d'Orientation** est chargé de l'évaluation scientifique des résultats, et de l'instruction technique des projets à présenter au Conseil d'Administration. Il est présidé par le Ministre chargé de la Recherche Scientifique, représenté par le Directeur Général de la Recherche Scientifique.

- **La Direction Générale** est l'organe exécutif du FOFIFA, elle comprend :
 - la Direction Scientifique ;
 - La Direction Administrative et Financière ; et
 - La Direction de Gestion et de Valorisation du patrimoine.

RESUME

Le *Spodoptera frugiperda* ou Chenille Légionnaire d'Automne est devenu le principal ravageur du maïs à Madagascar depuis 2017. En tenant compte des propriétés insecticides des substances naturelles contenues dans le *Tithonia diversifolia*, la présente étude vise à évaluer la potentialité de ses feuilles pour lutter contre ce ravageur. Deux types de biopesticides ont été testés, à savoir le purin des feuilles vertes et la solution aqueuse à partir de poudre des feuilles séchées. Trois doses de concentration 100g/L, 150g/l et 200g/l ont été testés sur les différents stades larvaires (L1 à L6) du *S. frugiperda*. L'étude comportait deux échelles expérimentales différentes : (i) essai en milieu contrôlé en laboratoire qui vise à évaluer l'efficacité du biopesticide à travers le test par ingestion, le test par contact et l'effet répulsif ; (ii) essai en milieu naturel au champ. Le traitement au champ de maïs a été appliqué tous les 14 jours pendant 8 semaines. Les tests en laboratoire ont montré un effet toxique par ingestion et par contact effective avec la solution aqueuse et un effet répulsif plus important avec le purin, et la dose la plus forte 200g/l a rapidement agit par rapport aux deux autres concentrations. Cette dose a donné des taux d'efficacité très élevés pour les larves L1/L2 sur le test par ingestion, test par contact et test de répulsion avec des résultats respectifs de 91,11%, 75,56% et 62,22% d'efficacité. Différents comportements de la chenille légionnaire d'automne ont été altérés tels que le rallongement de la durée de développement des stades larvaires, le manque d'appétit, la diminution de mobilité surtout chez les jeunes larves, et la mortalité. Au champ, les résultats ont montré une diminution du nombre des chenilles vivantes dans les parcelles traitées contre une augmentation des dégâts foliaires chez le témoin. Une des mesures à prendre pour réduire l'infestation de *S. frugiperda* est l'application à temps du traitement dès la rencontre des masses d'œufs, des premiers dégâts causés par des jeunes larves. Le biopesticide à base de *T. diversifolia* peut être une alternative à la lutte chimique prometteuse pour contrôler la population de *S. frugiperda*.

Mots clés : agroécologie, pesticide biologique, solution aqueuse, chenille légionnaire d'automne, maïs, tournesol mexicain

ABSTRACT

Spodoptera frugiperda has become the main maize pest in Madagascar since 2017. Taking into account the insecticidal properties of the bioactive compounds in *Tithonia diversifolia* leaves, this study aims to assess its insecticidal potential to control the fall armyworm. Two types of biopesticides were tested, namely green leaf slurry and aqueous solution from dried leaf powder. Three doses of concentration 100g/L, 150g/L, and 200g/L were tested on the different larval stages of *S. frugiperda*. The study included two different experimental scales: (i) in vitro bioassays to evaluate the efficacy of the biopesticide through the ingestion test, contact test, and repellent effect; (ii) a field test. The cornfield treatment was applied every 14 days for 8 weeks. Laboratory tests showed that the aqueous solution was more effective than the slurry and the highest dose of 200g/l was fast-acting compared to the other two concentrations. This dose gave very high efficacy rates for L1/L2 larvae on the ingestion test, contact test, and repulsion test with 91.11%, 75.56%, and 62.22% efficacy respectively. Different behaviors of the armyworm were altered such as lengthening of the development time of the larval stages, lack of appetite, decreased mobility especially in young larvae, and mortality. In the field, results showed a decrease in the number of live caterpillars in the treated plots and an increase in leaf damage in the control. One of the measures to be taken to reduce the infestation of *S. frugiperda* is the timely application of the treatment as soon as the egg masses and the first damage by young larvae is encountered. The biopesticide based on *T. diversifolia* can be a promising alternative to chemical control to control the population of *S. frugiperda*

Keywords: agroecology, pesticide organic, aqueous solution, fall armyworm, maize, Mexican sunflower

FAMINTINANA

Araky ny angon-kevitra momba ireo singa faharoa sy ny asa maro vitany ao anatin'ily hazo bemangidy, dia natao ity andrana fikarohana ity hanombatombanana ny mety ho fandairan'ny raviny ho fanafody hifehy ny fanday mpandrava ny voly katsaka. Karazana ranom-panafody roa mifototra amin'ity zavamaniry ity no novolavolaina : ny iray dia ny ranom-panafody azo avy amin'ny raviny maitso ary ny iray kosa dia azo avy amin'ny raviny maina. Fatra telo avy 100g/l, 150/l ary 200g/l isakin'ny karazana no nampitahaina mba hanavahana izay tena mandaitra amin'ireo bibikely isan'ambaratongany. Nizara roa ny andrana natao: (i) andrana ara- laboratoara ahitana ny fitsirihana ny fihinanana sakafo misy fanafody, ny fitiliana ny fombam-piainany reheva mikasoka ilay fanafody ary ny fitsoahan'ily bibikely rehefa mahare ny fisian'ily fanafody ; (ii) ny famendrehana ilay ranom-panafody eny amin'ny voly katsaka eny an-tsaha. Ny vokatry azo no nahitana fa ny ranom-panafody avy amin'ny ravina bemangidy maina no nahomby kokoa amin'ireo fanandramana rehetra natao ka ny fatra 200g/l no ainagam-piasa indrindra raha oharina amin'ily fatra roa hafa. Io fatra io dia nanome taham-pahombiazana ambony indrindra teo amin'ireo olitra mpandrava L1/L2 izay nazahoana 91, 11%, 75, 56%, 62, 22% vokatry tsara tamin'ireo karazana andrana. Noho izany, hita nandritry ny fotoana nanaovana ny fitiliana fa mampiova zavatra maro ao amin'ny fiainan'ireo bibikely mpandrava ilay ranom-panafody avy amin'ny bemangidy toy ny fanitarana ny vanim-potoan'ny fivoaran'ny dingan'ny olitra, ny fihenana ny fahazotoana misakafo, ny fihenana ny hery sy tanjaka indrindra eo amin'ireo olitra tanora ary miafara amin'ny fahafatesana izany avy eo. Setriny izany, ny fitsaboana dia tsy maintsy ampiharina rehefa mahita ny fahasimbana voalohany ateraky ny olitra tanora mba ho mora ny hamehy ireo voka-dratsy.

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1 : Stade phénologique du <i>Tithonia diversifolia</i>	12
---	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Climat adapté au <i>S. frugiperda</i> , modélisé globalement à l'aide du logiciel CLIMEX par Du Plessis et al. (2018) avec EI : Indice Ecoclimatique ; GI : Indice de croissance	4
Figure 2 : Courbe ombrothermique Analamanga 2020 – 2021	14
Figure 3 : Dispositif expérimental d'une parcelle de culture de maïs avec T0 : témoin, parcelle élémentaire non traitée ; T1 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 100 g/L ; T2 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 150 g/L ; T3 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 200 g/L	23
Figure 4 : Disposition du maïs sur les parcelles élémentaires	24
Figure 5 : Taux de mortalité cumulé en fonction du temps et de stade larvaire de la chenille légionnaire d'Automne au test par ingestion ; (A) solution aqueuse ; (B) purin	26
Figure 6 : Taux de mortalité cumulé en fonction du temps et de stade larvaire de la chenille légionnaire d'automne au test par contact ; (A) sur la solution aqueuse ; (B) purin.....	29
Figure 7 : Pourcentage de répulsion ; (A) sur la solution aqueuse ; (B) purin ;	31
Figure 8 : Taux de survie des chenilles en fonction de la dose appliquée (g/L) pendant 8 semaines ...	33

LISTE DES PHOTOS

Photo 1 : Cycle de développement de la chenille légionnaire d'automne	5
Photo 2 : Œufs de <i>S. frugiperda</i> - a) Amas d'œufs sur la face inférieure de la feuille de maïs ; b) Vue des oeufs sous une loupe binoculaire. Source : Auteur, 2022	5
Photo 3 : Les différents stades et caractéristiques larvaires de <i>Spodoptera frugiperda</i> - a) Jeune larve au premier jour de l'éclosion ; b) larve du second stade montrant son aspect orangé ; c) larve du troisième stade montrant son corps brunâtre et les lignes blanches latérales ; d) Larve du quatrième stade montrant sa tête brun rougeâtre ; e) Tête d'une larve arborant le Y inversé de couleur blanchâtre (Source : Rakotoarison S., 2022 (Auteur)) et f) Marques caractéristiques de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Source : Visser, 2017).....	7
Photo 4 : Chrysalide(s) de <i>S. frugiperda</i>	8
Photo 5 : Adultes de <i>Spodoptera frugiperda</i>	9
Photo 6 : Modèle de variation sur les ailes fermées chez les adultes de <i>Spodoptera frugiperda</i> , à gauche l'adulte mâle et à droite l'adulte femelle	9
Photo 7 : Classement des plants de maïs en fonction des dommages foliaires causés par la chenille légionnaire d'automne	11
Photo 8 : <i>Tithonia diversifolia</i> , Analavory 2022.....	12
Photo 9 : Culture de maïs en pot sous serre.....	17
Photo 10 : a) Verres en plastique contenant des feuilles de maïs, nourriture pour les larves ; b) verres en plastique contenant des chenilles de <i>Spodoptera frugiperda</i> ; c) Cage d'élevage ; d) Eau sucrée pour les <i>Spodoptera frugiperda</i>	17
Photo 11: a) Parcelle de <i>T.diversifolia</i> en stade de préfloraison à Ambohimangakely ; b) Collecte de <i>T. diversifolia</i>	19
Photo 12 : a) Préparation des feuilles de <i>T. diversifolia</i> ; b) Pesage des feuilles de <i>T. diversifolia</i> ; c) Mélange de feuilles de <i>T. diversifolia</i> avec de l'eau ; d) Pesage du savon pour le mélange ; e) Premier filtrage du mélange avec de la mousseline ; f) Deuxième filtrage avant l'utilisation du produit de type purin	20
Photo 13 : a) Séchage de <i>T. diversifolia</i> à l'abri du soleil ; b) broyage des feuilles de <i>T. diversifolia</i> avec du mortier ; c) Poudre des feuilles de <i>T.diversifolia</i> ; d) Pesage de la poudre de <i>T. diversifolia</i> ; e) Solution aqueuse de <i>T. diversifolia</i>	21
Photo 14 : culture de maïs au champ.....	24

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Maïs	A
Annexe 2 : Échelle d'évaluation des dégâts foliaires dus à la chenille légionnaire d'automne	I
Annexe 3 : Taux de mortalité larvaire par ingestion : poudre	J
Annexe 4 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par INGESTION : MACERATION	K
Annexe 5 : ANOVA du test par ingestion	L
Annexe 6 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par CONTACT : POUDRE	M
Annexe 7 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par CONTACT / MACERATION	N
Annexe 8 : ANOVA du test par contact	O
Annexe 9 : Taux de répulsion : poudre	P
Annexe 10 : Taux de répulsion : MACERATION	P
Annexe 11 : Taux de SURVIE EN MILIEU NATUREL	Q
Annexe 12 : ANOVA du test au milieu naturel	T
Annexe 13 : Données climatiques Analamanga 2020-2021	U

GLOSSAIRES

Agroécologie	: L'agroécologie est une approche holistique et intégrée qui applique simultanément des concepts et des principes écologiques et sociaux à la conception et à la gestion de systèmes agricoles et alimentaires durables. Elle cherche à optimiser les interactions entre les plantes, les animaux, les hommes et l'environnement tout en répondant à la nécessité de systèmes alimentaires socialement équitables au sein desquels les gens peuvent choisir ce qu'ils mangent et comment et où il est produit.
Criblage phytochimique	: Ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organiques naturelles de la plante dont le but final de l'étude est souvent d'isoler un ou plusieurs constituants responsables de l'activité particulière de la plante.
Exuvie	: Peau rejetée par un animal lors de la mue.
Germoplasme	: Tout élément issu du végétal capable de donner un nouvel individu.
Inhibition	: Blocage d'un processus faisant obstacle à la prise de conscience, à l'expression, à la manifestation, au développement normal de certains phénomènes psychiques.
Nymphose	: Etape du processus de la transformation d'une larve en nymphe (ou puppe).
Oviposition	: Acte pour une femelle de pondre et de placer ses œufs dans un endroit particulier pour favoriser l'éclosion.
Olfactomètre	: Dispositif utilisé pour étudier le comportement des insectes en présence d'olfactif stimulus.
Plante monoïque	: Fleur mâle et femelle se trouvent sur des inflorescences distinctes de la même plante.
Produits de synthèse	: Enchaînement de réactions chimiques mis en œuvre volontairement ou non permettant l'obtention d'un ou de plusieurs produits finaux, parfois avec isolation de composés chimiques intermédiaires.
Rémanence	: Durée pendant laquelle le biopesticide va continuer à être actif sans qu'il soit nécessaire de renouveler la dose.

LISTE DES ABREVIATIONS

ANAE	: Association Nationale d'Actions Environnementales
CLA	: Chenille légionnaire d'automne
DRA	: Département des recherches agronomiques
EPPO	: Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
FAO	: Food and agricultural organization
FOFIFA/ CENRADERU	: Centre national de recherche appliquée au développement rural
INPN	: Inventaire national du patrimoine naturel
MPAE	: Ministère de pêche, agriculture et élevage
OCDE	: Organisation de coopération et de développement économique
ODD	: Objectif de développement durable
OFDA	: Office of Foreign Disaster Assistance
PIB	: Produit Intérieur Brut
USAID	: Agence des Etats-Unis pour le développement international

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
Partie I : METHODOLOGIE	1
I.1. Contexte de l'étude.....	3
I.1.1. Synthèse bibliographique	3
a) Spodoptera frugiperda ou chenille légionnaire d'automne	3
b) Le Tithonia diversifolia ou tournesol mexicain.....	11
I.1.2. Zones d'études.....	14
a) Laboratoire de Santé des plantes	14
b) Terrain d'expérimentation.....	14
I.2. Problématiques et hypothèses	15
I.3. Matériels et méthodes	16
I.3.1. Elevage des CLA (<i>S. frugiperda</i>) :.....	16
I.3.2. Collecte de <i>T. diversifolia</i> et préparation des produits :.....	18
I.3.3. Essai en laboratoire des biopesticides à base de <i>T. diversifolia</i> contre les CLA	21
a) Toxicité par ingestion :	21
b) Toxicité par contact :	22
c) Effet répulsif avec un papier buvard :.....	22
I.3.4. Essai en milieu réel	23
I.3.5. Analyse statistique	24
I.3.6. Limite de l'étude.....	25
Partie II : RESULTATS	26
II.1. Cycle du développement de la CLA.....	25
II.2. Effet des deux types de préparation de biopesticide de <i>T. diversifolia</i> : effet par ingestion, effet par contact et effet répulsif sur les différents stades larvaires	25
II.2.1. Effet direct de la consommation de feuilles traitées sur la mortalité des larves de <i>S. frugiperda</i>	25
.....	26
II.2.1. Toxicité des biopesticides par contact sur différents stades larvaires	28
.....	29
II.2.2. Effet répulsif de biopesticides de <i>T. diversifolia</i>	30
.....	31
II.3. Effet du biopesticide de type solution aqueuse dans le milieu naturel	32
Partie III : DISCUSSIONS ET RECOMMANDATIONS	34
III.1. Discussions.....	34
III.2. Recommandations.....	36
III.2.1. Recommandations sur les bonnes pratiques agronomiques.....	36
III.2.2. Recommandations sur l'application du biopesticide.....	37
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41

INTRODUCTION

A Madagascar, le maïs occupe la troisième filière en termes de production et de superficie, après le riz et le manioc, avec une superficie récoltée de 126 200 ha environ en 2021 (FAOSTAT, 2023). Il tient une place importante dans la vie quotidienne de la population malagasy grâce à sa capacité de substitution au riz qui reste l'aliment de base, et à son statut d'alimentation de référence : alimentation humaine, alimentation animale et industrie agro-alimentaire. Depuis 2002, sa consommation annuelle augmente, ce qui est en corrélation avec la croissance démographique, l'expansion des industries de transformation et surtout le développement des élevages porcins et avicoles (FAO, 2018). Sa production maximale était en 2012 avec une quantité de 447 948 tonnes (FAOSTAT, 2023). Elle a connu une diminution progressive due au changement climatique avant 2017. De plus, cette diminution s'est accrue depuis l'apparition d'un ravageur appelé chenille légionnaire d'automne (CLA) ou *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith, 1797) en novembre 2017 à Antanimieva Ambatolily Tuléar, dans le district Morombe de la région d'Atsimo Andrefana (ONE, 2019). Cette chenille est devenue le principal ravageur du maïs et l'ennemi des producteurs étant donné que la production était seulement à 215 000 tonnes en 2018 (FAOSTAT, 2023), vu que les 22 régions étaient touchées (MAEP, 2018). Même si leurs dégâts n'affectent pas la qualité nutritionnelle, le niveau de la destruction de la plante et du rendement des paysans est considérable.

Les traitements chimiques sont les plus adaptés par les agriculteurs pour lutter contre la CLA. Ils sont efficaces et les résultats sont immédiats. Cependant l'utilisation des pesticides chimiques détériore l'environnement par la dégradation du sol, la pollution de l'air et la pollution de l'eau souterraine (Khater, 2012). Des études antérieures ont montré que ces produits chimiques sont très nocifs pour la santé humaine non seulement pour les cultivateurs mais aussi pour les consommateurs (FAO, 2018). Dans la plupart, ils ont une incidence sur le système nerveux ; et les effets néfastes dus à une exposition peuvent se faire sentir immédiatement, certains symptômes peuvent apparaître dans plusieurs heures et d'autres après plusieurs années, comme le cancer (FAO, 2018).

En tenant compte de ces dangers, le recours à des stratégies de lutte plus respectueuses de l'environnement est nécessaire pour satisfaire les objectifs du développement durable notamment les objectifs ODD : pas de pauvreté, ODD2 : faim zéro, ODD9 : bonne santé et bien-être, ODD10 : eau propre et assainissement, vie terrestre, consommation et productions responsables. De nos jours, le contrôle biologique constitue une stratégie de choix. Diverses études ont démontré que le recours aux plantes pesticides présente le double avantage de respecter l'environnement et d'être efficace dans la lutte contre les ravageurs (Stevenson *et al.*, 2014 ; Mkenda *et al.*, 2015). De plus, c'est une autre forme de valoriser les pratiques traditionnelles dites « Ady gasy » qui sont adaptées au moyen de vie des agriculteurs malagasy. Les Ady gasy désignent des pesticides d'origine naturelle fabriquée par les paysans de façon traditionnelle dont le choix des ingrédients est orienté par l'odeur qu'émane la plante ou une partie de la plante comme les feuilles.

Plusieurs recherches ont démontré que diverses espèces végétales peuvent soit provoquer une répulsion ou une perturbation comportementale des ravageurs, soit avoir un effet toxique en raison de

la présence des métabolites secondaires sur les insectes (Guèye *et al.*, 2011; Ganeb *et al.*, 2019 ; De Clerck *et al.*, 2020). Depuis quelques années, le *Tithonia diversifolia* est connu grâce à ses plusieurs vertus en tant qu'engrais vert, une plante médicinale, une plante à effet insecticide. L'extrait aqueux de cette plante a fait l'objet de plusieurs études sur l'évaluation de son effet insecticide comme l'étude sur les termites en culture de riz au centre de la Côte d'Ivoire (DIBY *et al.*, 2015), sur les punaises noire de riz *Scotinophora coarctata* (Ganeb M. *et* Torres M., 2019), sur les fourmis coupeuses des feuilles *Atta cephalotes* (Castaño-Quintana *et al.*, 2012) et même sur les CLA (Miranda *et al.*, 2021). Cette dernière étude a testé l'effet insecticide des fractions d'acétate d'éthyle et des lactones sesquiterpéniques de l'extrait de feuilles de *T. diversifolia*, mélangées avec des composés organiques, sur les larves et les pupes de *S. frugiperda*.

Dans ce contexte, notre étude s'est orientée sur l'étude de l'efficacité du biopesticide à base de *T. diversifolia* pour la gestion du *S. frugiperda* dans la production de maïs en tenant compte de l'efficacité du produit formulé en fonction de la dose d'application et des stades larvaires, et la durée de rémanence. Le biopesticide formulé sera qualifié de « ady gasy ». Il s'agit, entre autres, de :

- Tester deux modes de fabrication de solutions insecticides à base de feuilles de *T. diversifolia* ;
- Déterminer de la dose efficace du biopesticide à différents stades larvaires des CLA ;
- Déterminer la durée de rémanence du produit et la fréquence du traitement.

Partie I : METHODOLOGIE

I.1. Contexte de l'étude

I.1.1. Synthèse bibliographique

a) *Spodoptera frugiperda* ou chenille légionnaire d'automne

La CLA est un insecte ravageur polyphage qui attaque plus de 80 espèces de plantes, incluant les céréales cultivées d'importance économique telles que le maïs, le riz et le sorgho ainsi que les cultures maraîchères et le coton (FAO, 2018).

➤ Taxonomie

Cet insecte a été décrit et classifié pour la première fois par James Edward Smith et John Abbot en 1797 (Simmons *et al.*, 1993).

La position taxonomique du *S. frugiperda* se présente de manière suivante :

Domaine	: Biota Endl.
Règne	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Classe	: Insecta
Ordre	: Lepidoptera
Famille	: Noctuidae
Sous-famille	: Noctuinae
Tribu	: Prodeniini
Genre	: <i>Spodoptera</i>
Espèce	: <i>frugiperda</i> .

➤ Origine et distribution

L'insecte est originaire des régions tropicales et subtropicales de l'hémisphère occidental d'Amérique, des États-Unis à l'Argentine et dans les Caraïbes y compris Porto Rico (Capinera, 2001). Il est anciennement appelé *Laphygma frugiperda* (Luginbill, 1928). Il a été signalé pour la première fois en Afrique centrale et de l'Ouest en 2016 (Goergen *et al.*, 2016) comme une espèce invasive et presque tous les pays du continent Africain signalent sa présence (FAO, 2018b ; EPPO, 2019) à l'heure actuelle. Depuis, il a continué sa progression en Asie où il est apparu pour la première fois en Inde (Maruthadurai *et al.*, 2020 ; Nagoshi *et al.*, 2020) et plus récemment en Chine et en Australie (IPPC, 2020; Li *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2020). A Madagascar, la CLA a été observée pour la première fois à Antanimieva Ambatolily Tuléar, dans le district Morombe de la région d'Atsimo Andrefana en novembre 2017. Ensuite, elle s'est étendue dans les 22 régions et a provoqué beaucoup de ravages sur les cultures de

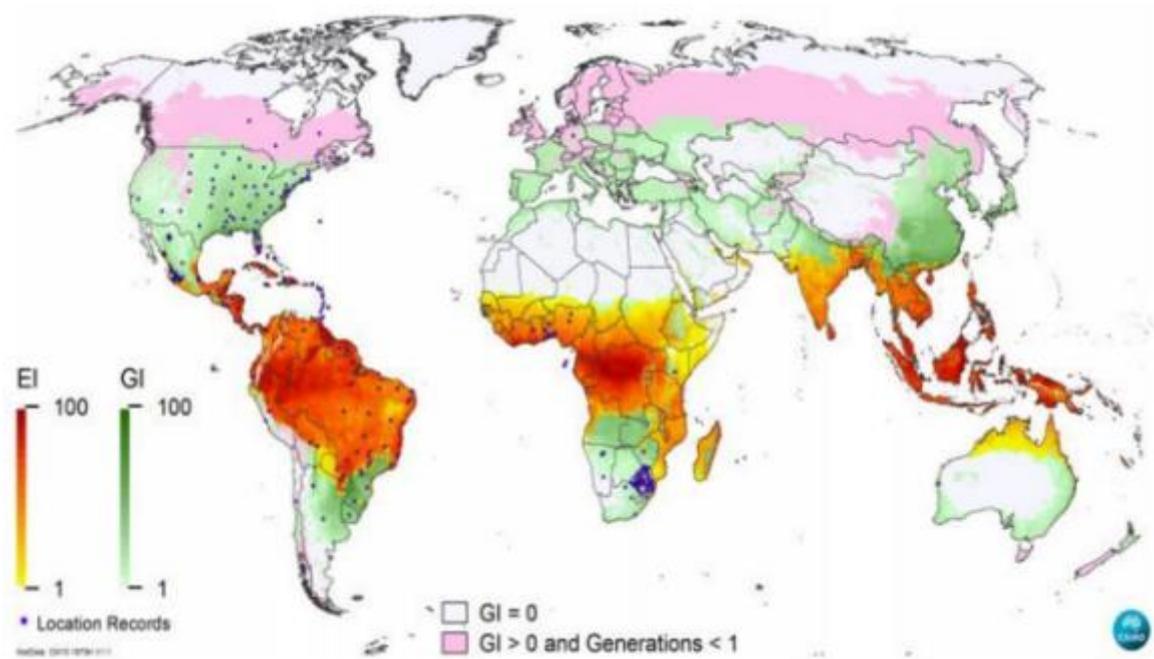


Figure 1 : Climat adapté au *S. frugiperda*, modélisé globalement à l'aide du logiciel CLIMEX par Du Plessis et *al.* (2018) avec EI : Indice Ecoclimatique ; GI : Indice de croissance

➤ Biologie

Pendant les mois chauds, avec une température environ $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ et $70\pm 10\%$ d'humidité relative, conditions favorables pour sa croissance et son développement, le cycle de vie de la CLA est de 30 jours environ mais peut aller jusqu'à 60-90 jours au moment des températures les plus basses (Capinera, 2014 ; Prasanna *et al.*, 2018). Vu que c'est une espèce faisant partie de l'ordre des lépidoptères, elle est alors un insecte à métamorphose complète ; c'est-à-dire que son développement complet inclut quatre (4) stades dont l'œuf, les larves, la chrysalide et l'adulte (papillon). Selon Luginbill (1928), la capacité à la diapause n'est pas observée chez cette espèce dont le seuil de température minimale est de 12°C . La CLA attaque son hôte durant son stade larvaire.

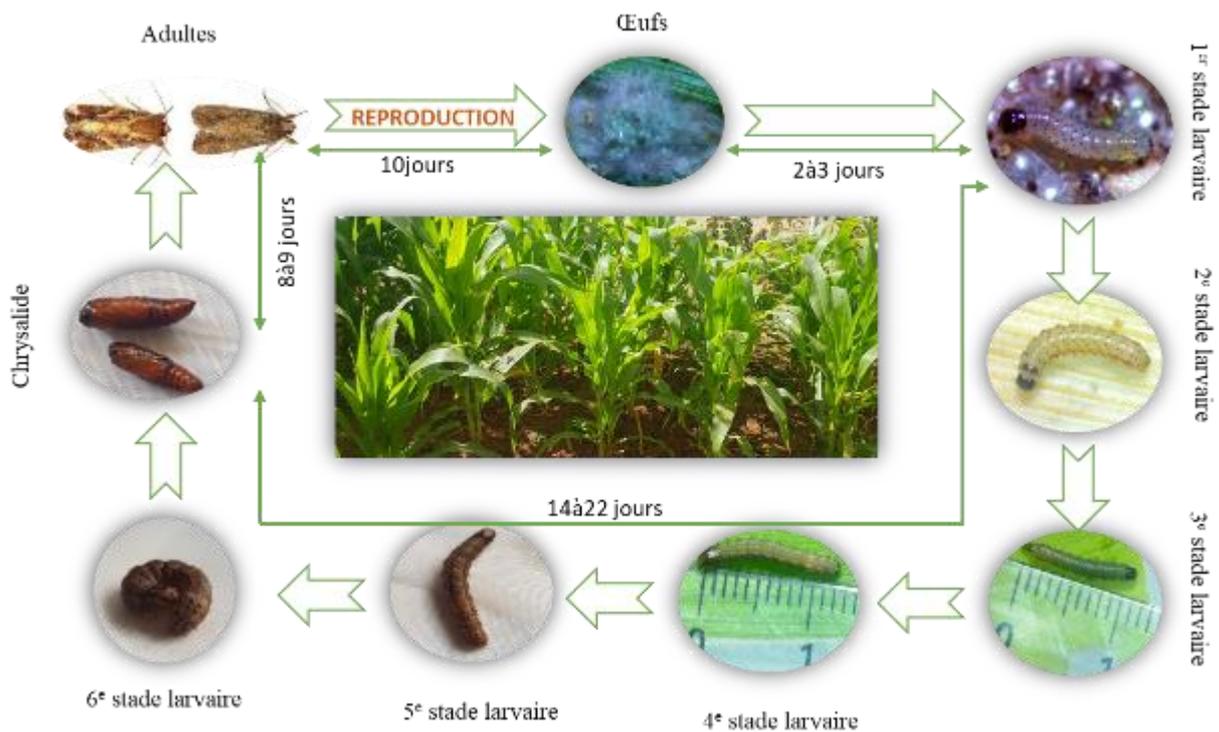


Photo 1 : Cycle de développement de la chenille légionnaire d’automne

Source: Auteur, 2022

➤ **Stade des oeufs**

Les œufs de *S. frugiperda* ont la forme d’une sphère aplatie à la base avec un diamètre de 0,4 mm environ et de 0,3 mm de haut (Luginbill, 1928 ; Capinera, 2014 ; EPPO, 2015). Au moment de l’oviposition, ils sont verts et deviennent brun clair avant l’éclosion (Capinera, 1999). Leur maturité dure 2 à 3 jours sous une condition de température de 20 à 30°C (FAO, 2018). Ils sont habituellement pondus en masses d’environ 100 à 200 œufs qui sont déposés dans deux à quatre couches sur la surface de la feuille, avec une couche d’écailles grisâtres entre les œufs et sur la masse d’œufs déposée par la femelle ; donnant un aspect poilu ou moisi. En moyenne, leur femelle produit entre 1000 à 2000 œufs au total au cours de sa vie (FAO, 2018). Dans les jeunes plantations, les œufs peuvent être déposés sur les tiges.

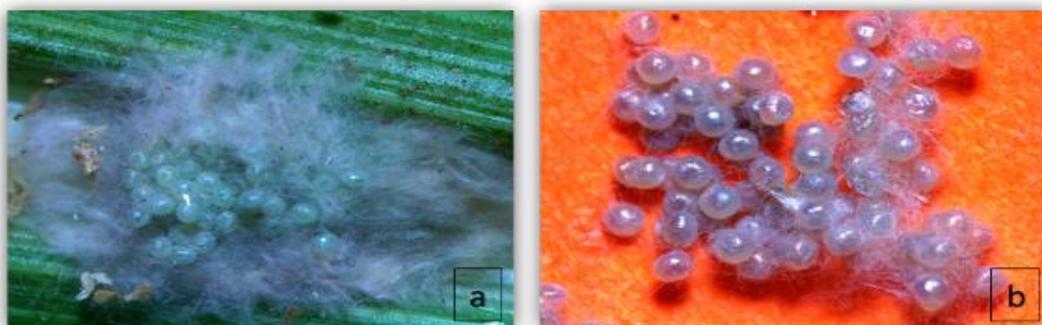


Photo 2 : Œufs de *S. frugiperda* - a) Amas d’œufs sur la face inférieure de la feuille de maïs ; b) Vue des œufs sous une loupe binoculaire. Source : Auteur, 2022

➤ **Stade larvaire :**

La CLA a six stades larvaires observables. Le temps de développement moyen a été déterminé respectivement comme 3,3 - 1,7 - 1,5 - 1,5 - 2,0 et 3,7 jours, pour les stades L1 à L6, lorsque les larves ont été élevées à 25°C (Pitre et Hogg, 1983). Contrôlé par la combinaison de la température et de l'alimentation, ce stade dure 14 à 22 jours (CABI, 2019). Les jeunes larves de stade L1 sont verdâtres avec une tête noire (photo 3a) et devenant plus orange au deuxième stade L2 (photo 3b). Dans le second stade, mais en particulier le troisième L3 (photo 3c), la face dorsale du corps devient brunâtre, et les lignes blanches latérales commencent à se former. Du quatrième L4 au sixième stade L6, la tête est brun rougeâtre, tachetée de blanc, et le corps brunâtre porte des lignes subdorsales et latérales blanches (photo 3d). Des pinacules dorsaux se montrent sur le corps avec une couleur foncée et portent des épines (photo 3d). Le front de la larve mature est marqué d'un "Y" blanc inversé (FAO, 2018) et l'épiderme de la larve est rugueux ou granulaire dans la texture lorsqu'il est examiné de près (photo 3e). En plus de la forme brunâtre typique, la larve peut être aussi verte dorsalement et les taches dorsales sont pâles plutôt que sombres. Cette variation de couleurs est obtenue en fonction du régime alimentaire et d'autres facteurs (Hardke *et al.*, 2015). La CLA est caractérisée d'un ensemble de quatre grandes taches disposées en carré sur la surface supérieure du dernier segment abdominal (photo 3f). La largeur des capsules de tête s'étend d'environ 0,3 mm au premier stade à 2,6 mm au dernier stade, et les larves atteignent des longueurs d'environ 1 mm à 45 mm de stade 1 à 6 (Capinera, 2001). Les larves ont tendance à se dissimuler pendant les périodes plus ensoleillées de la journée.

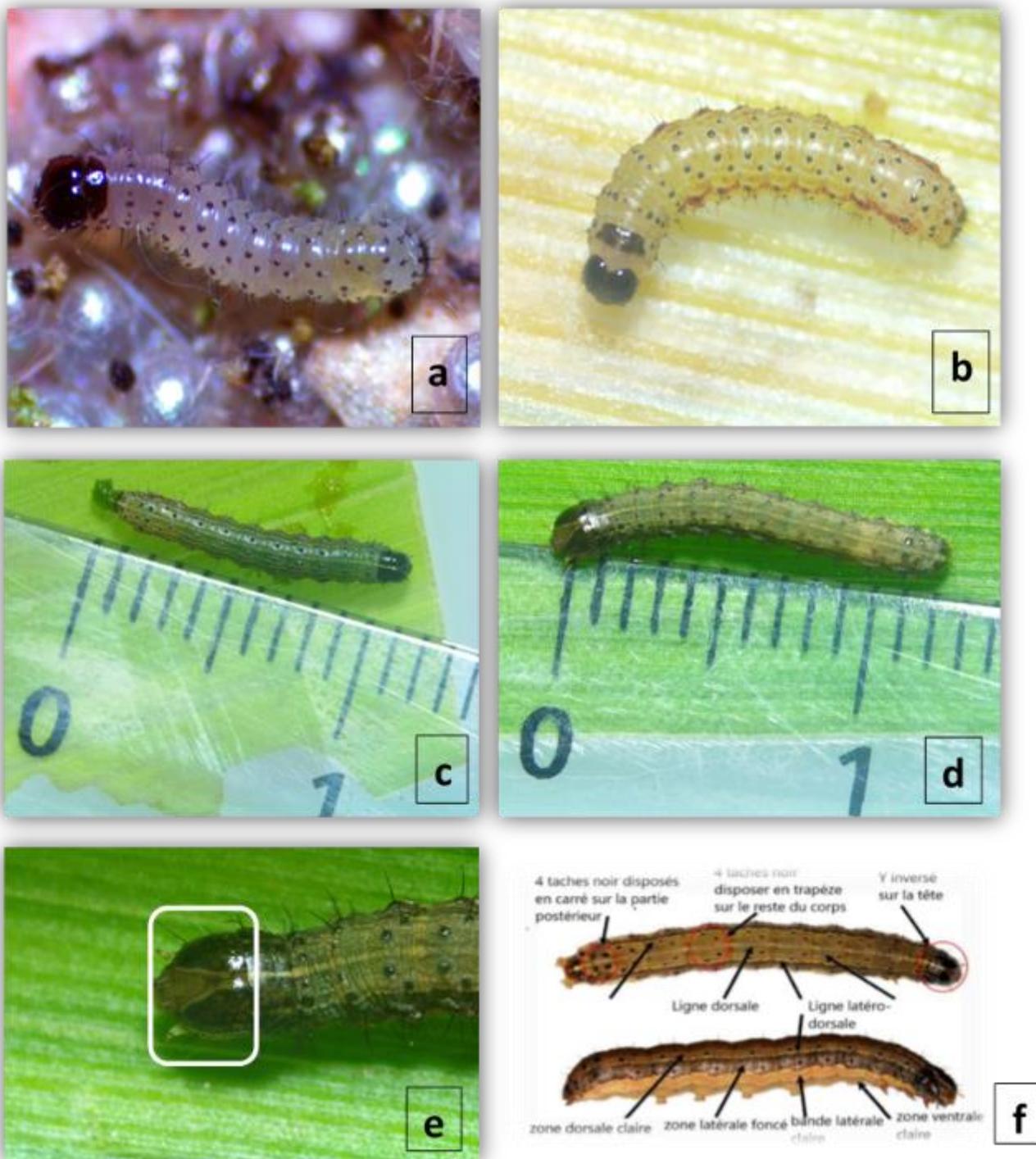


Photo 3 : Les différents stades et caractéristiques larvaires de *S. frugiperda* - a) Jeune larve au premier jour de l'éclosion ; b) Larve du second stade montrant son aspect orangé ; c) Larve du troisième stade montrant son corps brunâtre et les lignes blanches latérales ; d) Larve du quatrième stade montrant sa tête brun rougeâtre ; e) Tête d'une larve arborant le Y inversé de couleur blanchâtre (Source : Auteur, 2022) et f) Marques caractéristiques de *S. frugiperda* (Source : Visser, 2017)

➤ **La chrysalide :**

Habituellement à la fin du stade L6, la nymphose va prendre place dans le sol à une profondeur de 2 à 8 cm (Capinera, 2017 ; Prasanna *et al.*, 2018). En rencontre du sol dur, la CLA peut réaliser la transformation dans les débris végétaux à la surface du sol (Luginbill, 1928 ; Capinera, 1999). Quand la sixième larve est prête pour passer au stade de chrysalide, elle cesse de se nourrir pendant la période prénuptiale, et devient verdâtre puis marron vif (Poornima, 2019). La chrysalide est de couleur brun rougeâtre (photo 4b) mesurant entre 14 à 18 mm de long pour 4,5mm de large (Capinera, 2001). La durée moyenne de la phase nymphale est de 8 à 9 jours pendant la saison chaude et atteint 20 à 30 jours pendant la saison froide (Prasanna *et al.*, 2018).



Photo 4 : Chrysalide(s) de *S. frugiperda*

a) Chrysalide récemment formée ; b) Chrysalide mature brun rougeâtre
Source : Auteur, 2022

➤ **Le stade adulte :**

Les papillons adultes de la CLA ont une envergure de 30 à 40 mm (Capinera, 2001). Pour différencier le sexe des adultes, des caractéristiques sur leurs morphologiques apparaissent : comme chez le mâle, l'imago ont des ailes antérieures grises et brunes avec des tâches triangulaires blanches sur la zone apicale (photo 5a) tandis que chez la femelle elles sont uniformément brunes grisâtres à marbrure fine (photo 5b) (Capinera, 2001 ; Hardke *et al.*, 2015 ; Shylesha *et al.*, 2018). Les ailes postérieures sont blanches argentées avec une bordure étroite et foncée chez les deux sexes (Capinera, 2001 ; Sharanabasappa *et al.*, 2018). Les papillons de la CLA sont nocturnes et plus actifs durant les soirées chaudes et humides. D'après quelques études, ils commencent une période de pré-oviposition de 3 à 4 jours et la période de ponte pendant les 4 à 5 premiers jours de sa vie mais peut avoir lieu jusqu'à 3 semaines. Leur durée moyenne de vie est estimée à 10 jours, soit environ 7 à 21 jours (FAO, 2018).

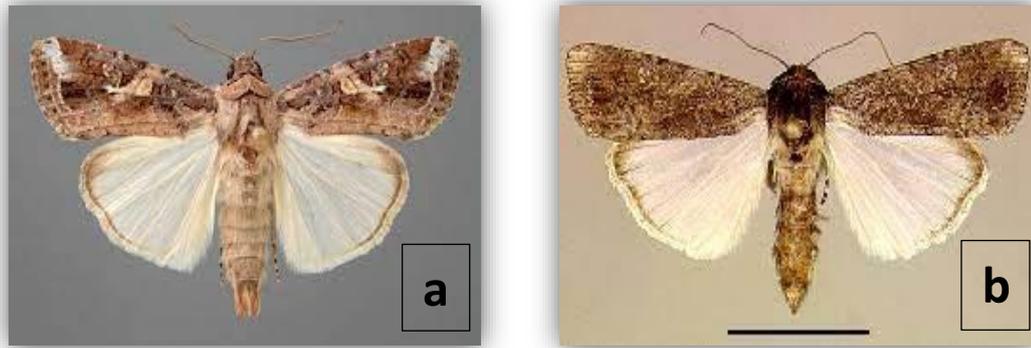


Photo 5 : Adultes de *S. frugiperda* ; a) Papillon mâle avec une tache Blanche visible sur l'aile antérieure ; b) Papillon femelle

Source : Inra.fr, Ivan Cruz, Embrapa



Photo 6 : Modèle de variation sur les ailes fermées chez les adultes de *S. frugiperda*, à gauche l'adulte mâle et à droite l'adulte femelle

Source : USAID/OFDA

➤ **Ecologie, plantes hôtes**

Originaire des régions tropicales et subtropicales, le *S. frugiperda* est capable de s'adapter à travers les endroits chauds du monde (CABI, 2019). La température est le facteur climatique très important pour la croissance et le développement des chenilles légionnaires d'automne dont la durée de vie, le temps de développement de l'œuf, des larves et des nymphes décroît avec elle et la moyenne est à 28°C (Ramirez, 1987). Au-delà de 30°C, les ailes des adultes ont tendance à se déformer selon ce dernier auteur. D'après une étude de Simmons (1993), aucune émergence d'adulte n'a été obtenue à une température de 10°C et 40°C. La nymphose et l'émergence des adultes peuvent se faire dans des sols sablo-argileux ou argilo-sableux (CABI, 2020). L'adulte femelle peut parcourir 100 km en une nuit et faire 2000 km au cours de sa vie pour la migration (FAO, 2018).

La CLA préfère clairement les graminées parmi les 80 plantes enregistrées comme plantes hôtes. Les plantes les plus fréquemment attaquées sont les champs de maïs et le maïs sucré, le sorgho, l'herbe des Bermudes, les herbes graminées telles que le digitaire (*Digitaria spp*) (Prasanna *et al.*, 2018). Cette gamme de plantes hôtes appartient à 27 familles (Pashley, 1988 ; Yu *et al.*, 2003 ; Zenner *et al.*, 2007 ;

Flanders *et al.* 2017 ; Prasanna *et al.*, 2018). Pour mettre à jour les plantes hôtes de la CLA, des études ont été conduites par Casmuz *et al.*, en 2010 et donnant ces résultats : 186 espèces végétales appartenant à 42 familles ont été notées : les Poaceae (35,5%), les Fabaceae (11,3%), les Solanaceae et les Asteraceae (4,3%), les Rosaceae et les Chenopodiaceae (3,7%), les Brassicaceae et les Cyperaceae (3,2%). Récemment les études réalisées par Montezano *et al.* (2018) ont recensé 353 espèces de plantes attaquées par la CLA, réparties dans 76 familles ; principalement les Poaceae (n=106), les Asteraceae (n=31) et les Fabaceae (n=31). Pour Madagascar, la CLA est souvent rencontrée sur les Poaceae comme le maïs et le sorgho et sur les légumineuses comme le niébé et soja.

La CLA a des ennemis naturels qui se nourrissent des œufs, des larves et qui peuvent être des agents de luttés biologiques. Les plus observés sont : les parasitoïdes : *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae), *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae), *Trichogramma spp.* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), mouches parasitoïdes: *Archytas*, *Winthemia* et *Lespesia* (Diptera: Tachinidae) ; Les insectes prédateurs : perce-oreilles ou forficules (Dermaptera: Forficulidae, Carcinophoridae), coccinelles (Coleoptera: Coccinellidae), *Zelus* (Reduviidae), *Podisus* (Pentatomidae), *Nabis* (Nabidae), *Geocoris* (Lygaeidae), *Orius* et *Anthocoris* (Anthocoridae), fourmis (Hymenoptera: Formicidae), oiseaux et chauves-souris ; les agents pathogènes : champignons (*Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*), bactéries (*Bacillus thuringiensis*) ; nématodes et protozoaires (FAO, 2018).

➤ Dégâts

Les stades larvaires causent exclusivement les dégâts et à partir du troisième stade (L3), les dégâts sont spectaculaires. Les larves défolient les plantes et se dispersent en grand nombre, consommant presque toute la végétation sur leur passage. Les dégâts se montrent par la perte de la zone photosynthétique, des dommages structurels dans le verticille, la verse et des dommages causés aux grains (Chimweta, 2019) (photo 7). Elles retrouvent refuge dans le cornet où elles détruisent souvent le méristème aussi appelé bourgeon végétatif, causant souvent la mort de la plante

Ces ravageurs peuvent provoquer jusqu'à 34% de réduction de rendement de grains de maïs au Brésil (Lima *et al.*, 2010) dont les pertes annuelles sont estimées à 400 millions de dollars US (Figuerido, 2005). Du côté de l'Afrique Subsaharienne, sans mesures de lutte, ces envahisseurs peuvent réduire la production de maïs de 20 à 50% par an sur la production totale estimée de 39 millions de tonnes (Abrahams *et al.*, 2010). En 2018, les parcelles de maïs infestées par ce ravageur ont atteint de 10 000 ha à 15 000 ha à Madagascar (Randrianarifidy, 2018).

Les dégâts foliaires sont évalués en enregistrant chaque plant infesté dans une population de germoplasmes sur une échelle de 1 à 9, où les plants sans aucun dommage visible sont notés 1 et des plants complètement endommagés sont notés 9 (Dalvis et William, 1992) (cf annexe 2).

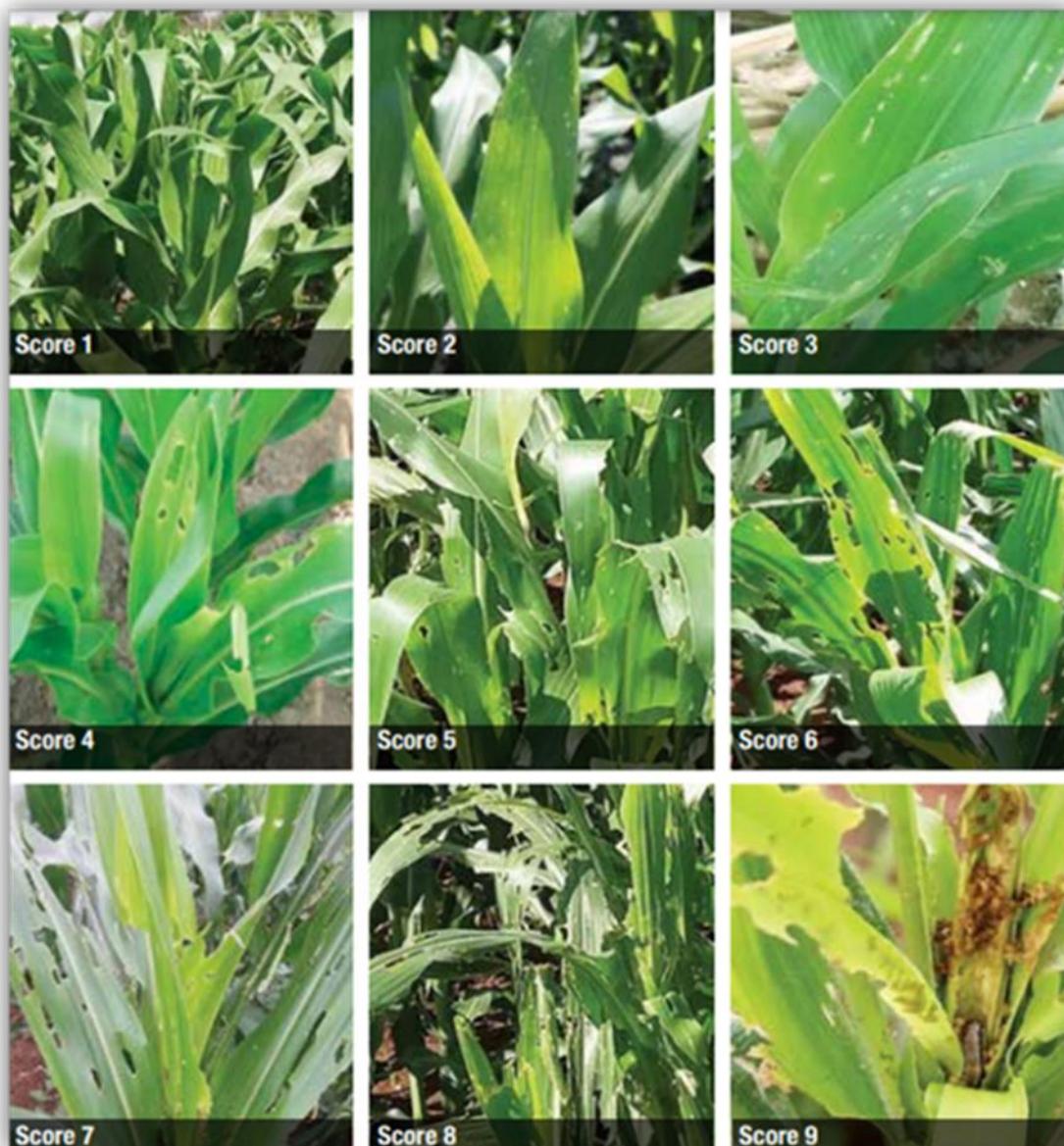


Photo 7 : Classement des plants de maïs en fonction des dommages foliaires causés par la chenille légionnaire d’automne.

Source: Prasanna *et al.*, 2018

b) Le *Tithonia diversifolia* ou tournesol mexicain

➤ Description botanique

Le *T. diversifolia* est une plante envahissante de la famille des Aastéraceae (Ayeni *et al.*, 1997) qui peut atteindre 2 à 3 m de hauteur (Gualberto *et al.*, 2011). Elle est toujours considérée comme des mauvaises herbes qui forment rapidement des grands buissons et qui peuvent s’établir dans différents types d’écosystèmes. C’est aussi une plante monoïque. Les feuilles ont de forme ovale à subovale mesurant de 13 à 15 cm de long qui sont alternes avec un limbe composant de 3 à 5 lobes. Un pédoncule de 7 à 20 cm porte les inflorescences (Akoègninou *et al.*, 2006) et les tiges matures peuvent porter des

grandes fleurs jaunes orange vif et qui atteignent jusqu'à 12cm de diamètre (Orwa *et al.*, 2009 ; GISD, 2012 ; CABI, 2014). Le nombre de pétales est variable et ces grosses fleurs apparaissent en mai et en juin dans les régions tropicales. La plante a une racine pivotante avec de nombreuses racines secondaires fines (Mwango *et al.*, 2014).



Photo 8 : *Tithonia diversifolia*, Analavory 2022

Source : Auteur

Classification :

Règne : Plantae
 Ordre : Asterales
 Famille : Asteraceae
 Division : Magnoliophyta
 Genre : Tithonia
 Classe : Magnoliopsida
 Nom binomial : *Tithonia diversifolia*.

Stade phénologique

Tableau 1 : Stade phénologique du *T.diversifolia*

Stade/ Nombre de semaine	1-16	17-18	19-20	22-28	29-30	31-34	35-52
En feuilles sans fleurs							
En boutons							
En fleurs							

Fleurs et fruits							
Plutôt en fruits avec des fleurs							
Maturité chute des fruits							
En feuilles sans fleurs							

Source : Pascal Marnotte, 2021 adapté par auteur, 2022

➤ Compositions chimiques et propriétés biologiques

Un criblage phytochimique effectué à partir d'une macération et d'extrait aqueux de *T. diversifolia* a donné des familles chimiques différentes : alcaloïdes et stéroïdes dans la macération, tandis que stéroïdes, tanins et irridoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles sèches (Razafindramboa, 2016). Une étude sur l'efficacité de l'extrait aqueux des feuilles de *T. diversifolia* contre *Scotinophora coarctata* a révélé la présence des composés actifs suivants : alcaloïdes, flavonoïdes, glycosides, tanins et saponines dans l'extrait (Maribel D. Ganeb *et al.*, 2019). De plus, des composés qui ont une activité phytotoxiques dans les extraits de *T. diversifolia* ont été décrits: les extraits d'acétate d'éthyle des feuilles, des tiges et des racines ont montré une inhibition significative de la croissance des coléoptiles de blé, et l'extrait de feuille avait des effets inhibiteurs similaires à ceux d'un herbicide commercial, puis quatorze composés, dont 12 lactones sesquiterpéniques, ont été isolés et identifiés comme ayant une activité phytotoxique (Miranda *et al.*, 2015). Sampaio *et al.*, 2016 a confirmé dans leur étude l'effet de l'environnement sur le profil métabolique secondaire de *T. diversifolia* et que la plupart des composés appartiennent dans la classe des lactones sesquiterpéniques, flavonoïdes, et sont dérivés de l'acide trans-cinnamique (principalement acide caffeoylquinique). L'activité insecticide des fractions et principaux composés d'acétate d'éthyle de *T. diversifolia* : les lactones sesquiterpéniques tagitinine A (1), la tagitinine C (2) et la 1b-méthoxydiversifo-lin (3), isolés dans un travail précédent de Miranda *et al* (2015) a été démontrée sur la CLA dans leur étude récente (Miranda *et al.*, 2022).

➤ Utilisation de la plante

Le *T. diversifolia* possède beaucoup d'applications comme : fourrage (Roothaert et Palterson, 1997 ; Mahecha et Rosales, 2005), provende (Odunsi *et al.*, 1996), bois de chauffe (Ng'inja *et al.*, 1998), compost (Drechsel et Reck, 1998 ; Ng'inja *et al.*, 1998) délimitation des champs (Ng'inja *et al.*, 1998), contrôle de l'érosion du sol (Ng'inja *et al.*, 1998) et comme matériaux de construction et abri de volaille (Otuma *et al.*, 1998). Au Kenya, la population locale l'emploie pour l'ornementation, l'alimentation du bétail, le brise-vent, la conservation du sol et de l'eau, comme médicament sous forme d'infusion de feuilles pour la constipation, les douleurs d'estomac, l'indigestion, les maux de gorge et les douleurs de foie et la diarrhée chez le bétail (Kokwaro JO, 1993).

Récemment, l'utilisation à la fertilisation des sols est la plus courante. Le *T. diversifolia* a été recommandée comme une source potentielle d'éléments nutritifs tels que N, P et K pour les cultures. En

Asie, les producteurs l'utilisent pour compenser les fertilisants aux cultures des céréales et en Afrique de l'Est et du Sud, et aux cultures maraîchères (Jama *et al.*, 2000). Elle peut être utilisée sous forme de purin (Oyerinde *et al.*, 2009) et aussi par enfouissement de la biomasse verte dans le sol.

Des études ont montré que le *T. diversifolia* peut protéger les cultures contre des ravageurs, comme on l'indique dans l'étude d'Adoyo *et al.*, (1997), la plante peut lutter contre les termites. Aussi contre les insectes d'après Dutta *et al.*, (1993). Il a également été signalé comme candidat potentiel pour des préparations de bioinsecticide contre *Callosobruchus maculatus*, coléoptère : Bruchidae (Adedire CO *et al.*, 2004). Un autre cas d'efficacité du biopesticide de l'extrait de feuille de *T. diversifolia* a aussi été testé positif sur les *Scotinophora coarctata*, une punaise noire du riz (Ganeb *et al.*, 2019).

I.1.2. Zones d'études

a) Laboratoire de Santé des plantes

Le laboratoire est siégé au sein du Département de Recherches Agronomiques du FOFIFA à Ambatobe, Antananarivo. Il a servi pour l'élevage des CLA et pour les expérimentations in-vitro. Deux (2) modes de préparation de biopesticide y ont été testés sur les chenilles et celui qui a donné un résultat plus efficace a été testé au champ.

b) Terrain d'expérimentation

La zone d'étude pour l'expérimentation du biopesticide au champ est localisée dans la commune de Fenoarivo, district d'Atsimondrano, Région Analamanga. Elle possède un climat tropical d'altitude caractérisé par une alternance de la saison pluvieuse et chaude, au mois de novembre à avril, avec une saison fraîche et sèche au mois de mai à octobre. Sa température annuelle moyenne est de 17,9°C et les précipitations sont en moyenne de 1084 mm chaque année. Le mois d'Août est le plus sec avec seulement 6mm contre les précipitations en Janvier qui affiche 289mm en moyenne.

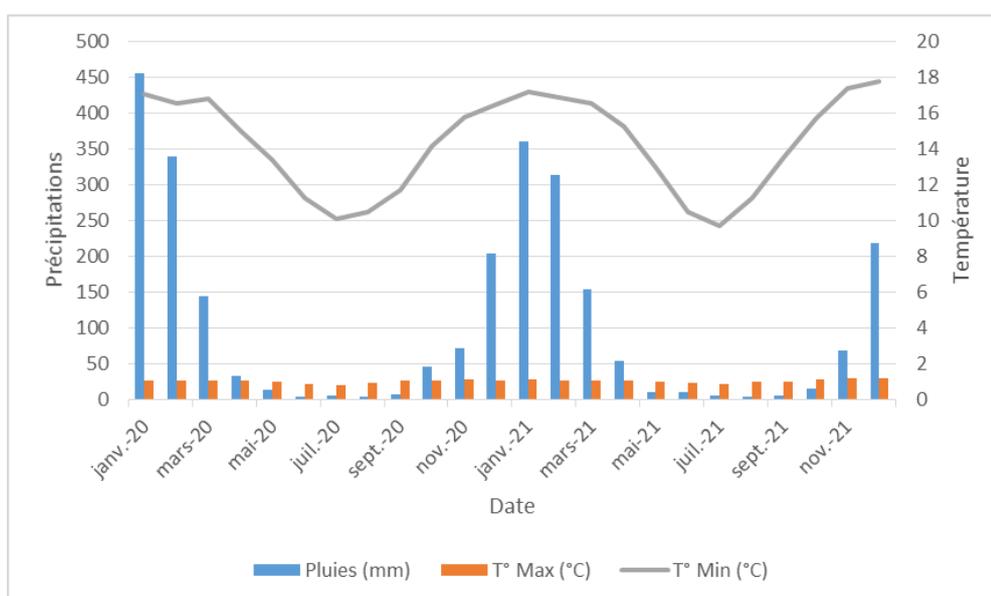


Figure 2 : Courbe ombrothermique Analamanga 2020 – 2021

Source : Ampandrianomby, adaptée par Auteur, 2022

I.2. Problématiques et hypothèses

Notons que depuis l'apparition de la CLA à Madagascar, les acteurs de développement du secteur agricole cherchent en permanence des lutttes intégrées pour atténuer les effets des dégâts occasionnés par le CLA, sur la sécurité alimentaire de la population malgache. Durant ces quelques dernières années, la production du maïs a chuté de 40 à 50% en raison de cette invasion, ce qui a entraîné une hausse de prix sur le marché et attaque la sécurité alimentaire du pays (FAO, 2021). En plus, le dérèglement météorologique extrême qui est surtout marqué par l'élévation de la température combinée avec une période prolongée de sécheresse entraîne l'évolution de la propagation de ces chenilles légionnaires d'automne. De nos jours, il est préférable de ne plus recommander la lutte chimique aux agriculteurs vus les effets néfastes qu'elle pourrait causer à la santé de l'environnement et à la santé humaine notamment la pollution de l'eau souterraine, risque des maladies de la peau et des cancers pour les humains. Aussi, le prix de ces pesticides chimiques ne cesse d'augmenter au fil du temps et entraîne une lourde dépense aux paysans sur les achats d'intrants agricoles. Malgré ces inconvénients et faute de disponibilité d'alternatives moins toxiques et crédibles, les agriculteurs n'ont pas le choix et continuent à recourir à l'usage des pesticides de synthèse pour améliorer les rendements et de conserver les récoltes (Kanda *et al.*, 2013 ; Mondédji *et al.*, 2015). Même en présence des avantages donnés par la lutte biologique comme alternative à la lutte chimique, les agriculteurs ne sont pas encouragés par son application car ils considèrent souvent, en matière d'efficacité, la lenteur de leurs effets, leur faible rémanence et le spectre d'action très réduit, comparé à celui des produits de synthèse (Adékambi *et al.*, 2010 ; Tounou *et al.*, 2011).

Le développement de biopesticides efficaces et sécuritaires à base d'extraits de plantes utilisés pourrait être une des solutions pour contrôler le CLA. Notre étude se propose donc de produire un biopesticide à base d'une plante largement distribuée dans les zones tropicales et subtropicale appelée *T. diversifolia* qui possède des propriétés insecticides. D'après plusieurs études, la majorité des constituants chimiques dans les feuilles et les inflorescences de *T. diversifolia* appartiennent à la classe des lactones sésquiterpéniques, flavonoïdes, alcaloïdes et d'autres métabolites secondaires. Ces substances naturelles présentent différentes activités biologiques comme la protection des cultures contre les termites (Adoyo *et al.*, 1997) et le contrôle des insectes (Carino et Rejestees, 1982 ; Dutta *et al.*, 1993). La limite majeure à l'utilisation des biopesticides en agriculture réside dans leur efficacité partielle et hétérogène qui tend largement à les décrédibiliser. Leur complexité nécessite la prise en compte de nombreux paramètres, tant dans leur fabrication que dans leur application (doses, moment d'application, etc.). Cette étude tente de répondre à la question de recherche suivante : Comment le biopesticide à base de *T. diversifolia* sera-t-il préparé et utilisé pour être plus efficace pour contrôler la CLA ? Les hypothèses associées à cette étude sont :

H1 : Le degré d'efficacité insecticide du produit peut différer entre l'utilisation du matériel frais et sec.

H2 : La réponse effet/dose ne présente pas de différence significative pour tous les stades larvaires (L1 à L6) de la CLA.

H3. Le bioinsecticide est actif à la fois par répulsion, par contact et par ingestion sur les larves de CLA.

Ainsi, les objectifs de cette étude sont d'évaluer le potentiel insecticide de *T. diversifolia* sur la CLA, notamment d'identifier le mode de production du biopesticide naturel qui serait efficace, pratique et accessible aux utilisateurs et de déterminer son efficacité à différents stades larvaires de la CLA.

I.3. Matériels et méthodes

I.3.1. Elevage des CLA (*S. frugiperda*) :

La masse d'œufs a été collectée à Kianjasa, station de recherche de FOFIFA située dans la région de Bongolava. Les larves utilisées pour les différentes expérimentations ont été élevées dans le laboratoire de Santé des plantes du FOFIFA DRA Ambatobe et les plants de maïs, qui ont servi pour leur nourriture, ont été plantés sous serre (photo 9).

Les jeunes larves de stade L1 sont transférées dans des verres après éclosion et elles sont exclusivement nourries avec des feuilles tendres de maïs (photo 10a). Des suivis journaliers ont été procédés afin de suivre l'évolution des larves de stades L1, de détecter la présence d'une capsule céphalique ou exuvie (photo 10e), c'est-à-dire la présence de la mue qui signifie le passage d'un stade larvaire à un autre. Au bout du troisième stade où la deuxième capsule céphalique apparaît, les larves sont mises une à une dans des verres plastiques transparents, avec des couvercles en voiles fins, fixés par des élastiques et étalés sur des étagères (photo 10b). Cette pratique est faite dans le but de réduire la perte de population liée au cannibalisme. Il est à noter que les larves sont aussi nourries de feuilles de maïs et que le suivi quotidien de la propreté des verres est très important. A la fin du cycle, quand on obtient des adultes de *S. frugiperda*, on les transfère dans la cage d'élevage (photo 10c) comportant un verre plastique rempli d'eau sucrée refermé par un voile troué où on a placé un morceau de coton imbibé de la solution sucrée (photo 10d). Cela servant de nourriture aux adultes de *S. frugiperda*.

La température de la salle d'expérimentation est maintenue à $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ et une humidité de $70\pm 5\%$ avec une photopériode de 12H de lumière.



Photo 9 : Culture de maïs en pot sous serre

Source : Auteur, 2022



Photo 10 : a) Verres en plastique contenant des feuilles de maïs, nourriture pour les larves ; b) verres en plastique contenant des chenilles de *S. frugiperda* ; c) Cage d'élevage ; d) Eau sucrée pour le papillon ; e) exuvie

Source : Auteur, 2022

I.3.2. Collecte de *T. diversifolia* et préparation des produits :

Les plantes de *T. diversifolia* ont été récoltées au stade de préfloraison (environ 16 à 18 semaines) à Ambohimangakely, Antananarivo. Elles ont été coupées à l'aide des sécateurs, transportées et installées sous la serre à l'abri du soleil pour s'apprêter à la préparation.



Photo 11: a) Parcelle de *T. diversifolia* en stade de préfloraison à Ambohimangakely ; b) Collecte de *T. diversifolia*

Deux types de biopesticides de *T. diversifolia* ont été réalisés : purin et solution aqueuse à partir des feuilles séchées.

- **Purin :**

Les feuilles vertes de la plante ont été récupérées à l'aide d'un sécateur (photo 12a), puis rincées pour débarrasser les particules de poussières. Ensuite, elles ont été mises dans un sac plastique et pesées avec une balance électronique à main (photo 12b). Après, les feuilles sont mises dans un récipient et mélangées avec de l'eau dont la quantité correspond à la concentration voulue (photo 12c). Du savon de 4 à 5 g par litre a été ajouté (photo 12d) à chaque préparation pour permettre au produit de mieux adhérer et de se coller uniformément à la surface des feuilles (Anjarwalla, 2016) lors du traitement. Il a aussi pour rôle d'extraire les composés qui ne sont pas facilement solubles dans l'eau (FAO, 2018). Le récipient a été bien fermé avec un couvercle et laissé poser durant sept (7) jours à l'ombre. Après, la filtration de la composition a été faite à travers un linge fin (photo 12e).



Photo 12 : a) Préparation des feuilles de *T. diversifolia* ; b) Pesage des feuilles de *T. diversifolia* ; c) Mélange de feuilles de *T. diversifolia* avec de l'eau ; d) Pesage du savon pour le mélange ; e) Premier filtrage du mélange avec de la mousseline ; f) Deuxième filtrage avant l'utilisation du produit de type purin

Source : Auteur, 2022

- Solution aqueuse :

Les feuilles récoltées ont été rincées avec de l'eau pour débarrasser les particules de poussières, puis séchées à l'ombre sur une claie (photo 13a) pendant trois (3) semaines, car l'exposition au rayon de soleil réduit souvent l'efficacité. Elles ont été broyées avec un mortier (photo 13b) pour obtenir une poudre fine (photo 13c). Cette poudre a été pesée (photo 13d) et mélangée avec de l'eau et du savon. Le temps de pause de ce mélange était de 24 heures. Avant de filtrer la composition avec un linge fin, elle a été remuée. Un deuxième filtrage a été fait avant d'utiliser le produit.



Photo 13 : a) Séchage de *T. diversifolia* à l'abri du soleil ; b) Broyage des feuilles de *T. diversifolia* avec du mortier ; c) Poudre des feuilles de *T. diversifolia* ; d) Pesage de la poudre de *T. diversifolia* ; e) Solution aqueuse de *T. diversifolia*

Source : Auteur, 2022

I.3.3. Essai en laboratoire des biopesticides à base de *T. diversifolia* contre les CLA

Trois (3) tests au laboratoire ont été réalisés notamment le test par ingestion, le test par contact et le test répulsion. Les deux (2) modes de préparation de biopesticide ont été testés avec trois (3) concentrations différentes : 100g/L, 150g/L et 200g/L sur une population de larves de stade L1/L2, L3/L4 et L5/L6. Les trois (3) concentrations ont été utilisées pour les différents tests avec un témoin T0 non traité, ce qui donne quatre (4) traitements par type de biopesticide. La réalisation de ces tests a nécessité trois (3) répétitions.

a) Toxicité par ingestion :

La méthode IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) 020, version 3.2 mai 2011 approuvée (www.irac-online.org) pour des larves de *Helicoverpa zea*, *H. virescens*, *S. eridania*, *S. exigua*, *S. frugiperda*, *S. littoralis*, et de *S. litura* a été la référence pour ce test.

La méthode est décrite comme ci-dessous :

- Quand les solutions sont prêtes, des morceaux de jeunes feuilles tendres de maïs sont trempés dans chaque concentration pendant trois (3) minutes et sont laissés sécher pendant 5 minutes à l'air libre pour évaporer l'eau de leurs surfaces.
- Les feuilles sont placées dans des boîtes de pétri contenant préalablement un papier-filtre légèrement humidifié placé au fond de chaque boîte afin de conserver l'humidité des feuilles.
- On introduit une seule larve de chaque stade dans la boîte contenant les appâts, à l'aide d'une pince souple. On utilise 15 chenilles de chaque stade. Après l'infestation, les boîtes sont scellées afin d'empêcher la sortie des larves.
- Les boîtes sont placées sur des étagères dans la salle de bio-essais avec une température de $25\pm 1^\circ\text{C}$, une humidité relative de $70\pm 5\%$ et éclairée pendant 12H par jour.
- Le dénombrement des larves mortes et d'autres observations se fait toutes les 24H pendant 14 jours consécutifs.
- Un insecte est considéré comme mort quand il ne réagit plus au contact d'une aiguille légèrement chauffée et posée sur ses parties sensibles notamment la tête, la zone ventrale et la zone postérieure. Les mortalités ont été exprimées selon la formule suivante :

$$\text{Taux de mortalité} = \frac{\text{nombre de chenilles mortes}}{\text{nombre de chenilles initiale}} * 100 \quad (\text{équation 1})$$

b) Toxicité par contact :

Les produits ont été versés sur le papier qui recouvre le fond des boîtes de pétri, puis 15 chenilles de chaque stade larvaire comme précédemment, ont été introduites, une à une, dans la boîte avec des feuilles de maïs non traitées comme nourriture. Le suivi consistait à voir l'appétit des chenilles en contact avec le biopesticide, leur comportement, si elles étaient agitées ou sans réaction, le dénombrement des larves mortes qui se fait toutes les 24H pendant 14 jours.

Le taux de mortalité par contact a été calculé en utilisant la même formule que celle du test par ingestion ci-dessus.

c) Effet répulsif avec un papier buvard :

La méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald *et al.* (1970) a été utilisée pour évaluer l'effet répulsif du biopesticide. Pour la présente étude, un tube de 30 cm de longueur, même longueur qu'un olfactomètre simple, a été utilisé. A cet effet, il est divisé en trois parties égales. La première portion est la zone traitée au biopesticide, la deuxième est la zone neutre où les chenilles ont initialement été placées, et la troisième est la partie induite d'eau distillée. Les 15 larves de stade L1/L2 ont été mises en même temps tandis que les larves L3 et plus sont introduites une à une sur la deuxième partie neutre, pour éviter le cannibalisme. Trois répétitions ont été considérées pour chaque concentration. Au bout de deux heures, les nombres des chenilles sur chaque partie du tube sont relevés. Pour déterminer l'effet donné par le biopesticide, les équations ci-après ont été calculées :

- **Pourcentage de répulsion** = $\frac{\text{nombre de chenilles dans la zone non traitée}}{\text{nombre de chenilles initiale}} * 100$ (équation 2)

- **Pourcentage d'attractivité** = $\frac{\text{nombre de chenilles dans la zone traitée}}{\text{nombre de chenilles initiale}} * 100$ (équation 3)

I.3.4. Essai en milieu réel

Quatre (4) traitements ont été testés dont les concentrations sont T1 : 100g/L, T2 : 150g/L et T3 : 200g/L, plus un témoin T0. La culture de *Zea mays* est mise en place sur une parcelle à Fenoarivo Atsimondrano. Le dispositif utilisé est celui en blocs aléatoires complets à trois (3) répétitions. Deux (2) parcelles expérimentales pour les deux facteurs : purin et solution aqueuse ont été mises en place. Ces parcelles étaient d'une superficie de 41,36 m² chacune. La parcelle est donc composée de trois (3) blocs : B1, B2, B3 et chacune des blocs est constituée de quatre (4) parcelles élémentaires correspondant aux traitements T1 ; T2 ; T3 ; T0 avec une surface de 0,64 m² chacune. Les blocs, tout comme les parcelles élémentaires, sont séparés d'un écartement d'un mètre (figure 3) ; et l'équidistance des poquets dans les parcelles élémentaires est de 0,4 m. (Figure 4). Une parcelle élémentaire est constituée de 10 poquets soit 120 poquets pour toute une parcelle et 240 poquets au total pour les deux parcelles expérimentales. L'expérimentation a duré huit (8) semaines. L'application du biopesticide s'est fait tous les quatorze (14) jours en se référant à la durée d'observations durant le test au laboratoire. Le suivi des chenilles vivantes dans la parcelle s'est fait chaque semaine.

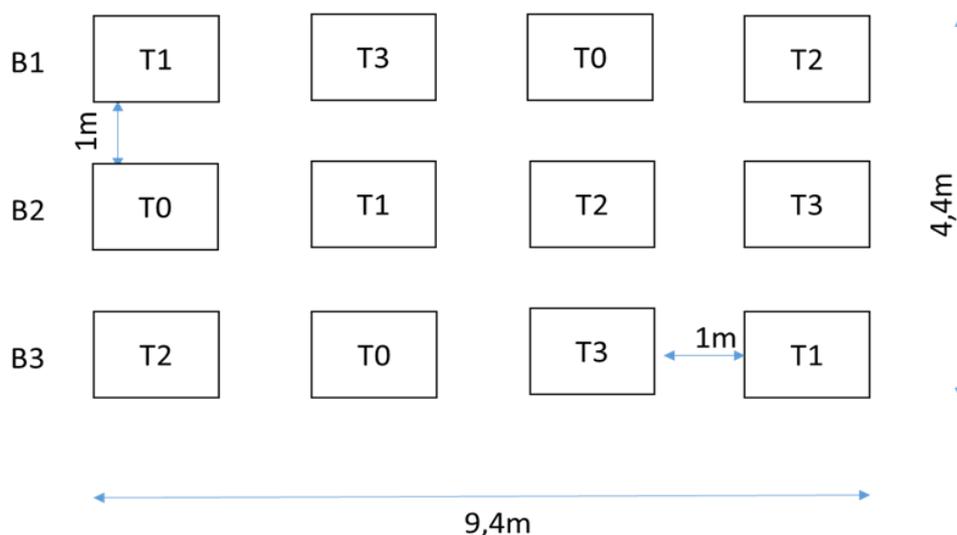


Figure 3: Dispositif expérimental d'une parcelle de culture de maïs avec T0 : témoin, parcelle élémentaire non traitée ; T1 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 100 g/L ; T2 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 150 g/L ; T3 : parcelle élémentaire traitée avec une concentration de 200 g/L

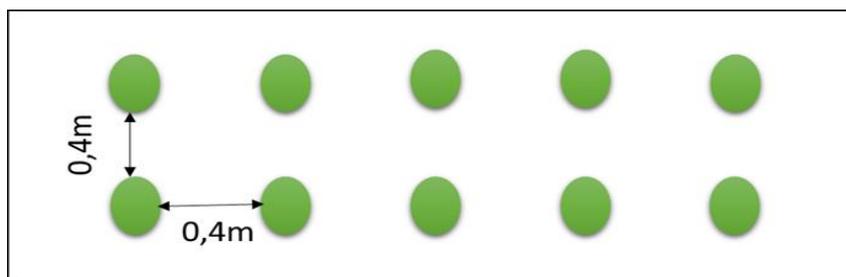


Figure 4 : Disposition du maïs sur les parcelles élémentaires



Photo 14 : Culture de maïs au champ

Source : Auteur, 2022

L'efficacité des produits testés sur parcelle traitée et sur la parcelle des témoins est tirée de la formule d'Henderson Tilton (DPV Madagascar, 2017).

$$\% \text{ Efficacité sur la parcelle traitée} = \left[\frac{tap}{tav} \right] * 100 \quad (\text{équation 5})$$

Avec : *tap* : insectes vivants dans la parcelle traitée après traitement

tav : insectes vivants dans la parcelle traitée avant traitement

$$\% \text{ Efficacité sur la parcelle témoin} = \left[\frac{cap}{cav} \right] * 100 \quad (\text{équation 6})$$

Avec : *cav* : insectes vivants dans la parcelle témoin avant traitement

cap : insectes vivants dans la parcelle témoin après traitement

I.3.5. Analyse statistique

Les données récoltées ont été restituées sous forme de tableaux à l'aide d'Excel et puis elles ont été traitées avec le logiciel R. La procédure s'est faite comme suit :

Avant les tests de comparaison, la normalité des données a été vérifiée par le test de Shapiro-wilk.

- Lorsque les données sont non normales, la signification entre le taux de mortalité et/ou de répulsions des chenilles a été testée par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney.

- Lorsque les données sont normales, la signification entre le taux de mortalité et/ou de répulsions des chenilles a été testée par le test ANOVA.

- Afin de déterminer l'ampleur de la différence, le test Post-Hoc Tukey HSD (Honest Significant Difference) a été utilisé.

I.3.6. Limite de l'étude

Les substances actives contenues dans les extraits de *T. diversifolia* utilisés dans le cadre de cette étude n'ont pas été déterminées faute de moyens techniques. Les données considérées sur la composition en substances naturelles actives dans cette étude sont en majorité tirées sur de synthèses bibliographiques.

La période d'étude coïncidant en saison frais, nous avons eu une difficulté de trouver une biomasse de *T. diversifolia* en stade de préfloraison pour la préparation biopesticide. L'essai au champ a également été mis en place hors saison en période frais et avec un arrosage régulier des cultures.

Partie II : RESULTATS

II.1. Cycle du développement de la CLA

Le suivi journalier de développement de CLA au laboratoire, avec des conditions de température de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ et d'humidité relative de $70\pm 5\%$, nous a permis d'estimer la durée de cycle complet de développement du CLA depuis le stade œuf au stade adulte papillon. Les œufs se sont éclos après quatre (4) jours de la ponte, puis le stade larvaire a duré 15 jours et avant de se transformer en adulte, la chrysalide a pris neuf (9) jours. Au total, le cycle complet de la CLA a duré 28 jours dans notre étude.

Pendant les observations, la durée de chaque stade larvaire a été :

- Larve L1 : 4 jours
- Larve L2 : 2 jours
- Larve L3 : 1 jour
- Larve L4 : 1 jour
- Larve L5 : 3 jours
- Larve L6 : 4 jours

II.2. Effet des deux types de préparation de biopesticide de *T. diversifolia* : effet par ingestion, effet par contact et effet répulsif sur les différents stades larvaires

Le taux de mortalité au test par ingestion, au test par contact et le pourcentage de répulsion des CLA varient en fonction du type de biopesticide, de la dose utilisée et du stade larvaire. Les résultats suivants présentent l'efficacité du produit par jour d'observation cumulée. Les figures A représentent l'efficacité du produit de type « solution aqueuse » et les figures B représentent celle du produit de type « purin ». Les figures A1, A2, A3 et B1, B2, B3 représentent respectivement l'efficacité des doses 100g/L, 150g/L 200g/L de la solution aqueuse et du purin.

II.2.1. Effet direct de la consommation de feuilles traitées sur la mortalité des larves de *S. frugiperda*.

L'exposition des larves de *S. frugiperda* aux feuilles de maïs traitées avec les trois doses de biopesticides (solution aqueuse et purin) pendant 14 jours a entraîné des taux moyens de mortalité présentés sur les figures suivantes.

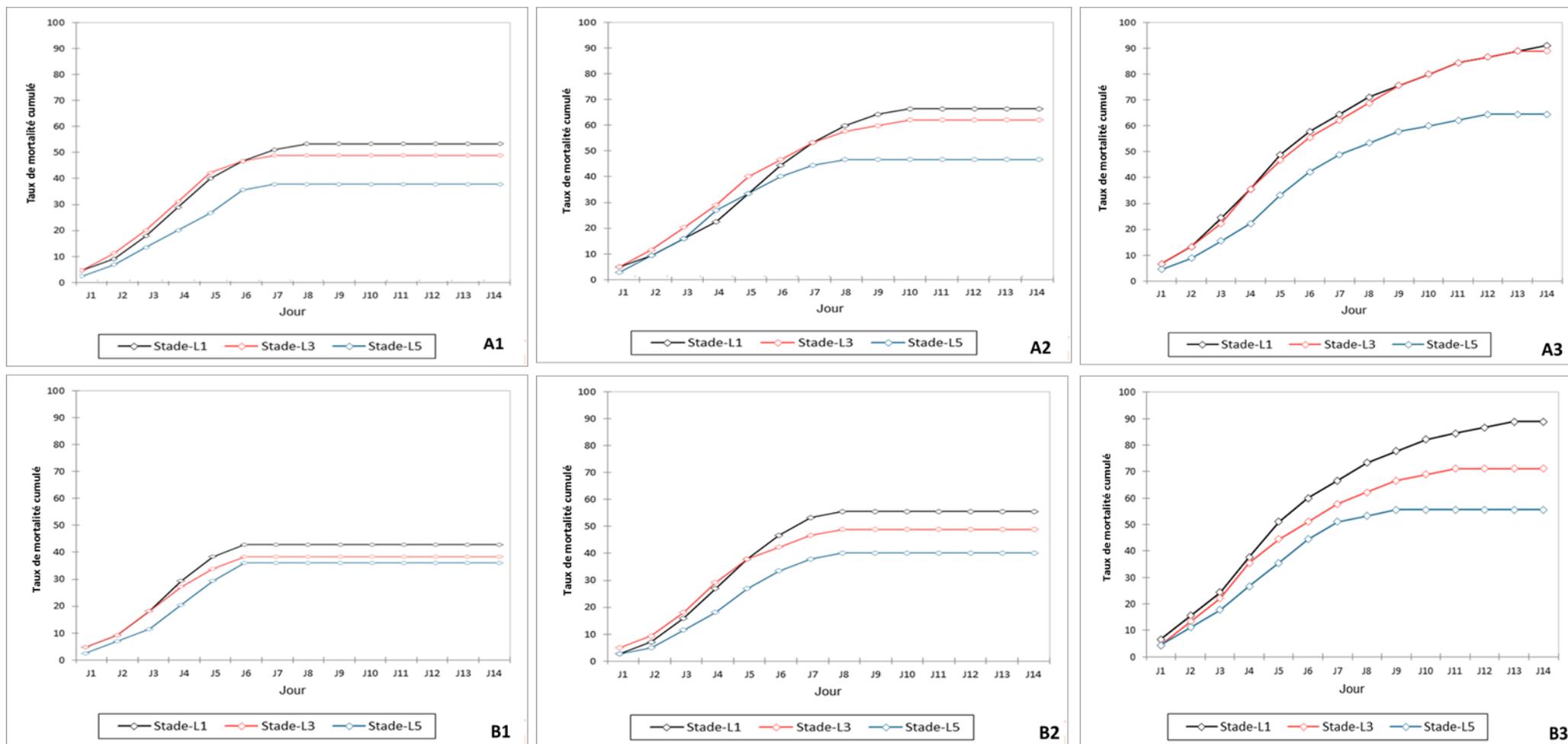


Figure 5 : Taux de mortalité cumulé en fonction du temps et de stade larvaire de la chenille légionnaire d'Automne au test par ingestion ; (A) solution aqueuse ; (B) purin

(1 : 100 g/L, 2 : 150 g/L et 3 : 200 g/L)

Les taux de mortalité de tous les stades larvaires en fonction des trois doses de la solution aqueuse et de purin ne présentent respectivement aucune différence significative ($P_{sa} > 0,118$ et $P_p > 0,1216$). Les trois doses de la solution aqueuse possèdent un taux de mortalité plus élevé que celles du purin pour les différents stades larvaires.

Traitées à la dose de 100 g/L, le taux de mortalité des larves L1/L2 traités avec le purin est de 42,22% (figure 5 B1) et est croissant du 1^{er} au 6^{ème} jour contre un taux de mortalité de 53,33% croissant du 1^{er} jour au 8^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse (figure 5 A1). Le taux de mortalité des larves L3/L4 traitées avec le purin est de 37,78% croissant du 1^{er} jour au 6^{ème} jour contre un taux de mortalité de 48,89% croissant du 1^{er} au 7^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse. Le taux de mortalité des larves L5/L6 traités avec le purin est de 35,56% croissant du 1^{er} jour au 6^{ème} jour contre un taux de mortalité de 37,78% croissant du 1^{er} au 7^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse.

Traitées à la dose de 150 g/L, le taux de mortalité des larves L1/L2 traités avec le purin est de 55,56% (figure 5 B2) et est croissant du 1^{er} au 8^{ème} jour contre un taux de mortalité de 66,67% croissant du 1^{er} jour au 10^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse (figure 5 A2). Le taux de mortalité des larves L3/L4 traitées avec le purin est de 48,89 % croissant du 1^{er} jour au 8^{ème} jour contre un taux de mortalité de 62,22% croissants du 1^{er} au 10^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse. Le taux de mortalité des larves L5/L6 traités avec le purin est de 40,00% croissant du 1^{er} jour au 8^{ème} jour contre un taux de mortalité de 46,67 % croissant du 1^{er} au 8^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse.

Traités à la dose de 200 g/L, le taux de mortalité des larves L1/L2 traités avec le purin est de 88,89% (figure 5 B3) et est croissant du 1^{er} au 13^{ème} jour contre un taux de mortalité de 91,11% croissant du 1^{er} jour au 14^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse (figure 5 A3). Le taux de mortalité des larves L3/L4 traitées avec le purin est de 71,11 % croissant du 1^{er} jour au 11^{ème} jour contre un taux de mortalité de 88,89% croissants du 1^{er} au 13^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse. Le taux de mortalité des larves L5/L6 traités avec le purin est de 55,56% croissant du 1^{er} jour au 9^{ème} jour contre un taux de mortalité de 64,44 % croissant du 1^{er} au 12^{ème} jour pour les larves traitées avec la solution aqueuse.

Les doses 100 g/L, 150 g/L, 200 g/L de la solution aqueuse (figure 5A) sont efficaces respectivement pour une durée de 8, 10 et 14 jours après le traitement. La plupart des larves L5/L6 commence à résister à la solution aqueuse à partir du 7^{ème} jour pour la dose de 100 g/L, du 8^{ème} jour pour la dose 150 g/L et du 12^{ème} jour pour la dose de 200 g/L. Pour le purin (figure 5B), les doses 100 g/L, 150 g/L, 200 g/L (figure 5A) sont efficaces respectivement pour une durée de 6, 8 et 13 jours après le traitement. La dose 200 g/L est active jusqu'au 9^{ème} jour pour le stade L5/L6.

Pour les deux types de produits, le taux de mortalité augmente quand on augmente la dose utilisée. Néanmoins, le taux de mortalité est plus élevé en utilisant la concentration à 200 g/L de solution aqueuse et le produit reste actif jusqu'au 12^{ème} jour après traitement.

II.2.1. Toxicité des biopesticides par contact sur différents stades larvaires

Les taux de mortalité en fonction du temps et de stade larvaire obtenus par le test de toxicité par contact des deux types de biopesticide (purin et solution aqueuse) sont présentés sur les figures ci-dessous.

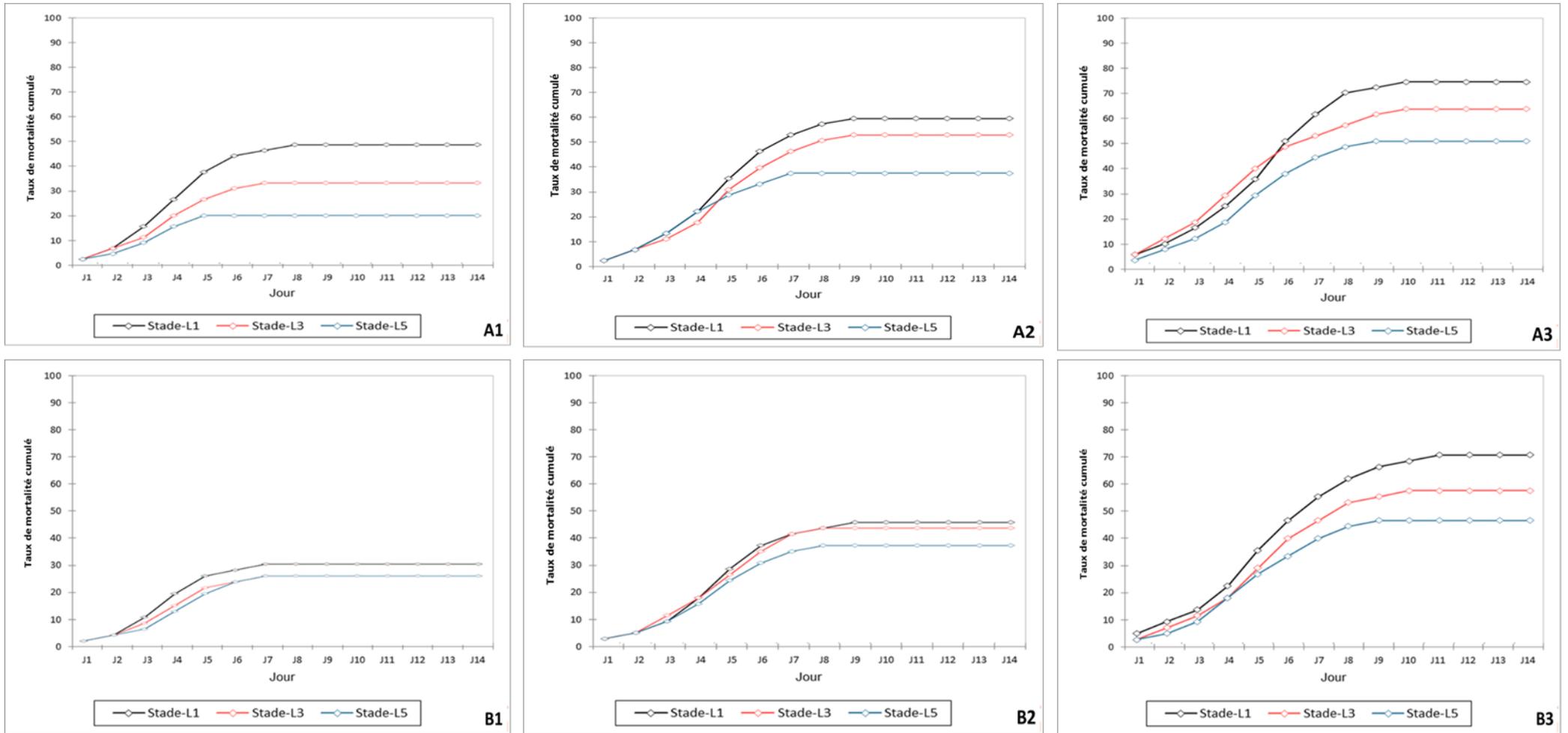


Figure 6 : Taux de mortalité cumulé en fonction du temps et de stade larvaire de la chenille légionnaire d'automne au test par contact ; **(A)** sur la solution aqueuse ; **(B)** purin

(1 : 100 g/L, 2 : 150 g/L et 3 : 200 g/L)

Pour le traitement avec la solution aqueuse 100g/L, il y a une différence significative entre les taux de mortalité des stades larvaires ($P < 0,05$) Contrairement aux doses 150g/L et 200g/L, les taux de mortalités des stades larvaires ne présentent aucune différence significative ($P > 0,1699$). Le taux de mortalité cumulé maximale de chaque stade dépend de la dose mais le plus élevé est toujours observé chez les larves de premier stade L1/L2 avec une efficacité maximale de 48,89% pour la dose de 100g/L (figure 6 A1), 60% pour la dose de 150 g/L (figure 6 A2) et 75,56% pour la dose de 200g/L (figure 6 A3). Les taux de mortalités des trois stades larvaires ne présentent également aucune différence significative pour chaque dose du purin ($P > 0,1998$). Les taux de mortalité ont baissé pour ce type de biopesticide avec 31,11% sur la dose de 100 g/L (figure 6 B1), 46,67 % sur la dose de 150 g/L (figure 6 B2) et 71,11 % sur la dose de 200 g/L (figure 6 B3).

Pour la solution aqueuse (figure 6A), la dose 100g/L est efficace pendant 8 jours pour les stades L1/L2, pendant 7 jours pour les stades L3/L4 et pendant 5 jours pour les stades L5/L6 ; ensuite la dose 150g/L est active jusqu'à 9^{ème} jour pour les larves L1/L2 et L3/L4 et de 7 jours pour les larves L5/L6. La plus forte dose est efficace jusqu'au 10^{ème} jour pour les stades L1/L2 et L3/L4 et jusqu'au 9^{ème} jour pour les stades L5/L6. D'un côté pour le purin (figure 6B), la dose 100g/L présente la durée d'efficacité la plus courte qui fait effet pendant 7 jours pour tous les stades. Il est actif pendant 9 jours pour les stades L1/L2 et pendant 8 jours pour les stades L3/4 et L5/L6 quand on utilise la dose 150 g/l. Et pour la dose 200 g/l, la durée d'efficacité est de 11 jours pour le stade L1/L2, 10 jours pour le stade L3/L4 et de 9 jours pour le stade L5/L6. . Comme observé chez le test par ingestion, la solution aqueuse a toujours une durée de rémanence plus longue et des taux de mortalité supérieurs que le purin, notamment à une dose de 200 g/L.

II.2.2. Effet répulsif de biopesticides de *T. diversifolia*

Les diagrammes ci-dessous montrent l'effet répulsif de la solution aqueuse et du purin sur les différents stades larvaires de la CLA. Il est évalué en dénombrant les CLA sur les trois zones référentielles de l'essai notamment la zone imbibée du produit, la zone neutre où se placent initialement les CLA (rose) et la zone induite d'eau nature (bleu).

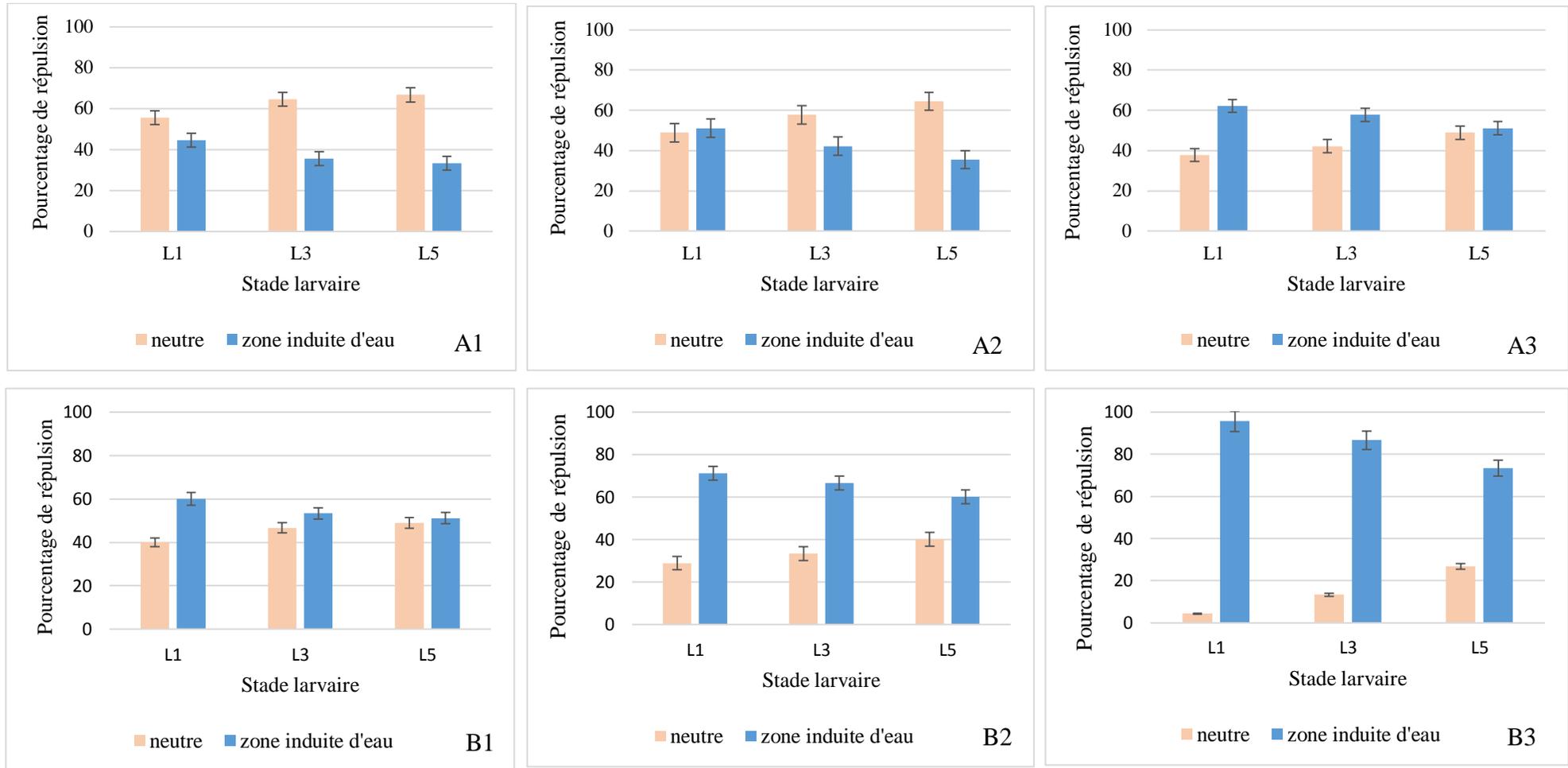


Figure 7 : Pourcentage de répulsion ; (A) sur la solution aqueuse ; (B) purin ;
 (1 : 100 g/L. 2 : 150 g/L et 3 : 200 g/L)

Pour l'effet répulsif de biopesticides de type solution aqueuse (Figure 7A), le test de normalité des résultats a montré que les données ne sont pas normales, avec une valeur de $P < 0,0007$. Après le test de significativité, il a montré qu'il n'y pas de différence significative entre les taux de répulsion des stades larvaires testés pour chaque dose ($P > 0,05$). Les larves de stade L1/L2 sont toujours les plus sensibles face aux produits. Pour la dose 100 g/L, 44,44% des larves L1/L2 s'enfuient dans la zone induite d'eau (figure 7 A1), cela a augmenté à 51,11 % pour la dose de 150 g/L (figure 7 A2), et pour la dose 200 g/L, 70 % de ces jeunes larves sont trouvées dans cette zone induite d'eau (figure 7 A3). Le pourcentage de répulsion des larves de stade L3/L4 est de 35,56% pour la dose de 100g/L et il a augmenté à 42,22% pour la dose de 150g/L et à dose de 200g/L, il a atteint 57,78%. Les larves de stades L5/L6 ne sont pas très sensibles à la solution aqueuse par rapport aux autres stades larvaires et le taux de répulsion maximal est observé avec la dose de 200 g/L (51,11%) (figure 7 A3).

Pour l'efficacité du purin (figure 7B), le test Wilcoxon a montré qu'il n'y pas de différence significative entre les taux de répulsion des stades larvaires pour chaque dose, avec $P > 0,9788$. Les larves de stade L1/L2 présentent un taux de répulsion important par rapport aux autres stades car leurs taux de répulsion sont de 60,00 % à une dose de 100 g/L (figure 7 B1), 71,11 % pour la dose 150 g/L (figure 7 B2) et 95,56 % pour une dose 200 g/L (figure 7 B3) alors que pour les larves L5/L6, leurs taux de répulsion sont de 51,11 % sur la dose de 100 g/l, 60,00% pour la dose 150 g/L et de 73,33 % pour une dose de 200 g/L.

Les larves, qui se sont éloignées de la zone traitée vers la zone induite d'eau, ont réagi aux effets répulsifs du produit. Contrairement aux deux tests précédemment, le purin a obtenu un taux de répulsion plus élevé que la solution aqueuse.

II.3. Effet du biopesticide de type solution aqueuse dans le milieu naturel

D'après les résultats des tests obtenus au laboratoire, la solution aqueuse de *T. diversifolia* a donné un effet insecticide par ingestion et par contact plus efficace que ce du purin. Nous avons choisi d'utiliser la préparation de biopesticide à partir de feuilles sèches en solution aqueuse vu que notre objectif est de diminuer la population de CLA dans le champ. La potentialité insecticide de la solution aqueuse au champ sur culture de maïs est présentée sur la figure ci-dessous. La figure représente le taux de survie des chenilles après le traitement. La flèche noire indique le dénombrement initial des chenilles présentes dans les cultures avant de commencer la pulvérisation de la solution aqueuse. Les flèches vertes représentent chaque traitement tous les 14 jours.

Le comptage des survivants à chaque observation tient compte de l'évolution du stade larvaire (par reconnaissance morphologique).

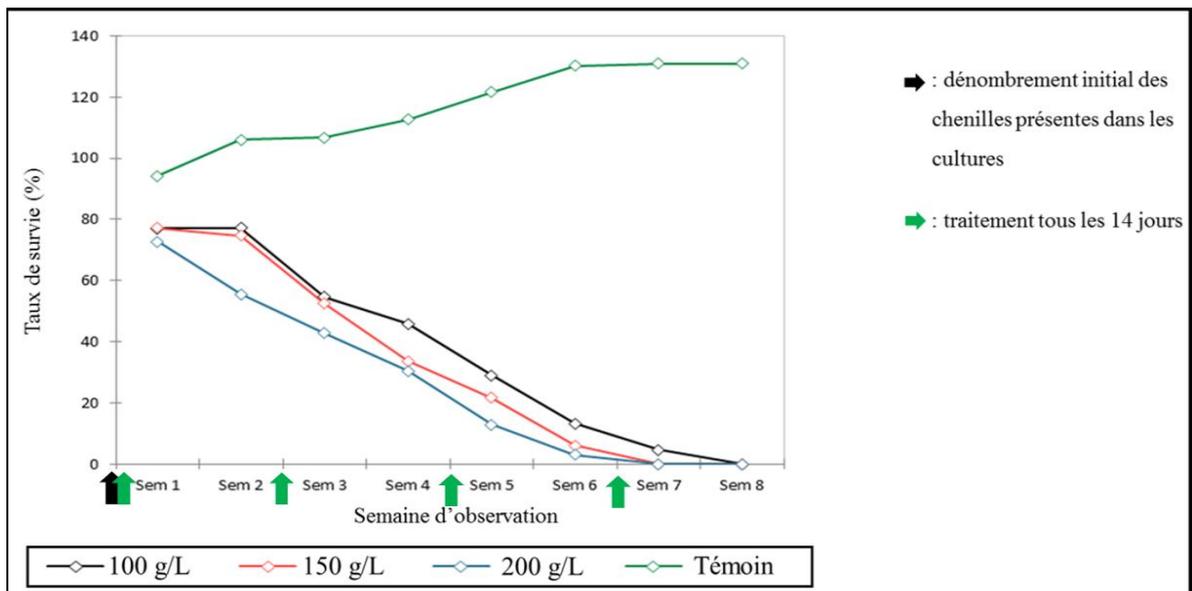


Figure 8 : Taux de survie des chenilles en fonction de la dose appliquée (g/L) pendant 8 semaines

On a obtenu une différence significative entre le témoin et les trois doses de la solution aqueuse avec $P < 0,0006$. Pourtant, il n'y a aucune différence significative entre chaque dose de la solution aqueuse avec $P > 0,9291$.

Les taux de survie dans les parcelles traitées ont varié entre 5 à 77% en fonction des doses (Figure 8). Le nombre de chenilles vivantes observées dans ces parcelles ont diminué progressivement en fonction du nombre de traitement. Dès le premier traitement, la solution aqueuse a déjà montré son efficacité avec des réductions d'effectifs des larves vivantes (20 à 27%). Pour les traitements aux deux premières doses, les restes des larves vivantes ont atteint 77% et pour la dose de 200g/L, elles étaient à 73%. Cette forte dose a réagi plus rapidement par rapport aux autres doses en réduisant beaucoup de CLA après chaque traitement. A la fin de l'observation du dernier traitement, des larves vivantes à 5% ont encore été aperçues dans les parcelles qui appartiennent au traitement de 100g/L, par contre, aucune larve n'a été trouvée dans les parcelles traitées aux doses 150g/L et 200g/L.

L'effectif des chenilles dans les parcelles témoins n'a pas cessé augmenter durant la période d'observation avec une sévérité des attaques très forte. Le taux de survie dans ce témoin a atteint 131%.

Partie III : DISCUSSIONS ET RECOMMANDATIONS

III.1. Discussions

Les plantes peuvent produire des substances actives ayant des propriétés insecticides. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires. La présente étude montre que le purin issu de feuilles fraîches et la solution aqueuse issue de feuilles sèches de *T. diversifolia* sont efficaces dans le contrôle des CLA qui attaquent les cultures de maïs. Les effets toxiques et répulsifs des produits dépendent du niveau de sensibilité des larves et le type de produit. Il est en sortie de cette étude qu'à une dose élevée de 200 g/L, la solution aqueuse issue de feuilles sèches montre plus d'efficacité par ingestion des feuilles traitées et par contact avec le produit insecticide. La toxicité élevée de la solution aqueuse pourrait résider sur le fait que les plantes déshydratées sont plus concentrées en principes actifs que les feuilles fraîches, l'eau ayant un effet solvant, cela pourrait réduire la quantité totale de composés actifs. Par ailleurs, il a été démontré que le purin issu d'une macération de feuilles fraîches montre un effet répulsif plus important sur les larves de CLA. L'action répulsive pourrait être due aux substances volatiles contenues dans la feuille fraîche. Les constituants des feuilles de *T. diversifolia* contribuent à expliquer l'action insecticide potentielle des produits testés. Diverses études ont montré que *T. diversifolia* contient des composés de la classe des alcaloïdes, des lactones sesquiterpéniques, des flavonoïdes, des tannins, des terpenoïdes et des saponines qui ont tous des propriétés insecticides (Pereira *et al.*, 1997 ; Moronkola *et al.*, 2007 ; Oyewole *et al.*, 2008, Taofik *et al.*, 2010 ; Odeyemi, 2014, Miranda *et al.*, 2022). Les feuilles de *T. diversifolia* contiennent le plus de composés pesticides, par rapport aux racines et aux fleurs.

Durant le test par ingestion, les résultats ont montré que la dose de 100g/L de la solution aqueuse et du purin étaient efficace jusqu'au 7ème jour après le traitement, tandis que pour la dose de 200g/L, elle a été active jusqu'au 14ème jour d'observation. Bien que la période de rémanence du produit ait été courte, on a eu de bons résultats basés sur le taux de mortalité obtenu pendant cette période. Au cours de l'expérimentation, on a constaté que les chenilles, quel que soit son stade larvaire, qui ont rapidement consommé les feuilles traitées en grande quantité, meurent plus vite. Par contre, la plupart des larves L5/L6 ont mangé peu, puis ont arrêté pour commencer à résister au produit, mais elles sont finalement mortes au bout de quelques jours. Pour les L1/L2, elles sont mortes peu de temps après avoir mangé les feuilles traitées. Des tests d'utilisation de certains bio-insecticides contre les CLA (Louis *et al.*, 2021) ont montré un même constat à notre observation que les larves de stade 2 étaient beaucoup plus sensibles au traitement des bio-pesticides que les larves de stade 3. Cela peut s'expliquer par le fait que les jeunes larves sont fragiles et ont moins de mécanismes de défense. Bien que les larves L3/L4 et L5/L6 aient montré une certaine résistance, elles ont également subi la toxicité des bio-pesticides vu la présence de la mortalité sur le test par ingestion, par contact et l'effet du biopesticide au test de répulsion. Cette résistance aux bio-pesticides était beaucoup plus forte chez les larves de stade L4 et L5/L6.

En toxicité par contact, lorsque le comportement des larves est examiné, les larves matures sont très agitées et ont essayé de quitter la boîte en ignorant la nourriture. Après quelques instants, on constate

une diminution de l'activité locomotrice chez ces chenilles. Les jeunes larves, par contre, sont incapables de se déplacer. Au bout de 2 heures, on a observé que les larves en contact avec le produit étaient moins aptes à se nourrir par rapport aux témoins. Cette observation est apparue dans tous les tests effectués. On a un cas similaire avec l'étude d'Adoyo *et al.*, 1997; Baruah *et al.*, 1979; Kuo et Chen, 1998 dont laquelle ils ont mentionné que le *T. diversifolia* fournissait un effet anti-appétit qui empêcherait les termites de rester dans des environnements traités et donc de se nourrir. Bien que le *T. diversifolia* contienne des composés phénoliques, les tanins possèdent des propriétés insecticides, larvicides et répulsives (Okamura, 1993).

Pour les deux tests par ingestion et par contact, les larves de CLA sont perturbées par le biopesticide et perdent leur force. Leur peau devient sèche et elles sont incapables de se développer en taille et en longueur ce qui donne un rallongement de la durée de développement. Pour les jeunes larves, elles meurent rapidement ; mais pour les larves adultes à partir de L4, d'autres résistent et permettent d'atteindre le stade adulte. Elles passent au stade de chrysalide très tôt, c'est-à-dire qu'elles ne remplissent pas la bonne condition de sa métamorphose, en conséquence le papillon n'émerge pas mais meurt à sa sortie.

Dans le test de répulsion, les résultats ont montré que le produit était répulsif et non attractif, il n'y avait pas de chenilles suspendues à la zone traitée mais la plupart allaient dans la zone induite par l'eau et certaines restaient dans la zone neutre. L'activité à effet pesticide dans ce test est en fonction de l'odeur du produit. En effet, le résultat a donné que le purin est plus efficace que la solution aqueuse car elle a une forte odeur venant des feuilles vertes macérées.

Vu les résultats obtenus par notre expérimentation au laboratoire sur tous différents tests, le biopesticide à base du *T. diversifolia* issu de feuilles sèches à dose de 200g/L a donné une efficacité moyenne plus de 50% sur tous les stades larvaires. Plus la dose de concentration est plus forte, plus l'efficacité augmente. L'hypothèse 1 qui stipule que le degré d'efficacité insecticide du produit peut différer entre l'utilisation du matériel frais et sec est donc vérifiée. Pareillement, l'hypothèse 3 qui affirme que le bioinsecticide est actif à la fois par répulsion, par contact et par ingestion sur les larves de CLA est vérifiée.

Dans les conditions expérimentales au champ, l'efficacité des extraits de plantes insecticides est généralement mesurée par l'abondance des populations de ravageurs ou la gravité des dégâts. Sur le terrain, la parcelle non traitée (témoin) avait des dégâts importants par rapport à la parcelle traitée. Cela explique que malgré la faible rémanence du biopesticide, il arrive à maintenir la population des ravageurs en dessous du seuil de nuisibilité de 20% avant la floraison. La densité des CLA dans les témoins a considérablement augmenté. Lors du suivi, les insectes vivants ont été dénombrés pour vérifier la densité des CLA encore dans le champ (car les chenilles mortes ne sont pas comptées en raison de la présence des prédateurs). Lorsque le premier traitement a été effectué, il a été constaté que l'efficacité

des biopesticides était inférieure à celle du laboratoire. En effet, de nombreux composés de plantes pesticides se décomposent rapidement au soleil et par les effets du vent qui les rendent rapidement inactifs. Par ailleurs, certaines matières actives nécessitent des adjuvants pour améliorer l'efficacité du biopesticide. Pour l'expérimentation en milieu réel, nous avons doublé la dose de savon à 10 g/L pour assurer une bonne adhérence du produit sur les feuilles.

Durant cette expérimentation, les trois concentrations du biopesticide de *T. diversifolia* ont toujours été efficaces sur les CLA de stade L1/L2. Ces jeunes larves se trouvent souvent dans les jeunes plantes de maïs au stade initial d'apparition du verticille (de 0 à 21 jours) et se nourrissent des feuilles tendres. Les dégâts sur la plante y apparaissent déjà à ce stade, donc cela demande aux cultivateurs une observation régulière dès la levée du maïs et de commencer le traitement dès qu'on découvre des petits trous sur les feuilles. Tout retard du traitement peut provoquer des dégâts plus importants sur les cultures (FAO, 2018). Les larves de CLA se développent rapidement et atteignent l'âge adulte du stade larvaire en un peu de temps, un stade larvaire adulte qui présente une résistance au biopesticide.

En somme, l'hypothèse 2 qui stipule que la réponse effet/dose ne présente pas de différence significative pour tous les stades larvaires (L1 à L6) de la CLA n'est pas vérifiée. En effet, les jeunes larves sont plus sensibles aux effets toxiques des produits biopesticides testés.

III.2. Recommandations

III.2.1. Recommandations sur les bonnes pratiques agronomiques

Les bonnes pratiques agricoles permettent de réduire l'infestation des ravageurs dans les champs. Les recommandations apportées pour la gestion du CLA pour la culture de maïs sont les suivantes :

- L'utilisation des semences de bonne qualité et des variétés à maturation précoce, des parcelles fertiles et riches en phosphore pour améliorer la nutrition des cultures, participent à l'amélioration de la santé des plantes. Cette amélioration peut permettre que les plantes se développent bien avant que les dégâts causés par les ravageurs n'affectent significativement les composantes qui déterminent le rendement (FAO, 2018). Ainsi, les plantes saines peuvent investir davantage dans leur mécanisme de défense (Chapin, 1991).
- Eviter les semis tardifs ou des parcelles d'âge différent (échelonnés) en plantant tôt après les premières grandes pluies car les parcelles semées en dernier dans la zone vont attirer les CLA.
- La pratique des semis en ligne et le respect de l'espacement des poquets ont pour objet de faciliter les autres moyens de lutte plus tard.
- La pratique de l'association de cultures avec des cultures non compatibles au CLA comme le manioc ou moins sensibles comme le soja, l'arachide, l'igname fait de la zone cultivée moins attrayante pour les femelles. Cette association peut être sous forme de la technologie « push-pull » en intercalant les plantes de maïs avec des espèces végétales répulsives (push) comme le *Desmodium* spp, puis entourées des espèces attractives (pull) au ravageur comme le *Brachiaria*

spp (FAO, 2018). Cette approche a été menée dans une étude récente en Afrique de l'Est. Le résultat a donné une réduction de l'infestation de la CLA et des dommages aux cultures à 86% avec une augmentation de rendement de 2,7 fois plus par rapport aux champs voisins qui n'ont pas mis en œuvre cette approche (Midega *et al.* 2018).

- Le suivi et la surveillance du champ devraient commencer dès la levée du maïs, en le répétant chaque semaine ou toutes les deux semaines, pour ne pas être en retard pour le traitement en cas des symptômes de la présence des CLA. De ce fait, il faut prendre la décision de traiter le champ dès la présence des masses d'œufs et/ou dès l'apparition du premier dégât des feuilles.

III.2.2. Recommandations sur l'application du biopesticide

L'utilisation du biopesticide de type solution aqueuse est plus efficace pour lutter contre la CLA. Son premier avantage c'est que la poudre de *T. diversifolia* est conservable sous condition d'être à l'abri de l'humidité et de la chaleur. Par ailleurs, elle n'a pas de forte odeur comme le purin.

L'usage de la solution aqueuse à dose de 200g/L est plus pratique que les autres doses puisqu'elle a une durée de rémanence plus longue donc l'intervalle du traitement des parcelles pourrait se faire tous les 14 jours. Mais si d'autres agriculteurs choisissent d'utiliser les doses moins concentrées, le traitement des champs doit se faire toutes les semaines.

Comme la CLA est un ravageur très résistant au pesticide, il est recommandé de pulvériser le champ deux fois le jour du traitement, tôt le matin et le début du soir afin de maximiser le temps de contact avec les chenilles car c'est le moment où elles sortent hors des verticilles.

Durant la pulvérisation, il est conseillé aux paysans de bien arroser toute la partie de la plante : dans les verticilles où les CLA préfèrent rester, les feuilles surtout la partie inférieure où se placent les masses d'œufs, la tige où on peut trouver aussi les masses d'œufs.

Les agriculteurs doivent donc réappliquer le produit le lendemain s'il a plu pendant la nuit suivant l'application.

Les agriculteurs devraient être encouragés à surveiller les dégâts et le nombre d'œufs/larves présents afin de traiter au besoin.

Au moment de l'expérimentation dans le milieu naturel, les résidus de la solution aqueuse ont été utilisés comme complément de biofertilisant. Ils sont versés dans chaque poquet et les résultats se voient sur la qualité des feuilles et le développement de la plante par rapport aux plantes qui n'en bénéficient pas. Aussi, certains agriculteurs mettent ces résidus sur la terre autour des plantes en guise de traitement de contrôle contre les nématodes ou d'autres agents pathogènes du sol (Prakash et Rolland 1997 ; Prasad *et al.*, 2002).

ARO-VOLY BEMANGIDY MIADY AMIN'NY OLITRA

Toa ny ahoana ny endrikin'ny voly Bemangidy ?

Ny bemangidy dia karazana tanamasoandro dia, milobolobo, mavo ny voniny, maniry eny rehetra eny.



Fanamboarana ny fanafody :

1- Maka ravina bemangidy mbola tsy mamelana



2- Ny raviny no ampaisaina hanaovana fanafody



3- Hamainina amin'ny toerana maloka mandritra ny 7 andro farafakeliny

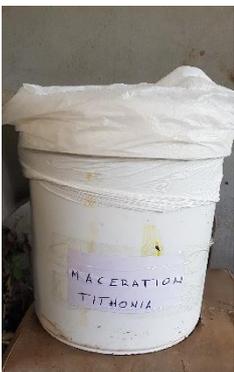


4- Rehefa maina dia totoina ho lasa vovoka



5- Atao anaty siny ny vovoka bemangidy 2kg ary afangaro rano 10L. Ampiana savony 10 g Saromana ary alona mandritra ny 24ora

6- Tatavanina amin'ny lamba manify sady fihazana



7- Tatavanina fanindroany alohan'ny ampiasa

FANAMARIHANA :

Ny vovoka bemangidy dia azo tehirizina amin'ny toerana maina sy mangatsiaka. Ary ampiana rano fotsiny rehefa hampiasa azy.

Fotoana hanombohana ny famendrahana ny Aro-voly Bemangidy:

- Rehefa mahita kilaodaoka kely na atodikely eny amin'ny ravin'ny voly



Fomba famendrahana ny Aro-voly Bemangidy

- Voly efa vita tondraka no fendrahina fanafody
- Tsy atao amin'ny andro manorana
- Atao isan-kerinandro ny famendrahana fanafody, ary atao vao maraina sy hariva
- Fendrahina fanafody tsara ny voly iray manontolo, indrindra ny ambany ravina sy anaty ravina miorina amin'ny laingony.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La plante *T. diversifolia*, famille des Asteraceae, est reconnue pour ses diverses potentialités en tant que plante thérapeutique et médicinale, plante insecticide et plante fertilisante. Ces propriétés nous a conduit à choisir le *T. diversifolia* pour élaborer un biopesticide pour contrôler *S. frugiperda* ou chenille légionnaire d'automne.

Au cours des bioessais, chaque biopesticide appliquée à une dose de 200g/l a fait rapidement effet sur les jeunes larves de stade L1/L2 avec un taux de mortalité très élevé et une durée de rémanence de 14 jours. Parmi les deux types de biopesticide, la solution aqueuse a été la plus efficace sur le test par ingestion et par contact. Cependant, au test de répulsion, le purin des feuilles a été la plus actif grâce à son odeur très forte. Le produit a perturbé les comportements de CLA notamment le comportement alimentaire, la mobilité et la durée de vie de développement des stades larvaires.

Au champ, la pulvérisation faite tous les quatorze jours pendant 8 semaines suivie d'une observation hebdomadaire a diminué le nombre des larves dans les parcelles et les dégâts foliaires n'étaient pas importants que ceux observés chez le témoin.

Les produits sous forme de poudre pour fabriquer la solution aqueuse sont particulièrement commodes en termes de conservation et de stockage par les agriculteurs. En effet, le simple mélange d'une poudre à de l'eau constitue une solution moins contraignante, à l'inverse du purin qui est difficilement conservables.

Pour améliorer la présente étude, l'étude approfondie de la biomasse de *T. diversifolia* d'Analamanga serait nécessaire afin de savoir exactement leurs métabolites secondaires qui pourraient être différents selon l'environnement. La connaissance de ces molécules actives lui permettra de s'orienter pour le développement du bioinsecticide au niveau commercial ainsi que de déterminer les étapes cruciales pour l'homologation et la reconnaissance du bioproduit pour le marché malgache. L'utilisation des résidus de la solution aqueuse comme complément de fertilisants nécessite aussi une prolongation de l'étude pour découvrir son effet sur le rendement du maïs.

L'efficacité du biopesticide sur les autres ravageurs de cultures pourra être à l'avenir un autre sujet de recherche pour pouvoir diffuser une bonne pratique de lutte biologique aux paysans, toujours dans le but de préserver la sécurité alimentaire, la santé des agriculteurs et des consommateurs, la santé de l'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Yarou Boni Barthélémy, Pierre Silvie, Françoise Assogba Komlan, Armel Mensah, Taofic Alabi, François Verheggen, Frédéric Francis.** 2017. Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2017 21(4), 288-304
- Karen Castaño-Quintana, James Montoya-Lerma, Carolina Giraldo-Echeverri.** 2012. Toxicity of foliage extracts of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) on *Atta cephalotes* (Hymenoptera : Myrmicinae) workers
- Miranda, M. A. F. M., Varela, R. M., Torres A., Molinillo, J. M. G., Gualtieri, S. C. J., and Macías, F. A.** 2015. Phytotoxins from *Tithonia diversifolia*. *Journal of Natural Products*, 78 (5), pp 1083–1092 / DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00040
- Louis Looli Bouombe, Monzenga Lokela Jean Claude, François Malaisse.** 2021. Essai d'utilisation de quelques bio-insecticides contre la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda* J.E Smith) dans des conditions de laboratoire à Kisangani, R.D. Project: Gestion durable des ravageurs de cultures des zones tropicales Congo Geo-Eco-Trop Numéro 45, tome 1:95-102
- W. Wanzala, E.M. Osundwa, O.J. Alwala, M.M. Gakuubi** 2016. Chemical composition of essential oil of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray from the Southern slopes of Mount Elgon in Western Kenya, *IJEPP* | April - June 2016 | Volume 2 | Issue 2 Page 72-83
- Adoyo F, Mukalama BJ, Enyola M.** Using *Tithonia* concoctions for termite control in Busia District, Kenya: As part of the Kenya Woodfuel and Agroforestry Programme (KWAP) farmers in the Busia District of western Kenya taking part in an on-farm experiment in pest control. *Research and Information Exchange in Ecologically Sound Agriculture (ILEIA), Newsletter*, 1997; 13(4): 24–25
- Owoyele VB, Wuraola CO, Soladoye AO, Olaleye SB.** 2004. Studies on the anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. *J. Ethnopharmacol.* ; 90: 317– 321
- Rüngeler P, Lyb G, Castro V, Mora G, Pahl HL, Merfort L.** 1998. Study of three sesquiterpene lactones from *Tithonia diversifolia* on their antiinflammatory activity using the transcription factor NF- κ B and enzymes of the arachidonic pathways as targets. *Planta Medica.* 64: 588–593
- Wu TS, Shi LS, Kuo PC, Leu YL, Meei J, Wu PN, Wu YC, Iou SC, Chen YP, Hsien C.** 2001 Cytotoxic principles from leaves of *Tithonia diversifolia*. *Chin. Pharmaceut. J.* 53: 217-223.
- García A, Delgado G.** 2006. Constituents from *Tithonia diversifolia*. Stereochemical Revision of 2 α -Hydroxytirotondin. *J. Mex. Chem. Soc.* 50(4): 180–183

Kuroda M, Yokosuka A, Kobayashi R, Jitsuno M, Kando H, Nosaka K, Ishii H, Yamori T, Mimaki Y. 2007. Sesquiterpenoids and flavonoids from the aerial parts of *Tithonia diversifolia* and their cytotoxic activity. *Chem. Pharm. Bull.* 55: 1240–1244

Gu, JQ, Park EJ, Totura S, Riswan S, Fong HS, Pezzuto JM, Kinghorn AD. 2002. Sesquiterpenoids from *Tithonia diversifolia* with potential cancer chemopreventive activity. *J. Nat. Prod.*; 65: 532–536

Bruno Leite Sampaio, RuAngelie Edrada-Ebel, Fernando Batista Da Costa. 2016. Effet de l'environnement sur le profil métabolite secondaire de *Tithonia diversifolia* : un modèle de la métabolomique environnementale des plantes, scientific reports

Tiebre Marie-Solange, N'Dja Justin Kassi, Yao Jean-Clovis Kouadio, N'GUESSAN Edouard Kouakou. January 1998. Etude de la biologie reproductive de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Asteraceae) : Espece non indigene invasive en Côte d'Ivoire. Project: Dynamics and plant resilience to exotic plant invasion

DIBY Yao Kan Séraphin, TAHIRI Yamouso Annick, AKPESSE Akpa Alexandre Moïse¹, TRA BI Crolaud Sylvain³, KOUASSI Kouassi Philippe. 2015. Évaluation de l'effet insecticide de l'extrait aqueux de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) gray (Asteraceae) sur les termites en culture du riz (NERICA 1) au centre de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, Vol.25, Issue 3: 3966-3976

Maribel Ganeb, Milano Torres. 2019. Biopesticidal efficacy of *Tithonia diversifolia* (Wild sunflower) leaf extract against *Scotinophora coarctata* (rice black bug). Research Gate. Decembre

Floice Adoyo, John Bwire Mukalama, Musa Enyola. 1997. Using *Tithonia* concoctions for termite control in Busia District, Kenya KWAP BUSIA, PO Box 421, Busia, Kenya. ILEIA NEWSLETTER

Anjarwalla P, Belmain S, Sola P, Jamnadass R, Stevenson PC. 2016. Guide des plantes pesticides. World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi, Kenya

Prasanna B.M, Joseph E. Huesing, Regina Eddy, Virginia M. Peschke (eds). 2018. La chenille légionnaire d'automne en Afrique: Un guide pour la lutte intégrée contre le ravageur, Première édition. Mexico, CDMX: CIMMYT

RAZAFINDRAMBOA Ambinintsoa Nantenaina, 2016, Evaluation des effets de trois plantes : *Tithonia diversifolia* (Hemsl., A. Gray) (Asteraceae), *Agave sisalana* (Perrine, 1838) (Agavaceae) et *Carica papaya* (Linnaeus, 1753) (Caricaceae) sur deux ravageurs du haricot : *Vanessa cardui* (Linnaeus, 1758) (Nymphalidae) et *Aphis craccivora* (Koch, 1854) (Aphididae), mémoire master II, faculté des sciences

Pereira, P.S., Aparecida, D., Vichnewski, W., Nasi, A.M.T.T. & Herz, W. 1997. Sesquiterpene lactones from Brazilian *Tithonia diversifolia*. *Phytochemistry*, 45(7): 1445-1448. DOI: 10.1016/s0031-9422(97)00142-8

Oyewole, I.O., Ibidapo, C.A., Moronkola, D.O., Odulola, A.O., Adeoye, G.O., Anyasor, G.N. & Obansa, J.A. 2008. Anti-malarial and repellent activities of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) leaf extracts. *J.Medic.Plants Res.*, 2(8): 171-175

Taofik, M., Yulianti, E., Barizi, A. dan Hayati, E.K. 2010. Isolasi dan Identifikasi senyawa aktif ekstrak air daun Paitan (*Tithonia diversifolia*) sebagai bahan insektisida botani untuk pengendalian hama tungau Eriophyidae. (Isolation and identification of the active compound of paitan leaf water extract (*Tithonia diversifolia*) as a botanical insecticide for Eriophyidae mite pest control). *Alchemy*, 2(1): 32-142 (in Indonesian)

Moronkola, D.O., Ogunwande, I.A., Walker, T.M., Setzer, W.N. & Oyewole, I.O. 2007. Identification of the main volatile compounds in the leaf and flower of *Tithonia diversifolia* (Hemsl) Gray. *J.Nat. Medic.*, 61: 63- 66, DOI 10.1007/s11418-006-0019-5
FAO. 2018. Gestion intégrée de la chenille légionnaire d'automne sur le maïs : Un guide pour les champs-écoles des producteurs en Afrique

MAEP. Filières de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, et Actions du Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche Page 2 DE 10 Filière Maïs Fiche n° 108

ANNEXES

Annexe 1 : Maïs

- **Description du maïs**

Le maïs, appelé sous son nom scientifique *Zea mays*, est largement utilisé dans l'alimentation animale et humaine, aussi pour des usages industriels. Il est récolté en grain ou avec toute la plante. Devant le riz et le blé, il est devenu la première céréale cultivée dans le monde. (FAO, 2012)

C'est une plante tropicale herbacée annuelle qui a besoin d'éléments fertilisants en grande quantité. Elle se cultive sur un sol profond, bien structuré et riche en éléments nutritifs dont la caractéristique devrait être limons sablonneux et régulièrement approvisionnée en eau. Le maïs est tolérant à l'acidité du sol avec un pH entre 6 et 7,5. (West PHAL, 1985)

- **Classification**

Le maïs est une plante monocotylédone dont les fleurs mâles et femelles sont portées à la même plante mais placées à des différents endroits. Il appartient à la famille des Poaceae, sous famille des Panicoideae, genre *Zea* et espèce *mays*. Il présente une seule espèce avec de nombreuses variétés (Direction de l'agriculture, 2001).

Règne :	PLANTAE	Sous famille :	PANICOIDEAE
Sous-règne :	TRACHEOBIONTA	Tribu :	MAYDAE
Sous-règne :	TRACHEOBIONTA	Genre :	<i>Zea</i>
Embranchement :	SPERMATOPHYTES	Espèce :	<i>mays</i> L.
Sous embranchement :	ANGIOSPERMES	Sous-espèce :	<i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i>
Classe :	MONOCOTYLEDONE	Variétés :	Plata, IRAT200,....
Sous classe :	COMMELINIDAE	Nom vernaculaire :	Maïs
Famille :	POACEAE	Appellation malagasy :	Katsaka, Tsako, etc

Vu la recherche de l'amélioration génétique faite par les chercheurs, le nombre des variétés du maïs reste évolutive dans le temps.

- **Description botanique de *Zea mays***

Le *Zea mays* est une graminée dressée annuelle de taille variable mesurant de 4 cm jusqu'à 5 m, mais pour les variétés couramment cultivées, elles mesurent généralement de 1 à 3 m selon les différentes caractéristiques (Escalante *et al.*, 2002).

La structure d'un pied de maïs est présentée à la figure 1.

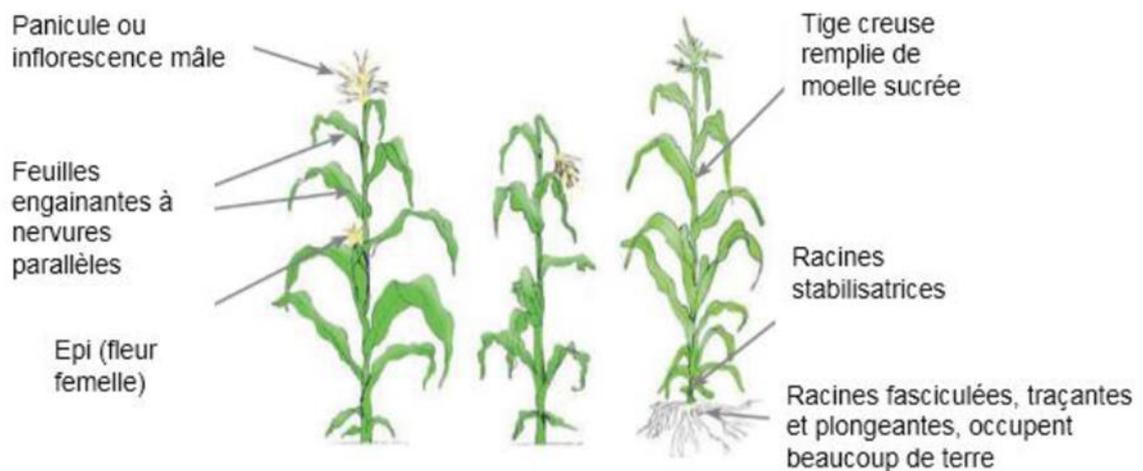


Figure 1 : La structure d'un pied de maïs (Escalante *et al.*, 2012)

➤ **Racines :**

Le système racinaire du maïs est fasciculé environ de 50cm de profondeur et comprend un très grand nombre de racines adventives qui naissent sur les nœuds situés à la base de la tige.



Photo 1 : Le système racinaire du maïs (paysan breton/ <http:3>)

➤ **Tige et feuilles :**

La tige de *Zea mays* est robuste avec une épaisseur de 3 à 5 cm et d'une longueur variant de 1,5 à 3 m. Elle est distincte par nœuds et des entre-nœuds. Chaque nœud porte une feuille unique et les feuilles sont alternées réparties en deux rangées opposées. Contrairement aux autres graminées, le pied de maïs ne talle pas, toutefois on voit parfois des tiges secondaires, de taille limitée, à la base de la tige principale.

La taille des feuilles fluctue entre 30 et 150 cm de longueur et 15 cm de largeur au maximum. Une feuille contient trois parties distinctes notamment :

- La gaine qui englobe l'entre-nœud situé au-dessus du nœud d'origine, on la trouve clairement visible à partir du sixième stade de la feuille lorsque la tige commence à s'allonger ;
- Le limbe désigne la feuille elle-même, caractérisé par une grande taille de 10cm de large et 1m de longueur et de sa forme lancéolée avec des nervures longitudinales parallèles dont la médiane est épaisse ;
- A la base de limbe se trouve la ligule qui a quelques millimètres de haut. C'est une expansion laminaire sous forme d'une membrane incolore qui empêche l'entrée d'eau ou d'éventuels parasites.

➤ **Inflorescences et fleurs :**

Le *Zea mays* est une plante dicline monoïque et allogame. Les fleurs mâles et femelles se trouvent sur le même pied et sont contenues cependant dans des inflorescences séparées.

L'inflorescence mâle se situe au sommet de la plante et possède des ramifications plus ou moins nombreuses portant de nombreuses glumelles (figure 3) (Eagles et Lothrop, 1994). Cette panicule aussi appelée « tassel », est constituée d'épillets regroupant chacun deux fleurs à trois étamines. (figure 4)



Photo 2 : Inflorescence mâle du maïs

Source : Flore de La Réunion N° 8065

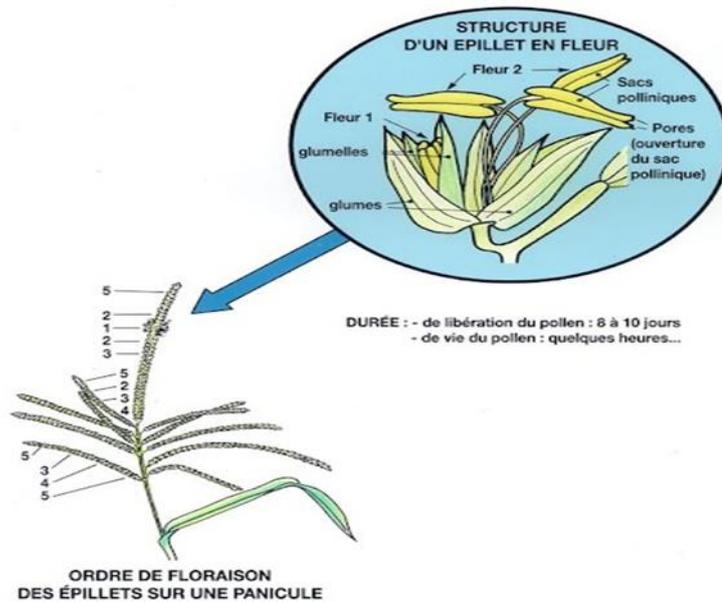


Figure 2 : Epillet de maïs

Source : [http : La plante domestiquée](http://www.plante-domestiquee.com)

Et l’inflorescence femelle, communément appelé épi, se situe à l’aisselle d’une feuille et leur extrémité supérieure laisse dépasser les stigmates aussi appelées soies (Photo 2). Ces épis sont enveloppés dans des feuilles modifiées appelées « spathe » qui se dessèchent à maturité (Photo 3). Les grains de pollen des fleurs mâles tombent sur les soies pour la pollinisation. et entre l’apparition des soies et la maturation des grains, s’écoulent en moyenne deux à trois mois en fonction des variétés.



Photo 3 : Inflorescence femelle du maïs

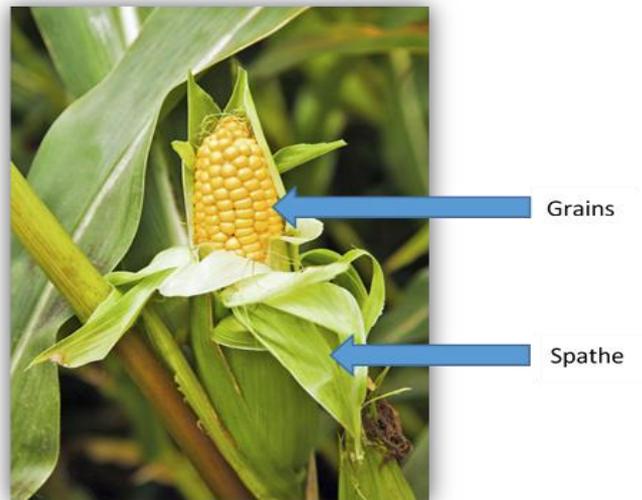


Photo 4 : Epi du maïs
Source : [http : rsooll – Fotolia](http://www.rsooll.com)

➤ **Fruit :**

Une plante de maïs donne naissance à trois ou quatre épis, mais un seul atteint généralement son développement complet. La rafle est le long de l'axe de l'épi sur lequel les grains sont rangés de 8 à 20 rangées verticales. Ils ont des formes multiples : globulaires, prismatique, ovoïde, etc ; et de différentes couleurs : blanc, jaune roux, doré, violet, noir. Ils sont parfois lisses ou ridés. Un épi peut contenir environ 500 à 1 000 grains avec un poids moyen de 150 g à 330 g à maturité. Chaque grain est composé d'un germe (embryon + cotylédon), d'un albumen et d'un péricarpe qui est une enveloppe extérieure dure qui empêche l'entrée de champignons et de bactéries. (Escalante *et al.*, 2012)

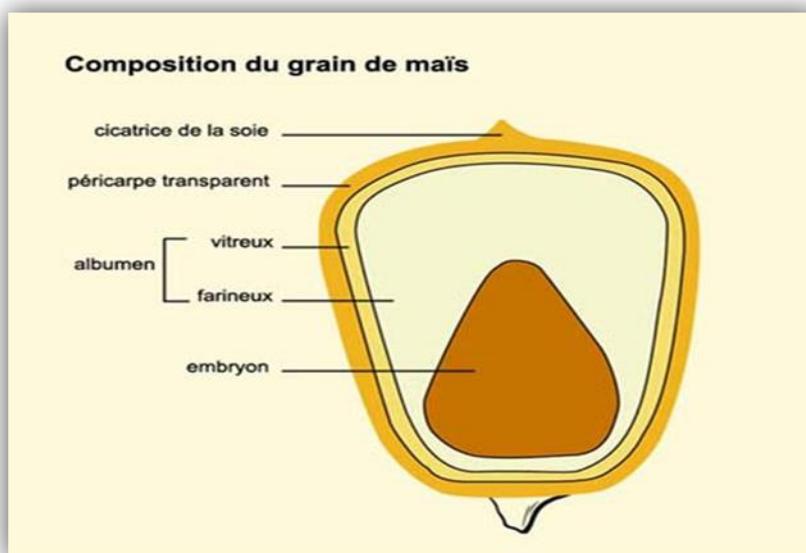


Figure 3 : Composition du grain de maïs

Source : [http : TPE-Pop Corn](http://TPE-Pop-Corn)

La composition chimique du grain de maïs et sa valeur nutritive lui confèrent une bonne position parmi les céréales entrant dans la catégorie « agroalimentaire ». Cette composition est synthétisée ci-dessous :

Tableau 1 : composition chimique du grain de maïs

Composant chimique	Péricarpe (%)	Albumen (%)	Germe (%)
Protéines	3,7	8,0	18,4
Extrait à l'éther	1,0	0,8	33,2
Fibres brutes	86,7	2,7	8,8
Cendres	0,8	0,3	10,5
Amidon	7,3	87,6	8,3
Sucre	0,34	0,62	10,8

Sources : Escalante-Ten Hoopen et Abdou Maiga

- **Physiologie du maïs**

A des élévations situées entre 0 et 1.000 mètres, le maïs peut atteindre sa maturité physiologique (stade auquel les grains ont cessés d'accumuler la féculé et la protéine) en 90 à 130 jours environ selon la variété et les températures de croissance. Il peut mettre 200 à 300 jours pour atteindre sa maturité lorsqu'on le cultive à des élévations supérieures. Pourtant, certaines variétés atteindront leur maturité beaucoup plus tôt que d'autres même à la même altitude et avec des températures identiques. On les appelle variétés précoces (Tanaka,A. et Yamaguchi ,J, 1972).

➤ **Cycle de développement**

I- Phase de germination :

Sous l'influence de l'humidité, la racicule apparaît 2 à 3 jours après le semis et la tigelle de 3 à 4 jours. À ce niveau, la première série de racines adventives se forment, et parfois des tiges secondaires. Généralement, la levée apparaît 8 à 10 jours après le semis et le jeune plant de maïs devient progressivement autotrophe.

II- Phase de croissance :

La croissance du maïs est lente au moment de la levée jusqu'à l'apparition des inflorescences mâles. Ce stade dure plus ou moins longtemps suivant les variétés, la température ambiante et l'état d'humidité du sol. L'épi commence à se développer un mois avant la floraison, c'est-à-dire dans le stade 7 à 8 feuilles à partir duquel le nombre de rangs de grains portés par l'épi est déjà déterminé. Dès la fin de cette phase, la panicule commence à se développer et 2 à 3 semaines avant la floraison, le pollen débute à se former. D'après Simon H et *al.*, 1989, 95% ou plus des grains d'un épi reçoivent généralement leur pollen de plantes de maïs voisines.

III- Phase de floraison :

Dès que la croissance est terminée, l'inflorescence mâle apparaît, soit 70 à 95 jours après semis et quelques jours après, les inflorescences femelles sont prêtes pour la fécondation, soit 5 à 8 jours après l'apparition des inflorescences mâles (Escalante *et al.*, 2012).

IV- Phase de maturation :

Les grains, une fois formés, passent trois stades successifs notamment le stade laiteux, le stade pâteux et le stade sec. Au début, la phase de développement des cellules de l'albumen où le remplissage des grains se débute, ensuite les grains prennent la texture laiteuse puis leur croissance se ralentit et ils prennent des textures pâteuses, enfin ils deviennent durs et leurs poids atteignent sa valeur maximale.

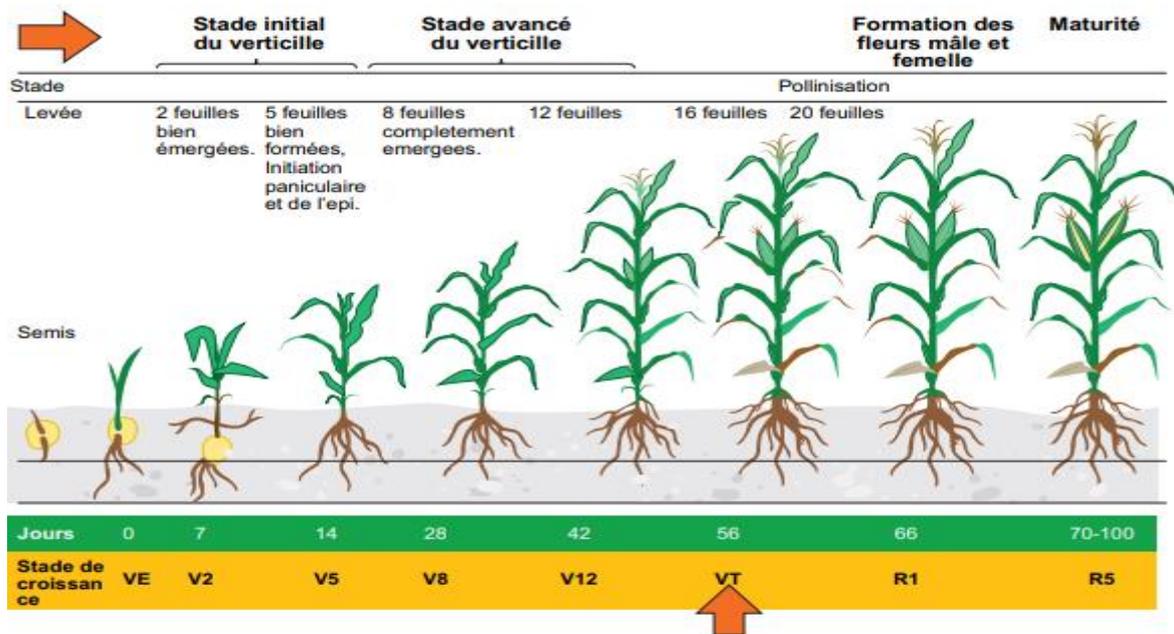


Figure 4 : Modifiée à partir des données fournies par Clarrie Beckingham, 2007, <https://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/horticulture/vegetables/commodity-growing-guides/sweet-corn>.

Les flèches orange indiquent les étapes critiques à envisager.

Phases VE à V6 : Stade initial d'apparition du verticille

Phases V7 à VT : Stade avancé du verticille

Phases R1 à R3: Formation des fleurs mâle et femelle

- **Maladies et ennemis du maïs**

Le *Zea mays* rencontre plusieurs ravageurs et ennemis qui provoquent des dégâts affectant leurs développements et croissances ainsi que les rendements en graines. Le plus souvent rencontré c'est les insectes nuisibles et aussi les mauvaises herbes.

Tableau : Quelques maladies et ravageurs sur le maïs :

Partie de la plante affectée	Insectes et autres ravageurs	maladies
Feuille	Altises	Charbon
	Calandres	Kabatiellose
	Chenilles légionnaires d'automne	Mosaïque nanifiante du maïs
	Chenilles légionnaire uniponctuées	Rouille
	Puceron du maïs	
	Pyrale du maïs	

	Vers gris (noctuelles)	
Tige	Calandres	Charbon
	Pyrale du maïs	Mosaïque nanifiante du maïs
	Vers fil-de-fer (Taupins)	
	Vers gris (noctuelles)	
	Ratons laveurs	
Panicule	Légionnaire d'automne	Charbon
	Puceron du maïs	
	Pyrale du maïs	
Épi	Chrysmèle des racines du maïs	Charbon
	Légionnaire d'automne	Fusariose de l'épi
	Nitidule à quatre points	Mosaïque nanifiante du maïs
	Puceron du maïs	
	Pyrale du maïs	
	Ver de l'épi de maïs	
	Oiseaux noirs	
	Raton laveur	
Racine	Mouche des semis Vers blancs (hannetons)	
	Vers fil-de-fer (taupins)	
Graine en germination	Mouche des semis Vers fil-de-fer (taupins)	
	Oiseaux noirs	

Source : JEAN, C. ET BOISCLAIR J. 2001.

Annexe 2 : Échelle d'évaluation des dégâts foliaires dus à la chenille légionnaire d'automne

Score	Domages Symptômes/Description
1	Aucune feuille dévorée visible
2	Peu de petits trous sur 1 à 2 feuilles plus anciennes
3	Plusieurs lésions de perforation sur quelques feuilles
4	Plusieurs lésions de perforation sur plusieurs feuilles (6 à 8 feuilles) ou de petites lésions/trous d'épingle, petites lésions circulaires, et quelques petites lésions allongées (en forme rectangulaire) d'une longueur allant jusqu'à 1,3 cm présentes sur les feuilles verticillées et roulées
5	Les lésions allongées (> 2,5 cm de long) sur 8 à 10 feuilles, plus quelques petits et moyens trous de forme uniforme à irrégulière (membranes basale consommées) faits sur les feuilles verticillées et/ou roulées
6	Plusieurs grosses lésions allongées présentes sur plusieurs feuilles verticillées et/ou plusieurs gros trous uniformes à des trous en forme irrégulière faits sur les feuilles roulées et verticillées
7	De nombreuses lésions allongées de toutes tailles présentes sur plusieurs feuilles verticillées et roulées ainsi que plusieurs gros trous uniformes à irréguliers faits sur les feuilles verticillées et roulées
8	De nombreuses lésions allongées de toutes tailles présentes sur la plupart des feuilles verticillées et roulées ainsi que de nombreux trous moyens à gros, uniformes à irréguliers faits sur les feuilles verticillées et roulées
9	Les feuilles verticillées et roulées sont presque totalement détruites et la plante meurt à cause de dégâts foliaires considérables

Source : Modifié de Davis et Williams, 1992

Annexe 3 : Taux de mortalité larvaire par ingestion : poudre

Jour	100 g/l			150 g/l			200 g/l		
	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6
J1	4,44	4,44	2,22	4,44	4,44	2,22	6,67	6,67	4,44
J2	8,89	11,11	6,67	8,89	11,11	8,89	13,33	13,33	8,89
J3	17,78	20,00	13,33	15,56	20,00	15,56	24,44	22,22	15,56
J4	28,89	31,11	20,00	22,22	28,89	26,67	35,56	35,56	22,22
J5	40,00	42,22	26,67	33,33	40,00	33,33	48,89	46,67	33,33
J6	46,67	46,67	35,56	44,44	46,67	40,00	57,78	55,56	42,22
J7	51,11	48,89	37,78	53,33	53,33	44,44	64,44	62,22	48,89
J8	53,33	48,89	37,78	60,00	57,78	46,67	71,11	68,89	53,33
J9	53,33	48,89	37,78	64,44	60,00	46,67	75,56	75,56	57,78
J10	53,33	48,89	37,78	66,67	62,22	46,67	80,00	80,00	60,00
J11	53,33	48,89	37,78	66,67	62,22	46,67	84,44	84,44	62,22
J12	53,33	48,89	37,78	66,67	62,22	46,67	86,67	86,67	64,44
J13	53,33	48,89	37,78	66,67	62,22	46,67	88,89	88,89	64,44
J14	53,33	48,89	37,78	66,67	62,22	46,67	91,11	88,89	64,44

Annexe 4 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par INGESTION : MACERATION

Jour	100 g/l			150 g/l			200 g/l		
	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6
J1	4,44	4,44	2,22	2,22	4,44	2,22	6,67	4,44	4,44
J2	8,89	8,89	6,67	6,67	8,89	4,44	15,56	13,33	11,11
J3	17,78	17,78	11,11	15,56	17,78	11,11	24,44	22,22	17,78
J4	28,89	26,67	20,00	26,67	28,89	17,78	37,78	35,56	26,67
J5	37,78	33,33	28,89	37,78	37,78	26,67	51,11	44,44	35,56
J6	42,22	37,78	35,56	46,67	42,22	33,33	60,00	51,11	44,44
J7	42,22	37,78	35,56	53,33	46,67	37,78	66,67	57,78	51,11
J8	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	73,33	62,22	53,33
J9	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	77,78	66,67	55,56
J10	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	82,22	68,89	55,56
J11	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	84,44	71,11	55,56
J12	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	86,67	71,11	55,56
J13	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	88,89	71,11	55,56
J14	42,22	37,78	35,56	55,56	48,89	40,00	88,89	71,11	55,56

Annexe 5 : ANOVA du test par ingestion

	<i>Purin</i>						<i>Solution aqueuse</i>					
	Dose 1		Dose 2		Dose 3		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
Stade L1/L2	34,13 ±3,6	41,27 ±5,35	60,32 ±7,65	40,79 ±4,83	45,71 ±6,41	59,21 ±7,73						
Stade L3/L4	30,79 ±3,15	37,78 ±4,31	50,79 ±6,22	39,05 ±4,22	45,24 ±5,56	58,25 ±7,74						
Stade L5/L6	27,78 ±3,30	29,52 ±3,85	41,27 ±4,99	29,05 ±3,48	35,56 ±4,23	43,02 ±5,89						
p-value	0.4203	0.1859	0.1216	0.118	0.345	0.2144						

Annexe 6 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par CONTACT : POUDRE

Jour	100g/l			150 g/l			200 g/l		
	L1	L3	L5	L1	L3	L5	L1	L3	L5
J1	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	4,44	4,44	2,22
J2	6,67	6,67	4,44	6,67	6,67	6,67	8,89	11,11	6,67
J3	15,56	11,11	8,89	13,33	11,11	13,33	15,56	17,78	11,11
J4	26,67	20,00	15,56	22,22	17,78	22,22	24,44	28,89	17,78
J5	37,78	26,67	20,00	35,56	31,11	28,89	35,56	40,00	28,89
J6	44,44	31,11	20,00	46,67	40,00	33,33	51,11	48,89	37,78
J7	46,67	33,33	20,00	53,33	46,67	37,78	62,22	53,33	44,44
J8	48,89	33,33	20,00	57,78	51,11	37,78	71,11	57,77	48,89
J9	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	73,33	62,21	51,11
J10	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	75,56	64,43	51,11
J11	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	75,56	64,43	51,11
J12	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	75,56	64,43	51,11
J13	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	75,56	64,43	51,11
J14	48,89	33,33	20,00	60,00	53,33	37,78	75,56	64,43	51,11

Annexe 7 : Taux de mortalité cumulé par stade larvaire du test par CONTACT / MACERATION

Jour	100g/l			150 g/l			200 g/l		
	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6
J1	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	4,44	2,22	2,22
J2	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	8,89	6,67	4,44
J3	11,11	8,89	6,67	8,89	11,11	8,89	13,33	11,11	8,89
J4	20,00	15,56	13,33	17,78	17,78	15,56	22,22	17,78	17,78
J5	26,67	22,22	20,00	28,89	26,67	24,44	35,56	28,89	26,67
J6	28,89	24,44	24,44	37,78	35,56	31,11	46,67	40,00	33,33
J7	31,11	26,67	26,67	42,22	42,22	35,56	55,56	46,67	40,00
J8	31,11	26,67	26,67	44,44	44,44	37,78	62,22	53,33	44,44
J9	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	66,67	55,56	46,67
J10	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	68,89	57,78	46,67
J11	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	71,11	57,78	46,67
J12	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	71,11	57,78	46,67
J13	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	71,11	57,78	46,67
J14	31,11	26,67	26,67	46,67	44,44	37,78	71,11	57,78	46,67

Annexe 8 : ANOVA du test par contact

	<i>Purin</i>						<i>Solution aqueuse</i>					
	Dose 1		Dose 2		Dose 3		Dose 1		Dose 2		Dose 3	
Stade L1/L2	24,44	±2,84	33,33	±4,65	47,77	±6,88	37,30	±4,58	42,69	±5,93	51,74	±7,47
Stade L3/L4	20,79	±2,42	32,22	±4,39	39,36	±5,75	26,03	±3,01	37,61	±5,29	46,18	±5,85
Stade L5/L6	20,31	±2,51	27,61	±3,69	32,69	±4,63	16,507	±1,70	29,20	±3,43	36,03	±5,03
p-value	0.4203		0.1859		0.1216		0.118		0.345		0.2144	

Annexe 9 : Taux de répulsion : poudre

	100g			150g			200g		
	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6	L1/L2	L3/L4	L5/L6
zone induite d'eau	44,44	35,56	33,33	51,11	42,22	35,56	62,22	57,78	51,11
neutre	55,56	64,44	66,67	48,89	57,78	64,44	37,78	42,22	48,89

Annexe 10 : Taux de répulsion : MACERATION

	100g			150g			200g		
	L1	L3	L5	L1	L3	L5	L1	L3	L5
zone induite d'eau	60,00	53,33	51,11	71,11	66,67	60,00	95,56	86,67	73,33
neutre	40,00	46,67	48,89	28,89	33,33	40,00	4,44	13,33	26,67

Annexe 11 : Taux de SURVIE EN MILIEU NATUREL

Annexe 11 A : TEMOIN

	Pieds 1	Pieds 2	Pieds 3	Pieds 4	Pieds 5	Pieds 6	Pieds 7	Pieds 8	Pieds 9	Pieds 10	Moyenne
Obs 0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Obs 1	1,00	0,86	1,00	0,92	1,00	1,00	0,90	0,83	1,08	0,83	0,94
Obs 2	1,09	1,14	1,00	1,08	1,13	1,00	1,00	1,00	1,17	1,00	1,06
Obs 3	1,18	1,14	1,00	1,08	1,13	1,00	0,90	1,00	1,25	1,00	1,07
Obs 4	1,09	1,29	1,11	1,15	1,13	1,00	1,00	1,00	1,33	1,17	1,13
Obs 5	1,36	1,43	1,22	1,15	1,13	1,11	1,00	1,17	1,42	1,17	1,22
Obs 6	1,45	1,57	1,22	1,23	1,25	1,11	1,10	1,33	1,42	1,33	1,30
Obs 7	1,45	1,57	1,22	1,31	1,25	1,11	1,10	1,33	1,42	1,33	1,31
Obs 8	1,45	1,57	1,22	1,31	1,25	1,11	1,10	1,33	1,42	1,33	1,31

Annexe 11 B : 100 g/l

	Pieds 1	Pieds 2	Pieds 3	Pieds 4	Pieds 5	Pieds 6	Pieds 7	Pieds 8	Pieds 9	Pieds 10	Moyenne
Obs 0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Obs 1	0,75	0,67	0,86	0,89	0,80	0,67	0,63	0,83	0,83	0,80	0,77
Obs 2	0,50	0,75	0,57	0,67	0,60	0,67	0,88	0,83	0,67	0,70	0,68
Obs 3	0,63	0,50	0,57	0,67	0,40	0,33	0,50	0,67	0,50	0,70	0,55
Obs 4	0,63	0,58	0,57	0,56	0,20	0,00	0,63	0,50	0,33	0,60	0,46
Obs 5	0,38	0,42	0,43	0,44	0,00	0,00	0,38	0,33	0,33	0,20	0,29
Obs 6	0,25	0,17	0,14	0,11	0,00	0,00	0,13	0,17	0,17	0,20	0,13
Obs 7	0,00	0,08	0,00	0,11	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00	0,10	0,05

Annexe 11 C : 150 g/l

	Pieds 1	Pieds 2	Pieds 3	Pieds 4	Pieds 5	Pieds 6	Pieds 7	Pieds 8	Pieds 9	Pieds 10	Moyenne
Obs 0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Obs 1	0,75	0,83	0,89	0,77	0,86	0,70	0,80	0,77	0,71	0,64	0,77
Obs 2	0,63	0,83	0,67	0,92	0,57	0,60	0,70	0,92	0,71	0,91	0,75
Obs 3	0,38	0,67	0,44	0,54	0,43	0,50	0,40	0,69	0,57	0,64	0,53
Obs 4	0,25	0,50	0,56	0,23	0,29	0,30	0,10	0,54	0,43	0,18	0,34
Obs 5	0,13	0,17	0,22	0,38	0,14	0,10	0,10	0,46	0,29	0,18	0,22
Obs 6	0,00	0,00	0,11	0,15	0,00	0,10	0,00	0,15	0,00	0,09	0,06
Obs 7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Annexe 11 D : 200 g/l

	Pieds 1	Pieds 2	Pieds 3	Pieds 4	Pieds 5	Pieds 6	Pieds 7	Pieds 8	Pieds 9	Pieds 10	Moyenne
Obs 0	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Obs 1	0,71	0,69	0,71	0,79	0,75	0,67	0,89	0,71	0,64	0,71	0,73
Obs 2	0,43	0,62	0,43	0,71	0,63	0,42	0,78	0,43	0,55	0,57	0,56
Obs 3	0,36	0,46	0,57	0,64	0,38	0,25	0,56	0,29	0,36	0,43	0,43
Obs 4	0,21	0,38	0,29	0,43	0,38	0,33	0,33	0,14	0,27	0,29	0,31
Obs 5	0,14	0,15	0,14	0,21	0,13	0,17	0,11	0,00	0,09	0,14	0,13
Obs 6	0,07	0,08	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,03
Obs 7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Annexe 12 : ANOVA du test au milieu naturel

<i>Solution aqueuse</i>				
<i>Dose 1</i>	<i>Dose 2</i>	<i>Dose 3</i>	Témoin	P-value
<i>37,21 ± 0,10</i>	33,24 ± 0,11	27,22 ± 0,10	116,69 ± 0,05	0,00003

Annexe 13 : Données climatiques Analamanga 2020-2021

Date	Pluies (mm)	T° Max (°C)	T° Min (°C)
janv.-20	455,8	26,1	17,1
févr.-20	340,1	26,7	16,6
mars-20	144,9	26,7	16,8
avr.-20	32,5	25,9	15
mai-20	13,6	25,1	13,4
juin-20	4,5	21,9	11,3
juil.-20	5,3	20,4	10,1
août-20	4,1	23,3	10,5
sept.-20	6,9	25,7	11,7
oct.-20	46,2	27,3	14,2
nov.-20	72,4	28,7	15,8
déc.-20	204,5	26,8	16,5
janv.-21	360,2	27,6	17,2
févr.-21	313,6	26,6	16,9
mars-21	153,8	26,7	16,6
avr.-21	53,6	26,8	15,3
mai-21	9,8	24,6	13
juin-21	9,6	22,5	10,5
juil.-21	5	21,3	9,7
août-21	4,6	24,4	11,3
sept.-21	5,4	24,9	13,5
oct.-21	15,6	28,1	15,7
nov.-21	69,2	29,7	17,4
déc.-21	219,2	30	17,8