

EVALUATION IN VITRO DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DES ALCALOÏDES, SAPONINES, TERPENOÏDES ET STEROÏDES EXTRAITS DE *Capscicum frutescens* L. (SOLANACEAE) CONTRE *Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, INSECTES RAVAGEURS DES CAFEIERS

[EVALUATION IN VITRO ACTIVITY OF INSECT ALKALOID, SAPONINS, TERPENOIDS OR STEROIDS EXTRACTS *Capscicum frutescens* L. (SOLANACEAE) AGAINST *Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, PESTS OF COFFEE TREES]

Mukondwa NSAMBU¹⁻³, Bahananga MUHIGWA¹, Kituta RUBABURA², Mashimango BAGALWA², and Sanvura BASHWIRA²

¹Faculté des Sciences Agronomiques et Environnement, Programme de Maitrise, Université Evangélique en Afrique, U.E.A./Bukavu, Bukavu, Sud Kivu, RD Congo

²Departement de Biologie, Centre de Recherche en Sciences Naturelles, CRSN-Lwiro, D.S.Bukavu, Bukavu, Sud Kivu, RD Congo

³Institut Supérieur des Etudes Agronomiques et Veterinaires, Mushweshwe, Sud Kivu, RD Congo

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: In an attempt to find non-harmful to humans and does not pollute the environment, effective tack against the coffee and alternatives to synthetic pesticides polluters of the environment, an in vitro test of activity biodegradable organic substances insecticides, insecticide alkaloids, steroids, saponins and isolated *Capscicum frutescens* L. terpenes was performed in the presence of synthetic pesticides (Supadip and Dimethoate) and water as controls. Mortality tack the coffee very varied significantly depending on the treatment, concentration as well as the interaction of treatment and concentrations of insecticides tested substances. The insecticidal activity of Supadip was superior to all other insecticides tested at doses of 0.01ml / l and 0.1 ml / l (100% mortality) at the dose 0,636g / l, the alkaloids have Capsicum similar to that of Supadip and dimethoate (100% mortality) effect. Steroids have a mortality of 57% at the dose 0,636g / ml saponins and terpenes have a minimum effect to said dose. Dimethoate was inactive at doses 0.1 ml / l and 0.01ml / l. Alkaloids have low lethal dose LD50 (0.21 ± 0,015g / ml) compared with other active ingredients extracted from fruits of *Capscicum* tested on tack (0.54 ± 0,012g / ml for steroids, 0.93 ± 0,054g / ml saponins and 0,277g ± 1.70 / ml for the terpenes). The chemical analysis shows that fruits of Capsicum alkaloids, phenols, flavonoids, terpenes, steroids, and carotenoids lipoids saponins present are strongly present and finally are medium tannins, quinones and glucosides are present sparsely.

KEYWORDS: Drawing pin, insecticidal plants, pepper, Coffee tree, North Kabare.

RÉSUMÉ: Dans la perspective de trouver les substances organiques insecticides biodégradables, non nocifs à l'homme et ne polluant pas l'environnement, efficaces contre la punaise du caféier et alternatives aux pesticides synthétiques pollueurs de l'environnement, un test in vitro de l'activité insecticide des alcaloïdes, stéroïdes, saponines et terpènes isolés de *Capscicum frutescens* L. a été réalisé en présence des pesticides de synthèse (Supadip et Diméthoate) et l'eau comme témoins. La mortalité de la punaise du caféier variait très significativement selon le traitement, la concentration ainsi qu'avec l'interaction des traitements et les concentrations des substances insecticides testées. L'activité insecticide de Supadip était supérieure à tous les autres produits insecticides testés aux doses de 0,01ml/l et 0,1ml/l (100% de mortalité), à la dose 0,636g/l, les alcaloïdes extraits de *Capscicum* ont un effet similaire à celui de Supadip et Diméthoate (100% de mortalité). Les stéroïdes ont une mortalité de 57 % à la dose 0,636g/ml, les saponines et terpènes ont un effet minimal à ladite dose. Le Diméthoate était inactif aux doses 0,1ml/l et 0,01ml/l. Les alcaloïdes présentent une faible dose létale DL₅₀ (0,21±0,015g/ml)

par rapport aux autres principes actifs extraits des fruits de *Capsicum* testés sur la punaise ($0,54 \pm 0,012\text{g/ml}$ pour les stéroïdes ; $0,93 \pm 0,054\text{g/ml}$ pour les saponines et $1,70 \pm 0,277\text{g/ml}$ pour les terpènes). L'analyse chimique des fruits de *Capsicum* montre que les alcaloïdes, phénols, flavonoïdes, terpènes, stéroïdes, caroténoïdes et lipides sont fortement présents les saponines sont moyennement présentes et enfin les tanins, les quinones et les glucosides sont faiblement présents.

MOTS-CLEFS: Punaise du caféier, plantes insecticides, piment, caféier, Kabare Nord.

1 INTRODUCTION

Les caféiers font partie des principales cultures industrielles d'exportations dans la province du Sud Kivu, en République Démocratique du Congo, en particulier et dans le monde en général [1], [2]. Ils poussent naturellement dans des régions tropicales et appartiennent au genre *Coffea* ainsi qu'à la famille des Rubiacées. Deux espèces dont *Coffea arabica* et *Coffea canephora* (ou caféier robusta), sont habituellement cultivées dans lesdites régions et sont plus utilisées pour des fins de production de la boisson [3].

Néanmoins, les caféiers, comme toutes les cultures des pays tropicaux sont soumis aux attaques d'un certain nombre d'insectes ravageurs dont *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* [4], [5], [6] et [7]. Ils en détruisent les fruits, les fleurs, les tiges et/ou les racines, ils peuvent également diminuer plus ou moins fortement la récolte, soit exceptionnellement la supprimer complètement et faire périr les caféiers [8] et [9]. L'attaque des cultures peut aussi entraîner des conséquences diverses aux drupes comme la perte du pouvoir germinatif des semences, de la qualité et de la quantité des cerises [10].

En province du Sud Kivu, durant les treize dernières années, la caféiculture est en régression. Cependant les pertes de rendement dues aux maladies, insectes, etc sont énormes (99%) et constituent un problème économique grave [11]. Afin de contribuer à la protection des cultures, l'usage des méthodes modernes et naturelles de protection des plantes respectivement à base des pesticides de synthèse et des plantes à effets insecticides sont en vogue depuis longtemps [12] [13] et [14]. Pourtant bon nombre des pesticides synthétiques comme ceux de la famille des organochlorés polluent l'environnement, portent atteinte à la santé de l'homme, ont des effets rémanents [15] et [16]. Cela étant, et compte tenu de l'abondance des plantes à effets insecticides dans la nature [17], [18] et [19], ce dernier temps l'intérêt grandissant est placé dans les plantes à effets insecticides afin de trouver de nouvelles sources potentielles de contrôle naturel des insectes [20]. Certaines substances chimiques contenues dans les plantes présentent des effets insecticides [20], [21] et [22]. Parmi ces produits, les alcaloïdes, les saponines, les terpènes, les stéroïdes et les quinones sont reconnus plus efficaces [20], [23], [24].

Dans la région du Sud Kivu, certaines plantes sont utilisées par la population pour protéger les denrées stockées contre les ravageurs. Parmi ces plantes *Capsicum frutescens* L a été plus cité par les agriculteurs paysans exploitant les petites superficies pour les cultures vivrières ainsi que les cultures industrielles d'exportation dans la région de Kabare Nord (communication personnel). Dans l'optique de trouver des substances alternatives aux pesticides de synthèse susceptibles de résoudre ces problèmes épineux sus évoqués et de contribuer à une gestion durable de l'environnement, il nous a semblé convenable de tester l'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpènes et stéroïdes extraits de *Capsicum frutescens* L contre la punaise du caféier. Ceux-ci sont généralement des insecticides sélectifs, non dangereux pour l'homme, biodégradables, non dangereux pour l'environnement et moins coûteux que les insecticides de synthèse [25], [15], [26] et [20].

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 RECOLTE DES PLANTES ET PREPARATION DES EXTRAITS

Les fruits de *Capsicum frutescens* L ayant fait l'objet de la présente étude ont été récoltés à Lwiro (1750 m d'altitude), territoire de Kabare, province du Sud Kivu, Est de la République Démocratique du Congo au cours du mois d'avril 2013. La plante a été identifiée avec les références de l'herbarium du laboratoire de Botanique du Département de Biologie, Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro (CRSN-Lwiro) où les spécimens sont gardés.

Ces fruits dont il est question ont été séchés à l'air libre au laboratoire de phytochimie du Département de Biologie, Centre de Recherche en Sciences Naturelles de Lwiro puis réduits en poudre dont une partie a été utilisée pour préparer les

extraits totaux ayant servis au pré test et une autre partie a été exploitée pour l'extraction des insecticides d'origine végétale et le screening phytochimique.

Après broyage et tamisage, 3kg de poudre ont été obtenus. Ensuite 20g de ceux-ci ont été macérés pendant 24 heures dans respectivement 250 ml d'éthanol à 70%, de l'eau distillée, de l'éther de pétrole, de benzène et l'hexane selon le cas. Après filtration au moyen du papier filtre Whatman et évaporation des solvants, les résidus représentant 15 à 20% des matières sèches ont été obtenus. Ces derniers ont été respectivement récupérés par 2 ml d'eau distillée afin de constituer la solution mère. Pour préparer la première dilution (10^{-1}), nous avons transvasé 9 ml d'eau distillée dans 1ml de chaque solution mère.

La deuxième dilution (10^{-2}), a été obtenue en transvasant 9 ml d'eau distillée dans 1 ml de la première dilution de chaque solution. Afin de répondre aux exigences des tests de toxicité, beaucoup d'extraits et solutions ont été préparés.

2.2 RÉCOLTE DES INSECTES

Les insectes (*Antestiopsis orbitalis ghesquierei*) ont été récoltés sur des plants des caféiers dans la plantation Bwengehera (latitude : 2°16'9,125''Sud, longitude : 28°48,25'44,65''Est, altitude : 1688 mètres) située à environ 500 mètres du CRSN-Lwiro et gardés au laboratoire d'entomologie agricole du Centre de Recherche en Sciences Naturelles pendant 48 heures pour raison d'acclimatation aux conditions de laboratoire.

2.3 PRÉ TEST D'ACTIVITÉ INSECTICIDE

À l'issue de la préparation des extraits éthanoliques et aqueux totaux tel que décrit ci-haut, 1ml de chaque solution de concentration 2g/ml a été déposé sur un quart de papier filtre au moyen d'une micropipette. Après évaporation du solvant à l'air libre, le papier filtre a ensuite été introduit dans un tube d'expérimentation de l'OMS (125 mm de long et 44 mm de diamètre ou 16 cm de long et 6 cm de diamètre) [23].

Nous avons ensuite placé respectivement 6 individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* dans chaque tube de l'OMS contenant les extraits.

Pour éviter la fuite des insectes, le tube a été fermé par un couvercle en toile métallique afin d'éviter la mort des insectes par asphyxie. Les tubes ont été gardés dans un endroit bien aéré. Le temps d'exposition a été fixé à 24 heures.

Un échantillon témoin a été constitué pour chaque pré test sans extraits de *Capsicum frutescens* L. Lors du dépouillement, les insectes ont été considérés morts si après la durée du pré test (24 heures), ils deviennent incapables de se mouvoir. Pour chaque extrait les essais ont été répétés trois fois.

2.4 SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES FRUITS DE *CAPSICUM FRUTESCENS* L.

Les résidus ainsi obtenus lors de la préparation des extraits ont servi à l'identification des familles des substances chimiques contenues dans les fruits de *Capsicum frutescens* L. comme les alcaloïdes, saponines, flavonoïdes, terpènes, stéroïdes, glucosides, caroténoïdes, phénols, quinones, tanins et les lipoïdes selon les méthodes classiques [27], [28], [29], [24] et [30].

Les alcaloïdes ont été identifiés en se basant sur leur solubilité dans l'eau. Ainsi leur détection a été faite respectivement par les tests aux réactifs de Mayer ($HgCl_2$, KI et H_2O), de Dragendorff [$Bi(NO_3)_3$, KI et H_2O], et de Wagner (KI, I_2 et H_2O) sur les extraits aqueux. L'apparition d'un précipité rouge-orange (pour les réactifs de Mayer et Dragendorff) et brun, rouge ou noir pour le réactif de Wagner témoigne la présence des alcaloïdes.

Quant aux saponines, les tests au dichromate de potassium (1%) acidifié par l'acide sulfurique (98%) et à la mousse réalisés sur l'extrait aqueux ont été utilisés pour les identifier. D'un côté, l'apparition de la coloration vert-sale pour le premier test et de la mousse persistante suite à une agitation vigoureuse pour le second test témoignent la présence des saponines.

Les glucosides ont été identifiés à partir des extraits aqueux par le test au réactif de Fehling ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ +tartrate double de potassium et de sodium+ H_2O) acidifié par HCl à 1%. La formation d'un précipité rouge-brique témoigne la présence des glucosides.

Les flavonoïdes quant à eux ont été détectés par le test à la soude caustique (1%) et à l'acide chlorhydrique (1%) réalisés sur l'extrait aqueux. La formation de coloration bleu-verdâtre indique la présence des flavonoïdes.

L'identification des terpènes a été faite sur base du test au réactif de Hurschson (acide acétique) effectué sur l'extrait organique étheré. La présence de la couleur jaune virant au rouge indique la présence des terpènes.

Les stéroïdes ont été également identifiés par le test au réactif de Lieberman-Burchard (acide acétique+acide sulfurique) réalisé sur l'extrait aqueux. L'apparition de la coloration mauve et vert témoigne la présence des stéroïdes.

Les tanins ont été recherchés au moyen du test au réactif de Stiasny (chlorure ferrique à 1%) réalisé sur l'extrait aqueux. La formation de coloration bleue, bleu-verte, bleu- sombre ou verte, témoigne la présence des tanins.

Les quinones ont été identifiées par le test à l'ammoniaque (1%) réalisé sur l'extrait organique benzénique. L'apparition de la coloration rouge-rosâtre indique la présence des quinones.

Les phénols ont été détectés par le test à $FeCl_3$ (1%) et à l'acide sulfurique (98%) mené sur l'extrait organique éthanolique. La formation de la couleur rouge- foncée, indique la présence des phénols.

Les caroténoïdes ont été recherchés sur l'extrait organique étheré par le test à l'acide chlorhydrique à (1%) et à l'acide sulfurique (98%). L'apparition de la couleur vert-bleue, indique la présence des caroténoïdes.

Enfin les lipoïdes ont été détectés par le test à l'acide sulfurique (98%) réalisé sur l'extrait organique à base de l'hexane. La formation de la couleur violette témoigne la présence des lipoïdes.

2.5 EXTRACTION DES SUBSTANCES ORGANIQUES INSECTICIDES

Les résidus obtenus durant la préparation des extraits tant organiques qu'aqueux ont servi à l'extraction des substances organiques insecticides telles que les alcaloïdes, les saponines, les terpènes et les stéroïdes selon les méthodes classiques [24], [31] et [32]. Les terpènes et les stéroïdes ont été extraits en se basant sur leur solubilité dans l'éthanol. Après filtration des extraits organiques et évaporation à sec de la phase liquide, le résidu noir obtenu a été récupéré avec un mélange hexane-eau (2/1). Il apparaît deux phases : une phase aqueuse claire contenant les terpènes et une phase sombre contenant les stéroïdes qui sont ensuite séparées par décantation dans une ampoule à décanter. La première phase à récupérer est celle qui contient les stéroïdes, elle a été évaporée à sec et le résidu de stéroïdes ainsi obtenu a été récupéré dans 2 ml d'eau distillée pour le test d'activité. La phase aqueuse terpénique a été de même évaporée et le résidu sec de terpènes obtenu a été récupéré dans 2 ml d'eau distillée pour le test d'activité.

Quant aux alcaloïdes, ils ont également été extraits en se basant sur leur solubilité dans l'eau. Après filtration des extraits aqueux et évaporation à sec du filtrat, le résidu huileux noirâtre obtenu a été récupéré par 250 ml de l'hydroxyde de sodium 2N pendant. En suite, après filtration de la solution huileuse basifiée et évaporation à sec de la solution aqueuse de la base, le résidu jaunâtre ainsi obtenu a été également récupéré avec le réactif de Prollius (un mélange diéther-chloroforme-eau-ammoniaque dans les proportions 25/8/2/2,5). Puis après agitation vigoureuse durant 2 minutes en vue de favoriser un meilleur contact entre les alcaloïdes libérés par la base et le solvant récupérateur ainsi qu'un repos de 24 heures pour une récupération optimale des alcaloïdes, il y a apparition de deux phases dont une organique claire surnageant contenant les alcaloïdes et une phase aqueuse sombre contenant les déchets qui sont ensuite séparées par décantation dans une ampoule à décanter. La phase organique alcaloïdique a été enfin évaporée à sec et le résidu sec d'alcaloïdes obtenu a été récupéré dans 2 ml d'eau distillée pour le test d'activité.

En dernier lieu, les saponines ont été aussi extraites en se basant sur leur insolubilité dans l'eau et leur solubilité dans l'éthanol. Après filtration des extraits organiques et évaporation à sec de la phase liquide, le résidu brun noir ainsi obtenu a été dégraissé avec 20 ml d'hexane et ensuite évaporé à sec. Ce résidu nouvellement obtenu a été de nouveau dissout dans le mélange méthanol-eau en proportion (4/1). Puis les saponines contenues dans cette solution ont été précipitées par 25 ml de diéther. Après une troisième évaporation du solvant organique ajouté précédemment, un résidu brun noir a été une fois de plus obtenu auquel le mélange méthanol-diéther a été ajouté dans les rapports (2/1). Cette dernière solution ainsi obtenue a été transvasée dans les tubes à essai lesquels étaient déposés dans des tubes à Godets et soumis à la centrifugation pendant cinq minutes à raison de 3000 tours par seconde puis reposé pendant 24 heures avant de séparer la phase trouble se trouvant au fond de la phase surnageant contenant les saponines. Enfin l'évaporation à sec de cette dernière a donné un résidu sec des saponines de couleur brun-noir lequel a été récupéré dans 2 ml d'eau distillée pour le test de toxicité.

2.6 TEST D'ACTIVITÉ INSECTICIDE

Après extraction des principes actifs sus évoqués, diverses doses d'ordre de 0,636 g/ml ; 0,0636 g/ml et 0,00636 g/ml ont été préparées tel que décrit ci-haut. 1ml de chaque solution à dose donnée a été déposé sur un quart de papier filtre à l'aide d'une micropipette. Après évaporation du solvant à l'air libre, le papier filtre a ensuite été introduit dans un tube d'expérimentation de l'OMS (125 mm de long et 44 mm de diamètre ou 16 cm de long et 6 cm de diamètre) [23].

Ainsi, nous avons placé respectivement 6 individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* dans chaque tube de l'OMS contenant les principes actifs. De même, 6 individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* ont été introduits dans des tubes ou cylindres contenant chacun le papier filtre sec préalablement imbibé dans l'eau distillée ainsi que dans les solutions de Dimethoate et Supadip aux doses respectives de 1ml/l ; 0,1 ml/l et 0,01 ml/l. Ces deux pesticides de synthèse ont servi comme témoins positifs, tandis que l'eau distillée a jouée le rôle du témoin négatif.

Afin d'éviter la fuite desdits insectes, le cylindre a été fermé par un plastique troué par une aiguille pour éviter la mort des insectes par asphyxie. Les tubes ont été gardés dans un endroit bien aéré. Le temps d'exposition a été fixé à 24 heures.

Lors du dépouillement, les insectes ont été considérés morts si après la durée du test (24 heures), ils deviennent incapables de bouger. Le taux de mortalité corrigée a été calculé par la formule d'Abott [33] ci-après :

$$Mc = \frac{Mo - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Avec Mc = taux de mortalité corrigée ; Mo = taux de mortalité observée chez les insectes traités ; Mt = taux de mortalité naturelle observée chez les témoins

Après dépouillement, les données ainsi obtenues ont été soumises à l'analyse pour déterminer les doses létales DL₅₀ et DL₉₀ c'est-à-dire les doses nécessaires qui tuent respectivement 50% et 90 % des insectes à une durée donnée. Elles ont été calculées pour chaque pesticide d'origine végétale après la durée du test d'activité insecticide. Ainsi la méthode de Probit et la régression linéaire ont été utilisées [34], [35] et [36].

3 RESULTATS

3.1 PRÉ-TEST D'ACTIVITÉ INSECTICIDE

Les résultats du pré-test d'activité insecticide des extraits aqueux et éthanoliques totaux des fruits de *Capsicum frutescens* L après 24 heures de contact sont présentés dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1. Taux de mortalité après 24 heures pour les extraits de *Capsicum frutescens* L (2 g/ml) et de témoin négatif (eau)

Extrait	Taux de mortalité en %
Extrait aqueux	100
Extrait organique	100
Témoin	0

Comparativement au témoin négatif, il ressort des résultats présentés dans le tableau 1 que tous les extraits totaux ont présenté après 24 heures de contact une très grande activité insecticide à l'égard d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, ravageurs des caféiers.

Cela étant, nous avons opté pour la recherche des substances chimiques contenus dans les fruits de *Capsicum frutescens* L. ainsi qu'à leur test d'activité insecticide à l'égard de la punaise du caféier.

3.2 SCREENING PHYTOCHIMIQUE DES FRUITS DE *CAPSICUM FRUTESCENS* L.

Les résultats relatifs à l'identification des familles des principes actifs naturels contenus dans les fruits de *Capsicum frutescens* L. sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Résultats globaux de la recherche des substances actives dans les fruits de *Capsicum frutescens* L.

Familles de substances chimiques naturelles recherchées	Résultats obtenus
Saponines	++
Alcaloïdes	+++
Glucosides	+
Flavonoïdes	+++
Tanins	+
Terpènes	+++
Stéroïdes	+++
Quinones	+
Phénols	+++
Caroténoïdes	+++
Lipoïdes	+++

Légende

+++ : Fortement présent ; ++ : Moyennement présent ; + : Faiblement présent

Au vu des résultats présentés dans le tableau 2 relatif au screening phytochimique des fruits de *Capsicum frutescens* L, il sied de signaler ce qui suit :

- Les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpènes, les stéroïdes, les caroténoïdes et les lipoïdes sont fortement présents ;
- Les saponines sont moyennement présentes ;
- Les tanins, les quinones et les glucosides sont faiblement présents.

Signalons que ce test a été réalisé afin de vérifier si la plante *Capsicum frutescens* L cultivée dans la région de Kabare Nord possède les substances actives semblables à celles observées dans d'autres plantes de *Capsicum frutescens* L cultivées dans d'autres régions différentes de celle de Sud Kivu car selon [37], la présence des composés phytochimiques dans les fruits de diverses espèces de plantes, peut être affectée par le génotype, les conditions du développement et de croissance, la maturité, le conditionnement, les conditions de stockage, etc.

3.3 ACTIVITES INSECTICIDES DES ALCALOÏDES, SAPONINES, TERPENES ET STEROÏDES APRES 24 HEURES D'EXPOSITION

Les résultats du test d'activité insecticide des alcaloïdes, saponines, terpènes et stéroïdes extraits des fruits de *Capsicum frutescens* L à l'issue des temps d'exposition sont repris dans le tableau 3.

Tableau 3. Taux de mortalité moyenne corrigée (en %, ± écart-type) relevée 24 heures après traitement avec des alcaloïdes, saponines, stéroïdes, terpènes extraits de *Capsicum frutescens* L et les pesticides synthétiques (Supadip et Diméthoate)

Substances organiques insecticides testées						Témoins positifs			Témoin négatif
Dose en g/ml des substances organiques testées	Alcaloïdes	Saponines	Stéroïdes	Terpènes	Dose	Supadip	Diméthoate	Eau	
Solution mère	0,636	100± 0	33,3±1,247	57±0,816	16±1,699	1 ml/l	100±0	100±0	0
Première dilution	0,0636	44± 3,266	16,7±1,699	16,7±1,699	16,7±2,449	0,1 ml/l	100±0	0±0	0
Deuxième dilution	0,00636	16±1,633	0±0	0±0	0±0	0,01 ml/l	50±1,633	0±0	0

Au vu des résultats présentés dans le tableau 3 et la figure 1, il s'avère qu'à l'exception du témoin négatif (eau distillée), toutes les substances insecticides testées ont été différemment actives contre *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* proportionnellement aux doses utilisées. Afin de savoir si les activités de ces produits insecticides différaient statistiquement ou pas, un test d'analyse de la variance a été réalisé.

Le tableau 4 ci-dessous présente les résultats de l'analyse de la variance de la mortalité par rapport au traitement, à la concentration et à leurs interactions.

Tableau 4. Analyse de la variance de la mortalité selon le traitement; la concentration et leurs interactions

	dl	SC	MC	F	P	Decision
Ord.Orig.	1	74000,02	74000,02	35488,46	0,000000	Hs
Traitement	5	33093,87	6618,77	3174,19	0,000000	Hs
Concentration	2	29691,37	14845,69	7119,60	0,000000	Hs
traitement*concentration	10	13639,07	1363,91	654,09	0,000000	Hs
traitement*repetitions	10	30,19	3,02	1,45	0,230527	Ns
concentration*repetitions	4	6,52	1,63	0,78	0,550387	Ns
Erreur	20	41,70	2,09			
Total	51	76522,98				

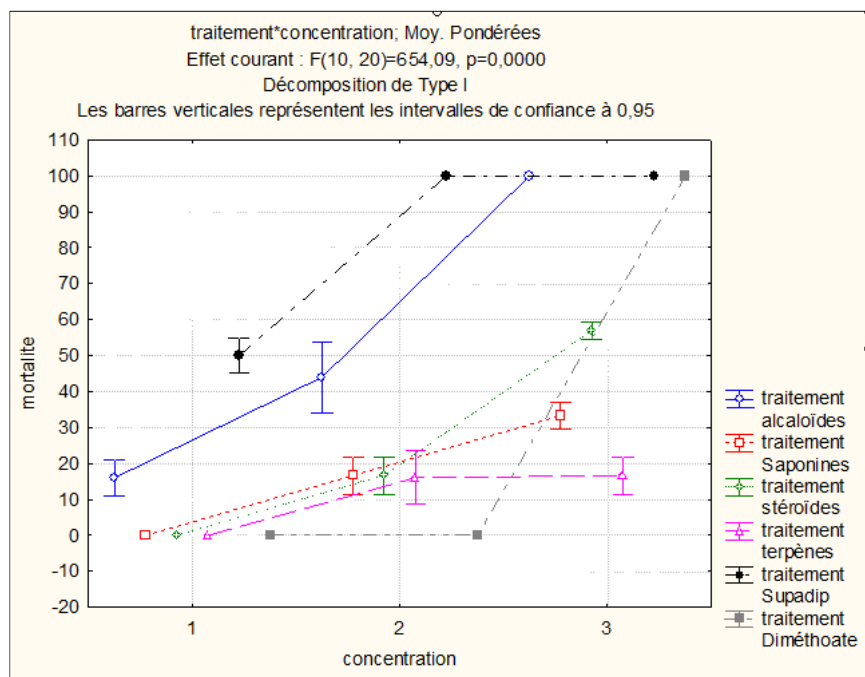
Legend

hs= hautement significatif, ns= non significatif, F= Fischer calculé,

dl= degré de liberté, Probabilité, SC= somme des carrés des écarts, MC= carré moyen, ord.orig= ordonnées à l'origine

Au regard des résultats présentés dans le tableau 4, il s'avère que la mortalité des individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquiere* varie très significativement selon le traitement, la concentration ainsi qu'avec l'interaction des traitements et les concentrations (doses) des substances insecticides testées.

Concernant les solutions à forte dose (0,636g/ml pour les pesticides d'origine végétale et 1ml/l pour les pesticides synthétiques), les alcaloïdes, le Supadip et le Diméthoate présentent une toxicité identique, mais la plus élevée à l'égard d'*Antestiopsis orbitalis ghesquiere* (100% de mortalité), ils sont suivis respectivement des stéroïdes (57% de mortalité), des saponines (33,3%) et enfin des terpènes (16%) (Figure 2). Quant aux solutions à dose moyenne (0,0636g/ml pour les pesticides d'origine végétale et 0,1ml/l pour les pesticides synthétiques), les effets insecticides du Supadip à l'endroit de la punaise du caféier ont été supérieurs à ceux d'autres substances testées (100% de mortalité). Les alcaloïdes viennent en deuxième position (44% de mortalité) et sont suivis de trois autres insecticides d'origine végétale ayant les mêmes effets insecticides dont les stéroïdes les saponines et les terpènes (16,7% de mortalité). A cette dose, le Diméthoate ne présente aucune toxicité sur *Antestiopsis orbitalis ghesquiere* (0% de mortalité) (figure 3). A propos des solutions à faible dose (0,00636g/ml pour les pesticides d'origine végétale et 0,01ml/l pour les pesticides de synthèses), seuls le Supadip et les alcaloïdes se sont révélés toxiques contre la punaise du caféier. Toutefois, l'activité insecticide du Supadip était supérieure à celle des alcaloïdes (respectivement 50% et 16% de mortalité) (figure 4). Particulièrement, pour les insecticides d'origine végétale testés, les résidus d'alcaloïdes semblent être plus actifs que les résidus d'autres extraits des fruits de *Capsicum frutescens L* suivis des stéroïdes puis des saponines et enfin des terpènes.

Fig 1. Evolution du taux de mortalité corrigée d'*Antestiopsis orbitalis ghesquiere* selon différentes concentrations (doses) des traitements

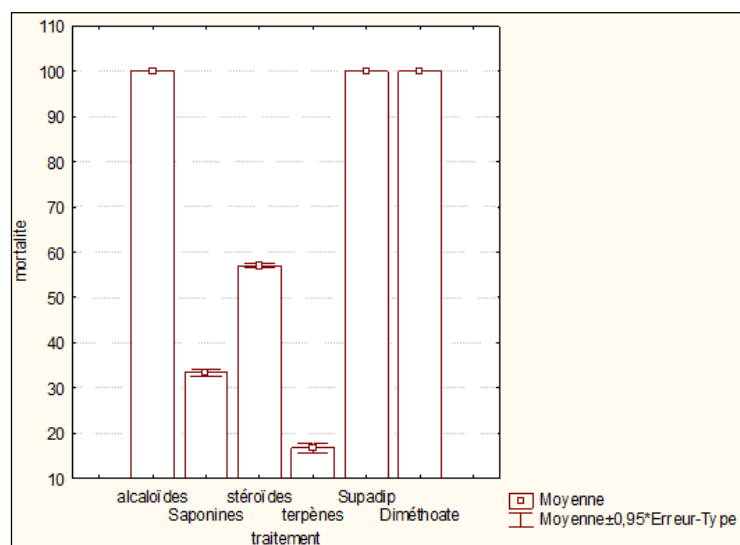


Fig 2. Evolution du taux de mortalité corrigée d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* selon les solutions à forte dose (concentration 3) des traitements

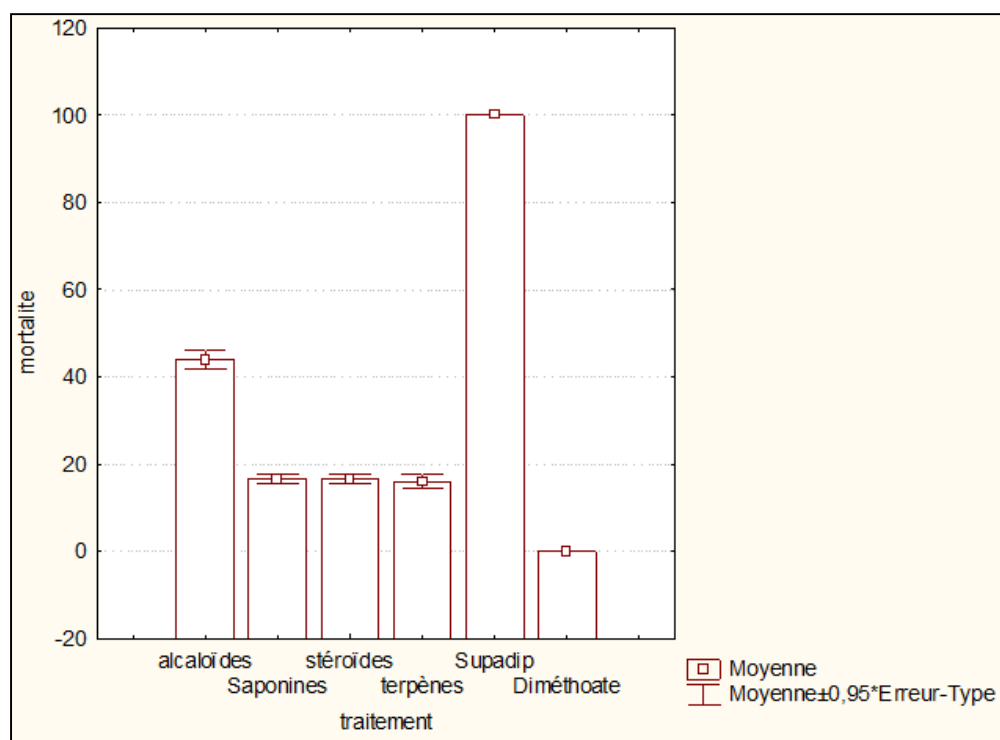


Fig 3. Evolution du taux de mortalité corrigée d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* selon les solutions à dose moyenne (concentration 2) des traitements

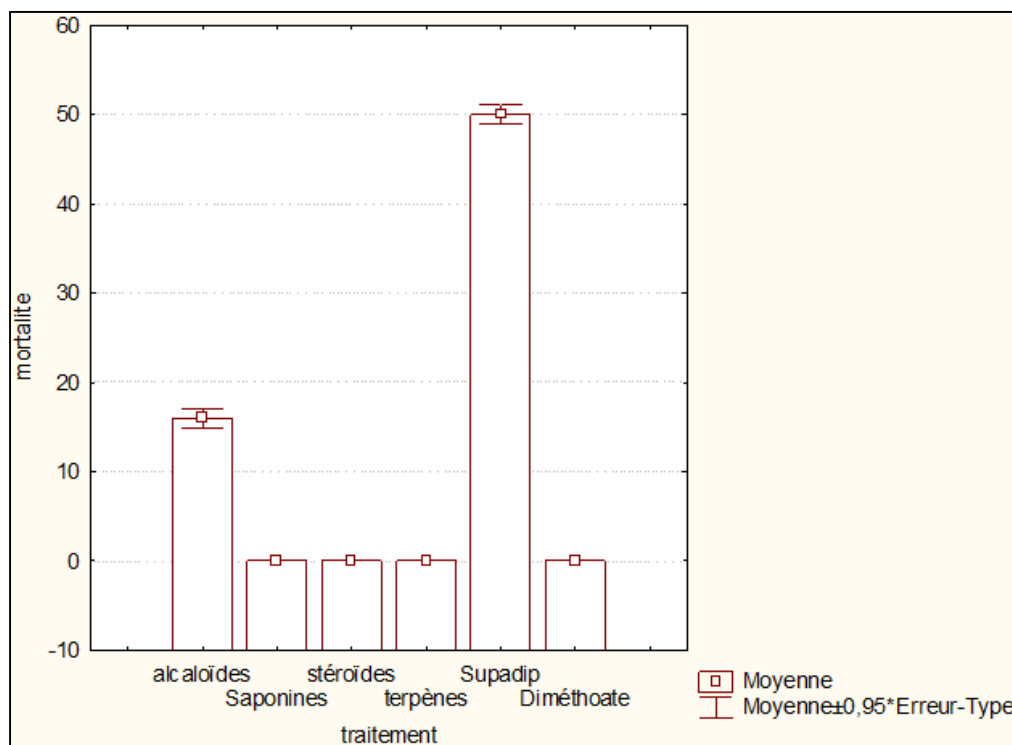


Fig 4. Evolution du taux de mortalité corrigée d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* selon les solutions à faible dose (concentration 1) des traitements

3.4 DETERMINATION DES DOSES LÉTALES DL_{50} ET DL_{90} DES SUBSTANCES ORGANIQUES INSECTICIDES EXTRAITES DE *CAPSICUM FRUTESCENS L* ET TESTÉES CONTRE *ANTESTIOPSIS ORBITALIS GHESQUIEREI*

Les résultats relatifs aux doses létales des extraits des alcaloïdes, des saponines, des terpènes et stéroïdes sont repris dans le tableau 5 ci-dessous :

Tableau 5. Doses létales (en g/ml, \pm écart-type) des résidus des alcaloïdes, des saponines, des terpènes et stéroïdes extraits des fruits de *Capsicum frutescens L* testés sur *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* après 24 heures de contact

Résidus des substances extraites et testées	Doses létales DL_{50}	Doses létales DL_{90}
Alcaloïdes	0,21 \pm 0,015	0,53 \pm 0,008
Saponines	0,93 \pm 0,054	1,77 \pm 0,092
Stéroïdes	0,54 \pm 0,012	1,01 \pm 0,019
Terpènes	1,70 \pm 0,277	3,19 \pm 0,497

Au regard des résultats présentés dans le tableau 5, il s'avère que les doses létales DL_{50} varient d'une substance organique insecticide à l'autre. Cependant, les alcaloïdes présentent une faible dose létale DL_{50} par rapport aux autres principes actifs des fruits de *Capsicum frutescens L* testés. Cela étant, il s'avère que les alcaloïdes seraient les insecticides d'origine végétale les mieux recommandés pour cette étude dans la lutte contre les individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, insectes ravageurs des caféiers du fait qu'un bon insecticide de contact devrait réagir efficacement à faible dose.

4 DISCUSSION

Le tableau 2 signale une forte présence des alcaloïdes, des phénols, des flavonoïdes, des terpènes, des stéroïdes, des caroténoïdes et des lipoïdes; la présence moyenne des saponines et enfin la faible présence des tanins, des quinones ainsi que des glucosides dans les fruits de *Capsicum frutescens L*. Cette présence quoiqu'elle soit forte, moyenne ou faible confirme la vertu thérapeutique de *Capsicum frutescens L* [38], [39], [40], [41], [42], [43], [44], [45], ainsi que le pouvoir répulsif affiché par les poudres des fruits de *Capsicum frutescens L* à l'égard de certains insectes nuisibles aux cultures

comme *Callosobruchus maculatus* F [46], [47] et [48], *Rhyzopertha ominica* L [49], *Sitophilus zeamais* Motsch et *Tribolium castaneum* (Herbst) [50], [51].

Les résultats relatifs à la présence des alcaloïdes, flavonoïdes et stéroïdes dans la présente étude sont conformes à ceux obtenus par [30], [52], [53], [54], [55] ainsi que [20]. Quant aux phénols, ces résultats sont similaires à ceux trouvés par [55].

La présence moyenne des saponines dans les fruits de *Capsicum frutescens* L concorde avec les résultats des études réalisées par [56], [57], [45], [58] ainsi que [59].

La faible présence des tanins ainsi constatée, est analogue aux résultats de l'étude menée par [60].

En plus de la présence des alcaloïdes, flavonoïdes, stéroïdes, saponines et tanins ci-haut évoquée dont les recherches réalisées par nos prédécesseurs ont également révélées, la présente étude signale la présence des terpènes, des stéroïdes, des caroténoïdes, des lipoïdes, des quinones et des glucosides dans les fruits de *Capsicum frutescens* L cultivé dans la région de Kabare Nord. Ces substances organiques constituent de nouvelles sources potentielles de contrôle des insectes ravageurs des cultures ou des denrées stockées.

Les résultats présentés dans le tableau 3 et la figure 1 montrent qu'à l'exception du témoin négatif (eau distillée), toutes les substances insecticides testées ont été différemment actives contre *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* proportionnellement aux doses utilisées. Selon les résultats contenus dans le tableau 4, il s'avère que la mortalité des individus de la punaise du caféier varie très significativement selon le traitement, la concentration ainsi qu'avec l'interaction des traitements et les concentrations des substances insecticides testées.

En général, l'activité insecticide de Supadip a été supérieure à celle de tous les autres produits insecticides testés respectivement aux doses faible équivalente à 0,01ml/l (figure 4) et moyenne d'ordre de 0,1ml/l (figure 3). Par contre à la dose forte d'ordre de 0,636mg/ml, les alcaloïdes extraits de *Capsicum frutescens* L ont un effet similaire à celui des insecticides industriels Supadip et Diméthoate (mortalité équivalente à 100%). Les stéroïdes quant à eux, ont une mortalité de 57 % à la forte dose (0,636g/ml) ; tandis que les saponines et les terpènes avaient un effet minimal (mortalité respective de 33,3% et 16 %) à ladite forte dose (figure 2). Le Supadip a été plus actif que les autres insecticides pour toutes les doses utilisées, il a été suivi des alcaloïdes. A propos des insecticides d'origine végétale testés, les résidus d'alcaloïdes ($DL_{50} = 0,21 \pm 0,015$ g/ml : voir tableau 5) semblent être plus actifs que les résidus d'autres extraits des fruits de *Capsicum frutescens* L suivi des stéroïdes ($DL_{50} = 0,54 \pm 0,012$ g/ml : voir tableau 5) puis des saponines ($DL_{50} = 0,93 \pm 0,054$ g/ml : voir tableau 5) et enfin des terpènes ($DL_{50} = 1,70 \pm 0,277$ g/ml : voir tableau 5). L'activité insecticide remarquable des alcaloïdes a été également observée chez *Bemisia tabaci* [20] et chez *Callosobruchus maculatus* [13]. Quant aux stéroïdes et terpènes extraits de *Capsicum frutescens* L, leur activité insecticide signalée dans ce travail a été aussi constatée chez *Acanthoscelides obtectus* pour les stéroïdes et terpènes extraits respectivement de *Haumaniastrum galeopsifolium*, *Chenopodium ugandae*, *Occimum gratissimum*, *Artemisia annua* et *Tagetes minuta* [61]. L'effet toxique de saponines extraites de *Capsicum frutescens* L a aussi été observé chez *Bemisia tabaci* [20], chez *Ostrinia nubilalis* [62] et chez *Callosobruchus chinensis* [63]. Comme tout invertébré exposé aux substances naturelles extraites des plantes, la mortalité observée chez *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* serait due à la toxicité induite par les alcaloïdes, les stéroïdes, saponines et les terpènes [49], [64] et [51].

Compte tenu de l'efficacité des alcaloïdes extraits de *Capsicum frutescens* L à l'égard d' *Antestiopsis orbitalis ghesquierei* tant pour les doses forte (0,636 g/ml) et moyenne (0,0636 g/ml) que pour la faible dose (0,00636 g/ml), vu que les insecticides naturels sont facilement disponibles et leurs préparations ne coûtent presque rien contrairement aux insecticides de synthèse, de plus étant donné que les produits naturels ne sont généralement pas toxiques pour les êtres humains et se dégradent rapidement dans l'environnement [26], il serait nécessaire d'utiliser les alcaloïdes extraits de *Capsicum frutescens* L dans la lutte contre la punaise du caféier comme substances alternatives aux pesticides synthétiques pollueurs de l'environnement.

5 CONCLUSION

La présente étude avait pour objectif d'évaluer les effets insecticides des alcaloïdes, saponines, terpènes, les stéroïdes extraits de *Capsicum frutescens* L sur *Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, insectes ravageurs des caféiers.

Au terme des investigations il a été constaté ce qui suit :

- Le pré-test d'activité insecticide a indiqué que comparativement au témoin à blanc, tous les extraits totaux (aqueux et éthanoliques) ont présenté après 24 heures de contact une activité insecticide à l'égard d'*Antestiopsis orbitalis ghesquierei* (100% de mortalité).

- Le screening phytochimique a révélé que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpènes, les stéroïdes, les caroténoïdes et les lipoides sont fortement présents dans les fruits de *Capsicum frutescens* L ; les saponines sont moyennement présentes dans les fruits de *Capsicum frutescens* L et enfin les tanins, les quinones et les glucosides sont faiblement présents dans les fruits de *Capsicum frutescens* L.
- Le test d'activité insecticide réalisé à base des alcaloïdes, saponines, terpènes et stéroïdes extraits de *Capsicum frutescens* L ainsi que les pesticides de synthèse (Supadip et Diméthoate) dénotent que la mortalité des individus d'*Antestiopsis orbitalis ghesquiere* varie très significativement selon le traitement, la concentration (dose) ainsi qu'avec l'interaction des traitements et les concentrations des substances insecticides testées. Globalement, à l'exception du témoin négatif (eau), l'activité insecticide de Supadip a été supérieure à celle de tous les autres produits insecticides testés respectivement aux doses faible d'ordre de 0,01ml/l et moyenne équivalente à 0,1ml/l. Par contre à la dose forte (0,636mg/l), les alcaloïdes extraits de *Capsicum frutescens* L ont un effet similaire à celui des insecticides industriels Supadip et Diméthoate (mortalité équivalente à 100%). Les stéroïdes quant à eux, ont une mortalité de 57 % à la forte dose (0,636g/ml) ; tandis que les saponines et les terpènes avaient un effet minimal (mortalité respective de 33,3% et 16 %) à ladite forte dose.
- Les doses létales DL₅₀ varient d'un insecticide d'origine végétale à l'autre. Cependant, les alcaloïdes présentent une faible dose létale DL₅₀ par rapport aux autres principes actifs extraits des fruits de *Capsicum frutescens* L et testés sur la punaise du caféier.

Tenant compte de ce qui précède et étant donné la nécessité de contribuer à l'atténuation de la pollution de l'environnement due aux pesticides synthétiques, les alcaloïdes extraits de *Capsicum frutescens* L seraient recommandés comme insecticides alternatifs aux pesticides de synthèse pollueurs de l'environnement dans la lutte contre *Antestiopsis orbitalis ghesquierei*, insectes ravageurs des caféiers du fait qu'un bon insecticide de contact devrait réagir efficacement à faible dose.

Dans l'optique de compléter cette étude, il serait intéressant de mener les études similaires sur les autres insectes ravageurs des caféiers ainsi que les organismes non cibles.

REMERCIEMENTS

Nos sincères remerciements s'adressent aux techniciens de recherche du Département de Biologie du Centre de Recherche en Sciences Naturelles-Lwiro (CRSN-LWIRO) notamment ceux des Laboratoires de Phytochimie, Malacologie, Botanique et Entomologie agricole pour leur collaboration lors de nos investigations.

REFERENCES

- [1] Dusabeyezu B., La place du café dans l'économie africaine, 2^{ème} édition, éditions des presses universitaires du Zaïre Kinshasa, pp.198, 1978.
- [2] Nyabyenda P., Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitudes d'Afrique : cultures industrielles et d'exportations, cultures fruitières, cultures maraichères, Presses Agronomiques de Gembloux, Collection CTA, Belgique, pp.238, 2006.
- [3] Coste R., Caféiers et cafés, Ed. Maisonneuve, Paris, pp.165, 1989.
- [4] F. Okelana , " Sexual dimorphism, sex ratio and size variation in adult Cephonodes hylas L (Lepidoptera: Shingidae) infesting coffee in Nigeria". *Cocoa Res. Inst. Nigr. Ibadan*, 31, 2, pp.135-140, 1987.
- [5] R. Dadant, « Le caféier en Nouvelle- Calédonie. Ses maladies ». *Agro. Trop., Nogent-s-Marine*, vol.9, n° 1, pp.49-58, 1954.
- [6] G. A. Filani , "The status of *Hemileia* leaf rust of coffee (*Coffea arabica* L) in Nigeria". *Nig. J. Plant Prot*, 4, pp.38-42, 1978.
- [7] E. A. Fawole, " Integrated Pest Management for major diseases of coffee .63p , Ann. Rept. 2000. In: *CRIN mandate Crops stakeholders' Forum*". *CRIN, Ibadan, Nigr. 27-29 March, 2001*.
- [8] Pochet et Fleama, Le caféier, Agriculture en Afrique Tropicale, DGCI, Bruxelles, pp.987-1017, 2001.
- [9] F. Okelana, "Oviposition pattern, hatching and parasitism of eggs of Epicampoptera strandi Bryk. Sub. Sp. Glauca Hmps. (Lepidoptera: Drepanidae) on Coffee in Nigeria". *Cocoa Res. Inst. Nigr. Ibadan*, 29, 4, pp.273-276, 1985.
- [10] D.S. Hill et J. M. Waller, " Pests and diseases of Tropical crops". *Langman Scientific and Technical*, 2, pp.432, 1994.
- [11] Ipapel, Rapport de l'Inspection Provinciale de l'Agriculture, Pêche et Elevage du Sud Kivu sur les statistiques de production végétale de 2000 à 2012, pp.10-13, 2012.

- [12] Matoko, Effets de la poudre et des extraits de plantes insecticides sur deux insectes de stock des denrées alimentaires *Callosobruchus maculatus* Fab et *Sitophilus oryzae* L. (Coléoptères bruchidae et Cucurlionidae), Thèse de doctorat 3^e cycle, Université de Dschang, Cameroun, pp.300, 1995.
- [13] Semacumu et Kouabou, « Effets d'extraits de plantes sur la bruche du niébé (*Callosobruchus maculatus* Fab) et le charançon du riz (*Sitophilus oryzae* Y.) », Note de recherche; *Cahiers Agriculteurs*, 5, 1, pp.39 – 42, 1996.
- [14] M. C. Teugwa M, G. Piam, P. Tane , Z. P. R. Amvam , « Activité insecticide des extraits d'*Ageratum haustanianum*, de *Clausena anisata* et de *Cratan macrastachyus* sur la bruche du niébé (*Vigna unguiculata* Walp) ». *Faad-Africa*, pp.1- 4, 2002.
- [15] Regnault R., Philogène B. J. R., Vincent C., Biopesticides d'origine végétale, 2^{ème} édition, Lavoisier, Paris, pp.550, 2008.
- [16] A. Bouchelta, A. Boughdad , H. Meftah ,« Effet biocide des extraits aqueux bruts de *Capsicum frutescens* L, *Melia azedarach* et *Peganum harmala* sur *Euphyllura olivine* Costa (Homoptera, Psyllidae) en verger ». *Cah Agric*, 20, 6, pp.463-467, 2011.
- [17] Glietho, Ketoh K G., Nuto P Y., Amevoin S K., Huignard, Approches non toxiques et non polluantes pour le contrôle des populations d'insectes nuisibles en Afrique du Centre et de l'Ouest. 207-217. In *Regnault-Roger C., Philogène B.J.R., Vincent, C* (éds). *Biopesticide d'origine Végétale jme édition*. Lavoisier, TEC & DOC, Paris, pp.550, 2008.
- [18] Arnason, Durst T., Philogène B. J. R., Scott L M., Prospection d'insecticides phytochimiques de plantes tempérés et tropicales communes ou rares. 88-99. In *Regnault-Roger C., Philogène B J R et Vincent C.*, (éds). *Biopesticides d'origine Végétale 2ème édition*. Lavoisier, Paris, TEC & DOC, pp.550, 2008.
- [19] Chîasson, Delisle U., Bostanian N J., Vincent C., Recherche, développement et commercialisation de FACIN, un biopesticide d'origine végétale. Étude d'un cas de réussite en Amérique du Nord, p. 451-463. In *Regnault-Roger C., Philogène B J R., Vincent C.* (éds). *Biopesticides d'origine Végétale 2ème édition*. Lavoisier, Paris, TEC & DOC, pp.450, 2008 .
- [20] A. Bouchelta, A. Boughdad , A. Blenzar, “Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (*Hom ; Aleyrodidae*) ». *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* , 9 ,pp.259-69, 2005.
- [21] M. B. Isman, A. J. Wana , C. M. Passreiter, “Insecticidal activity of essential oils to *Tobacco cutworm, Spodoptera litura*”, *Fitorapia*, 72, pp.65-68, 2001.
- [22] Jacobson M., Insecticides from plants : Areview of literature, 1954-1971, Agricultural Handbook, US Departement of Agriculture , Washington, D.C, pp.138, 1975.
- [23] K. Basabose, M. Bagalwa, K. Cifundera, “Anophelinocidal activity of volatile oil from *Tagetes minuta* L (Asteraceae)”, *Tropicultura*, 15, 1, 8-9, 1997.
- [24] Sofowora A., Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique, Ed.Karthala, Paris, pp.321, 1996.
- [25] H. Rembold , « Advances in invertebrate reproduction”, *Elsevier Science Publishers*, 3, pp.481-491, 1994.
- [26] Marna L C., Gikaru G., Ajayi F., Les avantages des pesticides naturels. *Agriculteurs Africains*, pp.158, 1990.
- [27] T. Adebayo, A. Adegoke , “Phytochemical and microbial screening of herbal remedies in Akwa Ibom State, South Southern Nigeria”, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2, 11, pp.306-310, 2008.
- [28] Culei, Methodolody for the analysis of vegetable drugs. Practical Manual on the industrial Utilisation of Medicinal and Aromatic Plants Center Building, Romania, pp.67-81, 1982.
- [29] Dossseh, Moretti., Tessier A M., Delaveau P., Etude chimique des feuilles de *Byrsonima Verbascifolia* Rich. Ex Juss, *Plantes médicinales et Phytothérapie*, Tome 14, 3, pp.136-142, 1980.
- [30] N. Koffi, K. Beugré, N. Guédé, Zirihi., Dossahoua, Traoré, A. Laurent, « Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d’Ivoire) ». *Sciences & Nature*, 6, 1, pp.1 – 15, 2009.
- [31] Perrot E M., *Matières premières usuelles du règne végétal*, Tome 1et 2. Masson et Cie éditeur, Paris, pp343, 1944.
- [32] Pirie N W., *General methods of separation, making and handing extracts in modern methods of plant analysis*. Springer-Verlag, RFA, pp.26-54, 1956.
- [33] Busvine J R., A critical review of technics for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureau, England, pp.267, 1971.
- [34] J M. Kabarou, L. Gichia , “Insecticidal activity of extracts derived from different parts of the mangrove tree *Rizophora mucronata* (Rizophoraceae) Lam against three arthropods”. *Africa Journal of Science and Technology, Science and Engineering Series*, 2, 2, pp.44-49, 2001.
- [35] Finney D J., *Probit analysis*. Cambridge University Press, pp.318, 1952.
- [36] Zar J H., *Biostatistical analysis*, 2nd Edition, Prentice-Hall International, London, pp.718, 1984.
- [37] D. Zang , Y. Hamauru, “Phenolic compounds, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of grebe, red and yellow bell peppers”. *Food, Agric., Environ.* 1, 2, pp. 22–27, 2003.

- [38] C. Deall , T. J. Schnitzer , E. Lipstein , J. R. Seibold , R. M. Stevens., M. D. Levy , D. Albert , F. Renold , "Treatment of arthritis with topical capsaicin: A doubleblind trial". *Clin. Ther.* 13, 3, pp.383–395, 1991.
- [39] L. Lopez, M. Avila, R. Dubrow , "Chilli pepper consumption and gastric cancer in Mexico: A case-control study". *Am. J. Epidem.* 139, 3, pp.263–271, 1994.
- [40] V. Therry, "Capsaicine en dermatologie". *Ann. Pharm.* 45, 2, pp.20–23, 1994.
- [41] S. Abdel, O. Moszik, J. Szolcsanyi , "Studies on the effect of intragastric capsaicin on gastric ulcer and on the prostacyclin-induced cytoprotection in rats". *Pharmacol Res*, 32, 4, pp.209–215, 1995.
- [42] R. H. Chichewicz, P. A. Thorpe , "The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine". *J. Ethnopharm.* 52, pp.61–70, 1996.
- [43] W. Wang, H. D. Schultz , R. Ma, « Cardiac sympathetic afferent sensitivity is enhanced in heart failure". *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 277, 2, pp.812–817, 1999.
- [44] I. Tolan, D. Ragoobirsingh, E. Y. Morisson, "The effect of capsaicin on blood glucose, plasma insulin levels and insulin binding in dog models". *Phytother. Res.*, 15, 5, pp.391–394, 2001.
- [45] M. Iorizzi, V. Lanzotti , G.R.S. De Marino, F. Zollo, « Antimicrobial furostanol saponins from the seeds of *Capsicum annum* L. var. *acuminatum*". *J. Agric. Food Chem*, 50, 15, pp.4310–4316, 2002.
- [46] D. S. Zibokere, "Insecticidal potency of red pepper (*Capsicum annum*) on pulse beetle (*Callosobruchus maculatus*) infesting cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds during storage". *Indian J. Agr. Sci.*, 64, 10, pp.727–728, 1994.
- [47] I. Onu, M. Aliyu, "Evaluation of powdered fruits of four peppers (*Capsicum* spp.) for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) on stored cowpea seed." *Int. J. Pest Manag.*, 41, 3, pp.143–145, 1995.
- [48] T. L. Ofuya , "Use of wood ash, dry chilli pepper fruits and onion scale leaves for reducing *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) damage in cowpea seeds during storage". *J. Agr. Sci.*, 107, 2, pp.467–468, 1986.
- [49] F. EL-Lakwah, O. M. Khaled , M. M. Kattab, R. A. Abdel-Rahman, "Effectiveness of some plant extracts and powders against the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (F.)". *Ann. Agric. Sci.*, 35, 1, pp.567–578, 1997.
- [50] R. B. Morallo, " Botanical pest control research in the Philippines". *Philipp. Entomol.* 7, pp.1–30, 1987.
- [51] P. Trematerra, A. Sciarretta, « Activity of chilli, *Capsicum annum* L. var. *acuminatum*, on stored product insects *Oryzaephilus surinamensis* (L.), *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst)". *IOBC/wprs Bull.*, 25, 3, pp.177–182, 2002.
- [52] R. Mathur, R. S. Dangi, S. C. Dass, R. C. Malhotra, "The hottest chilli variety in India". *Curr. Sci.* 79, 3, pp. 287–288, 2000.
- [53] M. S. Saber, "Antimicrobial substance in certain members of solanaceae. Detection of active principle in piper". *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hygiene*, 131, pp.110–112, 1976.
- [54] Y. Lee, L. R. Howard , B. Villalon, "Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annum*) Cultivars". *J. Food Sci.* 60, 3, p. 473–476, 1995.
- [55] M. Materska, S. Piacenteb, A. Stochmalc, C. Pizzab, W. Oleszekc, I. Peruckea, "Isolation and structure elucidation of flavonoids and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum frutescens* L". *Phytochemistry*, 63, pp.893–898, 2003.
- [56] A. J. De Lucca , J. M. Bland, C. B. Vigo, M. Cushion, Selitrennikoff, C. P. Peter, « A fungicidal saponin from *Capsicum* sp. Fruit". *Medical Mycology*, 40, pp.131–137, 2002.
- [57] S. Renault, A. J. De Lucca, S. Boue, J. M. Bland, C. B. Vigo, C. P. Selitrennikoff, « CAY-1, a novel antifungal compound from cayenne pepper". *Med. Mycol.*, 41, 1, pp.75–81, 2003.
- [58] F. H. Arthur, " Grain protectants. Current status and prospects for future". *Journal of Stored Products Research*, 32, pp. 293–302, 1996.
- [59] Newall C A., Anderson L A., Philipson J D., Herbal Medicines: a Guide for health care professionals. London, England: The pharmaceutical Press, pp.44, 1996.
- [60] C. L. Hladik, S. Bruno, R. Pierrette, Annette, " Rôle des produits secondaires (tannins et alcaloïdes) des espèces forestières de l'est de Madagascar face aux populations animales », *Diversity and Endemism in Madagascar* , pp.105–114, 2000.
- [61] S. Bashwira, M. Bagalwa, « Toxicité des extraits organiques et aqueux de quelques plantes insecticides contre *Sitophilus zeamais* et *Acanthoscelides obtectus*, insectes ravageurs des denrées stockées ». *Cahier du CERUKI, Numéro Spécial CRSN*, pp. 27–33, 2009.
- [62] C. Nozzolillo, J. T. Arnason, F. Campos, N. Donskov, M. Jurzysta, « Alfalfa leaf saponins and insect resistance ». *J. Chem. Ecol.*, 23, 4, pp.995–1002, 1997.
- [63] S. W. Applebaum, S. Marco , Y. Birk, "Saponins as possible factors of resistance of legume seeds to the attack of insects". *J. Agr. Food Chem*, 17, 3, pp.618–622, 1969.
- [64] D. Tang, C. Wang, L. Luo L., J. Qin (2000). Comparative study on the responses of maxillary sensilla styloconica of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* and oriental tobacco budworm *H. assulta* larvae to phytochemicals. *Science China (Series C)* 43, 6, pp. 606–612.