

Effets biocides des alcaloïdes extraits des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L. (Astéracées) sur *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coléoptera : Bruchidae)

[Biocidal effects of alkaloids extracted from *Anacyclus pyrethrum* L. (Asteraceae) on *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae)]

Hanane Elazzouzi, Samira Khennouchi, Amar Bentayeb, Fatima Elhilali, and Touriya Zair

Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactive et Environnement,
Université Moulay Ismail faculté des Sciences, BP 11201,
Zitoune, Meknès, Maroc

Copyright © 2015 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: This study offers to assess the potentialities of *Anacyclus pyrethrum* L. (Astéracées) as botanical insecticide for the protection of the harvest of chickpea *Cicer arietinum* L. (Fabacées) against *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera : Bruchidae) during the stocking. Alkaloids constitute the most important chemical family in the roots of *Anacyclus pyrethrum*, they are extracted and analysed by high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry, LC / UV / SM, to prove the presence of a major alkaloid N-isobutylamide, the pellitorine, accompanied with a mixture of other alkylamides (Ancycline, N-isobutyl-2,4-heptadiene-6-monoynamide, N-isobutyl-2,4-octadiene-6-monoynamide, (2,4)-Dodecadiene-N-tyamide, N-isobutyl-2,4-hexadiynamide, Acétanilide, N-methyl-isobutyl-2,4-decadienamamide, etc). The bioassays were performed in the laboratory and in the conditions of temperature of $28,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, relative humidity from 70 to 75% and photoperiod of 12h/12h. The alkaloids from the roots of pyrethrum are used at different doses D_n , $D_{n/2}$ and D_{2n} respectively: 0,37g; 0,185g and 0,74g of extracts diluted in 10ml of distilled water. Different extracts present a significant insecticidal effect on the adults of *Callosobruchus maculatus*. They diminished significantly the higher survival of the bruches on chickpea; the coefficients of variation evolve from 23,04 % to 82,22 % in females and from 21,34 % to 78,25 % in males. The extracts were also reduced the fecundity which varies from 140,67 % to 90,33 %, fertility (from 89,15 % to 34,06 %) and the success rate (from 83,83 % to 13,82 %) as concentration augments. The number of not fecund eggs of these insects augmented from 15 % to 59 %, notably for high concentration. These alkaloids can be considered as molecules in biocidal promising properties in lieu of synthetic insecticides.

KEYWORDS: *Anacyclus pyrethrum*; *Callosobruchus maculatus*; alkaloids; alkylamides, insecticidal activity.

RESUME: Cette étude se propose d'évaluer les potentialités d'*Anacyclus pyrethrum* L. (Astéracées) comme insecticide botanique pour la protection des récoltes de pois chiche *Cicer arietinum* L. (Fabacées) à l'encontre de *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera : Bruchidae) lors du stockage. Les alcaloïdes constituent la famille chimique la plus importante dans les racines d'*Anacyclus pyrethrum*, ils sont extraits et analysés par chromatographie à haute performance en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse, LC/UV/SM, pour vérifier la présence d'un alcaloïde N- isobutylamide majeur, la pellitorine, accompagné d'un mélange d'autres alkylamides (Ancycline, N-isobutyl-2,4-heptadiene-6-monoynamide, N-isobutyl-2,4-octadiene-6-monoynamide, (2,4)-dodecadiene-N-tyamide, N-isobutyl-2,4-hexadiynamide, Acétanilide, N-methyl-isobutyl-2,4-decadienamamide, etc). Les biotests ont été effectués au laboratoire et dans les conditions de température de $28,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, d'humidité relative de 70 à 75% et de photopériode 12h/12h. Les alcaloïdes issus des racines d'*A. pyrethrum* sont utilisés à différentes doses D_n , $D_{n/2}$ et D_{2n} respectivement : 0,37g; 0,185g et 0,74g d'extraits dilués dans 10ml d'eau distillée. Les différents extraits présentent un effet insecticide significatif sur les adultes de *C. maculatus*. Ils ont diminué significativement la survie des bruches élevés sur pois chiche; les coefficients de variation évoluent de 23,04% à 82,22% chez

les femelles et de 21,34% à 78,25% chez les mâles. Les extraits ont réduit aussi la fécondité qui varie de 140,67 % à 90,33 %, la fertilité (de 89,15 % à 34,06 %) et le taux de succès (de 83,83 % à 13,82 %) au fur et à mesure que la concentration augmente. Le nombre d'œufs non féconds de ces insectes ont augmenté de 15 % à 59%, notamment pour les fortes concentrations. Ces alcaloïdes peuvent être considérés comme des molécules aux propriétés biocides prometteuses en remplacement des insecticides de synthèse.

MOTS-CLEFS: *Anacyclus pyrethrum*; *Callosobruchus maculatus*; alcaloïdes; alkylamides, activité insecticide.

1 INTRODUCTION

Au Maroc, l'agriculture constitue un secteur sur lequel se basent de nombreuses activités économiques et dont la majorité de la population en dépend directement ou indirectement. Elle contribue d'une manière décisive aux grands équilibres macro-économiques et à la balance commerciale du pays. Ce secteur agricole, déjà éprouvé par les conditions climatiques et la succession des sécheresses, doit faire face aux problèmes causés par certains insectes nuisibles et des maladies qui pèsent sur sa stabilité et sa rentabilité. Dans de nombreux pays en développement, les graines des légumineuses représentent la principale source de protéines. Elles contiennent deux à trois fois plus de protéines que les céréales [1], et renferment les vingt quatre acides aminés indispensables à l'alimentation [2]. Malheureusement elles subissent des pertes considérables durant le stockage [3]. Les insectes et principalement certaines familles de Coléoptères (Bruchidae et Curculionidae) s'attaquent aux graines de nombreuses légumineuses et céréales [4], [5], [6], [7], [8].

Pour faire face à ce problème des bruches, la lutte chimique est souvent la méthode la plus utilisée, Malheureusement, celle-ci semble néfaste sur l'environnement et la santé des consommateurs, ainsi que son coût très élevé, ceci ont obligé plusieurs groupes de chercheurs à tourner à nouveau vers les méthodes de lutte traditionnelle à savoir les plantes, qui présentent un réservoir de matières premières et substances naturelles irremplaçables moins polluantes et souvent moins toxiques, pour une meilleure gestion des prédateurs des denrées agricoles.

Le Pyrèthre d'Afrique (*Anacyclus Pyrethrum Link*) connu sous le nom «Aud el-attas, AkkarKarha» [9], est une plante originaire de l'Inde et les pays arabes et sa racine présente des effets thérapeutiques intéressants [10]. Elle est considérée comme tonique pour le système nerveux, anti-inflammatoire, immunostimulante, antioxydante, anabolisante, aphrodisiaques [11], et insecticide [12]. L'analyse chimique des racines d'*A. pyrethrum* montre qu'elles contiennent un alcaloïde N-isobutylamide, appelé "pellitorine", et accumulent surtout des alkylamides [13] dont la pellitorine est le constituant actif majeur, ils contiennent aussi l'anacycline, enetriyne alcool, hydrocaroline, inuline (50%), des traces d'huile volatile, (+)-sesamine, et également le N-(2-p-hydroxyphényl)ethyl) deca -, dodeca -, et tetradeca-trans-2, trans-4-dienamide, une nouvelle série de tyramines : amides correspondants aux isobutylamides [14].

La famille des Asteraceae est caractérisée par la production et l'accumulation des alkamides aliphatiques essentiellement comme les genres : *Aaronsohnia*, *Achilea*, *Acmella*, *Anacyclus*, *Artemisia*, *Echinacée*, *Heliopsis*, *Spilanthes*, *Salmea*, *Sanvitalia* et *Wedelia*. Les alkamides sont un groupe large et croissant de composés naturels bioactifs présents dans au moins 33 familles de plantes. En dépit de l'architecture moléculaire relativement simple des alkamides, ces produits naturels présentent une grande variabilité de structure et une gamme importante d'activités biologiques : immuno-modulatrice, antimicrobienne, antivirale, larvicide, insecticide, diurétique, piquante, analgésique ainsi d'activités antioxydante et cannabimimétique. En outre, les alkamides sont impliqués dans la potentialisation des antibiotiques, l'inhibition de la biosynthèse de la prostaglandine, la synthèse d'ARN et le métabolisme de l'acide arachidonique entre autres [15].

Structurellement, les alkamides naturels ont généralement un radical aliphatique, un résidu d'amine cyclique ou aromatique, et un acide à chaîne C₈ à C₁₈ saturée ou insaturée (y compris les doubles ou triples liaisons ou les deux) qui peuvent également être aromatiques. La nature de l'acide (les longueurs de chaîne de carbone, le niveau d'insaturation, la stéréochimie, etc.) et les résidus aminés sont caractéristiques de chaque famille et genre de plantes telles que ces caractéristiques qui servent des critères chimiotaxonomiques. A cause de l'atome d'azote des alkamides qui ne fait pas partie du cycle hétérocyclique que ces composés sont classés comme protoalcaloïdes ou pseudoalcaloïdes qui jouent un rôle crucial dans l'activité insecticide [15], [16], [17], [18].

De notre côté, et dans la perspective de rechercher d'autres substances naturelles alternatives biodégradables et non nocives à l'environnement, compatibles avec la gestion intégrée des ravageurs notamment en agriculture biologique, nous avons cherché à évaluer les potentialités des alcaloïdes de la racine d'*A. pyrethrum* (L.) (Astéracées) en tant qu'insecticide botanique pour la protection de *Cicer arietinum* (L.) (Légumineuses) à l'encontre des adultes, des œufs et des émergents de *C. maculatus*. Ces alcaloïdes pourraient être utilisés comme méthode alternative aux insecticides de synthèse.

2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 MATÉRIELS VÉGÉTAL ET ANIMAL

Le matériel végétal utilisé est constitué de racines d'*Anacyclus pyrethrum* récoltée en automne dans la région de Timahdite (Moyen Atlas Marocain). Une identification botanique de l'espèce a été effectuée à l'institut Scientifique de Rabat.

Les graines de *Ciser arietinum* saines, provenant d'une ferme à Moulay Idriss (28km de Meknès), constituent le substrat de ponte et de développement pour les bruches.

Le matériel animal utilisé est les adultes de *Callosobruchus maculatus* qui ont été issus d'une souche d'élevage massif au laboratoire de biologie à la Faculté des Sciences de Meknès. L'élevage a été maintenu à une température de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, une humidité relative entre 70% et 75% et une photopériode 12h/12h.

2.2 MÉTHODES D'ÉTUDE

2.2.1 EXTRACTION DES ALCALOÏDES

En vue d'extraire les différents alcaloïdes de la racine d'*A. pyrethrum*, nous avons eu recours à trois méthodes d'extraction en milieu alcalin et acide selon Djilani *et al.* 2006 [19].

1^{ère} Méthode :

L'extraction a été réalisée par soxhlet pendant une durée de 18 heures en utilisant 10g de poudre de racines d'*A. pyrethrum* et 300 ml d'acétate éthylique, après filtration, la solution obtenue a été concentrée sous vide. Le résidu obtenu a été dissout dans l'eau et acidifié avec une solution (0,5N) d'acide sulfurique (H_2SO_4) jusqu'au pH = 3,5 puis il a été extrait au moyen de 50ml d'éther de pétrole et 50ml d'éther diéthylique pour enlever les composés lipophiles, acides et neutres. L'alcalisation de la phase aqueuse à pH = 9,5 a été effectuée au moyen de l'ammoniaque (NH_4OH) à 25%. La phase aqueuse a été extraite au moyen de 100ml de chloroforme. Après décantation, la phase organique est lavée avec de l'eau distillée à pH neutre, puis, elle a été séchée sur sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et concentrée à sec à pression réduite pour obtenir les alcaloïdes bruts notés échantillon A_4 .

2^{ème} Méthode :

L'extraction a été réalisée à partir de 10g de poudre de racines d'*A. pyrethrum* et 300ml d'acétate éthylique dans le soxhlet pendant une durée de 18 heures. Après filtration, la solution obtenue a été concentrée sous vide. Le résidu obtenu a été dissout dans l'eau et acidifié avec de l'acide sulfurique H_2SO_4 (0,5N) jusqu'au pH =3 à 4, puis il a été extrait au moyen d'éther de pétrole et d'éther diéthylique pour enlever les composés lipophiles, acides et neutres. Après alcalisation de la solution aqueuse à pH = 9 à 10 au moyen de NaHCO_3 , elle a été extraite au moyen de 100ml de chloroforme. L'extrait, lavé avec de l'eau distillée à pH neutre, a été séché sur sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et concentré à sec à pression réduite pour obtenir les alcaloïdes bruts (échantillon A_1).

3^{ème} Méthode :

La drogue a été alcalinisée sous la hotte avec de l'ammoniaque dilué à 25% jusqu'au pH = 8 à 9. Puis, nous avons effectué une macération à 25°C pendant une heure. Les alcaloïdes basiques ont été extraits dans un soxhlet de 250ml et avec 300ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2). Ensuite, nous avons ajouté de l'acide chlorhydrique dilué (1/10) à la phase organique concentrée et agité sans former d'émulsion. Après décantation, la phase aqueuse acide est soutirée. Ensuite la solution obtenue est neutralisée, et lui ajouté du dichlorométhane. Nous avons ensuite agité, sans former d'émulsion, puis décanté et soutiré la phase organique qui a été évaporée à sec pour obtenir les alcaloïdes bruts, deux répétitions ont été fait pour avoir les échantillons A_2 et A_3 .

2.2.2 ANALYSE ET IDENTIFICATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES EXTRAITS D'ALCALOÏDES

Les différents échantillons d'alcaloïdes ont été analysés par chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC) couplée à un spectromètre de masse équipé d'une source à ionisation en mode électrospray HPLC /UV/ESI-MS. La séparation chromatographique a été exécutée avec élution en mode gradient en utilisant comme concentration et débit eau/acide formique (19/1) : (A) / Méthanol : (B) sous la programmation suivante : $t = 3\text{min A/B (82/18)}$; $t = 6\text{min A/B}$

(75/25) ; t = 22min A/B (61/39) ; t = 36min A/B (50/50) ; t = 59min A/B (21/79) ; t = 60min B (100). Le débit était de 0,9ml/min, et le volume d'injection était 20 μ l. Les Chromatogrammes ont été enregistrés à trois longueurs d'ondes maximales : 280, 320 et 350nm.

L'identification des différents constituants a été effectuée en se basant sur l'interprétation des spectres de masses obtenus et en le comparant avec les données rapportées dans la littérature.

2.2.3 TESTS INSECTICIDE DES ALCALOÏDES

En se basant sur le rendement, trois doses ont été calculées : la dose normale (D_n), sa moitié ($D_{n/2}$) et son double (D_{2n}). Les différentes concentrations des alcaloïdes ont été exprimées en gramme de la matière sèche brute diluée dans 10ml d'eau distillée. Les tests biologiques ont été réalisés dans des boîtes de pétri en plastique de forme rond de diamètre 9cm. Chaque boîte de pétri reçoit 50 graines de pois chiche enrobées par les alcaloïdes extraits selon la dose à étudier et dix couples de *C. maculatus* nouvellement émergés. Un témoin est réalisé dans les mêmes conditions mais sans alcaloïdes. Pour chaque dose, trois répétitions ont été effectuées. Différents paramètres ont été étudiés : la longévité, la fécondité (nombre d'œufs pondus par dix femelles), la fertilité (nombre d'œufs éclos par rapport au nombre total d'œufs pondus, multiplié par cent), le nombre d'œufs non féconds et le taux de succès (nombre d'adultes émergés par rapport au nombre total d'œufs pondus, multiplié par cent). Nous avons travaillé à une température de 28°C \pm 2°C, une humidité relative entre 70% et 75% et une photopériode 12h/12h. Au bout de 24h, le contenu de chaque boîte de pétri est récupéré. Dans les mêmes conditions, la longévité des adultes de *C. maculatus* a été suivie chaque jour jusqu'à la mortalité totale des bruches. Pour la fécondité, les œufs pondus (éclos, non éclos) par les femelles dans chaque boîte de pétri ont été comptés sous loupe binoculaire. Après, les adultes émergents ont été suivis chaque jour jusqu'à l'arrêt totale des émergents puis ils ont été comptés.

3 RÉSULTATS

3.1 RENDEMENT ET COMPOSITION CHIMIQUE DES EXTRAITS D'ALCALOÏDES

L'extraction des alcaloïdes a été effectuée par trois méthodes (en milieu acide et alcalin), les extraits obtenus sont A_1 , A_2 , A_3 et A_4 . Leurs rendements moyens ont été exprimés en gramme par rapport à 100g de matière végétale sèche. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 1.

Tableau 1. Rendements obtenus par différentes méthodes d'extraction d'alcaloïdes

Méthode	Méthode 1	Méthode 2	Méthode 3	
Milieu	Acide		Alcalin	
Echantillon	A_4	A_1	A_2	A_3
Rendement (%)	2,9	3,7	3,1	3,1

Le rendement en poids sec des alcaloïdes obtenu par la méthode 1 est de 2,9%. Il est de l'ordre de 3,1% pour la méthode 3. Le rendement le plus élevé a été obtenu avec la méthode 2 d'une valeur de l'ordre de 3,7%.

3.2 COMPOSITION CHIMIQUE DES ALCALOÏDES

L'analyse du profil chromatographique des différents extraits d'alcaloïde d'*A. pyrethrum* (A_1 , A_2 , A_3 et A_4) et leurs spectres de masse (pics moléculaires $[M]^+$ et/ou quasi-moléculaires : $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ et $[M+K]^+$) obtenus dans nos conditions expérimentales nous a permis la séparation de mélanges complexes et l'identification de substances naturelles des extraits d'alcaloïdes en particulier les alkylamides. Les aires de répartition des différents extraits A_1 , A_2 , A_3 et A_4 sont respectivement de l'ordre de 90,29% ; 86,85% ; 89,2% et 90,09% (Figure 1, 2, 3, et 4).

L'analyse de la composition chimique des extraits d'alcaloïdes montre une variation quantitative et qualitative du profil chimique et dépend de la méthode d'extraction et de solvant utilisé (Tableau 2). Différents teneurs de N-alkylamides peuvent être trouvés (Figures 5-12).

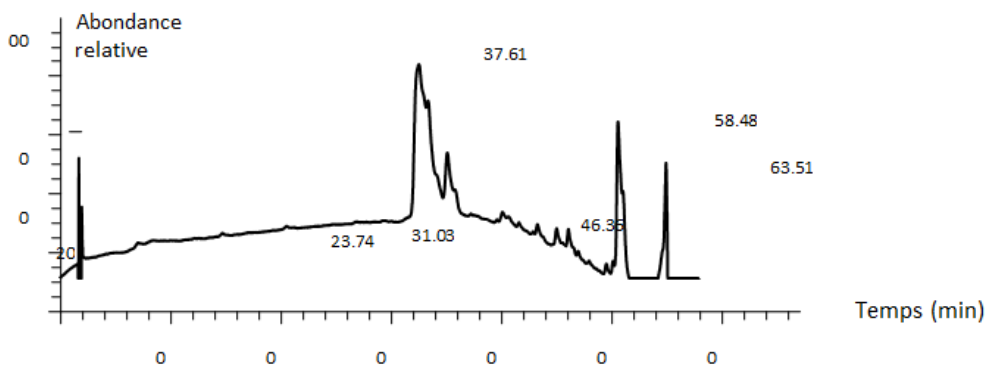


Fig.1. Chromatogramme des alcaloïdes d'*A. pyrethrum* (A_1) obtenu par LC/MS

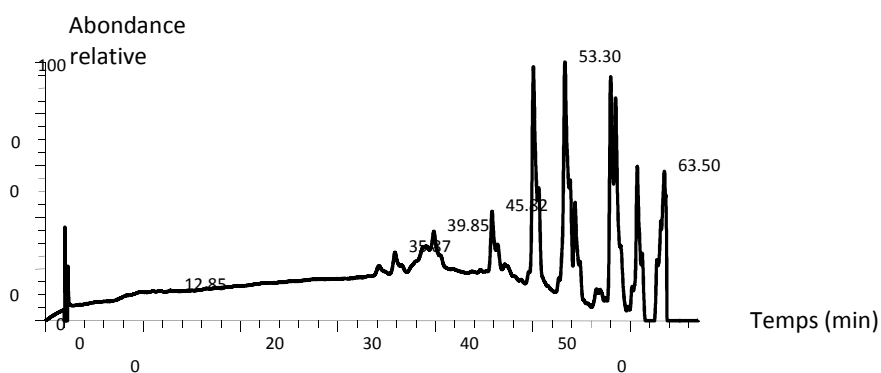


Fig. 2. Chromatogramme des alcaloïdes d'*A. pyrethrum* (A_2) obtenu par LC/MS

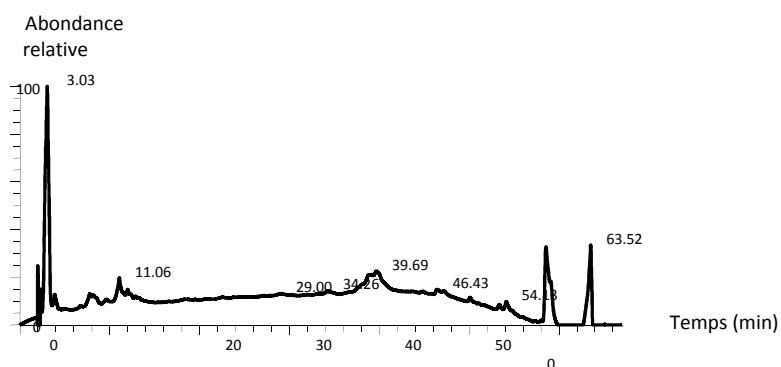


Fig. 3. Chromatogramme des alcaloïdes d'*A. pyrethrum* (A_3) obtenu par LC/MS

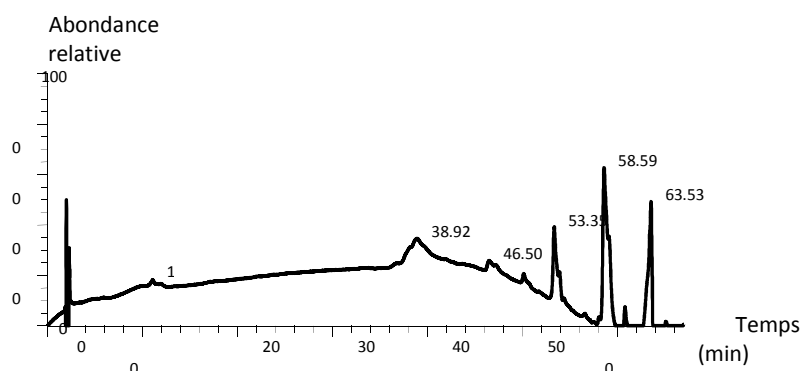

 Fig. 4. Chromatogramme des alcaloïdes d'*A. pyrethrum* (A_4) obtenu par LC/MS

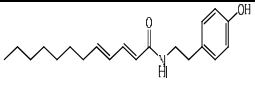
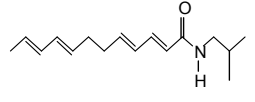
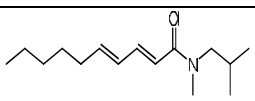
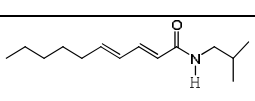
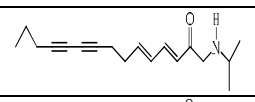
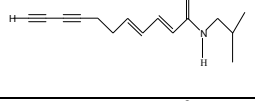
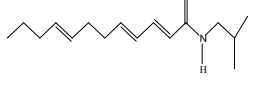
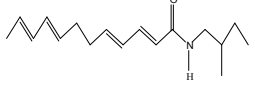
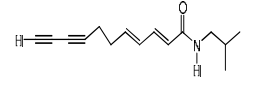
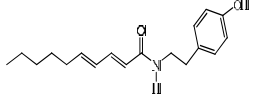
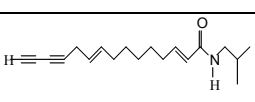
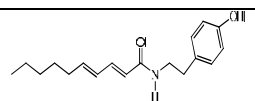
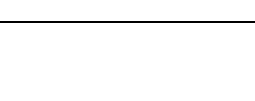
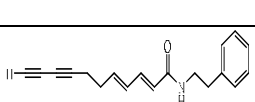
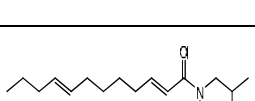
Tableau 2. Abondance relative des profils chimiques des extraits d'alcaloïdes

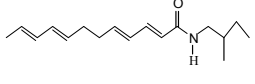
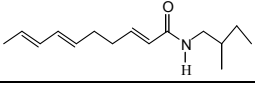
Profil chimique	TR	A_1 (%)	A_2 (%)	A_3 (%)	A_4 (%)
1	0,5 - 5,1	44,17	19,11	74,2	61,02
2	37,5 - 40,60	31,43	0	3,37	6,48
3	50 - 60	14,69	67,94	11,76	22,59

 Tableau 3. Les alkylamides d'*Anacyclus pyrethrum*

N° du composé	TR (min)	m/z (Pic quasi moléculaire)	Masse moléculaire	Structure des composés	Nomenclature	Formule brute	Echantillon
1	6,30	178 $[M+H]^+$	177		N-isobutyl-2,4-heptadiene-6-monoynamide	$C_{11}H_{15}ON$	A_3
2	8,49	136 $[M+H]^+$	135		Acétanilide	C_8H_9ON	A_3
3	11,09	194 $[M+H]^+$	193		N-isobutyl-2,4-octadiene-6-monoynamide	$C_{12}H_{17}ON$	A_3
4	12,18	223 $[M]^+$	223		Pellitorine	$C_{14}H_{25}ON$	A_3
5	13,67	164 $[M+H]^+$	163		N-isobutyl-2,4-hexadiynamide	$C_{10}H_{13}ON$	A_4
6	32,86	222 $[M+H]^+$	221		N-isobutyl-2,6,8-decatrienamide	$C_{14}H_{23}ON$	A_3
7	34,2	258 $[M+H]^+$	257		N-isobutyl-2,7-didecadiene-10,12-diynamide	$C_{17}H_{23}ON$	A_2 / A_3
8	35,9	294 $[M+Na]^+$	271		N-isopropyl-2,4-tetradecadiene-8,10-diynamide	$C_{18}H_{25}ON$	A_2

Effets biocides des alcaloïdes extraits des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L. (Asteracées) sur *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coléoptera : Bruchidae)

9	36,01	316 M+H ⁺	315		(2,4)-dodecadiene-N-tyramide	C ₂₀ H ₂₉ O ₂ N	A ₂
10	38,62	246 M+H ⁺	245		N-isobutyl-dodeca-2,4,8,10-tetraenamide	C ₁₆ H ₂₅ ON	A ₂
11	38,72	238 M+H ⁺	237		N-methyl-isobutyl-2,4-decadienamide	C ₁₅ H ₂₇ ON	A ₂
12	39,11	224 M+H ⁺	223		Pellitorine	C ₁₄ H ₂₅ ON	A ₁ /A ₂ /A ₃ /A ₄
13	42,03	272 M+H ⁺	271		N-isopropyl-2,4-tetradecadiene-8,10-diynamide	C ₁₈ H ₂₅ ON	A ₃
14	43,29	244 M+H ⁺	243		N-isobutyl-2,4-undecadiene-8,10-diynamide	C ₁₅ H ₁₉ ON	A ₂ /A ₃
15	43,5	250 M+H ⁺	249		N-isobutyl-2,4,8-dodecatrienamide	C ₁₆ H ₂₇ ON	A ₃
16	43,92	260 M+H ⁺	259		dodeca-2,4,8,10-tetraene 2-methylbutylamide	C ₁₇ H ₂₇ ON	A ₃
17	47,69	230 M+H ⁺	229		(2,4)-N-isobutyl-2,4-undecadiene-8,10-diynamide	C ₁₅ H ₁₉ ON	A ₂ /A ₄
18	50,10	288 M+H ⁺	287		(2,4)-decadiene-N-tyramide	C ₁₈ H ₂₅ O ₂ N	A ₂
	50,34	310 M+Na ⁺					
19	53,19	325 M+K ⁺	285		N-isobutyl-2,9-pentadecadiene-12,14-diynamide	C ₁₉ H ₂₇ ON	A ₃
20	54,34	301 M+Na ⁺	277		(2,4)-decadiene-N-tyramide	C ₁₈ H ₂₅ O ₂ N	A ₃
21	54,76	272 M+H ⁺	271		N-isobutyl-2,4,6,8,10,12-tetradecadienamide	C ₁₈ H ₂₅ ON	A ₂
22	55,46	278 M+H ⁺	277		(2,4)-undecadiene-8,10-diyn-N-tyramide	C ₁₉ H ₁₉ ON	A ₂ /A ₄
23	60,92	252 M+H ⁺	251		(2,8)-N-isobutyl-2,8-dodecadienamide	C ₁₆ H ₂₉ ON	A ₂ /A ₄

24	64,70	$282316[M+Na]^+$	259		dodeca-2,4,8,10-tetraene-2-methylbutylamide	$C_{17}H_{27}ON$	A_4
25	70,55	$236[M+H]^+$	235		deca-2,6,8-triene-2-hydroxybutylamide	$C_{14}H_{23}O_2N$	A_3

Les résultats des analyses chromatographiques montre que les quatre extraits d'alkaloïdes renferment tous la pellitorine (composé 4, Tableau 3). En effet, nous avons constaté que l'examen de l'extrait A_1 n'a permis de révéler que le composé 12. Par contre, l'analyse de l'extrait A_4 a montré la présence des alkylamides 5, 12, 17, 22 à 24. Quant aux échantillons A_2 et A_3 , ils renferment la majorité des alkylamides identifiés (Tableau 3). Dans l'extrait A_2 nous avons relevé la présence de douze alkylamides qui sont les composés 7 à 12, 14, 17, 18 et 21 à 23. L'échantillon A_3 est distingué par la présence de quatorze alkylamides (1 à 4, 6, 7, 12 à 16, 19, 20 et 25). Les extraits A_2 et A_3 obtenus par la méthode d'extraction 3, sont très riches en alkylamides donc la méthode d'extraction 3, réalisée en milieu alcalin, est efficace.

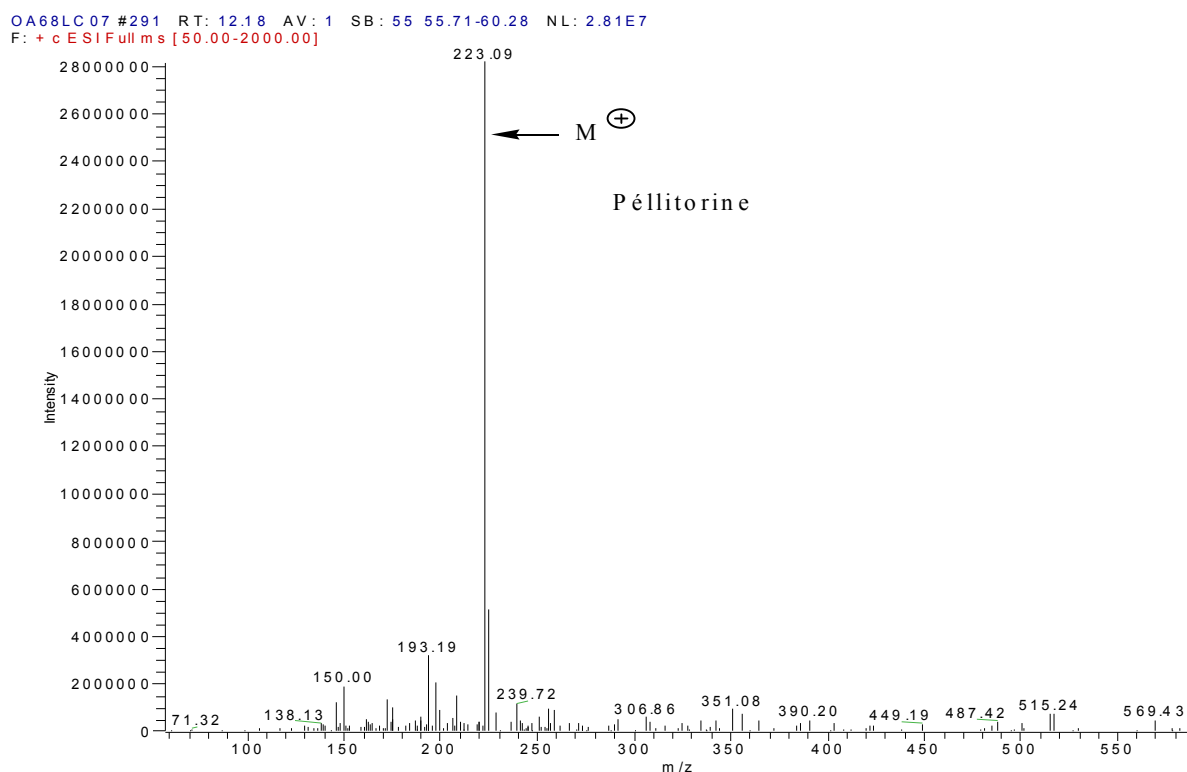


Fig. 5. Spectre de masse de pellitorine

OA68LC06 #1275 RT: 53.47 AV: 1 SB: 68 36.42-38.34 , 31.81-35.54 NL: 2.90E8
F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

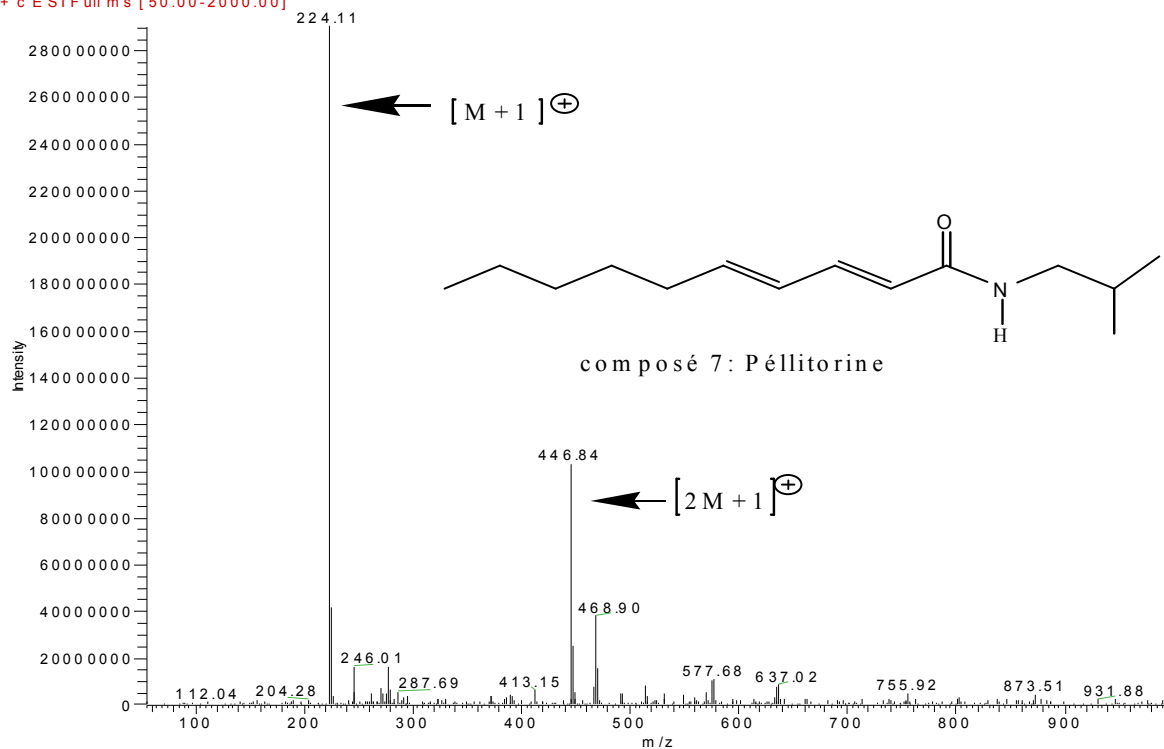


Fig. 6. Spectre de masse de pellitorine

OA68LC06 #1309 RT: 54.89 AV: 1 SB: 174 55.47-61.24 , 44.50-53.14 NL: 4.25E7
F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

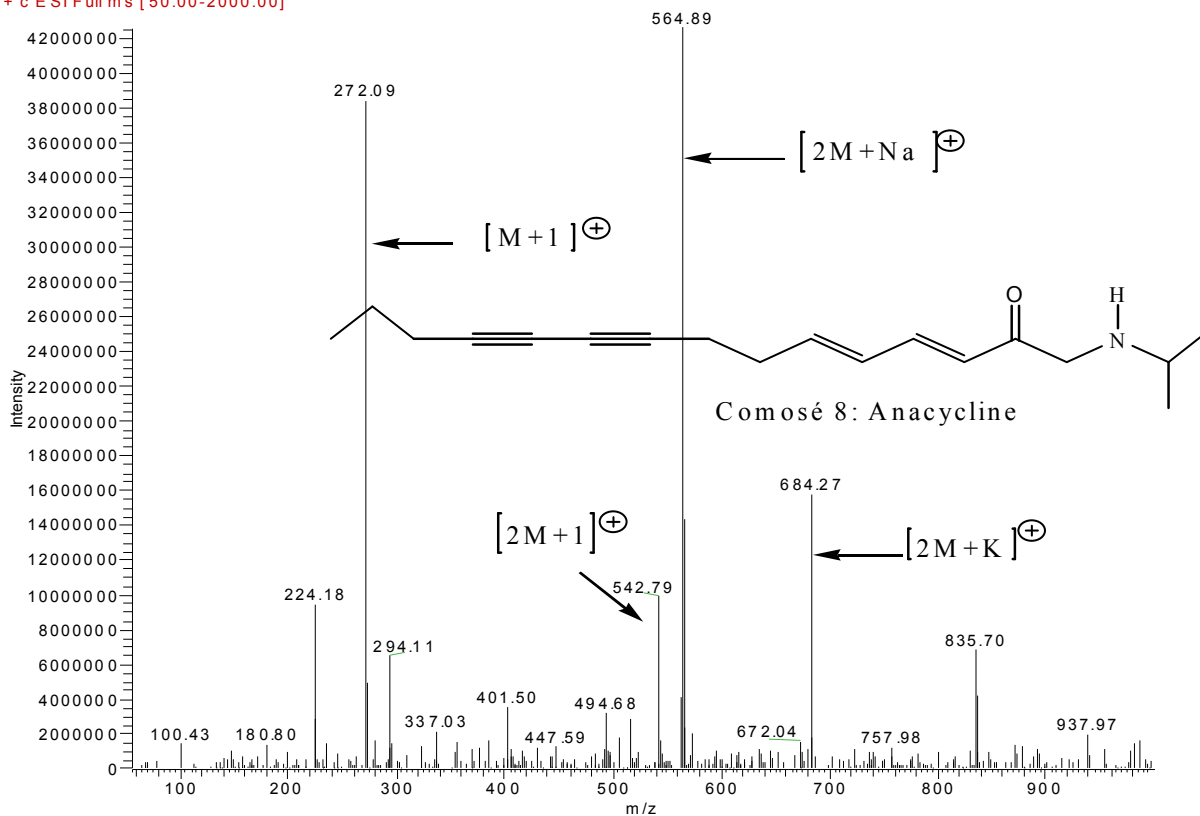


Fig. 7. Spectre de masse d'anacycline

OA68LC06 #1440-1463 RT: 60.41-61.33 AV: 12 SB: 117 61.49-66.64 ,55.72-60.28 NL: 8.68E7
 F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

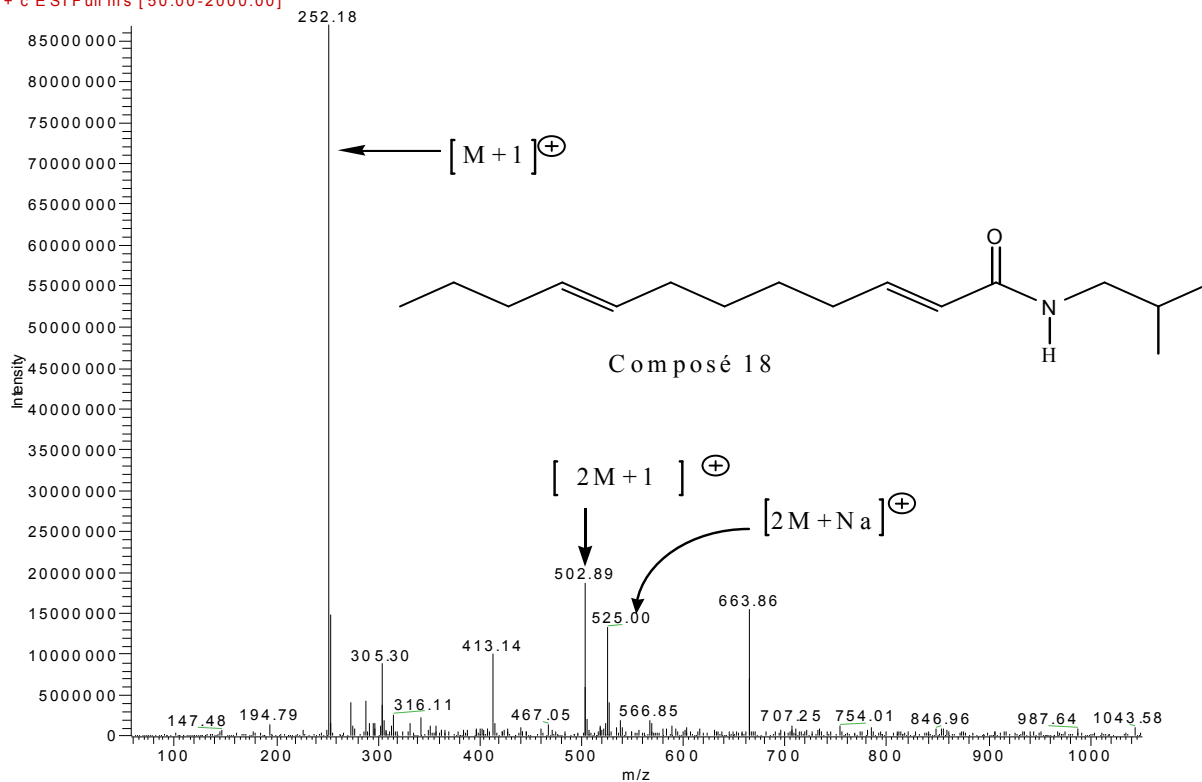


Fig. 8. Spectre de masse de (2,4)-decadiene-N-tyramide

OA68LC07 #265 RT: 11.09 AV: 1 SB: 55 55.71-60.28 NL: 4.54E7
 F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

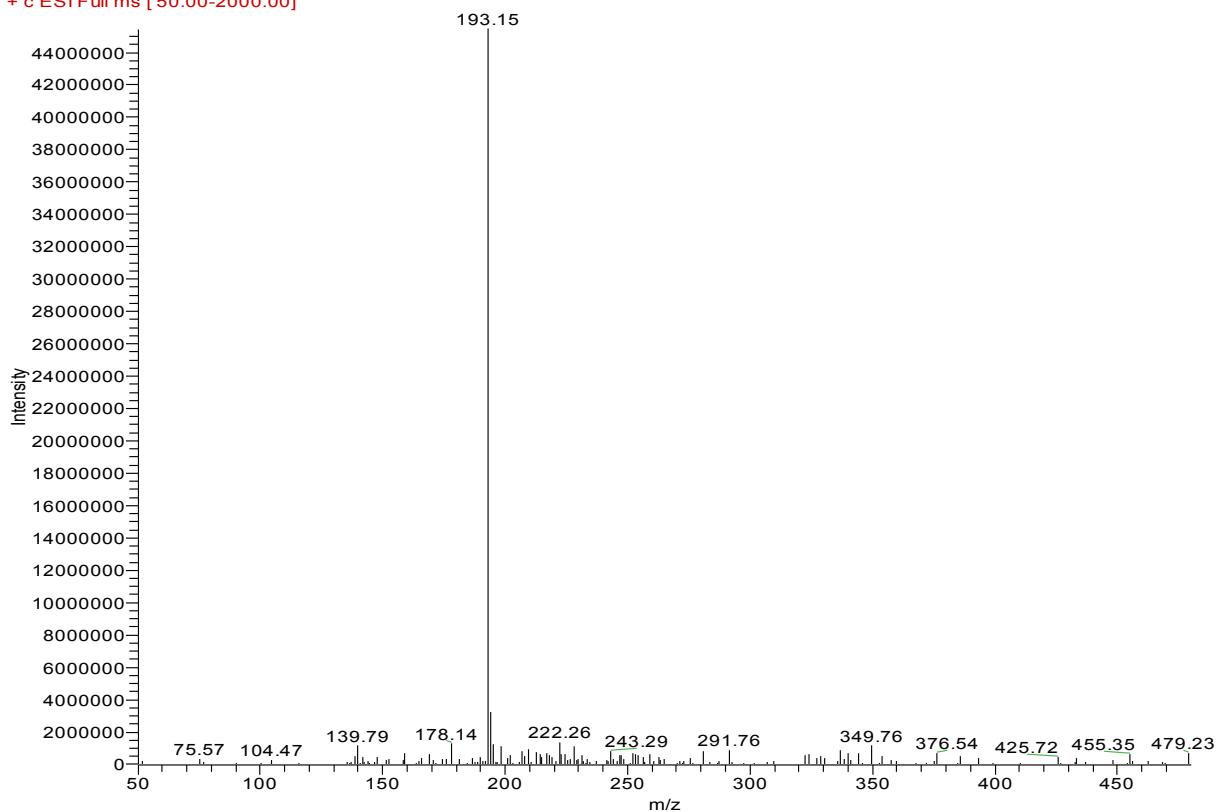


Fig. 9. Spectre de masse de N-isobutyl-2,4-octadiene-6-monoynamide

OA68LC07 #203 RT: 8.49 AV: 1 SB: 55 55.71-60.28 NL: 3.38E7
F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

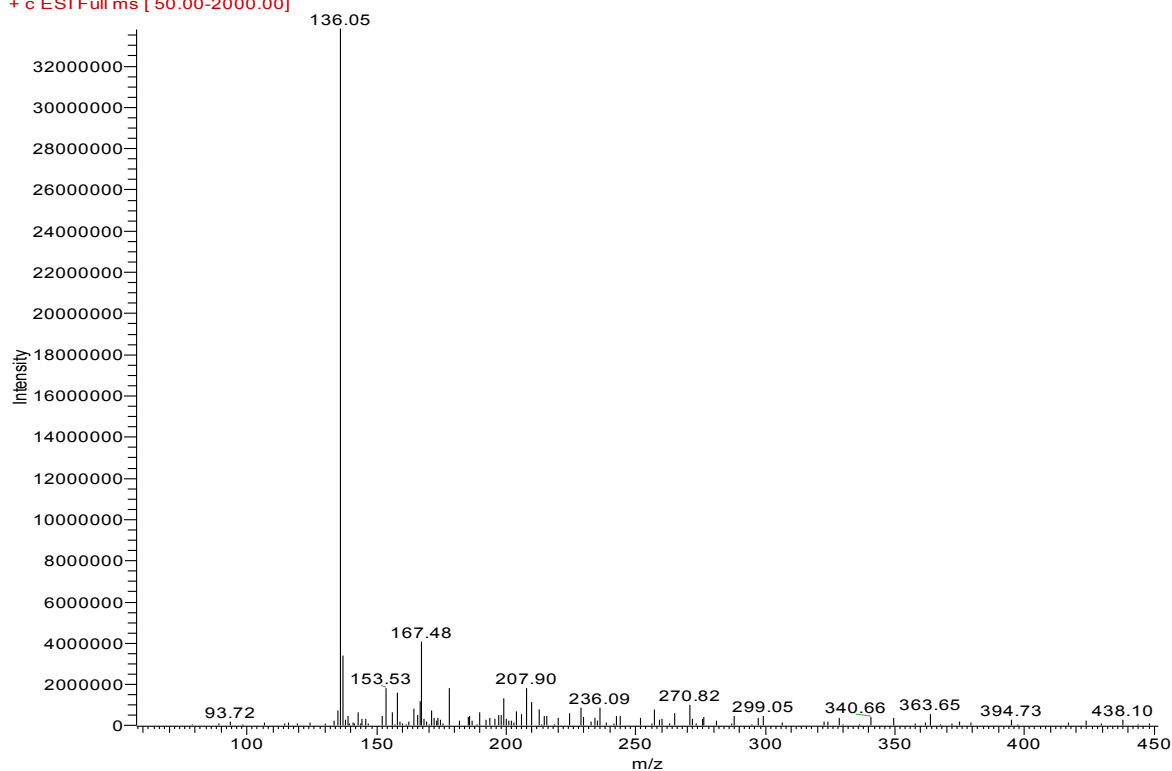


Fig. 10. Spectre de masse de l'acétanilide

OA68LC07 #151 RT: 6.30 AV: 1 SB: 55 55.71-60.28 NL: 1.80E7
F: + c ESI Full ms [50.00-2000.00]

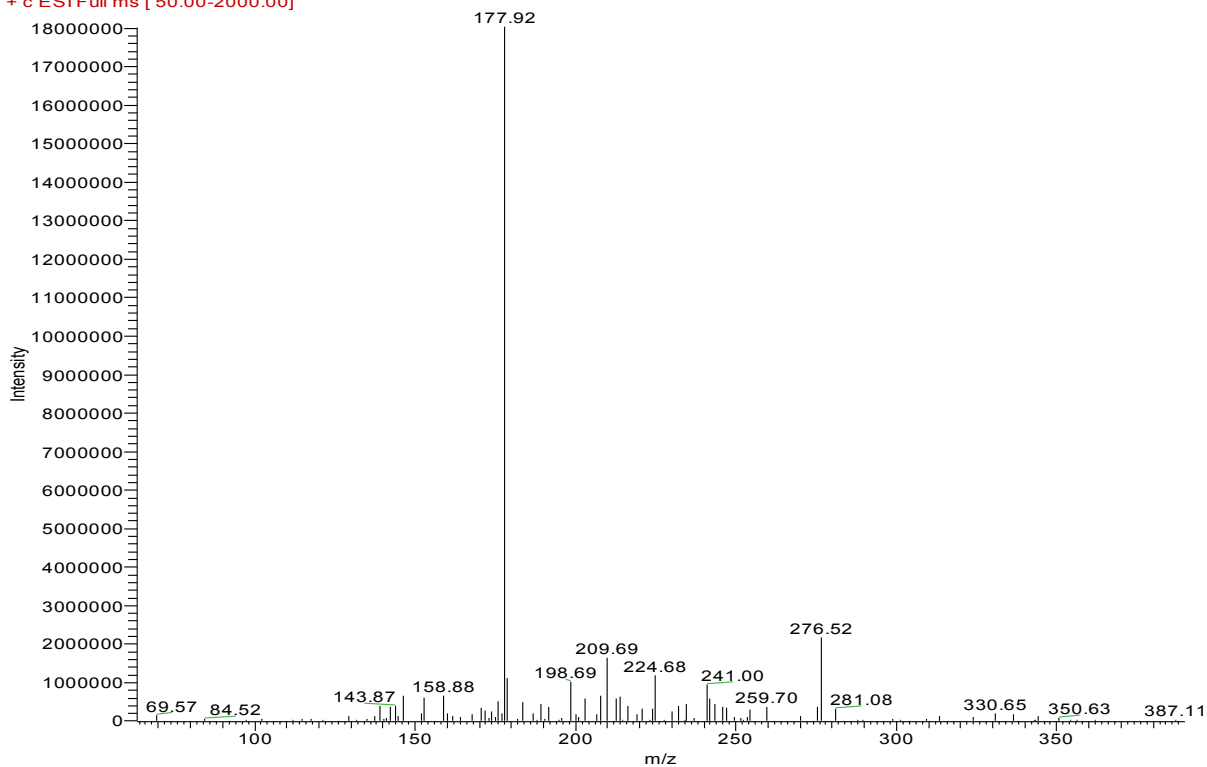


Fig. 11. Spectre de masse de N-isobutyl-2,4-heptadiene-6-monoyamide

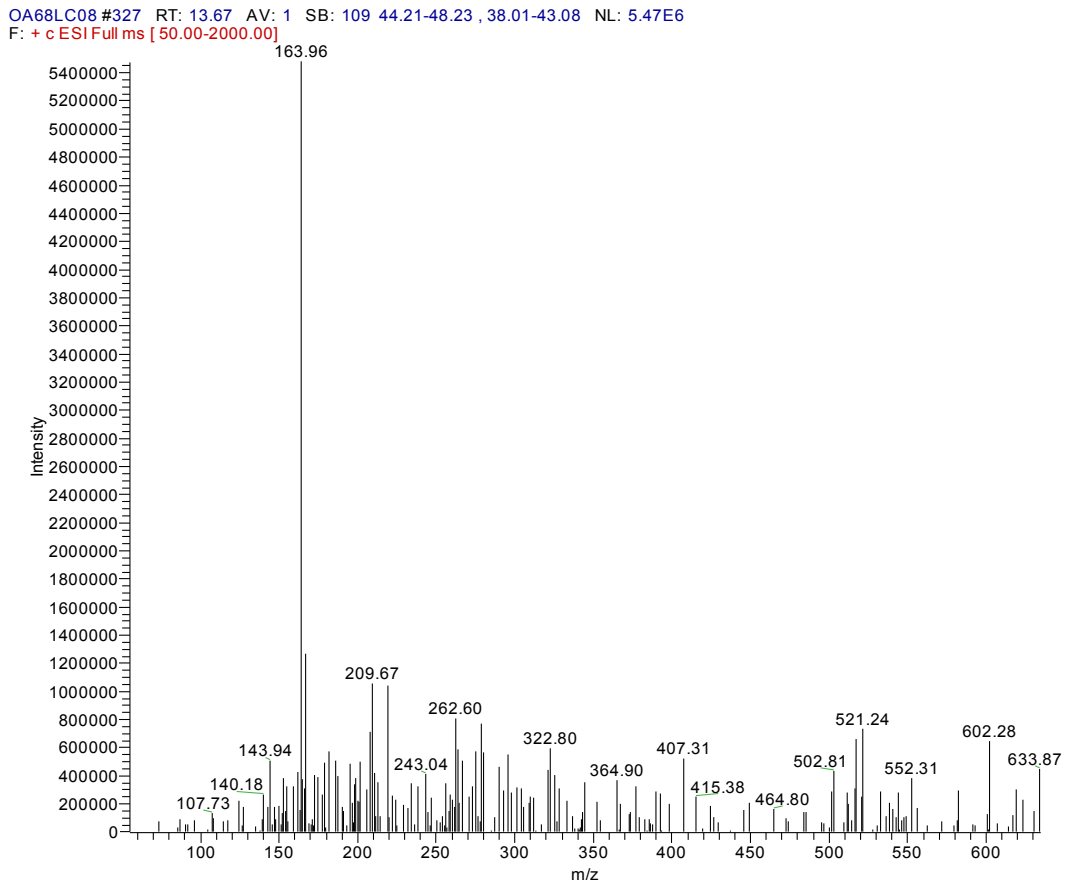


Fig. 12. Spectre de masse de *N-isobutyl-2,4-hexadiynamide*

3.3 ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DES ALCALOÏDES

La concentration normale D_n est 0,37g diluée dans 10ml d'eau distillée. Les doses $D_{n/2}$ et D_{2n} sont respectivement $0,185g10mL^{-1}$ et $0,74g10mL^{-1}$. Dans nos conditions expérimentales, les effets des alcaloïdes sur *C. maculatus* varient selon la concentration utilisée. Ces effets se manifestent sur la longévité, la fécondité, le nombre d'œufs non féconds, la fertilité et le taux du succès. Les différentes concentrations d'alcaloïdes provoquent une mortalité des adultes de *C. maculatus* significativement plus élevée que celle obtenue avec le témoin. Les adultes mâles et femelles de *C. maculatus* mis en contact avec les différentes concentrations d'alcaloïdes ne survivent que six jours après le traitement. Par contre, la longévité des adultes mâles et femelles des lots témoins est de 14 jours (Figure 13). Donc, les alcaloïdes extraits d'*A. pyrethrum* ont diminué la survie des bruches élevés sur pois chiche. En fait, la variabilité individuelle est très forte ; les coefficients de variation évoluent de 23,04% à 82,22% chez les femelles et de 21,34% à 78,25% chez les mâles (Tableau1).

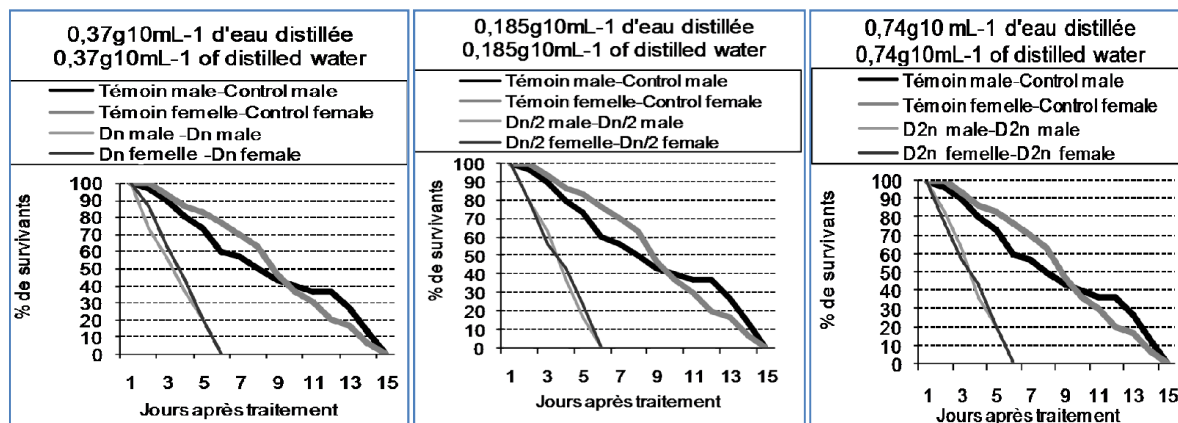


Fig. 13. Courbes de survie de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*.

Tableau 1. Longévité en jours de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes doses des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*.

Sexes	Dose (g/10mL-1)	Effectifs	moyenne ± écart type	Minimum	Maximum	Coefficient de variation (%)
Mâles	0	30	8,03 ^{aA} ± 1,71	1	14	21,34
	0,185	30	2,96 ^{bA} ± 2,31	1	5	78,16
	0,37	30	2,86 ^{bA} ± 2,22	1	5	77,56
	0,74	30	3,03 ^{bA} ± 2,37	1	5	78,25
Femelles	0	30	8,3 ^{aA} ± 1,91	2	14	23,04
	0,185	30	3,03 ^{bA} ± 2,36	1	5	77,87
	0,37	30	3,8 ^{bA} ± 3,12	1	5	82,22
	0,74	30	2,96 ^{bA} ± 2,30	1	5	77,76

En ce qui concerne la fécondité, le nombre d'œufs pondus par dix femelles sur les graines de pois chiche traitées par les alcaloïdes à différentes doses est inférieur à celui obtenu sur les graines non traitées. Ce nombre varie de 140,67œufs par dix femelles à 90,33œufs par dix femelles dans les lots traités contre 301,67œufs par dix femelles dans le lot témoin. Donc avec les alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum* à différentes doses, les fécondités sont statistiquement comparables avec le témoin. Cependant, il n'existe pas de différence significative entre eux (Figure 15). Les réponses individuelles des femelles de l'insecte sont toutefois variables, les coefficients de variation oscillent entre 4,97% et 32,19% (Tableau 2).

Il faut noter qu'il y a une relation étroite entre la fécondité et la longévité des femelles de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes de pyrèthre. Cette longévité diminue significativement en comparaison avec le témoin ; ceci laisse suggérer que l'extrait d'alcaloïdes exerce un effet toxique puisque $R_2 = 0,952$ (Figure 14).

Tableau 2. Fécondité de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*.

Concentration (g/50graines)	Fécondité/10femelle ± écart type	Minimum	Maximum	Coefficient de variation (%)
0	301,67 ± 15,01	287	317	4,97
0,185	140,67 ± 45,28	101	190	32,19
0,37	98 ± 10,54	88	109	10,75
0,74	90,33 ± 5,51	84	94	6,09

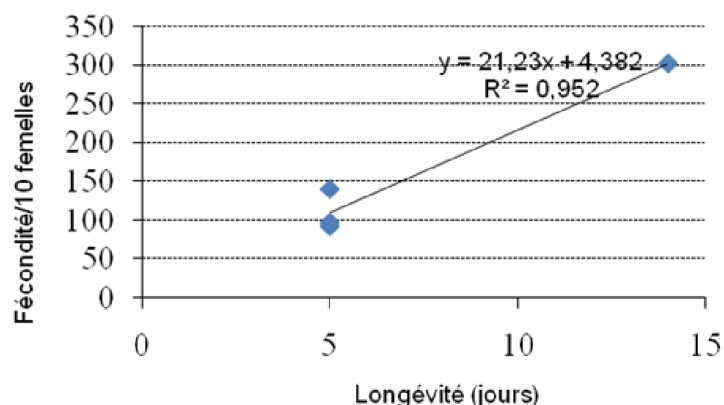


Fig. 14. Courbe de la fécondité en fonction de la longévité des adultes de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines femelles d'*A. pyrethrum*.

La fertilité varie de 96,42% avec le témoin jusqu'à 34,06% avec la dose 0,74g10mL⁻¹. Elle diminue au fur et à mesure que la concentration augmente. Les fertilités relevées sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines femelles d'*A. pyrethrum* sont comparables avec le témoin et entre elles. Les concentrations 0,185g10mL⁻¹ et 0,37g10mL⁻¹ produisent respectivement des pourcentages de fertilité de 89,15% et 59,64%. Une diminution importante de la fertilité chez les femelles de *C. maculatus* est enregistrée à la dose 0,74g10mL⁻¹ (Figure 15). La variabilité individuelle est moyenne ; les coefficients de variation passent de 1,38% à 46,70% (Tableau 3).

Tableau 3. Pourcentage des œufs éclos de *C. maculatus* relevé sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*.

Concentration (g/50graines)	Fertilité moyenne ± écart type	Minimum	Maximum	Coefficient de variation (%)
0	96,42 ± 1,34	95,12	97,79	1,38
0,185	89,15 ± 3,12	86,14	92,37	3,49
0,37	59,64 ± 7,98	51,14	66,97	13,38
0,74	34,06 ± 15,91	16,67	47,87	46,70

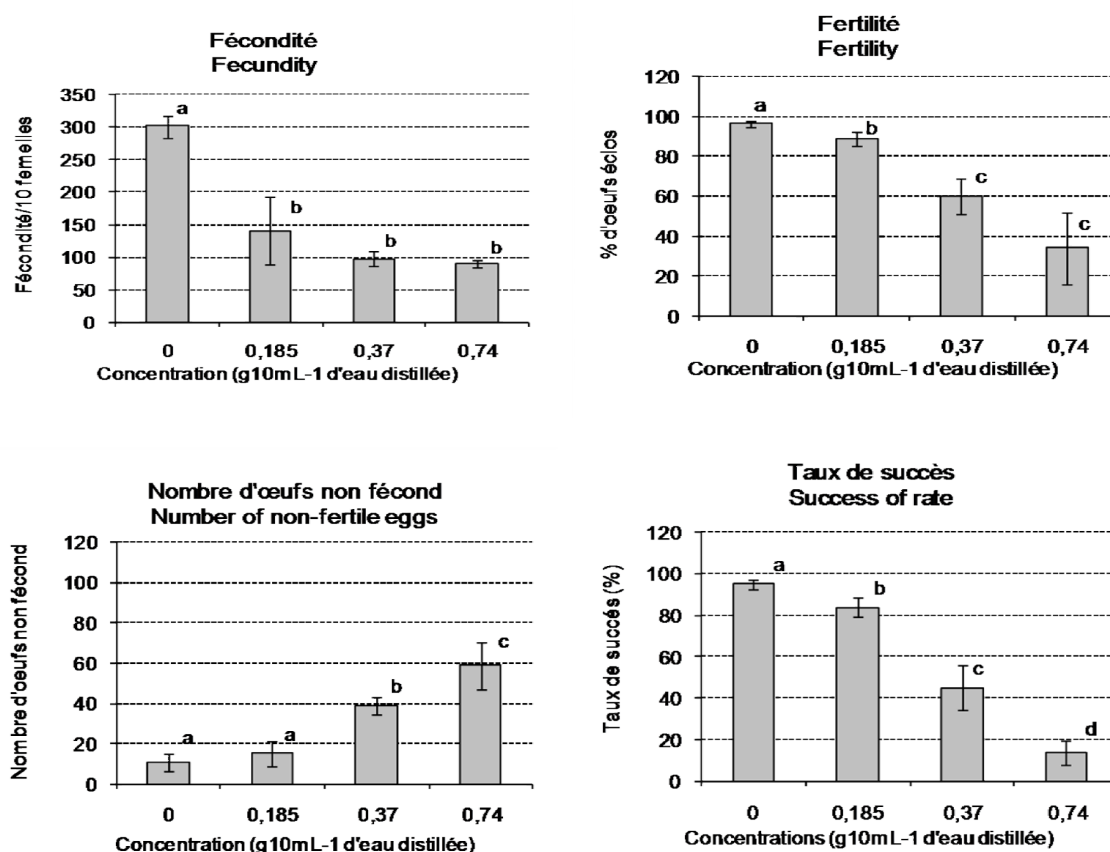


Fig. 15. Histogrammes présentant la fécondité, la fertilité, le nombre d'œufs non fécond et le taux de succès de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum* (les histogrammes affectés par une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre eux, test de Student au seuil de 5%).

Le nombre d'œufs non féconds est de 10,67 dans le lot témoin. Aux concentrations 0,185g10mL⁻¹ et 0,37g10mL⁻¹, ce nombre est respectivement de 15 et 39 (Figure 15). Une augmentation significative du nombre d'œufs non féconds est notée à la concentration 0,74g10mL⁻¹ avec une valeur de 59. Donc, le nombre d'œufs non féconds augmente avec la concentration. L'analyse statistique montre qu'il existe une différence significative entre les faibles concentrations : 0g10mL⁻¹ et 0,185g10mL⁻¹ et les fortes concentrations : 0,37g10mL⁻¹ et 0,74g10mL⁻¹. La variabilité individuelle est moyenne ; les coefficients de variation oscillent entre 3,97% et 37,11% (Tableau 4).

Tableau 4. Nombre d'œufs non fécond de *C. maculatus* relevé sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*

Concentration (g10mL-1)	Nombre d'œufs non fécond moyen ± écart type	Minimum	Maximum	Coefficient de variation (%)
0	10,67 ± 3,51	7	14	3,97
0,185	15 ± 5,57	10	21	37,11
0,37	39 ± 3,61	36	43	9,24
0,74	59 ± 10,54	49	70	17,85

Quant au taux de succès de *C. maculatus*, le traitement effectué avec les alcaloïdes réduit d'une manière significative leur pourcentage. Ce dernier varie d'une valeur de 95,08% avec le témoin jusqu'à une valeur de 13,82% avec la dose D_{2n}. Les tests effectués montrent que les alcaloïdes exercent une activité insecticide importante avec l'augmentation de la dose. Utilisés à

différentes doses, les taux de succès sont statistiquement comparables avec le témoin et entre les différentes concentrations testées. Il s'avère alors que les alcaloïdes d'*A. pyrethrum* sont très toxiques vis-à-vis du taux de succès des bruches (Figure 15).

La variabilité individuelle est moyenne ; les coefficients de variation oscillent entre 2,02% et 20,99% (Tableau 5).

Tableau 5. Taux de succès en % de *C. maculatus* sur les graines de *C. arietinum* traitées par différentes concentrations des alcaloïdes des racines d'*A. pyrethrum*.

Concentration (g/50graines)	Descendants moyens ± écart type	Minimum	Maximum	Coefficient de variation (%)
0	95,08 ± 1,92	93,03	96,85	2,02
0,185	83,83 ± 4,10	79,21	87,02	4,89
0,37	45,25 ± 9,50	35,23	54,13	20,99
0,74	13,82 ± 4,99	8,33	18,09	36,10

4 DISCUSSIONS

L'analyse chromatographique nous a permis de constater que les quatre extraits d'*A. pyrèthrum* renferment des alkylamides en particulier la pellitorine et l'anacycline. Des résultats similaires ont été rapportés par Gautam *et al.* 2011 [14] et Bohlmann *et al.* 1973 [20]. Ils sont aussi en conformité avec ceux de Gulland *et al.* 1930 [21], Sukumaran *et al.* 1995 [22], et Chaaib 2004 [23] qui ont montré que la pellitorine est le principal constituant présent dans les racines d'*A. pyrethrum*. En outre, Burden et Crombie 1969 [24] ont prouvé que l'*A. pyrethrum* contient le N-(2-p-hydroxyphényléthyl) deca -, dodeca -, et tetradeca-trans-2, trans-4-dienamide, qui est une nouvelle série de tyramine-amides. En outre, Jente *et al.* 1972 [25] ont affirmé que l'examen de l'extrait des racines d'*A. pyrethrum* a donné en plus des matières déjà connues, des amides supplémentaires dont les structures ont été déterminées par spectroscopie. Auhmani 1995 [26] a isolé des racines de pyrèthre deux composés isobutylamides insaturés dont leurs structures ont été identifiées. Dans notre travail nous avons pu identifier 25 composés dont les alkylamides 1, 2, 3 et 5 à nos connaissances, ont été identifiés pour la première fois. Naturellement, Les molécules bioactives N-alkylamides présentent des degrés d'activités biologiques variables. L'évaluation de structure-toxicité a mené au développement des N-alkylamides synthétiques qui se montrent prometteurs en tant qu'agents de lutte contre les insectes.

Les expérimentations effectuées nous ont permis de suivre l'évolution de la longévité, la fécondité, la fertilité, le nombre d'œufs non fécond et le taux de succès de *C. maculatus* vis-à-vis des alcaloïdes extraits des racines d'*A. pyrethrum*. Utilisés à différentes doses, ces alcaloïdes occasionnent un effet insecticide significatif sur ces paramètres. Les alcaloïdes d'*A. pyrethrum* affectent la longévité des bruches d'une manière très significative. Des résultats similaires ont été observés aussi chez *Mustica domestica* traité par la pellitorine, isolée des racines de *Zanthoxylum usambarensis* [27]. Ainsi, l'isobutylamide (pellitorine) identifié dans les fruits de *Piper nigrum* et les racines d'*Asarum heterotropoides* a une puissance larvicide considérable [17], [28]. Les résultats sont conformes aussi à ceux décrits par Miranda *et al.* 2003 [29], l'extrait d'alcaloïde de *Piper tuberculatum* provoque la mortalité des larves et adultes d'*Apis mellifera*. De même, Bouchelta *et al.* 2005 [30] ont prouvé que les alcaloïdes extraits des fruits de *Capsicum frutescens* (L.) affectent la survie des œufs et les adultes de *Bemisia tabaci* infestant les plants de tomates, *Lycopersicon esculentum* Mill. var. Daniella. Autant Flint et Parks 1995 [31]; et Hori 1996 [32] ont observé que l'extrait d'ail provoque respectivement la mortalité des différents stades de *Bemisia argentifolii* et de *Myzus persicae*.

Les alcaloïdes des racines femelles d'*A. pyrethrum* induisent chez les femelles de *C. maculatus* une inhibition importante de la fécondité. Ces résultats sont conformes à ceux de Aboua *et al.* 2010 [33]. Cette diminution de la fécondité, est due à la mort précoce des bruches qui ne dépasse pas cinq jours avec toutes les concentrations. Egalement, Schmidt *et al.* 1991 [34] ont prouvé l'effet d'*Acorus clamus* sur le *Callosobruchus phaseoli*. Ces résultats sont pareils à ceux observés par Abbassi *et al.* 2005 [35] en étudiant l'effet des alcaloïdes de l'extrait éthanolique des feuilles de *Peganum harmala* en floraison sur le criquet pèlerin, une réduction de la fécondité des femelles traitées à l'état imaginaire. Ces résultats sont similaires à ceux de Bouchelta *et al.* 2005 [30], qui ont étudié l'effet des alcaloïdes de *Capsicum frutescens* (L.) sur *Bemisia tabaci*. Comme cela a été mis en évidence par Aouinty *et al.* 2006 [36], qui ont montré l'efficacité des extraits de *Ricinus communis* et du *Tetraclinis articulata* sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). Aussi, les résultats sont conformes à ceux de Ba-Angood et Al-Sunaidy 2003 [37] qui ont constaté que *Lantana Camara* affect la ponte de *Callosobruchus chinensis*.

Les alcaloïdes d'*A. pyrethrum* exercent aussi un effet négatif sur la fertilité. De leur côté, Abbassi *et al.*, 2003; 2005 [38], [35] ont observé que les alcaloïdes de l'extrait éthanolique des feuilles de *Peganum harmala* en floraison a réduit la fertilité des femelles traitées à l'état imaginaire chez le criquet pèlerin. Ces résultats sont générés par les alcaloïdes indoliques, la harmine et la harmaline, qui ont été identifiés dans cet extrait. Les alcaloïdes d'*A. pyrethrum* agissent fortement sur la viabilité des œufs. Les résultats ont également été observés par Nuto, 1995 [39] sur *C. maculatus* traité par les extraits d'écorce de *Xanthoxyloides xanthoxyloides*. Ceci a été tant observé chez *Bemisia tabaci* [30]. D'ailleurs, Kiendrebeogo *et al.* 2006 [40] ont montré que l'extrait à l'acétone de *Striga hermonthica* provoque un effet ovicide sur *C. maculatus*.

Les résultats obtenus ont montré que les différentes concentrations des alcaloïdes ont diminué le pourcentage du taux de succès de *C. maculatus* par rapport au témoin. Ces résultats sont similaires à ceux déjà observés par Kiendrebeogo *et al.* 2006 [40], qui ont montré que l'extrait de *Striga hermonthica* entraîne une réduction de taux d'adultes de *C. maculatus* émergeant des graines. Comme cela a été montré par Aiboud 2011 [41] en étudiant l'efficacité du thym, d'origan, du basilic, du myrte, du giroflier, d'eucalyptus et du bois d'inde sur la bruche *C. maculatus*, le pyrèthre d'Afrique est connu pour ses propriétés insecticides. L'effet insecticide de la racine d'*A. pyrethrum* a été observé chez les poux et vermine [42]. Ceci serait peut être dû aux alcaloïdes comme a montré Kambou et Guissou 2011 [43] qui ont prouvé que les propriétés insecticides d'extrait aqueux de substances épiciées sur les insectes ravageurs de l'haricot vert (*Phaseolus vulgaris*) étaient dues à la présence des alcaloïdes pipéridiniques. Ces résultats sont similaires à ceux déjà observés par Kabore *et al.* 1998 [44], qui attribuent la primauté des actions biologiques de *Nauclea latifolia* Sm. aux principes alcaloïdiques variés contenus dans les racines. Les alcaloïdes peuvent avoir des effets toxiques par contact chez les embryons (œufs) par contact et/ou par ingestion chez les adultes de *C. maculatus*. D'ailleurs, Sovanvatey *et al.* 2011 [45] ont illustré par l'étude phytochimique de *Poikilospermum suaveolens* (Blume) Merr. que ses effets insecticides étaient dû à l'action de l'alcaloïde terpénique isolé de la tige de cette plante, la friedeline.

5 CONCLUSION

Les alcaloïdes sont des substances naturelles, biodégradables et moins polluantes. Cette étude montre que les alcaloïdes, N-alkylamides, des racines d'*A. pyrethrum* ont une action certaine dans le contrôle de *C. maculatus*. Ceci indique qu'une protection durable et à coût peu élevé contre *C. maculatus* est possible en utilisant les alcaloïdes d'*A. pyrethrum* ce qui peut représenter une solution alternative intéressante aux insecticides chimiques. Le traitement des denrées stockées par les extraits des plantes contre les insectes ravageurs peut être envisagé dans les conditions de stockage sans risque pour le consommateur et l'environnement. Par ailleurs, sachant que les extraits de plantes perdent leur activité biologique sous les radiations solaires [46], les modes d'action, les modalités d'application et l'impact des facteurs physiques sur la dégradation des composés botaniques testés doivent aussi être étudiés. Ces travaux pourraient être poursuivis afin de trouver une utilisation pratique de ces formulations dans la protection des stocks de légumineuses en général et des stocks de *C. arietinum* en particulier.

RÉFÉRENCES

- [1] D. Soltner, Les bases de la production végétale. Sol, climat, plante, Ed. Lavoisier, Angers, 464 p, 1990.
- [2] V. Lienard and D. Seck, Revue des méthodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coléoptera : Bruchidae) ravageur des graines de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp en Afrique tropicale. *Insect Sci. Applic.*, 15, p301-311, 1994.
- [3] L.J. Bamaiyi, I. Onu, C.I. Amatobi and M.C. Dike, Effect of *C. maculatus* infestation on nutritional loss on stored cowpea grains. *Archives of Phytopathology and Plant Protection.*, 39, p119-127, 2006.
- [4] A. Kellouche and N. Soltani, Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *International Journal of Tropical Insect Science.*, 24, p184-191, 2004.
- [5] L. Matos, B. Mikolo, D. Massamba, V. Mamonekene and T. Miller, Evaluation de l'activité insecticide de l'écorce de *Fagara heitzii* Aubr. Pel. Sur *Callosobruchus maculatus* F., *Sitophilus zeamays* Motsch et *Periplaneta americana* L. *Ann. Univ. M. Ngouabi.*, 10, p 42-48, 2009.
- [6] A. Delobel, M. Tran, *Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes*. Orstom Editions, Paris, 424 p, 1993.
- [7] J. Bellakhdar, Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-sahariennes contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Edition techniques nord-africaines, Rabat, 221 p, 1978.
- [8] L.A. Tapondjou, C. Adler, H. Bouda and D.A. Fontem, Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research.*, 38, 395-402, 2002.

- [9] K. Batanouny, Guide to Medicinal Plants in North Africa. Centre for Mediterranean Cooperation, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources: *Anacyclus pyrethrum* L. ISBN 2-8317-0893-1, p 35-37, 2005.
- [10] N. N. Jalayer, M. Niakan, E. Khodadadi, Determination of Antibacterial Activity of *Anacyclus Pyrethrum* Extract against Some of the Oral Bacteria: An In Vitro Study. *Shiraz Univ Dent J*; 13(2), p 59-6, 2012.
- [11] K. Sujith, Ronald Darwin C., Suba V., Inhibitory effect of *Anacycluspyrethrum* extract on acetylcholinesterase enzyme by *invitro* methods, *Phcog J | Vol 4 | Issue 33*, priginal article, p 31-34, 2012.
- [12] Ch. Selles, M. E. A. Dib, H. Allali and B. Tabti, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts of *Anacyclus pyrethrum* L., from Algeria *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2(2), p 408-415, 2012.
- [13] S. M. A. Zaidi, A. P. Shadab, S. Surender, J. Shakir, J. A. Farhan, K. K. Roop, Anticonvulsant, Anxiolytic and Neurotoxicity Profile of Aqarqarha (*Anacyclus pyrethrum*) DC (Compositae) Root Ethanolic Extract. *Pharmacology & Pharmacy*, 4, p 535-541, 2013.
- [14] O.P. Gautam, V. Savita, S. K. Jain, Anticonvulsant And Myorelaxation Activity Of *Anacyclus Pyrethrum* Dc. (Akarkara) Root Extract. *Pharmacologyonline 1*: 121-125 Newsletter, 2011.
- [15] M. Yolanda Rios, Natural Alkamides: Pharmacology, Chemistry and Distribution, Drug Discovery Research in Pharmacognosy, Prof. Omboon Vallisuta (Ed.), ISBN: 978-953-51-0213-7, 2012.
- [16] B. Jente, B. Antoon, N. Joachim, V. Lieselotte, T. Guy De, S. Bart De, Alkamid database: Chemistry, occurrence and functionality of plant N-alkylamides. *Journal of Ethnopharmacology* 142, p 563–590, 2012.
- [17] P. IL-Kwon, L. Sang-GIL, S. Sang-CHUL, P. Ji-Doo, A. Young-Joon, Larvicidal Activity of Isobutylamides Identified in *Piper nigrum* Fruits against Three Mosquito Species. School of Agricultural Biotechnology, J. Agric. Food Chem., 50, p 1866-1870, 2002
- [18] R. Annalakshmi, R. Uma, G. Subash chandran, A. Muneeswaran, A treasure of medicinal herb - *Anacyclus pyrethrum*. A review *Indian Journal of Drugs and Diseases*. ISSN: 2278–294. ISSN: 2278- 2958. Vol.1 No.3. p 59-67, 2012.
- [19] A. Djilani, B. Legseir, R. Soulimani, A. Dicko & C. Younos, New technique for alkaloids. *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, p 518-520, 2006.
- [20] F. Bohlmann, T. Burkhardt, C. Zedero, Naturally Occurring Acetylenes, Academic Press, London, p 74-78, 1973.
- [21] J.M. Gulland, G.U. Hopton, Pellitorine, the pungent principle of *Anacyclus pyrethrum*. *Journal of the Chemical Society*, p 6-11, 1930.
- [22] K. Sukumaran, R. Kuttan, Inhibition of tobacco-induced mutagenesis by eugenol and plant extracts. *Mutation Research - Genetic Toxicology*, 343, p 25-30, 1995.
- [23] K.F. Chaib, Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae), Thèse de doctorat, p 87-100, 2004.
- [24] R.S. Burden, L. Crombie, Amides of vegetable origin. Part XII. A new series of alka-2,4 dienoic tyramine-amides from *Anacyclus pyrethrum* D.C. (Compositae). *Journal of the Chemical Society C: Organic*, 19, p 2477-2481, 1969.
- [25] R. Jente, Bonnet P.H., Bohlmann F., Polyacetylenverbindungen, 206. Über die Inhaltsstoffe von *Anacyclus pyrethrum* DC. *Chemische Berichte*, 105, p 1694-1700, 1972.
- [26] A. Auhmani, Contribution à l'étude chimique et pharmacologique d'*Anacyclus pyrethrum* DC, Thèse de doctorat, p 21-27, 1995.
- [27] He. Weidong, L.V. Puyvelde, N. D. Kimpe, L. Verbruggen, K. Anthonissen, M.V.d. Flaas, J. Bosselaers, S.G. Mathenge and F.P. Mudida, Chemical Constituents and Biological Activities of *Zanthoxylum usambarense*. *PHYTOTHERAPY RESEARCH Phytother. Res.* 16, 66–70. DOI: 10.1002/ptr.849, 2002.
- [28] H. Perumalsamy, J-R. Kim, SM. Oh, JW. Jung, Y-J. Ahn, Novel Histopathological and Molecular Effects of Natural Compound Pellitorine on Larval Midgut Epithelium and Anal Gills of *Aedes aegypti*. *PLoS ONE* 8(11): e80226. doi: 10.1371/journal.pone.0080226. 2013.
- [29] J.E. Miranda, H.M. Debonsi Navickiene, R.H. Nogueira-Couto, S.A. De Bortoli, M.J. Kato and V.D. Silva Bolzani, M. Furlan, Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences.*, 34, p 409-415, 2003.
- [30] A. Bouchelta, A. Boughdad & A. Blenzar, Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanacées) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera : Aleyrodidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 9, p 259-269, 2005.
- [31] HM. Flint and NJ. Parks, Tests of garlic control of the silverleafwhitefly, *Bemissia argentifolii* in cotton. *Southwestern Entomologist.*, 20, p137-150, 1995.
- [32] M. Hori, Settling inhibition and insecticidal activity of garlic and onion against *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Appl, Entomol, Zool.*, 31, p605-612, 1996.
- [33] L.R.N. Aboua, B.P. Seri-Kouassi, H.K. Koua, Insecticidal Activity of Essential Oils from Three Aromatic Plants on *Callosobruchus maculatus* F. in Côte D'ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 39, p 243-250, 2010.

- [34] G.H. Schmidt, E.M. Risha, A.K.M. El-Nahal, Reduction of progeny of some stored product *coleoptera* by vapours of *Acourus calamus* oil. *Journal of Stored Products Research*, 27, p 121-127, 1991.
- [35] K. Abbassi, L. Mergaoui, Z. Atay-Kadiri, S. Ghaout & A. Stambouli, Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. *Zool. Baetica.*, 16, p 31-46, 2005.
- [36] B. Aouinty, S. Oufara, F. Mellouki & S. Mahari, Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10, p 67-71, 2006.
- [37] S. BA-Angood, and M.A. AL-Sunaigy, Effect of neem oil and some plant powders on egg laying and hatchability of cowpea beetle, *Callosobruchus chinensis* eggs on stored cowpea seeds. *Uni. Aden J. Nat. Appl. Sci.*, 7: p 195-202, 2003.
- [38] K. Abbassi, L. Mergaoui, Z. Atay-Kadiri, A. Stambouli & S. Ghaout, Activité biologique de l'extrait de graines de *Peganum harmala* sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål 1775). *Journal of Orthoptera Research.*, 12, p 71-78, 2003.
- [39] Y. Nuto, Synergistic action of cooccurring toxins in the root bark of *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae) against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Ph. D, State University of New York, NY, 107 p, 1995.
- [40] M. Kiendrebeogo, A.P. Ouedraogo and O.G. Nacoulma, Activités insecticides de *Striga hermonthica* (Del.) Benth (Scrophulariaceae) sur *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera : Bruchidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10, p 17-23, 2006.
- [41] K. Aïboud, Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coléoptère : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de *Vigna unguiculata* (L.) Walp., Mémoire de magister, p 49-51, 2011.
- [42] J. Bellakhdar, Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-sahariennes contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Edition techniques nord-africaines, Rabat, 221 p, 1978.
- [43] G. Kambou and I.P. Guissou, Phytochemical composition and Insecticidal Effects of Aqueous Spice Extracts on Insect Pests Found on Green beans (*Phaseolus vulgaris*) in Burkina Faso. *Tropicicultura.*, 29, p 212-217, 2011.
- [44] I.Z. Kabore, I.P. Guissou, S. Sourabie and G. Gngao, Eléments de monographie sur *Nauclea Latifolia* SM. (Rubiaceae) : Chimie, Activités biologiques, Toxicité. *Pharm. Méd. Trad. Afr.*, 10, p 42-54, 1998.
- [45] N. Sovanvatey, Mathieu L., Kaing C.S., Bruno D., Sothea K., Etude phytochimique de *Poikilospermum suaveolens*. (Blume) Merr., Congrè du Mékong Santé, p 1-21, 2011.
- [46] IM. Scott, H. Jensen, JG. Scott, MB. Isman, JT. Arnason & BJR. Philogène1, Botanical insecticides for controlling agricultural pests: Piperamides and the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae). *Arch. Insect Bioch. Physio.*, 54, p 212-225, 2003.