



HAL
open science

Évaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL

Isabelle Boulogne

► To cite this version:

Isabelle Boulogne. Évaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL. Sciences du Vivant [q-bio]. Université des Antilles et de la Guyane, 2011. Français. NNT : . tel-02810978

HAL Id: tel-02810978

<https://hal.inrae.fr/tel-02810978>

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

– École doctorale pluridisciplinaire –

UR1321, ASTRO Agrosystèmes Tropicaux

THÈSE

présentée par

Isabelle BOULOGNE

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université des Antilles et de la Guyane

Discipline/Spécialité : Biologie

**Évaluation du potentiel insecticide et antifongique sur
Acromyrmex octospinosus (Reich) d'une sélection de
plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL**

Thèse soutenue le 17 novembre 2011

Mention très honorable

– **JURY** –

M. ARNASON John

Full Professor, University of Ottawa, Canada (Examineur)

M. FEBVAY Gérard

DR, UMR 203 INRA/INSA de Lyon (Rapporteur)

M. GROS Olivier

PR, Université des Antilles et de la Guyane (Examineur)

M. MORA Philippe

PR, Université Paris-Est Créteil (Rapporteur)

M. OZIER-LAFONTAINE Harry

DR, UR1321 ASTRO, INRA (Examineur)

Mme LORANGER-MERCIRIS Gladys

MCF HDR, Université des Antilles et de la Guyane (Directrice)

REMERCIEMENTS

L'exercice des remerciements est toujours périlleux tant il est difficile d'être totalement exhaustif et de n'oublier personne. Je commence donc par remercier tous ceux que je n'ai pas nominativement cités dans le texte qui suit et qui ont contribué de près ou de loin à ce travail de trois ans.

Je continue en exprimant ma profonde reconnaissance à la personne sans qui tout cela n'aurait pas été possible : Gladys Loranger-Merciris. En plus d'être une directrice sans faille, elle a été une amie avant que ne commence ce travail de thèse et durant celui-ci.

J'ai une pensée spéciale pour Harry Ozier-Lafontaine qui m'a chaleureusement accueillie à l'INRA et a su répondre présent à chaque fois que je l'ai sollicité.

Je tiens à remercier mes deux rapporteurs Gérard Febvay et Philippe Mora qui ont accepté de juger mon travail et de faire partie de mon jury. Je remercie aussi les deux autres membres de mon jury : Olivier Gros et John Arnason qui m'accordent également leur temps et leur expertise.

Merci à Hervé Mauléon, Michel Geoffroy, Mirna Bolus, Philippe Petit, Lionel Robineau, Patrick Merciris, Rudy Calif et Luc Gomel qui ont sacrifié de leur temps pour me relire et m'apporter leurs suggestions.

Merci à tout le personnel de l'INRA en général et à celui de l'unité de recherche ASTRO en particulier. Je pense notamment à Francois Bussièrre qui a accepté de m'accueillir dans son unité mais aussi à ceux qui m'ont offert leur aide technique et leurs gentilles attentions : Fred Burner, Andève Mulciba, Guy Gougougnan, Frédérique Razan, Michèle Salles, Hervé Mauléon, Dominique Denon, Sophie Briand, Jean-Louis Diman, Chantal Fléreau, Lydia Rousseau, Nicole Edinval, Dalila Petro, Sandrine Etienne, Patricia Traffond, Lucienne Desfontaines, Louis Fahrasmane, Claudie Pavis, Maryse Cyrille,...

Merci à Fred Célimène (directeur du laboratoire CEREGMIA) qui a financé les deux dernières années de cette thèse me permettant ainsi de me consacrer entièrement à ce travail de recherche.

Mes pensées vont aussi à ma famille qui a su se faire à la fois discrète et présente : alchimie parfaite dont j'avais besoin durant cette période.

Enfin, je termine en ayant une douce pensée pour mes amis de très longue date : Michel et Mirna qui me soutiennent sans faille depuis si longtemps.

RÉSUMÉ

Les Attines sont des fourmis champignonnistes localisées dans la zone allant du sud des États-Unis à l'Argentine en passant par la Caraïbe. Les dégâts causés par ces ravageurs sont considérables et estimés à plusieurs millions de dollars par an. Elles sont de ce fait considérées comme l'un des premiers fléaux de l'agriculture de la zone (Cameron & Riggs, 1985; Fowler *et al.*, 1986). En Guadeloupe, la «fourmi manioc» (*Acromyrmex octospinosus* Reich) cause de nombreux dommages, aussi bien pour l'agriculture que dans les milieux naturels. Les dégâts occasionnés par ces fourmis ont nécessité l'utilisation de pesticides de synthèse pour tenter de les combattre. La dangerosité de ces substances pour les milieux naturels et anthropisés ainsi que pour la santé publique est un contexte favorable à l'exploration de nouvelles pistes telles que l'utilisation de plantes à usages phytosanitaires.

Certains métabolites secondaires contenus dans les plantes présentent une action défensive du végétal contre les ravageurs. Les activités pesticides de ces métabolites ont été mises en évidence par les observations empiriques des populations durant des siècles (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Fort de ce constat, le programme TRAMIL, dont la solide expérience en matière de recueil et de validation du savoir populaire n'est plus à démontrer, semble être le point de départ idéal pour trouver des plantes réputées pour leur activité insecticide et antifongique pouvant être utilisées dans une lutte intégrée contre la fourmi manioc.

L'objet principal de cette thèse consiste à savoir si on peut déceler à partir de l'ethnopharmacologie TRAMIL des usages permettant de combattre cette fourmi et son symbiote fongique, *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller. Les protocoles retenus et présentés dans ce travail permettent d'observer les effets des usages de plantes choisis sur la survie et le comportement des insectes et sur la croissance du symbiote. Ils ont été sélectionnés pour leur potentialité à mettre en évidence les différents types d'effets des extraits végétaux (insecticide par contact, insectifuge, toxique par ingestion, fongistatique ou fongicide). Six usages traditionnels issus de cinq plantes sont testés sur la fourmi : *Mammea americana* L., *Nerium oleander* L., *Nicotiana tabacum* L., *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. et *Trichilia pallida* Sw. Cinq autres usages traditionnels sont testés sur le champignon : *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Manihot esculenta* Crantz et *Senna alata* (L.) Roxb. Les résultats obtenus permettent de dégager quelques pistes de lutte intéressantes contre ce ravageur.

Mots-clés : agroécologie, *Attini*, biopesticides d'origine végétale, *Leucocoprinus gongylophorus*, lutte intégrée, myrmécologie.

ABSTRACT

Leaf-cutting ants are fungus-growing ants. Their geographic distribution ranges from southern United States to northern Argentina, including the West Indies. Economic losses due to these ants were estimated at several million dollars per year. The latter statement makes they are considered as one of the most important pest species of the agricultural productions (Cameron & Riggs, 1985 ; Fowler *et al.*, 1986). In Guadeloupe, the most important invasive pest species which caused important losses in forests, gardens and field crops is ‘cassava ant’ (*Acromyrmex octospinosus* Reich). These huge losses required to use synthetic chemical pesticides to control these leaf-cutting ants, the consequence of which is, irreversible injuries on environment and on human health. As a matter of fact, this situation has prompted an increasing interest in alternative methods for pest control like plants with pesticide used.

The plants secondary metabolites have a defensive action against herbivores. These useful natural insecticides often come from traditional knowledge (Regnault-Roger *et al.*, 2002). The objectives and experience of TRAMIL in traditional Caribbean knowledge and sustainable utilization of plants seem to be the best starting point to find interesting plant uses with insecticidal or fungicidal potentiality.

The main objective of this thesis is to know if traditional ethnopharmacological TRAMIL uses could help to fight against this ant and against the symbiotic fungus, *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller. Methods used and presented in this work allowed to observe effects of selected plant uses on mortality and insect’s behavior. The protocols performed were selected for their potentiality to detect the different types of insecticidal effects (contact toxicity, repellent effect, toxicity by ingestion, fungicidal or fungistatic). Six traditional plant uses of five plants were tested on the ant : *Mammea americana* L., *Nerium oleander* L., *Nicotiana tabacum* L., *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. and *Trichilia pallida* Sw. Five other plant uses were tested on the fungus : *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Manihot esculenta* Crantz and *Senna alata* (L.) Roxb. The obtained results provide us with some interesting trails to fight against this pest.

Keywords : agroecology, *Attini*, biopesticides of plant origin, integrated pest management, *Leucocoprinus gongylophorus*, myrmecology.

Table des matières

Liste des figures	9
Liste des tableaux	13
INTRODUCTION	16
I ÉTAT DE L'ART & PROBLÉMATIQUE GÉNÉRALE	18
1 La fourmi manioc, <i>Acromyrmex octospinosus</i>	19
1.1 Répartition géographique	19
1.2 Biologie de la fourmi	19
1.2.1 La reproduction	20
1.2.2 Le comportement social	21
1.2.3 L'affouragement	23
1.3 Les symbioses	23
1.3.1 La symbiose avec l'actinomycète	23
1.3.2 La symbiose fongique	24
1.4 Estimation des dégâts	25
1.5 Les méthodes de lutte et les travaux	26
1.5.1 Les méthodes de lutte et les travaux au niveau mondial	26
1.5.2 Les méthodes de lutte et travaux en Guadeloupe	28
2 Le réseau TRAMIL	33
2.1 Historique	33
2.2 Méthodologie	33
2.3 Les usages insecticides	34
2.4 Les usages antifongiques	34

3	Les composés chimiques à activité insecticide, insectifuge et antifongique d'origine végétale	36
3.1	Les composés insecticides	36
3.2	Les composés insectifuges	37
3.3	Les composés antifongiques	38
4	Problématique générale	39
 II MATÉRIELS & MÉTHODES		40
1	Entretien des nids en laboratoire	41
2	Isolement et entretien du champignon symbiote	42
3	Tests insecticides	43
3.1	Test de toxicité par contact	44
3.2	Test d'activité insectifuge	45
3.3	Test de toxicité par ingestion	45
3.4	Tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats	46
3.5	Concentrations et doses létales des lyophilisats des usages insecticides	47
4	Tests antifongiques	48
4.1	Test antifongique en milieu liquide	49
4.2	Test antifongique en milieu gélosé	49
4.3	Test au sel de tétrazolium MTT	50
4.4	Concentration inhibitrice de croissance des usages antifongiques . . .	51
5	Tests insecticides et antifongiques sur nids artificiels	52
6	Les molécules insecticides et antifongiques des préparations TRAMIL utilisées	54
6.1	Criblage phytochimique	54
6.2	Dosage des familles chimiques d'intérêt	55
7	Analyse statistique	56
 III RÉSULTATS		58
1	Tests insecticides	59

1.1	Tests de toxicité par contact	59
1.2	Test d'activité insectifuge	63
1.3	Test de toxicité par ingestion	68
1.4	Tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats	74
1.5	Concentration et dose létales des lyophilisats des usages insecticides	81
2	Tests antifongiques	85
2.1	Test antifongique en milieu liquide	85
2.2	Test antifongique en milieu gélosé	86
2.3	Test au sel de tétrazolium MTT	87
2.4	Concentration inhibitrice de 50 % et 99 % de la croissance du champignon pour les usages antifongiques	88
3	Tests insecticides et antifongiques sur nids artificiels	89
3.1	Tests d'appétence	89
3.2	Test de vérification de la non toxicité par ingestion du fongicide choisi	90
3.3	Sélection des nids à prélever par suivi d'activité moyenne	91
3.4	Détermination de l'heure optimale de mesure de l'activité et de dépôt des appâts sur nids artificiels	92
3.5	Test d'ingestion sur nids artificiels des usages insecticide et antifongique sélectionnés	93
4	Les composés insecticides et antifongiques des préparations TRAMIL utilisées	95
4.1	Criblage phytochimique	95
4.1.1	Les extraits insecticides	95
4.1.2	Les usages antifongiques	96
4.2	Dosage des familles chimiques d'intérêt	97
4.2.1	Les usages insecticides	97
4.2.2	Les usages antifongiques	101

DISCUSSION	106
CONCLUSION & PERSPECTIVES	124
BIBLIOGRAPHIE	130
ANNEXES	150
A Cartes de la répartition géographique des <i>Attines</i> et d' <i>Acromyrmex octospinosus</i>	151
B Photothèque des plantes à usages insecticides et antifongiques utilisées	155
C Exemples de calculs de régression logistique	159
D Etude préliminaire en conditions naturelles de l'activité de nids de fourmis en fonction de conditions pédoclimatiques contrastées	162
D.1 Les conditions pédoclimatiques choisies	162
D.2 L'activité des nids	165
D.3 Les corrélations activité des nids/conditions pédoclimatiques	165
E Les composés chimiques insecticide et antifongique d'origine naturelle, les espèces végétales et sélection d'espèces végétales d'intérêt à tester sur <i>A. octospinosus</i> et <i>L. gongylophorus</i>	169

Table des figures

1	Femelles reproductrices d' <i>A. octospinosus</i> (reine à gauche et gyne à droite). . . .	20
2	Larves et nymphes d' <i>A. octospinosus</i> à différents stades.	21
3	Les trois castes des ouvrières d' <i>A. octospinosus</i> (minor, media et major).	21
4	Meule de <i>Leucocoprinus gongylophorus</i> (Heim) Moeller.	25
5	Cartes d'infestation de la Guadeloupe de 1954 à 2008 (d'après INRA, 2001). . . .	26
6	Relations existant entre les individus de la colonie <i>A. octospinosus</i> et leurs symbiotes.	31
7	Types de composés responsables de l'activité insecticide (en %).	36
8	Types de composés responsables de l'activité insectifuge (en %).	37
9	Types de composés responsables de l'activité antifongique (en %).	38
10	Nid artificiel (à gauche) et bac central du nid contenant la meule (à droite). . . .	41
11	Culture du champignon (à gauche) et observations microscopiques de <i>gongylidia</i> (×100 au centre) et (×400 à droite).	42
12	Le test de toxicité par contact.	44
13	Le test d'activité insectifuge.	45
14	Le test de toxicité par ingestion.	45
15	Exemple de mesure de surface du champignon à l'aide du logiciel MESURIM©. .	50
16	Test au MTT (à gauche) et comparaison entre un extrait fongistatique de <i>L. esculentum</i> (couleur bleu violacé) et les différentes concentrations d'un extrait antifongique de <i>Senna alata</i> (à droite).	51
17	Test de toxicité par contact de la macération aqueuse de la graine de <i>Mammea americana</i>	59
18	Test de toxicité par contact de la décoction de la feuille fraîche de <i>Nerium oleander</i> .	60
19	Test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de <i>Nerium oleander</i> .	61
20	Test de toxicité par contact de la décoction de la feuille sèche de <i>Nicotiana tabacum</i> .	61
21	Test de toxicité par contact de la décoction de la graine de <i>Rollinia mucosa</i>	62
22	Test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de <i>Trichilia pallida</i> .	63

23	Double témoin négatif du test d'activité insectifuge.	64
24	Test d'activité insectifuge de la macération aqueuse de la graine de <i>Mammea americana</i>	64
25	Test d'activité insectifuge de la décoction de la feuille fraîche de <i>Nerium oleander</i>	65
26	Test d'activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de <i>Nerium oleander</i>	66
27	Test d'activité insectifuge de la décoction de la feuille sèche de <i>Nicotiana tabacum</i>	66
28	Test d'activité insectifuge de la décoction de la graine de <i>Rollinia mucosa</i>	67
29	Test d'activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de <i>Trichilia pallida</i>	68
30	Test de toxicité par ingestion de la macération aqueuse de la graine de <i>Mammea americana</i>	69
31	Test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille fraîche de <i>Nerium oleander</i>	69
32	Test de toxicité par ingestion du broyat aqueux de la feuille sèche de <i>Nerium oleander</i>	70
33	Test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille sèche de <i>Nicotiana tabacum</i>	71
34	Test de toxicité par ingestion de la décoction de la graine de <i>Rollinia mucosa</i>	71
35	Test de toxicité par ingestion du broyat de la feuille sèche de <i>Trichilia pallida</i>	72
36	Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la macération de la graine de <i>Mammea americana</i>	75
37	Test de toxicité par ingestion du lyophilisat du broyat de la feuille sèche de <i>Nerium oleander</i>	76
38	Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de <i>Nerium oleander</i>	77
39	Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille sèche de <i>Nicotiana tabacum</i>	78
40	Test de toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant du Blitz®.	79
41	Quantités de nourriture artificielle ingérée en g contenant du Blitz® et les lyophilisats pour le test de toxicité par ingestion.	80
42	Poids en g du champignon pour le test antifongique en milieu liquide.	85
43	Surface en mm ² du champignon pour le test antifongique en milieu gélosé.	86
44	Test d'appétence comparant la quantité de nourriture artificielle témoin à celle contenant de pulpe de <i>Citrus sinensis</i> et de la poudre de feuille de <i>Dioscorea alata</i>	89
45	Test de non-toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant le fongicide choisi : <i>Senna alata</i>	90
46	Activité moyenne par minute des nids <i>in situ</i> (Sainte-Rose, Guadeloupe, plantation Siard).	91

47	Moyenne normalisée de l'activité par minute des nids artificiels pour déterminer l'heure de mesure d'activité et de pose des appâts.	92
48	Moyenne de l'activité par minute des nids artificiels avant, pendant et après traitements.	93
49	Poids moyen en g de la nourriture artificielle et habituelle ingérée avant, pendant et après traitements.	94
50	Quantité d'alcaloïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg PI/g de matière fraîche lyophilisée.	97
51	Quantité de composés phénoliques présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg AG/g de matière fraîche lyophilisée.	98
52	Quantité de terpénoïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg EG/g de matière fraîche lyophilisée.	99
53	Quantité d'alcaloïdes totaux présents dans les préparations antifongiques en mg (PI)/g de matière fraîche lyophilisée.	101
54	Quantité de composés phénoliques présents dans les préparations antifongiques en mg (AG)/g de matière fraîche lyophilisée.	102
55	Quantité de terpénoïdes présents dans les préparations antifongiques en mg (EG)/g de matière fraîche lyophilisée.	103
56	Distribution géographique des Attines (<i>Atta</i> sp et <i>Acromyrmex</i> sp).	152
57	Distribution des Attines (<i>Atta</i> sp et <i>Acromyrmex</i> sp) dans la zone Caraïbe . . .	153
58	Distribution d' <i>Acromyrmex octospinosus</i> Reich. dans la zone Caraïbe	154
59	Photo de <i>Mammea americana</i> L. (abricot pays)	155
60	Photo de <i>Nerium oleander</i> L. (laurier rose)	155
61	Photo de <i>Nicotiana tabacum</i> L. (tabac)	156
62	Photo de <i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill. (cachiman morveux)	156
63	Photo de <i>Trichilia pallida</i> Sw. (bois de fer batard)	156
64	Photo d' <i>Allium cepa</i> L. (oignon)	157
65	Photo d' <i>Allium sativum</i> L. (ail)	157
66	Photo de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. (tomate)	157
67	Photo de <i>Manihot esculenta</i> Crantz (manioc)	158
68	Photo de <i>Senna alata</i> (L.) Roxb. (dartrier)	158
69	Humidité du sol en % par volume de sol.	162
70	Température du sol (°C).	163
71	Humidité de l'air en %.	163
72	Température de l'air en °C.	164

73	Flux solaire global en W/m^2	164
74	Mesures moyennes de l'activité (nombre de fourmis entrantes /minute) de 5h à 20h de quatre nids localisés en plein soleil et sous couvert arboré (deux nids pour chaque condition).	165
75	Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité du sol en % par volume de sol.	165
76	Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température du sol en °C.	166
77	Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température de l'air en °C.	167
78	Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité de l'air en %.	167
79	Activités de fourmis entrantes par minute en fonction du flux solaire en W/m^2 . .	168

Liste des tableaux

1	Les usages insecticides TRAMIL	34
2	Les usages antifongiques TRAMIL	35
3	Numéros de vouchers des plantes à usages insecticides TRAMIL	44
4	Quantité de matières sèches en g/L de préparations traditionnelles insecticides (concentrations de 280g/L) et en g/kg de plante fraîche.	46
5	Quantité de matières sèches en g/kg de plante fraîche antifongique.	48
6	Numéros de vouchers des plantes à usages antifongiques TRAMIL	49
7	Standards et révélateurs utilisés pour le criblage des familles chimiques sélectionnées dans le cadre de notre étude.	55
8	Méthodes et protocoles utilisés pour le dosage des trois familles chimiques sélectionnées pour leur activité insecticide et antifongique.	55
9	Synthèse des résultats des tests d'activités insecticide et insectifuge.	73
10	Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la macération de la graine de <i>Mammea americana</i>	75
11	Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat du broyat de la feuille sèche de <i>Nerium oleander</i>	76
12	Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de <i>Nerium oleander</i>	77
13	Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la décoction de la feuille sèche de <i>Nico- tiana tabacum</i>	78
14	Test de Kruskal-Wallis de la nourriture artificielle contenant du Blitz®.	79
15	Concentrations létales (CL) des lyophilisats et du Blitz® pour obtenir 50 et 99 % de mortalité après 24 h et leurs bornes à 95 % de confiance (pour N=10 fourmis et 6 répétitions).	81
16	Doses létales (DL) pour obtenir 50 et 99 % de mortalité et leurs bornes à 95 % de confiance des lyophilisats et du Blitz® en mg/g de fourmis (pour N=10 fourmis et 6 répétitions).	81

17	Comparaisons des lyophilisats et du Blitz® selon les critères de toxicité, d'appétence et d'effet retard.	83
18	Comparaison des lyophilisats pour le test au MTT.	87
19	Concentrations inhibitrices (CI) de 50 % et 99 % de la croissance du champignon et leurs bornes à 95 % de confiance.	88
20	Criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles insecticides ayant révélé une toxicité par ingestion.	95
21	Criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles antifongiques ayant révélé une activité fongicide ou fongistatique.	96
22	Synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques insecticides.	100
23	Résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$).	100
24	Synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques fongicides.	104
25	Résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$).	104

INTRODUCTION

Les Attines sont des fourmis champignonnistes localisées dans la zone allant du sud des États-Unis à l'Argentine en passant par la Caraïbe, zone illustrée par les cartes en annexe A (Figures 56 et 57). Les dégâts causés par ces ravageurs sont considérables et ont été estimés à plusieurs millions de dollars par an au Texas et à 130 millions de dollars par an dans l'état de Sao Paulo au Brésil (Cameron & Riggs, 1985). Elles sont, pour ces raisons, considérées comme l'un des premiers fléaux de l'agriculture de la zone (Fowler *et al.*, 1986).

En Guadeloupe, une fourmi Attine, la «fourmi manioc» (*Acromyrmex octospinosus* Reich) cause d'importants dommages aussi bien au niveau de l'agriculture que des milieux naturels. Les nombreux dégâts occasionnés par ces fourmis ont nécessité la mise en place de mesures pour tenter de les combattre. De 1956 à 1993, des insecticides organochlorés ont été intensément utilisés en Guadeloupe pour lutter contre la fourmi manioc. Ces molécules bioaccumulables et fortement rémanentes sont désormais interdites du fait de leur impact néfaste sur l'environnement (Febvay *et al.*, 1990). Actuellement, la substance active autorisée est un phénylpyrazole pourtant considéré comme très toxique et dangereux pour l'environnement depuis 2005. La dangerosité de ces pesticides chimiques pour les milieux naturels et anthropisés est un contexte favorable à l'exploration d'une alternative et la lutte écochimique suscite aujourd'hui un intérêt grandissant (Arnason *et al.*, 1989).

Après la seconde guerre mondiale, le développement de la chimie a permis la mise au point d'un arsenal de pesticides capable d'éliminer les ennemis des cultures et de la végétation naturelle. Cette approche a conduit à une élimination spectaculaire des organismes nuisibles mais également à une détérioration parallèle de l'environnement avec un empoisonnement des sols, des rivières et de la végétation. Actuellement, la lutte contre les ravageurs des végétaux entre dans une nouvelle phase puisque les recherches privilégient une approche agroécologique fournissant des moyens en meilleure adéquation avec l'environnement (Philogene, 1991). L'agroécologie est l'application de concepts et principes écologiques pour la réalisation de systèmes agricoles durables. Il s'agit d'une science pluridisciplinaire étudiant les interactions entre les plantes, les animaux, les hommes et leur environnement au sein des systèmes agricoles. Elle intègre les connaissances de l'agronomie, l'écologie, la sociologie et l'économie en les appliquant et en les adaptant aux conditions locales et environnementales en minimisant les intrants et en favorisant les pesticides d'origine naturelle (Dalgaard *et al.*, 2003). Cette dernière approche n'est pas si récente puisque les espèces végétales sont parmi les premiers pesticides naturels connus depuis l'Antiquité. Cette action phytosanitaire des plantes est appelée à se développer et fait l'objet de nombreux travaux. En effet, la demande en «biopesticides» est de plus

en plus forte compte tenu de la conjoncture actuelle visant à éliminer les produits chimiques de synthèse considérés comme polluants et impactant sur la santé. Ces biopesticides d'origine végétale peuvent présenter des effets insecticides, fongicides, herbicides ou nématicides (Regnault-Roger *et al.*, 2002).

Bien que se trouvant désormais dans un contexte actuel favorable, l'utilisation de produits phytosanitaires à base de plantes n'a pas toujours été aisée. Celle-ci s'est heurtée à de nombreux freins du point de vue législatif. En 2006, l'article 70 de la LOA (Loi d'Orientation Agricole) interdit l'utilisation et la commercialisation des substances naturelles pour les traitements pesticides, les classant dans les produits phytopharmaceutiques. Ces substances sont soumises, au même titre que les substances chimiques, à des procédures complexes en vue de l'obtention d'autorisation de mise sur le marché. La situation devient plus favorable en décembre de la même année. L'utilisation des préparations naturelles à des fins de traitement des plantes est soumise à une autorisation prévue par la réglementation européenne et la loi du 30 décembre 2006 sur l'eau et les milieux aquatiques. Le commerce de ces produits est toutefois soumis à une évaluation de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire (ANSES) et nécessite toujours les mêmes standards que les produits chimiques de synthèse. En 2009, les préparations phytosanitaires naturelles bénéficient enfin d'une procédure simplifiée grâce au décret du 25 juin. En 2010, à la suite du Grenelle de l'environnement 2, le Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire décide de faciliter le développement de ces préparations en mettant en place le plan ECOPHYTO 2018. Ce plan a pour but de recenser les propositions permettant de développer les méthodes de biocontrôles, dont les préparations naturelles, et vise à réduire de moitié l'usage des pesticides de synthèse d'ici 2018 (Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire, 2010).

C'est dans ce contexte de volonté de trouver une alternative au contrôle phytosanitaire de synthèse de nuisibles tel qu'*Acromyrmex octospinosus* que se positionne notre étude.

Première partie

**ÉTAT DE L'ART &
PROBLÉMATIQUE GÉNÉRALE**

Chapitre 1

La fourmi manioc, *Acromyrmex octospinosus*

Acromyrmex octospinosus (Reich) est sans nul doute l'une des menaces actuelles majeures pour les écosystèmes naturels ainsi que les agrosystèmes de la Guadeloupe. Les nombreux dégâts occasionnés par ces fourmis ont nécessité et nécessitent encore la mise en place de mesures pour tenter de les combattre. Pour optimiser cette lutte, il convient de récolter le plus d'informations bibliographiques possible sur la biologie, le comportement et les moyens de lutte déjà utilisés contre cette fourmi.

1.1 Répartition géographique

A. octospinosus est originaire d'Amérique du Sud où elle existe depuis le Crétacé. Cette fourmi est présente sur son continent d'origine (Vénézuéla, Guyana, Surinam, Guyane et Brésil) et aux Antilles (Grenade, Trinidad, Tobago, Cariacou, Cuba et Guadeloupe) (Weber, 1966) (Annexe A Figure 58). Elle a été détectée en Guadeloupe en 1954 dans la commune de Morne-à-L'eau où elle occupait déjà 600 ha et existait probablement depuis plusieurs années (Blanche, 1960).

1.2 Biologie de la fourmi

A. octospinosus est une fourmi appartenant à la sous-famille des *Myrmicinae* et à la tribu des *Attini* qui comprend environ 200 espèces. Les Attines vivent en association symbiotique avec un champignon. La fourmi manioc est une Attine du genre *Acromyrmex*. Avec le genre *Atta*, ce sont les deux groupes les plus évolués de fourmis champignonnistes. Ces deux genres sont les seuls à découper du matériel végétal vivant pour en faire le substrat de culture du champignon (Decharme, 1980).

La fourmi manioc est un insecte social dont les colonies peuvent contenir 10000 à 20 000 individus (Lewis, 1975). Les nids sont souterrains, peu profonds (rarement à plus de 50 cm de la surface du sol) et souvent inclus dans des cavités naturelles créées par des rochers, des troncs ou des racines. Ils contiennent une meule ou « jardin à champignon » qui correspond au symbiote fongique de la fourmi (Decharme, 1978).

1.2.1 La reproduction

Les mâles sont haploïdes, ailés et ne possèdent pas de fonction sociale au sein de la colonie hormis la fécondation lors de l'essaimage. Les femelles sont diploïdes et sont différenciées par des facteurs environnementaux et génétiques en femelles reproductrices (futures reines) ou en ouvrières (Weber, 1966). Les femelles reproductrices (ou gynes) sont ailées (Figure 1) jusqu'à l'essaimage où elles sont fécondées par plusieurs mâles. Chaque gyne fécondée devient une reine et peut engendrer une colonie. La reine perd ses ailes et niche au sol où elle commence à pondre et à cultiver le champignon symbiote qu'elle transporte dans sa poche infrabuccale. Sa survie est assurée par la digestion des muscles alaires et du tissu adipeux abdominal et celle de ses premières larves est assurée par des œufs « trophiques » dont elle les nourrit. Les premières ouvrières émergent, se nourrissent alors du champignon jusque-là cultivé par la reine, puis prennent le relais de l'entretien du nid et des larves, laissant ainsi à la reine l'unique fonction de pondreuse (Delabié, 1982).



FIGURE 1 – Femelles reproductrices d'*A. octospinosus* (reine à gauche et gyne à droite).

La phase juvénile (de l'œuf à l'émergence) dure environ 60 jours. Les œufs éclosent après 24 h et se transforment en larves qui évoluent en 4 stades pour les ouvrières et 5 pour les reproductrices et les mâles. Les larves deviennent des nymphes dépourvues de pigmentation. Leur pigmentation se fait progressivement durant les 18 jours de ce stade (Figure 2). La mue imaginale libère des adultes de couleur claire

à l'équilibre instable et aux mouvements mal assurés (Delabie, 1982 ; Schockmel, 1985).



FIGURE 2 – Larves et nymphes d'*A. octospinosus* à différents stades.

Les ouvrières adultes sont dépourvues d'ailes et munies de 8 épines dorsales, caractéristique qui est à l'origine du nom d'espèce de cette fourmi. Elles sont réparties en 3 castes (les petites ouvrières ou «minor», les ouvrières moyennes ou «media» et les grandes ouvrières ou «major») (Delabie, 1982) (Figure 3). Il est à noter qu'il existe une «reproduction» des ouvrières qui ont la capacité de pondre des œufs haploïdes qui se développent pour donner des mâles. Cette reproduction est observée chez les colonies orphelines dépourvues de reines. Ces reproductions «haploïdes» ne sont pas observées chez les colonies comportant une reine, probablement grâce à une inhibition chimique exercée par celle-ci induisant une stérilité des ouvrières (Camargo *et al.*, 2006).

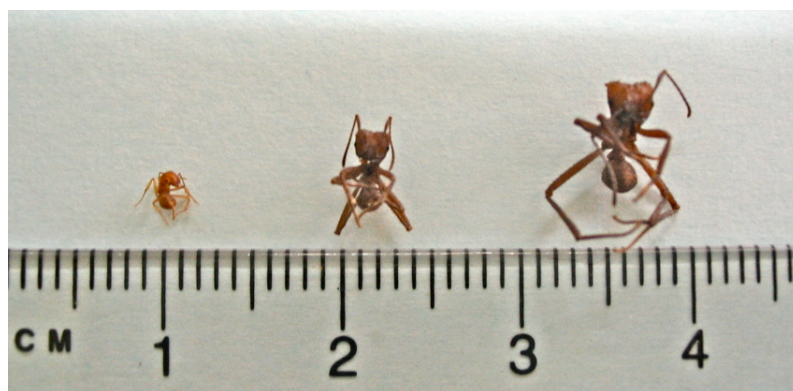


FIGURE 3 – Les trois castes des ouvrières d'*A. octospinosus* (minor, media et major).

1.2.2 Le comportement social

Les signaux chimiques chez *A. octospinosus*, comme chez les autres Attines, sont l'un des supports indispensables de la vie sociale. Les phéromones sont les princi-

paux signaux émis par les fourmis. Elles jouent un rôle essentiel dans l'organisation de la colonie. Les phéromones de déclenchement sont la phéromone de piste et la phéromone d'alerte. Cette dernière est sécrétée par la glande mandibulaire et constituée de quinze composés, principalement l'octanone et l'octanol. La phéromone de piste est sécrétée par la glande à poison et constituée principalement de diméthylpyrrole carboxylate, d'acétaldéhyde et de diméthyl-éthylpyrazine (Cross *et al.*, 1982 ; Evershed & Morgan, 1983). La phéromone d'amorçage (phéromone de la reine) modifie la physiologie des ouvrières et est responsable de l'attractivité du nid pour les ouvrières qui en sont issues (Crewe & Blum, 1972).

Le travail de la colonie est réparti en fonction des castes qui sont elles-mêmes fonction de la taille des fourmis. Les ouvrières «major» mesurent entre 7 et 10 mm et sont chargées de la découpe et du transport du matériel végétal jusqu'au nid. Elles assurent également le transport des larves et des nymphes à l'intérieur du nid et participent à la fouille des galeries avec les «media». Les ouvrières «media» mesurent entre 4 et 7 mm et ont pour tâche la construction du nid, son agrandissement, sa défense contre les attaques extérieures et son nettoyage en rejetant à l'extérieur les déchets, le matériel végétal non accepté et les cadavres. Les ouvrières «minor» mesurent entre 2 et 4 mm et sont les plus nombreuses. Elles concentrent leur activité à l'intérieur du nid où elles assurent l'entretien de la meule en ensemençant le champignon grâce à leur fluide fécal, en léchant le matériel végétal arrivant au niveau de la meule et en bouturant le mycélium. Elles assurent également l'entretien des larves et des œufs.

L'entretien des larves comprend différentes étapes (Camargo *et al.*, 2006) :

- Le léchage du corps des larves, particulièrement les régions buccale et anale, a pour but de les nettoyer et de les aseptiser.
- Le transport des larves à plusieurs endroits de la meule permet de les conserver dans les meilleures conditions de température et d'humidité et ainsi de les protéger des perturbations du nid.
- La nutrition des larves est réalisée en leur administrant directement des hyphes ou des macérations de gongylidia (structure du mycélium définie dans le paragraphe 1.3.2).
- L'ingestion de fluide fécal excrété par les larves a pour but d'échanger des messages chimiques trophalaxiques entre les larves et les ouvrières. Cet échange est probablement aussi le moyen de recueillir les sécrétions larvaires contenant une endopeptidase de type chymotrypsine (enzyme dont les fourmis adultes sont privées) qui permet la dégradation des protéines.

1.2.3 L'affouragement

L'affouragement est un processus à étapes qui se réalise le long d'une «ligne» impliquant toutes les castes de la colonie.

Ces étapes sont les suivantes (Weber, 1966 ; Camargo *et al.*, 2006) :

- la découpe du matériel végétal dans la nature ;
- le transport de ce matériel dans le nid ;
- le léchage de celui-ci ;
- la découpe de ces végétaux en lanières plus petites ;
- le broyage de celles-ci ;
- le dépôt de fluide fécal sur ce broyat végétal ;
- le dépôt de fragment de champignon sur ce substrat précédemment préparé et l'incorporation dans la meule.

Le fait de lécher, de découper en morceaux plus petits et de broyer le matériel végétal permet au champignon de coloniser rapidement le substrat. La phase de léchage sert également à nettoyer et à aseptiser les fragments végétaux grâce aux antibiotiques de la glande métapleurale des ouvrières qui inhibent le développement des microorganismes compétiteurs. Le dépôt de fluide fécal permet une meilleure dégradation des végétaux et une meilleure colonisation du champignon grâce aux enzymes protéolytiques et pectinolytiques et à certains acides aminés libres qu'il contient (Febvay, 1981 ; Camargo *et al.*, 2006). L'affouragement est conditionné par la phéromone de piste. Lorsqu'une source de matériel végétal attractif pour la fourmi est découverte par une ouvrière exploratrice, celle-ci revient au nid en laissant cette phéromone sur son passage. Les ouvrières qui la suivent s'orientent suivant le gradient de concentration de cette phéromone. Les longueurs des pistes d'affouragement varient de 10 à 100 m en fonction de la taille des colonies (Schockmel, 1985).

1.3 Les symbioses

1.3.1 La symbiose avec l'actinomycète

Un actinomycète du genre *Pseudonocardia* se développe sur la cuticule des ouvrières quelques jours après l'émergence de l'insecte et recouvre entièrement son corps entre le 13ème et le 18ème jour. Cette «couverture» d'actinomycète décroît entre le 25ème et le 30ème jour pour persister au niveau latéro-cervical (Camargo *et al.*, 2006). La transmission de ce symbiote se fait verticalement grâce aux gynes qui transmettent celui-ci à l'ensemble de la colonie qu'elles fondent. Cette symbiose a pour but de protéger le champignon symbiotique de la fourmi des microparasites fon-

giques compétiteurs du genre *Escovopsis* (Ascomycètes). Il est probable également que cette symbiose ait une action de protection de la fourmi contre les bactéries et champignons entomopathogènes ubiquistes. Le bénéfice de cette symbiose pour l'actinomycète est mal connu. Il existe probablement une sécrétion de nutriments au niveau du tégument de la fourmi qui active la croissance de l'actinomycète, ce qui pourrait expliquer le positionnement localisé de celui-ci sur la fourmi en fonction de son âge. En effet, la cuticule de fourmi juvénile, plus souple, serait un terrain favorable à l'établissement et à la nutrition de l'actinomycète sur l'ensemble de celle-ci. La cuticule des fourmis plus âgées, moins souple, serait peu favorable à ce développement en dehors des zones cervicales (Currie *et al.*, 2003).

1.3.2 La symbiose fongique

Le champignon symbiote se présente sous la forme d'une meule spongieuse et fragile constituée de débris végétaux et d'hyphes (Figure 4). Cette meule ou « jardin à champignon » présente 3 zones de différenciation : une zone superficielle jeune dite « verte et noire », une zone médiane dite « blanche » et une zone basale plus ancienne dite «jaune». La plupart des auteurs s'accordent à dire que le symbiote est un basidiomycète appartenant à l'espèce *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller (Hervey *et al.*, 1977; Decharme, 1978). À l'échelle microscopique, des renflements sphéroïdes situés aux apex du mycélium, les *gongylidia* (regroupés en *staphylae*) sont spécifiques de ce champignon et constituent un des critères de reconnaissance de celui-ci. Le *gongylidium* est un organe différencié protégé par une paroi épaisse dont le contenu est riche en substances nutritives, en particulier le glycogène (Decharme, 1978, 1980a). Les *gongylidia* sont absorbés en totalité par les larves et leur apportent à la fois les polysaccharides des parois et le contenu cellulaire. Les fourmis adultes en absorbent seulement le contenu et gardent les parois du mycélium dans leur poche infrabuccale. Dans cette poche, les parois fongiques sont imbibées de salive, macérées et digérées pendant 24 h grâce aux chitinases et chitobiases des glandes labiales (Febvay, 1978). Le champignon assure la nutrition exclusive des stades juvéniles de la société et de la reine. Il complète le régime alimentaire des adultes qui est principalement constitué d'échanges trophallaxiques de sève des végétaux découpés entre les différentes castes d'ouvrières.



FIGURE 4 – Meule de *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller.

1.4 Estimation des dégâts

A. octospinosus provoque de nombreux dégâts à cause de son activité d'affouagement nécessaire pour le développement du symbiote fongique. Ces dégâts peuvent représenter 20 à 30 % de la production de certaines cultures et les pertes financières sont considérables dans tous les pays où elle se trouve. L'USDA (United States Department of Agriculture) classe cette fourmi parmi les ravageurs les plus nuisibles des zones tropicales et subtropicales américaines (Silvy, 1992).

En Guadeloupe, elle a longtemps été considérée uniquement comme un ravageur agricole touchant les cultures, les arbres fruitiers, les feuilles des bois d'oeuvre et les plantes ornementales. Cependant, une enquête de la Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON) menée en 2008 indique que la fourmi est présente sur l'ensemble du territoire guadeloupéen (Figure 5) et en particulier le nord Basse-Terre qui est la zone la plus infestée. Cette enquête montre également que les cultures maraîchère, fruitière et vivrière représentent 90,9 % des attaques. Les cultures fruitières et vivrières sont les plus touchées et représentent respectivement 40,3 % et 33,5 % des attaques (Aurela, 2008). La fourmi a également envahi les espaces naturels à la faveur du cyclone de 1995. En expansion constante, elle est retrouvée à plus de 700 m d'altitude et met désormais en péril les espèces végétales de ce massif protégé notamment les fougères arborescentes du genre *Cyathea* de la forêt primaire ombrophile. Certaines d'entre elles risquent de disparaître totalement du fait de leur endémisme (Patin, 2007).

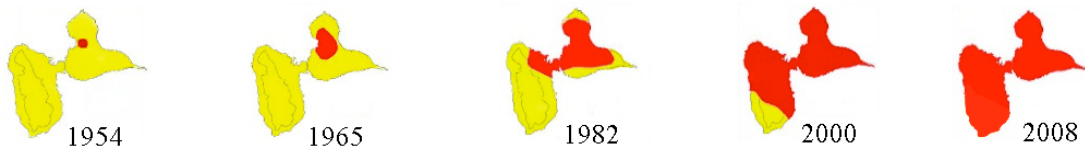


FIGURE 5 – Cartes d’infestation de la Guadeloupe de 1954 à 2008 (d’après INRA, 2001).

1.5 Les méthodes de lutte et les travaux

1.5.1 Les méthodes de lutte et les travaux au niveau mondial

Les méthodes physiques

Les premières techniques de lutte utilisées ont été des méthodes physiques et mécaniques. Elles sont encore usitées et consistent à creuser, brûler, enfumer ou noyer les nids. Ces méthodes n’ont qu’une efficacité locale et n’empêchent pas les individus rescapés de refonder la colonie (Schockmel, 1985).

Les méthodes chimiques de synthèse

Le début du contrôle chimique date du XX^{ème} siècle et s’est intensifié avec la Révolution verte. On distingue le contrôle chimique direct et la pose d’appâts toxiques.

Le contrôle chimique direct peut se faire par fumigation. Celle-ci a d’abord été organisée avec des insecticides et fongicides comme les gaz cyanhydriques, les anhydrides sulfureux, les vapeurs de soufre et d’arsenic, des sulfures de carbone ou de la chloropicrine. A partir de 1960, elle a été faite avec des insecticides de synthèse tels que les organochlorés : lindane, chlordane, heptachlore, aldrine et dieldrine. L’efficacité de ces produits est variée. Elle peut perturber la colonie en tuant des larves et des ouvrières ou simplement induire un déplacement de celle-ci. Les substances utilisées sont par contre toxiques pour l’homme par contact, ingestion ou inhalation et sont dangereuses pour l’environnement. Le contrôle chimique direct nécessite des moyens humains importants pour le travail de prospection et de repérage des nids.

Les premiers essais de pose d’appâts toxiques datent de 1963. Les appâts étaient composés de sous produits agricoles (déchets de canne à sucre, pulpe de citron et huile de soja). Leur efficacité s’est avérée limitée et le climat tropical induit une fermentation et une prolifération bactérienne et fongique dans l’appât (Schockmel, 1985). En 1964, on note l’utilisation du Mirex® dont le composé actif est le per-

chlordécone. La diffusion du produit à l'ensemble de la colonie se fait par trophallaxie. L'attractivité et l'efficacité du produit sont éphémères, mais la substance active est toxique pour l'homme, fortement rémanente et polluante pour l'environnement. En 1984, des tests de laboratoires et *in situ* sont réalisés avec l'AMDRO (Hydramethylnon), un amidinohydrazone, dans des appâts constitués de farine de froment, de résidus de brasserie ou de bagasse et d'huile de soja. Les appâts manquent d'attractivité et sont faiblement efficaces sur l'ensemble de la colonie. La microencapsulation fait son apparition en 1984. L'insecticide est enfermé dans une capsule microscopique à travers laquelle la substance active se diffuse lentement vers l'extérieur. La taille des microcapsules doit être comprise entre quelques microns et 1 mm pour que ces dernières soient bloquées dans le filtre infrabuccal de la fourmi (Febvay, 1982). Cette méthode peu toxique pour les Mammifères et les Oiseaux, reste en revanche toxique pour les abeilles (Schockmel, 1985). À partir de 1990, les appâts à base de sulfluramide et de fipronil font leur apparition et sont encore largement utilisés (Forti *et al.*, 2007).

Les méthodes biologiques

Les premiers tests de laboratoire pour un contrôle biologique datent de 1939 et consistent à introduire dans le nid des spores conidiennes d'une meule fongique d'aspect anormal. Cette méthode est d'une efficacité limitée puisque la maladie n'intègre pas réellement le nid et les spores pathogènes sont rejetées. Les premiers tests sur le terrain datent de la même époque et consistent à introduire des prédateurs des fourmis comme des Acariens, des Collembolés et des mouches du genre *Phoridae*. La méthode ne suffit pas à limiter les populations de fourmis. En 1970, des tests de laboratoire et de terrain sur un attractif provenant du symbiote fongique et de la phéromone de piste de la fourmi (le composé M4MP2C) ont été réalisés (Schockmel, 1985). L'efficacité *in vitro* de cet attractif ne s'est que peu confirmée *in situ*.

Des essais sur l'utilisation du champignon entomopathogène *Entomophthora coronata* (Kermarrec & Mauléon, 1975) et des nématodes entomoparasites du genre *Heterorhabditis* et *Neoaplectana* (Kermarrec *et al.*, 1988) n'ont malheureusement pas eu les résultats escomptés sur *Acromyrmex octospinosus*. En 2003, des essais ont été menés contre *Acromyrmex lundii* grâce à l'action d'isolats bactériens entomopathogènes de *Bacillus thuringiensis* (Pinto *et al.*, 2003). En 2007, d'autres essais sont réalisés sur d'autres Attines du genre *Atta* en utilisant des champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* et *Trichoderma viride* (Lopez & Orduz, 2003; Valmir Santos *et al.*, 2007). Ces essais, concluant sur ces espèces,

ont fait l'objet de la production d'un insecticide microbiologique : le BIBISAV®.

Une autre alternative au contrôle chimique a été explorée à l'instar des activités insecticides d'extraits organiques de plantes telles que *Sesamum indicum*, *Ricinus communis*, *Canavalia ensiformis* et *Ipomoea batatas*, menées sur les Attines du genre *Atta* et leur symbiote fongique (Bueno *et al.*, 1995; Hebling *et al.*, 1996; 2000; Bigi *et al.*, 2004). L'activité formicide de deux roténoïdes (isoflavonoïdes) extraites de Fabacées du genre *Lonchocarpus* a été montrée sur *Acromyrmex octospinosus* (Petit, 2004). Les résultats de ces différents essais à base d'extraits de plantes comme alternative au contrôle chimique de synthèse ont montré des résultats préliminaires très encourageants, mais n'ont pas eu de suites connues.

1.5.2 Les méthodes de lutte et travaux en Guadeloupe

Les travaux menés par l'INRA Antilles-Guyane

De 1974 à 1989, l'INRA Antilles-Guyane s'est intéressé à cette problématique et a réalisé et publié de nombreux travaux aussi bien en recherche appliquée qu'en recherche fondamentale (Febvay *et al.*, 1990). On retrouve des travaux sur :

- les aspects biogéographiques et éthologiques de l'invasion de la fourmi (Kermarrec *et al.*, 1977; Malato *et al.*, 1977; Therrien, 1986; Therrien *et al.*, 1986; Gomel *et al.*, 1989);
- les techniques de culture du champignon symbiotique (Angeli-Papa & Eymé, 1979; Angeli-Papa & Delmas, 1981);
- l'activité microbiologique dans les nids et l'inhibition de celle-ci (Papa & Papa, 1982 a,b);
- l'étude cytologique de la meule d'*Acromyrmex octospinosus* et d'autres Attines (Decharme, 1978; Decharme, 1980 a,b); Decharme & Issaly, 1980);
- les relations nutritionnelles entre la fourmi et son symbiote fongique et la physiologie digestive de la fourmi (Febvay, 1978; Febvay, 1981; Febvay & Kermarrec, 1981 a,b); Febvay, 1982; Febvay & Kermarrec, 1983; Febvay *et al.*, 1984; Febvay & Kermarrec, 1986);
- la physiologie du système nerveux de la fourmi (Kermarrec *et al.*, 1976; Kermarrec, 1981; Delabie, 1982; Delabie, 1984; Delabie *et al.*, 1986);
- le comportement social des ouvrières des nids d'*Acromyrmex* (Torregrossa *et al.*, 1982; Febvay & Ogier, 1983; Febvay *et al.*, 1984; Kermarrec & Febvay, 1985);
- le comportement d'affouragement (Febvay *et al.*, 1986; Knapp *et al.*, 1988);
- l'étude d'une lutte chimique à l'aide de nouvelles matières actives comme

- le parathion, l'avermectine et des substances psychotropes de types psycholeptiques et psycho-analeptiques (Malato & Kermarrec, 1976 ; Kermarrec & Abud-Antun, 1978 ; Febvay *et al.*, 1985 ; Schockmel, 1985 ; Febvay *et al.*, 1986 ; Kermarrec & Mauléon, 1988) ;
- les possibilités d'un contrôle biologique grâce à des nématodes, champignons et bactéries entomopathogènes (Kermarrec, 1975 ; Kermarrec & Mauléon, 1975 ; Kermarrec *et al.*, 1986 ; Kermarrec *et al.*, 1988) ;
 - la résistance variétale à la défoliation de certaines espèces de Dioscoreacées (Febvay & Kermarrec, 1984 ; Febvay *et al.*, 1985 ; Febvay & Kermarrec, 1986 ; Rahbé *et al.*, 1988) ;
 - d'autres Attines (*Acromyrmex moellerius* et *Acromyrmex landolti*) (Pastel *et al.*, 1980 ; Torregrossa & Kermarrec, 1984).

Les méthodes de lutte utilisées en Guadeloupe

En Guadeloupe, la lutte contre la fourmi débute en 1956 et jusqu'en 1963, elle consiste en la prospection humaine des nids et en la pulvérisation directe de lindane et d'heptachlore à l'intérieur de ceux-ci. De 1963 à 1973, des appâts à base d'aldrine sont utilisés jusqu'à leur interdiction en France.

À partir de 1968, le Mirex 450® (à 0,45 % de perchlordécone), fait son apparition et son emploi s'est intensifié à partir de 1970. Il était commercialisé, à disposition des agriculteurs et du grand public, sous forme d'appât en granules à déposer à l'entrée des nids (Febvay *et al.*, 1990). Le perchlordécone est un organochloré neurotrope qui altère le fonctionnement des canaux sodiques indispensables à la transmission de l'influx nerveux des insectes. Cette molécule, capable de se dégrader en chlordécone, est stable, bioaccumulable, fortement rémanente, à l'origine de phénomènes de résistance chez certains insectes et responsables de la pollution des sols, des eaux et des végétaux (Cabidoche *et al.*, 2006). Le Mirex 450® est définitivement interdit en 1993.

De 1994 à 2003, le Service de la Protection des Végétaux a autorisé l'utilisation du Mirex S® dont la substance active est le sulfuramide (*com. pers.* Gomel L, 2010). Le sulfuramide est un dérivé du sulfonate de perfluorooctane (SPFO) et se décompose en celui-ci après dégradation. Le SPFO est un polluant organique persistant dont les effets néfastes sont très importants sur la santé humaine et l'environnement (UNEP, 2007).

Depuis 2003, la substance active autorisée par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche pour la lutte contre la fourmi manioc est le fipronil à 0,03 g/kg

(Blitz®). Le fipronil (5-Amino-3-cyano-1-(2,6-dichloro-4-trifluoro-méthyl phényl)-4-trifluoro-méthylsulfinylpyrazole), de la famille chimique des phénylpyrazoles, agit par inhibition non compétitive, au niveau des synapses gabaergiques qui libère le neuromédiateur principal des invertébrés l'acide gamma amino-butérique (GABA). En altérant les pompes à chlore des cellules nerveuses des invertébrés, le fipronil empêche la régulation du flux électrique, conduisant à une hyperexcitation de l'insecte, puis à sa mort. Il agit par contact avec l'insecte ou par ingestion (Torral, 2005). En 2011, cette substance est toujours utilisée et largement commercialisée. Elle est pourtant considérée comme très toxique et dangereuse pour l'environnement (JO du Sénat du 17/11/2005, page 2969) et présente une toxicité aiguë pour les mammifères, les organismes aquatiques, les poissons et les abeilles (UNEP, 2007). On ne peut pas occulter non plus le fait que cette substance, en tant que perturbateur endocrinien, puisse également avoir un impact important sur la santé publique (AFSSA, 2005).

L'effet néfaste des pesticides chimiques de synthèse, utilisées jusqu'ici contre la fourmi manioc, sur l'environnement et sur la santé humaine est un contexte favorable à l'exploration d'autres solutions de contrôle raisonné de la fourmi. Dans certaines études (exposées précédemment), c'est la composition en métabolites secondaires des plantes qui est explorée. Cette composition est le résultat d'un mécanisme de défense co-évolutif contre les herbivores au moyen de nombreuses molécules qui présentent une action défensive du végétal contre les ravageurs. Ces activités sont mises en exergue par des observations empiriques constatant que certaines plantes se protégeaient mieux que d'autres contre les nuisibles. Ces observations ont conduit les populations à développer les premiers phytosanitaires (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Les plantes à usages insecticides, dont les activités sont testées en laboratoire, proviennent donc le plus souvent du savoir traditionnel (Bueno *et al.*, 1995; Hebling *et al.*, 1996; 2000; Belmain *et al.*, 2001; Zhu *et al.*, 2003; Bigi *et al.*, 2004; Il-Kwon *et al.*, 2005; Woo-Chul *et al.*, 2007; Lehman *et al.*, 2007).

Fort de ce constat, le programme TRAMIL (cf. chapitre 2), dont la solide expérience en matière de recueil et de validation du savoir populaire n'est plus à démontrer, semble être le point de départ idéal pour trouver des plantes réputées pour leur activité insecticide et antifongique pouvant être utilisées dans la lutte raisonnée contre la fourmi manioc.

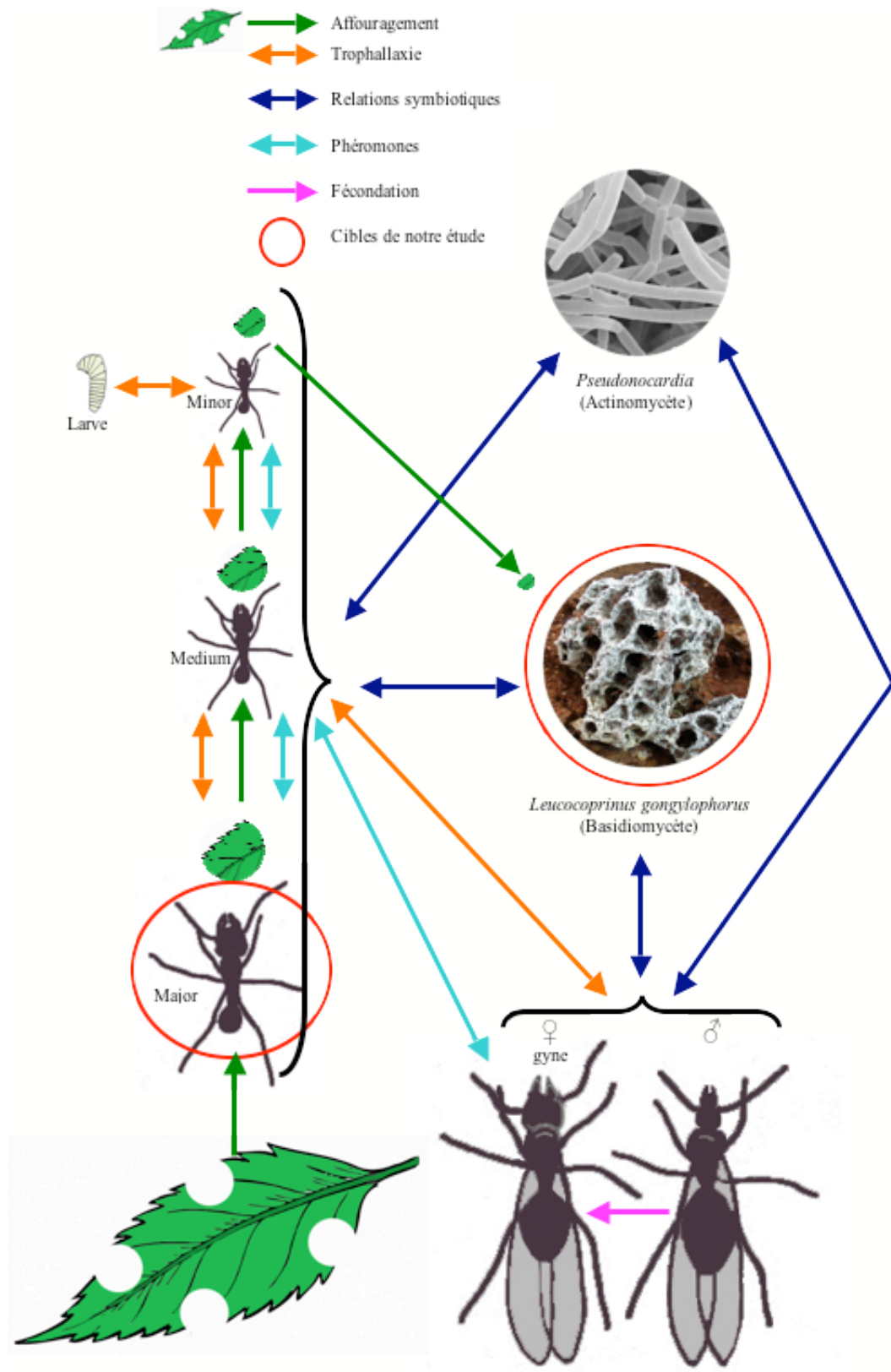


FIGURE 6 – Relations existant entre les individus de la colonie *A. octospinosus* et leurs symbiotes.

Cet état des connaissances sur la fourmi manioc nous guide concernant l'angle d'attaque choisi pour cette étude (schématisé sur la figure 6). La caste des grandes ouvrières est sélectionnée car elle occupe une position stratégique vis-à-vis de la communauté en récoltant le matériel végétal. De plus, il existe des échanges trophallaxiques entre les différentes castes d'ouvrières. Agir sur cette caste, c'est priver le nid du substrat végétal qui permet d'entretenir le champignon ; c'est également transmettre à l'ensemble de la colonie une éventuelle substance active et donc agir sur l'ensemble du groupe. Au vu de la symbiose obligatoire existante entre *Acromyrmex octospinosus* et le champignon *Leucocoprinus gongylophorus*, il semble naturel de compléter l'angle insecticide de notre stratégie par un angle antifongique contre le symbiote.

Chapitre 2

Le réseau TRAMIL

2.1 Historique

TRAMIL (initialement TRAditionnal Medicine for the IsLands) est un programme de recherche appliquée à la médecine traditionnelle populaire des Caraïbes, dont le propos est de rationaliser les pratiques de santé basées sur l'utilisation de plantes médicinales. Cette recherche ethnopharmacologique s'est étendue à la majeure partie des territoires qui touchent la mer des Caraïbes.

TRAMIL a été créé en 1982 en République Dominicaine et en Haïti. La coordination scientifique du programme est domiciliée depuis 2002 à l'Université des Antilles et de la Guyane. Aujourd'hui, TRAMIL c'est 33 territoires caribéens, 200 acteurs et 366 plantes à usages significatifs sélectionnées par les enquêtes ethnopharmacologiques. À ce jour, TRAMIL a conduit des enquêtes dans de nombreux territoires caribéens comme Antigua, Belize, Barbade, Colombie, Costa Rica, Cuba, Dominique, Guatemala, Guyane, Grenade, Guadeloupe et ses îles (La Désirade, Marie-Galante et Les Saintes), Haïti, Honduras, Jamaïque, Martinique, Nicaragua, Panama, Porto Rico, Quintana Roo, République Dominicaine, San Andrés et Providencia, Sainte Lucie, Saint-Martin, Saint Vincent, Tobago et Vénézuéla (TRAMIL, 2007 ; Boulogne *et al.*, 2011a).

2.2 Méthodologie

La mission de ce programme est de valider scientifiquement les usages traditionnels de plantes médicinales pour les soins de santé primaire. Son objectif est d'être le programme interdisciplinaire de référence dans la détection, la validation et la diffusion des usages de plantes médicinales. TRAMIL a une méthodologie unique

et uniforme qui consiste en la réalisation d'enquêtes, de recherches bibliographiques et de travaux de laboratoire. Le programme n'a pas seulement une approche qualitative mais également quantitative des usages populaires des plantes médicinales. Le nombre de personnes enquêtées est validé statistiquement et basé sur le nombre de familles de chaque lieu d'enquête (environ 10 % des foyers de la zone). Après l'enquête, les usages de plantes dont la fréquence est supérieure ou égale à 20 % pour un problème de santé donné sont inclus dans la liste TRAMIL. Les usages traditionnels de parties de plantes, pour lesquels il n'existe pas de données suffisantes, sont classés en INV (sous INVestigation). Pour chaque usage à valider, une liste d'essais en laboratoire biologiques, phytochimiques et toxicologiques (TRIGS ou TRamil InvestiGationS) est établie et réalisée (Boulogne *et al.*, 2011b).

C'est grâce à cette méthodologie que les usages insecticides et antifongiques utilisés dans notre étude et présentés ci-dessous ont été sélectionnés.

2.3 Les usages insecticides

Les résultats d'enquêtes ethnopharmacologiques TRAMIL ont mis en évidence des usages insecticides qui permettent d'établir les extraits de plantes (selon les usages traditionnels) (photos Annexe B) à tester sur les fourmis (Tableau 1).

Tableau 1 – Les usages insecticides TRAMIL

Nom scientifique	Famille botanique (Tropicos, 2011)	Partie de plante utilisée	Préparation
<i>Mammea americana</i> L.	Calophyllaceae	Graine	Macération aqueuse
<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynaceae	Feuille fraîche	Décoction
<i>Nerium oleander</i> L.	Apocynaceae	Feuille sèche	Broyat aqueux
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae	Feuille sèche	Décoction
<i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill.	Annonaceae	Graine	Décoction
<i>Trichilia pallida</i> Sw.	Meliaceae	Feuille sèche	Broyat aqueux

2.4 Les usages antifongiques

Une sélection d'usages antifongiques provenant des enquêtes TRAMIL a été réalisée dans le but d'établir les extraits de plantes (selon les usages traditionnels) (photos Annexe B) à tester sur le champignon symbiotique (Tableau 2).

Tableau 2 – Les usages antifongiques TRAMIL

Nom scientifique	Famille botanique (Tropicos, 2011)	Partie de plante utilisée	Préparation
<i>Allium cepa</i> L.	Amaryllidaceae	Bulbe	Broyat
<i>Allium sativum</i> L.	Amaryllidaceae	Gousse	Broyat
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Solanaceae	Fruit vert	Broyat
<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Euphorbiaceae	Feuille fraîche	Broyat
<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.	Fabaceae	Feuille fraîche	Broyat

La méthodologie uniforme et rigoureuse des enquêtes du réseau TRAMIL donne une valeur supplémentaire aux usages de plantes choisis pour leurs activités insecticides et antifongiques. Il s'agit maintenant de savoir quelles sont les molécules connues dans la littérature généralement à l'origine des dites activités.

Chapitre 3

Les composés chimiques à activité insecticide, insectifuge et antifongique d'origine végétale

3.1 Les composés insecticides

Une revue bibliographique exhaustive de 1965 références (de 1923 à 2010) a été réalisée en utilisant les bases de données scientifiques (Sciencedirect, Springerlink et Wiley, 2010), des bases de données de chimie (Amicbase, 2010 ; Duke, 2010), des bases de données botaniques (Tropicos, 2010) et des livres (Duke, 1992 ; Bruneton, 1999 ; Regnault-Roger *et al.*, 2002) pour identifier les composés chimiques à activité insecticide, insectifuge et antifongiques issus d'espèces végétales.

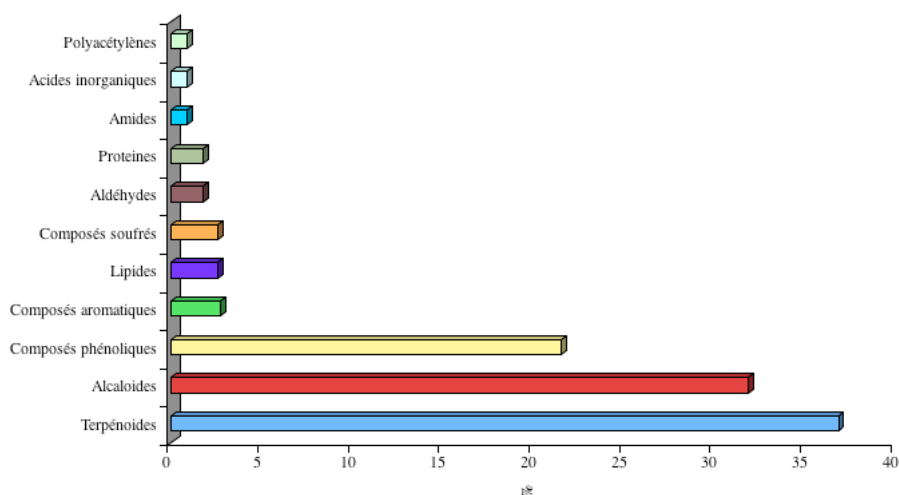


FIGURE 7 – Types de composés responsables de l'activité insecticide (en %).

La revue bibliographique a permis d'identifier 116 molécules comme présentant une activité insecticide. La figure 7 présente le pourcentage des types de molécules responsables de l'activité insecticide trouvées dans la littérature. Elle indique que les trois types de molécules les plus souvent responsables de l'activité insecticide sont respectivement les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques.

3.2 Les composés insectifuges

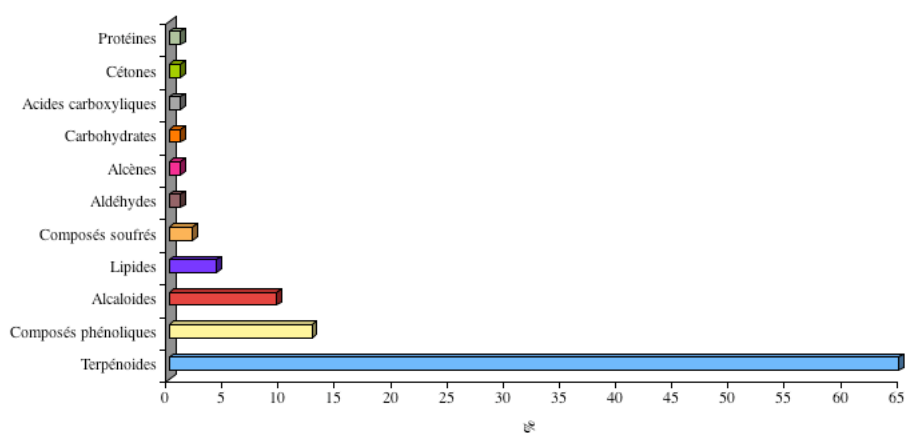


FIGURE 8 – Types de composés responsables de l'activité insectifuge (en %).

La revue bibliographique réalisée a permis de trouver 94 molécules présentant une activité insectifuge. La figure 8 présente le pourcentage des types de molécules responsables de l'activité insectifuge trouvées dans la littérature. Elle indique que ce sont très majoritairement les terpénoïdes qui sont responsables de l'activité insectifuge, suivis par les composés phénoliques et les alcaloïdes.

3.3 Les composés antifongiques

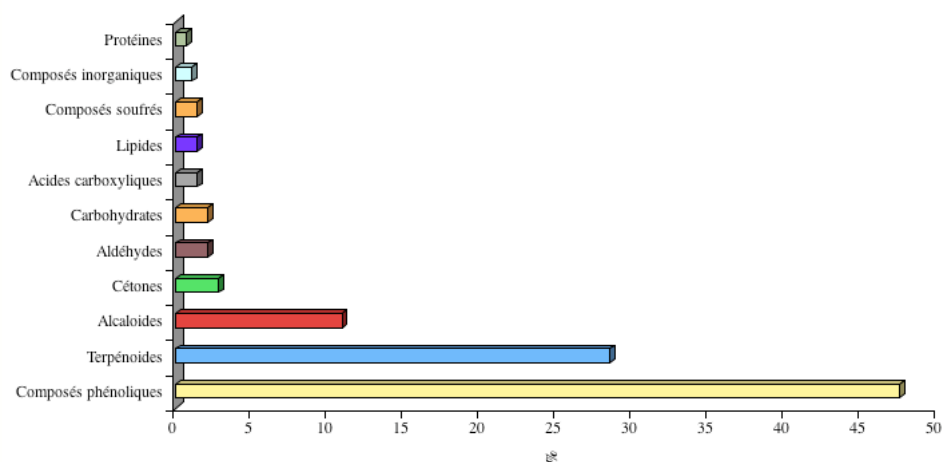


FIGURE 9 – Types de composés responsables de l'activité antifongique (en %).

La littérature indique 284 molécules comme présentant une activité fongicide. La figure 9 présente le pourcentage des types de molécules responsables de l'activité antifongique trouvées dans la littérature. Elle indique que les trois types de molécules les plus souvent responsables de l'activité fongicide sont respectivement les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes.

Ce travail de synthèse nous a permis de répertorier les molécules d'origine naturelle les plus connues dans la littérature pour leur activité insecticide et antifongique. Si les préparations traditionnelles choisies s'avèrent efficaces contre la fourmi et son symbiote, il restera à confirmer que celles-ci possèdent au moins une des trois familles de molécules majoritairement responsables des activités insecticides, insectifuges et antifongiques. Ces molécules sont en l'occurrence les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes.

Chapitre 4

Problématique générale

Notre étude s'insère dans le contexte de réduction des intrants chimiques de synthèse et de la mise en place de mesures visant à protéger l'environnement.

Acromyrmex octospinosus (Reich) est une des menaces majeures pour les agrosystèmes ainsi que pour les écosystèmes naturels de la Guadeloupe. Ce ravageur phytophage a au moins deux points faibles, cibles que nous allons privilégier : les ouvrières majors et son champignon symbiote. TRAMIL a sélectionné des préparations traditionnelles de plantes connues pour leurs activités insecticide et antifongique et non-nocives pour l'environnement. Ceci permet d'émettre l'hypothèse que ces préparations traditionnelles permettraient de lutter contre la fourmi manioc en raison des métabolites secondaires qu'elles contiennent.

Dans cette étude, il s'agira de déterminer les types d'activité insecticide et insectifuge que peuvent avoir les préparations traditionnelles TRAMIL sur *Acromyrmex octospinosus*. L'usage d'autres préparations TRAMIL, nous emmènera ensuite à déterminer les types d'activité fongicide ou fongistatique de ces extraits végétaux sur le champignon symbiote *Leucocoprinus gongylophorus*. Nous déterminerons ainsi si l'une ou plusieurs de ces préparations présentent un potentiel de lutte contre cette espèce envahissante. Un criblage phytochimique, des 3 familles de molécules connues dans la littérature pour leurs activités insecticides, insectifuges et antifongiques, nous permettra ensuite de confirmer ou pas la présence de ces composés. Les composés présents seront ensuite soumis à un dosage pour en déterminer la quantité dans les préparations traditionnelles utilisées.

Deuxième partie

MATÉRIELS & MÉTHODES

Chapitre 1

Entretien des nids en laboratoire

Les informations bibliographiques récoltées sur la biologie et le comportement de la fourmi (Partie 1 État de l'art) ont permis de construire des nids artificiels, de collecter des colonies dans la nature et de les entretenir en laboratoire. Le nid artificiel est constitué de trois parties mimant le fonctionnement naturel de la colonie. Un bac central opaque pour recueillir le champignon et deux parties transparentes de part et d'autre (reliées au bac central par des tuyaux) font office de «jardin» et de «poubelle». La nourriture donnée à la colonie est toujours placée dans la partie «jardin» et la partie «poubelle» est utilisée par la colonie pour y mettre les éléments rejetés par les fourmis (terre, végétaux non acceptés ou cadavres) (Figure 10).

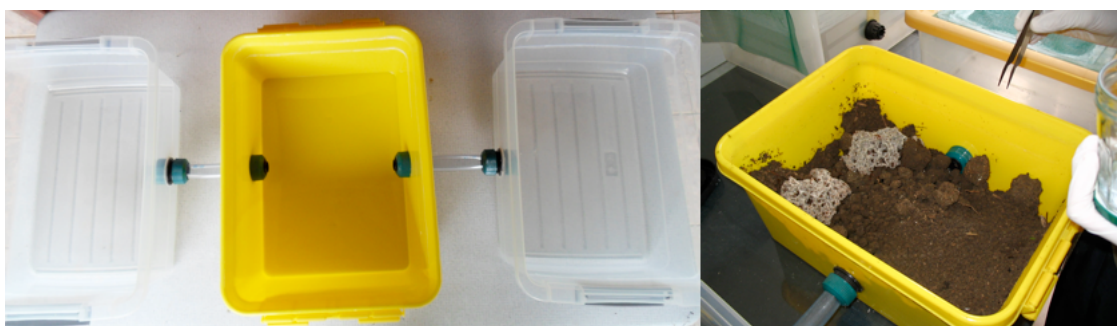


FIGURE 10 – Nid artificiel (à gauche) et bac central du nid contenant la meule (à droite).

Les fourmis sont nourries quotidiennement de fleurs et feuilles de *Terminalia catappa* L., de fleurs et de feuilles d'*Hibiscus rosa-sinensis* L., de feuilles de *Dioscorea alata* cv. Plimbite, de sucre de canne et de céréales de maïs sucrées (Bigi *et al.*, 2004 ; Decharme, 1978, 1980). On leur fournit également de l'eau *ad libitum*.

Chapitre 2

Isolement et entretien du champignon symbiote

L'isolement du symbiote est réalisé à partir de prélèvements au sommet de la zone grise de la meule, région considérée comme la plus active pour le développement du champignon (Erthal *et al.*, 2009). Les fragments mycéliens sont mis en culture sur milieu gélosé (agar à 15 g/L, extrait de malt à 20 g/L, extrait de levure à 2 g/L et peptone à 5 g/L) (Miyashira *et al.*, 2010) contenant de la streptomycine (200 μ g/mL). Cette culture est ensuite conservée par repiquages successifs sur le milieu de départ sans antibiotique (Decharme, 1978). Lorsque la culture est jugée pure (mycélium blanchâtre et uniforme, Figure 11 gauche), l'observation microscopique de *gongylidia* (Figure 11 droite) permet d'affirmer qu'elle correspond au symbiote fongique de la fourmi (Pagnocca *et al.*, 2001).

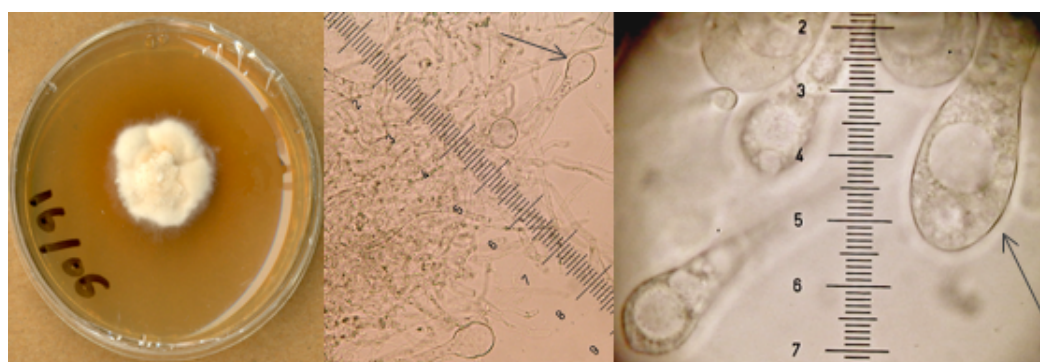


FIGURE 11 – Culture du champignon (à gauche) et observations microscopiques de *gongylidia* ($\times 100$ au centre) et ($\times 400$ à droite).

Chapitre 3

Tests insecticides

Les préparations basées sur les recettes traditionnelles utilisées pour les tests insecticides sont réalisées de la façon suivante :

- Les graines de *Mammea americana* sont débarrassées de leurs téguments bruns. Les «amandes» qu'elles contiennent sont broyées et mises à macérer dans de l'eau déminéralisée (280 g/L) pendant 24 h ; la préparation est ensuite filtrée.
- Les feuilles fraîches de *Nerium oleander* (280 g) sont coupées à l'aide de ciseaux, placées dans un litre d'eau déminéralisée et portées à ébullition pendant 15 minutes. La préparation est mise à refroidir puis filtrée.
- Les feuilles de *Nerium oleander* sont mises à sécher dans une étuve à 60 °C pendant 7 jours. Ces feuilles sont ensuite broyées dans de l'eau déminéralisée (280 g/L) et le mélange est pressé pour en extraire le jus.
- Les feuilles de *Nicotiana tabacum* (280 g/L) sont mises à sécher dans une étuve à 60 °C pendant 7 jours. Les feuilles sèches sont coupées avec des ciseaux, placées dans de l'eau déminéralisée et portées à ébullition pendant 15 minutes. La préparation est mise à refroidir puis filtrée.
- Les graines de *Rollinia mucosa* (280 g) sont portés à ébullition dans un litre d'eau déminéralisée pendant 15 minutes, dans de l'eau déminéralisée. La préparation est mise à refroidir puis filtrée.
- Les feuilles de *Trichillia pallida* sont mises à sécher dans une étuve à 60°C pendant 7 jours. Les feuilles sont ensuite broyées dans de l'eau déminéralisée (280 g/L) et le mélange est pressé pour en extraire le jus.

Les filtrations sont réalisées à l'aide d'un filtre en plastique de 0,5 mm de maille.

Les plantes utilisées pour les tests insecticides ont été mises en herbier et déposées au JBSD (Herbier officiel du réseau TRAMIL) en République Dominicaine. Les numéros de vouchers qui leur ont été attribués en Guadeloupe avant expédition sont indiqués dans le Tableau 3

Tableau 3 – Numéros de vouchers des plantes à usages insecticides TRAMIL

Nom scientifique	Numéro de voucher
<i>Mammea americana</i> L.	Boulogne,Gd,1,UAG/INRA
<i>Nerium oleander</i> L.	Boulogne,Gd,2,UAG/INRA
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Boulogne,Gd,3,UAG/INRA
<i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill.	Boulogne,Gd,4,UAG/INRA
<i>Trichilia pallida</i> Sw.	Boulogne,Gd,5,UAG/INRA

Après étude bibliographique, divers protocoles de tests insecticides ont été retenus permettant d'observer les effets de ces extraits de plantes sur le comportement et la survie des insectes. Ils ont été sélectionnés pour leur potentialité à mettre en évidence les différents types d'effets qu'ils peuvent avoir (insecticide par contact, insectifuge ou toxique par ingestion).

3.1 Test de toxicité par contact

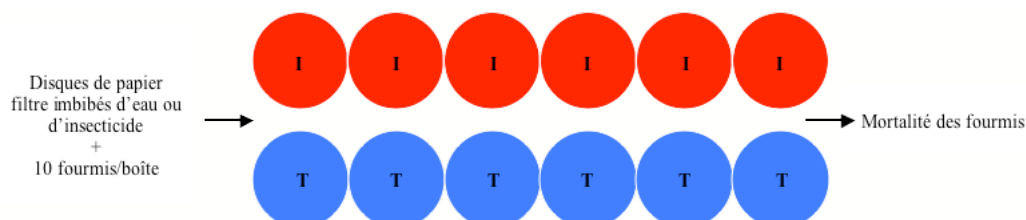


FIGURE 12 – Le test de toxicité par contact.

La figure 12 illustre le test de toxicité par contact. Les «insecticides» (I) ou l'eau distillée (T) sont appliqués sur des disques de papier-filtre à raison de 1 mL par disque. Les disques sont placés dans le fond des boîtes de Pétri (\varnothing 80 mm). Dix fourmis sont placées dans chaque boîte à température ambiante. Six dispositifs témoins et six dispositifs tests sont réalisés. La mortalité des insectes est observée toutes les 24 h jusqu'à la mort de tous les insectes (Fokialakis *et al.*, 2006 ; Sen-Sung *et al.*, 2008).

3.2 Test d'activité insectifuge

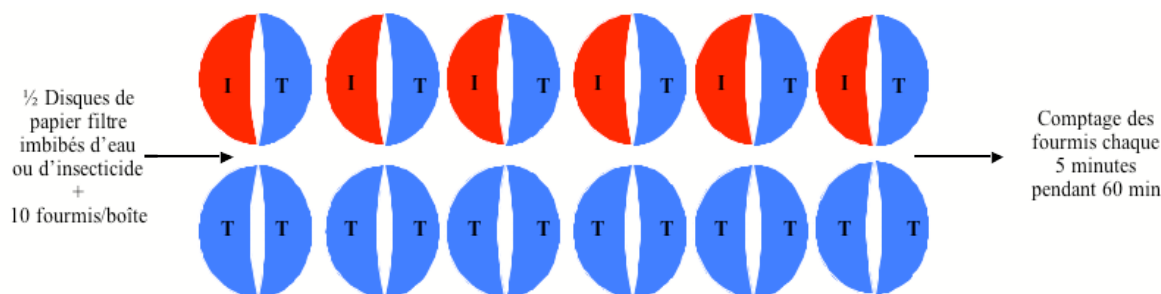


FIGURE 13 – Le test d'activité insectifuge.

La figure 13 illustre le test d'activité insectifuge. Ce test utilise des boîtes de Pétri de grand diamètre (\varnothing 160mm) contenant deux demi-disques de papier-filtre séparés par un espace de 2 cm. Un demi-disque est traité avec un «insecticide» (I) et l'autre demi-disque témoin est traité avec de l'eau distillée (T). Dix fourmis sont placées au centre de chaque boîte à température ambiante. Le nombre de fourmis en contact avec chaque demi-disque est compté toutes les 5 minutes pendant 60 minutes ($n=12$ comptages). Un double témoin négatif (T/T) est réalisé avec des demi-disques ne contenant que de l'eau distillée de manière à écarter la possibilité d'une préférence de la part des fourmis pour un côté ou l'autre de la boîte en l'absence d'insecticide. Six répétitions de chaque dispositif sont réalisées (Salmon & Ponge, 2001 ; Sen-Sung *et al.*, 2007).

3.3 Test de toxicité par ingestion

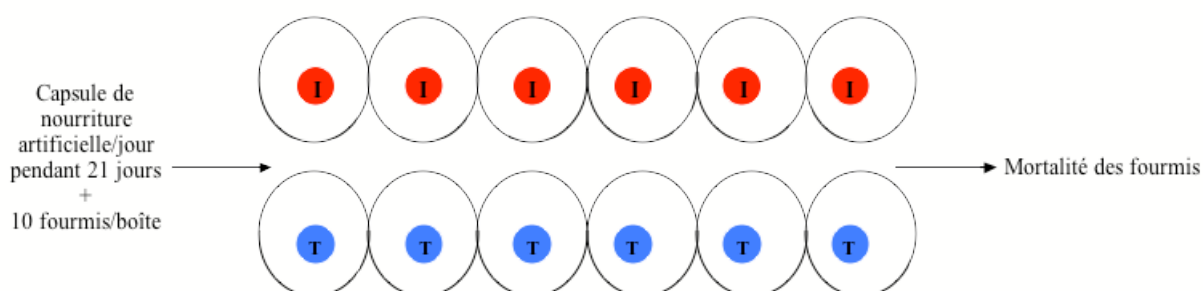


FIGURE 14 – Le test de toxicité par ingestion.

La figure 14 illustre le test de toxicité par ingestion. Dix fourmis sont placées dans chaque bocal (90 mm de hauteur et 80 mm de diamètre). Durant l'expérience, les fourmis sont nourries à l'aide d'un milieu artificiel préparé avec du glucose (50 g/L), du bacto-peptone (10 g/L), de l'extrait de levure (1 g/L) et de l'agar (15 g/L). À ce mélange, est ajouté soit la préparation «insecticide» (I) soit de l'eau distillée (T). Cette nourriture est distribuée quotidiennement aux fourmis dans une capsule de plastique. Durant l'expérience, les boîtes sont maintenues à température ambiante. Le nombre d'insectes morts est répertorié et les capsules de nourriture sont pesées quotidiennement pendant 21 jours. Six répétitions de chaque dispositif et un témoin sans fourmi sont réalisées (Victor *et al.*, 2001; Bigi *et al.*, 2004; Nagamoto *et al.*, 2007).

3.4 Tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats

Les préparations traditionnelles utilisées sont lyophilisées pour déterminer la quantité de matières sèches (Tableau 4) à l'aide d'un lyophilisateur Christ Alpha 1.4 à $-55\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ et sous une pression de 0.001 bar durant 48 h.

Tableau 4 – Quantité de matières sèches en g/L de préparations traditionnelles insecticides (concentrations de 280g/L) et en g/kg de plante fraîche.

Plantes	Quantités de matières sèches (g/L)	en g/kg
<i>Mammea americana</i>	22,7	98,93
<i>Nerium oleander</i> (décoction)	15,6	55,71
<i>Nerium oleander</i> (broyat)	38,8	138,57
<i>Nicotiana tabacum</i>	60,5	216,07

Le test de toxicité par ingestion avec les lyophilisats est réalisé pour les préparations traditionnelles présentant une toxicité par ingestion au cours du test précédent. Un travail bibliographique et des tests préliminaires ont été réalisés pour sélectionner les concentrations optimales de lyophilisats à utiliser. Ce test est réalisé comme précédemment indiqué au paragraphe 3.3. Dix fourmis sont placées dans chaque bocal et durant l'expérience, les fourmis sont nourries quotidiennement à l'aide de milieu artificiel. La nourriture artificielle est préparée avec du glucose (50 g/L), du bacto-peptone (10 g/L), de l'extrait de levure (1 g/L) et de l'agar (15 g/L) dans un

litre d'eau. À ce mélange, sont ajoutés les lyophilisats des préparations insecticides à trois concentrations différentes 1000, 5000 et 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Un témoin négatif (sans lyophilisats) et un témoin positif (en utilisant des granulés de Blitz®) sont également réalisés. Le témoin positif est préparé en utilisant 1000, 5000 et 10000 μg de Blitz® par mL de nourriture artificielle (Victor *et al.*, 2001 ; Bigi *et al.*, 2004).

Les données de mortalité obtenues sont corrigées par la formule de Abbot (1925) :

$$M_c = \frac{M_t - M_T}{100 - M_T} \times 100$$

M_c = % de mortalité corrigée

M_t = % de mortalité du groupe traité

M_T = % de mortalité du témoin

3.5 Concentrations et doses létales des lyophilisats des usages insecticides

Les concentrations létales CL_{50} et CL_{99} (en $\mu\text{g}/\text{mL}$) des nourritures artificielles à base des différents lyophilisats et du Blitz® sont respectivement les concentrations nécessaires pour obtenir 50 % et 99 % de mortalité chez la fourmi après 24 heures. Les doses létales DL_{50} et DL_{99} sont les doses de nourriture causant respectivement la mort de 50 % et de 99 % des fourmis. Ces doses s'expriment en mg/g de fourmis.

L'analyse de l'effet de dose ou de concentration s'appuie en général sur la régression logistique pour modéliser l'impact de doses d'une substance sur un phénomène binaire (mortalité ou non). Les concentrations et les doses létales sont donc estimées par à un modèle Probit de régression logistique (Finey, 1971 ; Hosmer & Lemeshow, 2000) grâce au logiciel XLSTAT®. Des exemples de calculs se trouvent en annexe C.

Chapitre 4

Tests antifongiques

Les parties de plantes utilisées pour les tests antifongiques sont découpées avant d'être lyophilisées (Tableau 5).

Tableau 5 – Quantité de matières sèches en g/kg de plante fraîche antifongique.

Plantes	Quantité de matières sèches (g/kg de plante fraîche)
<i>Allium cepa</i>	147,92
<i>Allium sativum</i>	393,86
<i>Lycopersicon esculentum</i>	162,28
<i>Manihot esculenta</i>	293,23
<i>Senna alata</i>	295,04

Les plantes, ainsi déshydratées, sont ensuite broyées à l'aide d'un moulin à café et tamisées à 500 μm . L'ensemble des tests antifongiques est réalisé en conditions stériles sous hotte à flux laminaire vertical. Un travail bibliographique et des tests préliminaires ont été réalisés pour sélectionner les concentrations optimales de lyophilisats à utiliser.

Les plantes utilisées pour les tests antifongiques ont été mises en herbier et déposées au JBSD (Herbier officiel du réseau TRAMIL) en République Dominicaine. Les numéros de vouchers qui leur ont été attribués en Guadeloupe avant expédition sont indiqués dans le Tableau 6

Tableau 6 – Numéros de vouchers des plantes à usages antifongiques TRAMIL

Nom scientifique	Numéro de voucher
<i>Allium cepa</i> L.	Boulogne,Gd,6,UAG/INRA
<i>Allium sativum</i> L.	Boulogne,Gd,7,UAG/INRA
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.	Boulogne,Gd,8,UAG/INRA
<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Boulogne,Gd,9,UAG/INRA
<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.	Boulogne,Gd,10,UAG/INRA

4.1 Test antifongique en milieu liquide

Le milieu utilisé est constitué de malt à 20 g/L, d'extrait de levure à 2 g/L, de peptone à 5 g/L et des lyophilisats de plantes. Les lyophilisats sont ajoutés au milieu pour obtenir les concentrations finales suivantes : 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Après autoclavage, 4 mL des milieux ainsi préparés sont placés dans des tubes stériles de 5 mL. Des tubes contenant uniquement du milieu (sans extrait antifongique) sont également préparés (témoins).

Un fragment de 1 mm de diamètre de champignon est cultivé 30 jours sur 10 mL de milieu gélosé dans une boîte de Pétri de \varnothing 54 mm. Cette culture est dissoute dans 50 mL de solution de peptone stérile (1 g/L) et ensuite diluée dans 150 mL de solution saline stérile à 0,9 % (Pagnocca *et al.*, 2006). Un millilitre de cette suspension de mycélium ainsi préparée est déposé dans les tubes stériles préalablement préparés. Pour chaque extrait antifongique à tester, six répétitions et six témoins sans extrait sont réalisés. Le dispositif est mis en culture pendant 30 jours à 25 °C (Decharme, 1978 ; Bigi *et al.*, 2004). Le champignon est alors récupéré à l'aide d'une pince stérile, séché à l'étuve pendant 7 jours à 70 °C et pesé.

4.2 Test antifongique en milieu gélosé

Dans des boîtes de Pétri (\varnothing 54mm), on place 10 mL de milieu préalablement autoclavé constitué d'agar à 15 g/L, de malt à 20 g/L, d'extrait de levure à 2 g/L, de peptone à 5 g/L et des lyophilisats de plantes. Des boîtes témoins, sans extraits antifongiques, sont également préparées. Les lyophilisats sont ajoutés à différentes proportions au milieu pour obtenir les concentrations suivantes : 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Un fragment de 1 mm de diamètre de culture de champignon de 30 jours (prélevé à l'aide d'un emporte-pièce stérilisé dans la zone périphérique la

plus active de la culture) est placé au centre de chaque boîte de Pétri (Seaman, 1984). Pour chaque extrait antifongique à tester, six répétitions et six témoins sans extrait sont réalisés. Le dispositif est mis en culture pendant 30 jours à 25 °C (Decharme, 1978 ; Bigi *et al.*, 2004).

Les boîtes de Pétri sont ensuite numérisées à une résolution de 600 dpi. Les images ainsi obtenues sont traitées à l'aide du logiciel MESURIM© afin de déterminer la surface de croissance du champignon (Figure 15).

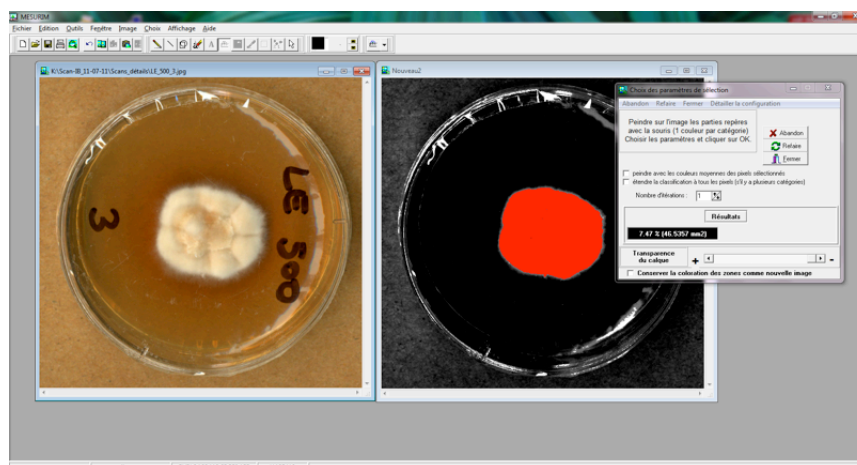


FIGURE 15 – Exemple de mesure de surface du champignon à l'aide du logiciel MESURIM©.

4.3 Test au sel de tétrazolium MTT

Pour ce test, on utilise du bromure de 3-(4,5-diméthyl thiazol-2-yl)-2,5 diphényl tétrazolium bromide (ou MTT). La solution de MTT est de couleur jaune à cause du sel de tétrazolium qu'elle contient. Lorsque ce sel est réduit, par l'enzyme succinate déshydrogénase des mitochondries des cellules vivantes, il se forme un précipité de couleur bleu violacé : le formazan. Le test MTT permet de déterminer le pouvoir cytostatique (si le précipité bleu de formazan se forme) ou cytotoxique (si le sel de tétrazolium n'est pas réduit et reste jaune) d'une molécule ou d'un extrait de plante (Hadacek & Greger, 2000). Il est réalisé comme pour le test antifongique en milieu liquide (précédemment décrit au paragraphe 3.6.1). Pour chaque extrait antifongique à tester, 6 répétitions et 6 témoins sans champignon sont réalisés.

Le dispositif est mis en culture environ 15 jours à 25 °C. Un millilitre de MTT à 1 mg/L est ajouté dans chaque tube et le dispositif est remis en culture pendant 15 jours à 25 °C. La coloration du milieu est ensuite observée (Figure 18).



FIGURE 16 – Test au MTT (à gauche) et comparaison entre un extrait fongistatique de *L. esculentum* (couleur bleu violacé) et les différentes concentrations d'un extrait antifongique de *Senna alata* (à droite).

4.4 Concentration inhibitrice de croissance des usages antifongiques

Le pourcentage d'inhibition fongique (PI) est le rapport entre la surface de croissance des témoins et celle contenant les extraits. Il est calculé de la façon suivante :

$$PI = \frac{S_T - S_E}{S_T} \times 100$$

S_T = Surface en mm^2 sur milieu témoin

S_E = Surface en mm^2 sur milieu contenant l'extrait à tester

L'analyse de la croissance mycélienne s'appuie sur la régression logistique pour modéliser l'impact de concentrations d'une substance sur un phénomène quantitatif, le pourcentage d'inhibition. Pour déterminer les concentrations des différents lyophilisats réduisant de 50 % (CI_{50}) et de 90 % (CI_{90}) la croissance mycélienne, on applique donc un modèle Probit de régression logistique (Finey, 1971 ; Hosmer & Lemeshow, 2000) grâce au logiciel XLSTAT©. Un exemple de calculs se trouve en annexe C.

Chapitre 5

Tests insecticides et antifongiques sur nids artificiels

Une expérimentation qui consiste à tester les extraits insecticide et antifongique jugés les plus efficaces est mise en place sur des nids artificiels.

Une exploitation agricole dans la commune de Sainte-Rose, nommée plantation Siard, est choisie afin de sélectionner les colonies à prélever pour l'expérimentation sur nids artificiels. Dix nids sont repérés et suivis durant 4 semaines de manière à déterminer leur activité moyenne. Parmi ces nids, les cinq plus actifs sont prélevés et placés en nids artificiels.

Pour déterminer l'heure optimale d'activité des nids artificiels, les cinq nids sont suivis durant 16 heures de 4 h à 20 h. La mesure d'activité consiste à compter le nombre de fourmis qui entrent dans le nid toutes les heures pendant 10 minutes. Les moyennes obtenues seront normalisées, ce qui facilite la comparaison et l'interprétation des résultats des cinq nids et permet d'éliminer le problème du choix de l'échelle. Pour normaliser les données, les moyennes ont été divisées par la moyenne maximale de manière à ce que les valeurs soient comprises entre 0 et 1.

Afin de réaliser les tests sur nids artificiels, un test d'appétence est effectué au préalable. Il a pour but d'augmenter l'appétence des appâts de nourriture artificielle. Deux produits connus pour leur appétence, la pulpe d'orange *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Verza *et al.*, 2006) et les feuilles d'igname *Dioscorea alata* L. (Schockmel, 1985) sont incorporés aux appâts. Le test est réalisé selon le protocole du test de toxicité par ingestion décrit au paragraphe 3.3. Des oranges pelées et des feuilles d'igname sont séchées à l'étuve pendant 7 jours à 70 °C et broyées à l'aide d'un moulin à café. Ces poudres sont ajoutées à la nourriture artificielle à raison de 10 g/L.

Un test de vérification de la non toxicité par ingestion du fongicide choisi est également réalisé. Ce test a pour but de vérifier que l'extrait antifongique choisi n'ait pas d'activité insecticide par ingestion contre la fourmi. Le test est réalisé selon le protocole du test de toxicité par ingestion décrit au paragraphe 3.3. L'antifongique est inclus dans la nourriture artificielle afin d'obtenir une concentration de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Les usages insecticide et antifongique les plus «significativement actifs» sont choisis pour mener l'expérimentation sur nids artificiels. Les appâts sont constitués de nourriture artificielle incluant ou non les extraits de plantes insecticide et antifongique choisis. Cette nourriture est préparée avec du glucose (50 g/L), du bactopeptone (10 g/L), de l'extrait de levure (1 g/L), de l'agar (15 g/L), de la poudre de pulpe de *Citrus sinensis* (10 g/L), de la poudre de feuille de *Dioscorea alata* cv Plimbite (10 g/L) et de l'eau distillée. Les traitements effectués sont les suivants : le premier nid recevra la nourriture artificielle avec la préparation insecticide, le second nid recevra celle contenant la préparation antifongique, le troisième nid recevra celle contenant l'antifongique et l'insecticide, le quatrième nid sera nourri avec des appâts sans extraits de plante (nid témoin négatif) et le cinquième nid sera traité avec le produit insecticide de référence, le Blitz® (témoin positif). Les cinq nids choisis seront nourris à raison de 20 g d'appât/nid/jour du traitement choisi.

Avant d'appliquer les appâts, l'activité normale de déplacement des fourmis et la quantité de nourriture ingérée par nid sont évaluées quotidiennement pendant 7 jours. Les appâts sont ensuite appliqués quotidiennement pendant 14 jours, l'activité de déplacement évalué et le poids de l'appât ingéré mesuré. Enfin, pendant les 7 jours suivants, une nourriture habituelle est à nouveau fournie aux nids. La quantité de nourriture ingérée par nid et l'activité de déplacement sont évaluées durant cette période (Lopez & Orduz, 2003).

Chapitre 6

Les molécules insecticides et antifongiques des préparations TRAMIL utilisées

Les protocoles utilisés dans cette partie ont été mis en place lors du stage de C. Delag encadré par L. Desfontaines (Delag, 2011). Seuls les extraits lyophilisés présentant une activité insecticide par ingestion ou une activité fongicide ou fongistatique seront analysés chimiquement. Ces lyophilisats sont repris dans l'eau à raison de 100 mg/mL. Les solutions sont placées au sonicateur pendant environ 20 minutes, filtrées sous vide sur une colonne de coton hydrophile. Les extraits ainsi préparés sont conservés à 4 °C jusqu'à l'analyse.

6.1 Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique permet de révéler la présence de différentes familles de métabolites secondaires d'une solution. Les échantillons sont comparés à la coloration de standards. Cette comparaison permettra de vérifier la coloration que l'on doit obtenir en présence des métabolites secondaires recherchés. Ce sont les alcaloïdes, les terpénoides et les composés phénoliques qui seront recherchés compte tenu de la revue bibliographique réalisée (Partie État de l'art Chapitre 3).

Dans des tubes en verre de 800 μ L, on introduit 200 μ L d'extrait ou du standard et 60 μ l de révélateur. Pour chaque famille de métabolites, les standards et les révélateurs suivants sont utilisés. Les colorations obtenues par les extraits sont comparées à des standards (Tableau 7).

Tableau 7 – Standards et révélateurs utilisés pour le criblage des familles chimiques sélectionnées dans le cadre de notre étude.

Familles de métabolites à identifier	Standards	Révélateurs
Alcaloïdes	Pipérine	Dragendorff (Upadhyay <i>et al.</i> , 2006)
Composés phénoliques	Acide gallique	Folin-Ciocalteu (Dohou <i>et al.</i> , 2004)
Terpénoïdes	Linalol	Dichromate de potassium (Lagnika, 2005)

6.2 Dosage des familles chimiques d'intérêt

Dans des tubes en verre de 10 mL, on introduit les quantités d'extraits ou de standards et de révélateurs indiqués dans le tableau ci-dessous. Les densités optiques (DO) des extraits et des standards sont lues dans une cuve en quartz avec un spectrophotomètre UV visible (Tableau 8).

Tableau 8 – Méthodes et protocoles utilisés pour le dosage des trois familles chimiques sélectionnées pour leur activité insecticide et antifongique.

Familles de métabolites à doser	Méthodes	Protocoles
Alcaloïdes	Méthode du réactif de Marquis (Szabo <i>et al.</i> , 2003)	Extrait : 500 μ L Formaldéhyde sulfurique : 2,5 mL DO : 600 nm
Composés phénoliques	Méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton <i>et al.</i> , 1999; Heilerová <i>et al.</i> , 2003)	Extrait : 500 μ L Folin – Cicolteu 0,2N : 2,5 mL Na ₂ CO ₃ à 75 g/L : 2 mL DO : 760 nm
Terpénoïdes	Méthode avec le chlorure de fer sulfurique (Zak <i>et al.</i> , 1957)	Extrait : 100 μ L Acide acétique : 3 mL Chlorure ferrique sulfurique : 2 mL DO : 450 nm

Les résultats obtenus sont exprimés en mg de standard par gramme d'extrait lyophilisé.

Chapitre 7

Analyse statistique

La quasi-totalité des tests utilisés en biologie suppose de façon générale que les données des populations considérées suivent une loi normale. Cette condition n'est cependant pas toujours satisfaite. Dans notre étude, afin de s'affranchir de l'hypothèse de normalité des échantillons, nécessaire pour l'utilisation des tests de comparaisons paramétriques, les résultats des tests de toxicité par contact, par ingestion et des tests d'activité insectifuge sont soumis à un test non-paramétrique de comparaison de $k=2$ échantillons indépendants : le test Mann-Whitney (Siegel & Castellan, 1988). Ce test non-paramétrique est également le plus adapté pour comparer deux échantillons de petites tailles (MacDonald, 2009).

Les résultats des tests de toxicité par ingestion des lyophilisats et des tests antifongiques, quant à eux, sont soumis au test non-paramétrique de comparaison de k échantillons indépendants : le test de Kruskal-Wallis (Hollander & Wolfe, 1999) et des comparaisons multiples par paires suivant la procédure de Dunn (1964). Ce test non-paramétrique est également le plus adapté pour $k > 2$ échantillons de petites tailles (MacDonald, 2009).

Pour les tests sur nids artificiels, les valeurs de moyenne de déplacement du nombre de fourmis/nid/min et le poids de nourriture ingérée obtenus chaque jour seront également soumis à un test de Kruskal-Wallis avec des comparaisons par paires suivant la procédure de Dunn (Dunn 1964 ; Hollander & Wolfe, 1999 ; MacDonald, 2009).

Les méthodes de dosages phytochimiques sont validées par le test de Fisher. Ce test permet de valider la linéarité du modèle de régression et le domaine d'étalonnage en comparant le test de Fisher aux limites obtenues (MacDonald, 2009). Les valeurs obtenues sont ensuite comparées entre elles par un test de Kruskal-Wallis suivant la procédure de Dunn (Dunn 1964 ; Hollander & Wolfe, 1999 ; MacDonald, 2009). Enfin, un test de corrélation de Pearson sera réalisé pour rechercher une éventuelle

corrélation entre les résultats des dosages et ceux des activités biologiques insecticides et antifongiques (MacDonald, 2009).

Troisième partie

RÉSULTATS

Chapitre 1

Tests insecticides

Pour toutes les représentations graphiques suivantes, les cercles bleus représentent les témoins et les carrés rouges les extraits végétaux testés.

Pour les tests de Mann-Whitney, U est la statistique du test. U suit une loi normale définie par les paramètres Espérance et Variance (U). Plus U s'éloigne de l'espérance, plus on peut estimer qu'il existe une différence significative entre les deux échantillons. De plus, la p -value est une approximation de la loi de U à un niveau de signification $\alpha=0,05$. Si cette approximation est inférieure à α , on peut retenir l'hypothèse selon laquelle les échantillons sont différents.

1.1 Tests de toxicité par contact

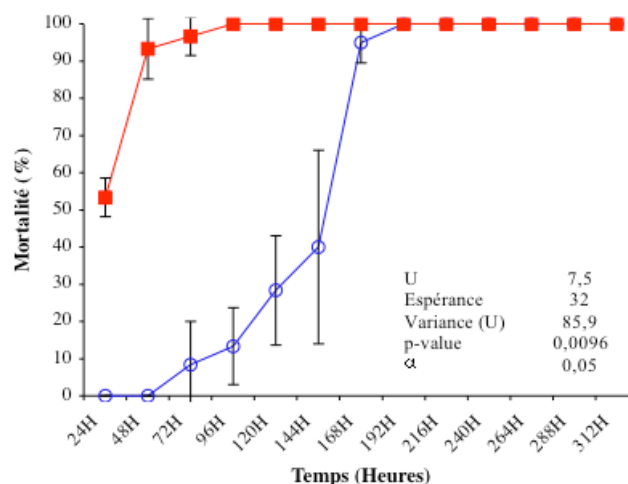


FIGURE 17 – Test de toxicité par contact de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*.

La figure 17 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*. Elle indique que la macération aqueuse de *Mammea americana* provoque 50 % de mortalité après 24 h et 100 % après 96 h alors que le témoin montre une mortalité de 0 % après 24 h et d'environ 10 % après 96 h. Le test de Mann-Whitney indique que la macération affecte significativement la mortalité des fourmis avec une p-value (p-value= 0,0096) inférieure à α et une valeur de U (U=7,5) différente de son espérance (E=32).

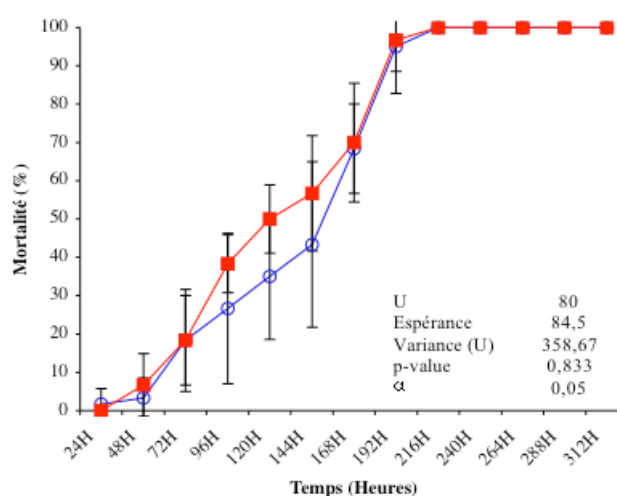


FIGURE 18 – Test de toxicité par contact de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*.

La figure 18 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*. Elle indique qu'il n'y a aucune mortalité après 24 h et 100 % après 216 h pour la décoction de *Nerium oleander* et pour le témoin. Le test de Mann-Whitney indique que les taux de mortalité pour la décoction ne sont pas statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value (p-value= 0,833) supérieure à α et une valeur de U (U=80) proche de son espérance (E=84,5).

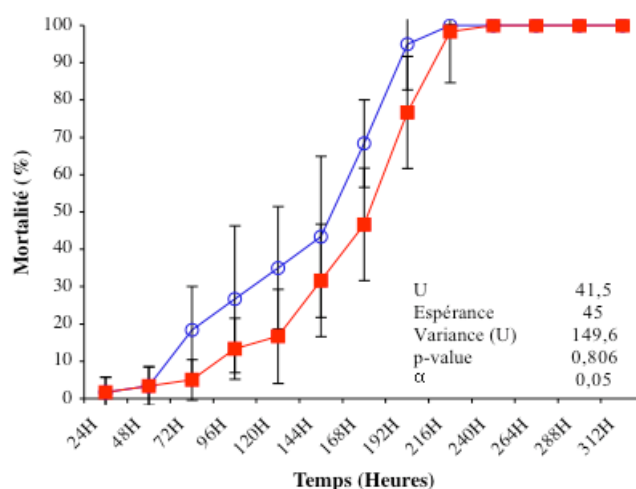


FIGURE 19 – Test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

La figure 19 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*. Elle indique une mortalité de 2 % après 24 h et de 100 % après 336 h pour le broyat de la feuille sèche de *Nerium oleander*. Pour le témoin, on n'observe aucune mortalité après 24 h et 100 % après 384 h. Le test de Mann-Whitney indique que les mortalités pour le broyat ne sont pas statistiquement différentes de celles du témoin avec une p-value (p-value= 0,806) supérieure à α et une valeur de U (U=41,5) proche de son espérance (E=45).

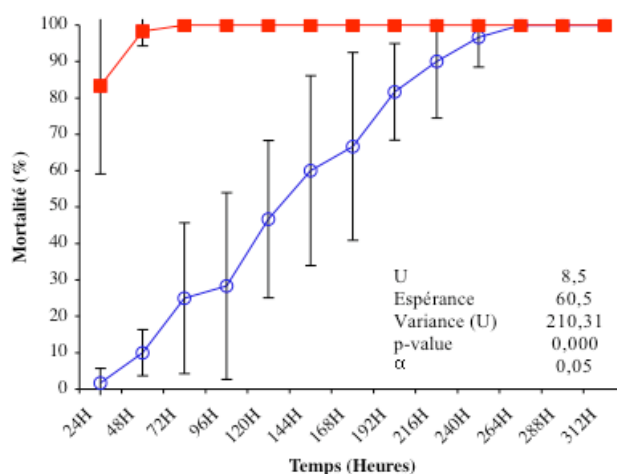


FIGURE 20 – Test de toxicité par contact de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*.

La figure 20 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact de la décoction de la feuille sèche de

Nicotiana tabacum. Elle indique que la décoction de feuille sèche de *Nicotiana tabacum* provoque 83 % de mortalité après 24 h et 100 % après 72 h. Le témoin montre une mortalité de 2 % après 24 h et d'environ 100 % après 264 h. Le test de Mann-Whitney indique que les mortalités pour la décoction sont statistiquement différentes de celles du témoin avec une p-value (p-value= 0,0001) inférieure à α et une valeur de U (U=8,5) différente de son espérance (E=60,5).

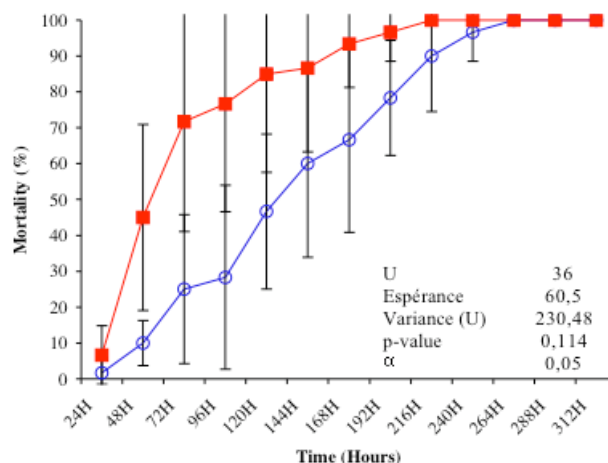


FIGURE 21 – Test de toxicité par contact de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*.

La figure 21 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*. On observe 7 % de mortalité après 24 h et 100 % après 216 h pour la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*. Pour le témoin, on observe 2 % de mortalité après 24 h et 100 % après 264 h. Le test de Mann-Whitney indique que les mortalités pour la décoction ne sont pas statistiquement différentes de celles du témoin avec une p-value (p-value= 0,114) supérieure à α et une valeur de U (U=36) proche de son espérance (E=60,5).

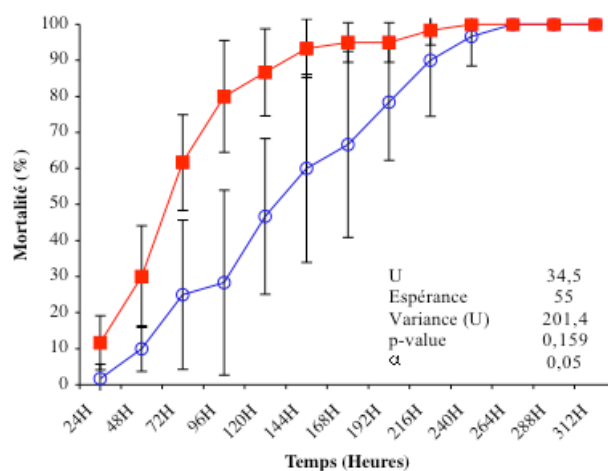


FIGURE 22 – Test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de *Trichilia pallida*.

La figure 22 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par contact du broyat aqueux de la feuille sèche de *Trichilia pallida*. Elle indique qu'il y a 12 % de mortalité après 24 h et 100 % après 240 h pour le broyat de la feuille de *Trichilia pallida*. Le témoin montre 2 % de mortalité après 24 h et 100 % après 264 h. Le test de Mann-Whitney indique que les mortalités pour le broyat ne sont pas statistiquement différentes de celles du témoin avec une p-value (p-value= 0,159) supérieure à α et une valeur de U (U=34,5) proche de son espérance (E=55).

La macération de *Mammea americana* et la décoction de *Nicotiana tabacum* présentent une activité insecticide par contact sur *Acromyrmex octospinosus* (Figures 17 et 20).

1.2 Test d'activité insectifuge

Les lignes pleines et discontinues sont des régressions linéaires. Pour tous les tests, le double témoin négatif indique que les fourmis n'ont pas de préférence lorsque les deux demi-disques sont imprégnés d'eau distillée (Figure 23).

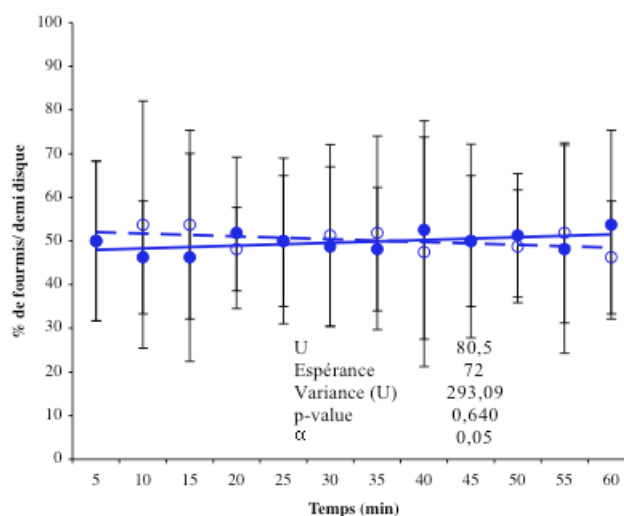
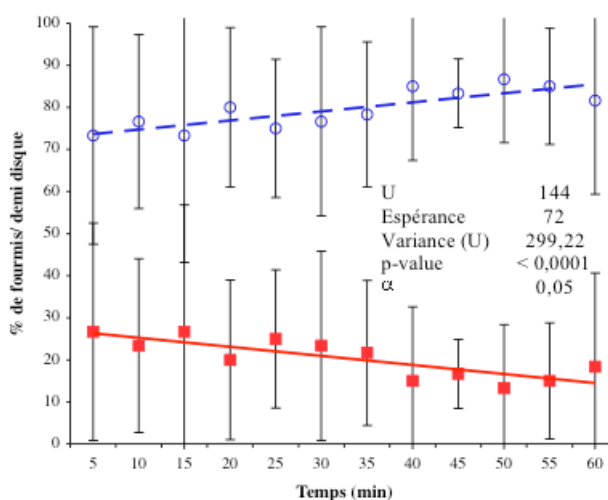


FIGURE 23 – Double témoin négatif du test d’activité insectifuge.

La figure 23 illustre l’évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d’activité insectifuge du double témoin négatif. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de fourmis des deux demi-disque ne sont pas statistiquement différents avec une p-value ($p\text{-value}=0,640$) supérieure à α et une valeur de U ($U=80,5$) proche de son espérance ($E=72$).

FIGURE 24 – Test d’activité insectifuge de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*.

La figure 24 illustre l’évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d’activité insectifuge de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*. Elle indique que 80 % des fourmis

en moyenne choisissent le côté témoin alors que 20 % choisissent le côté du demi-disque imprégné de la macération. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés de la macération est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

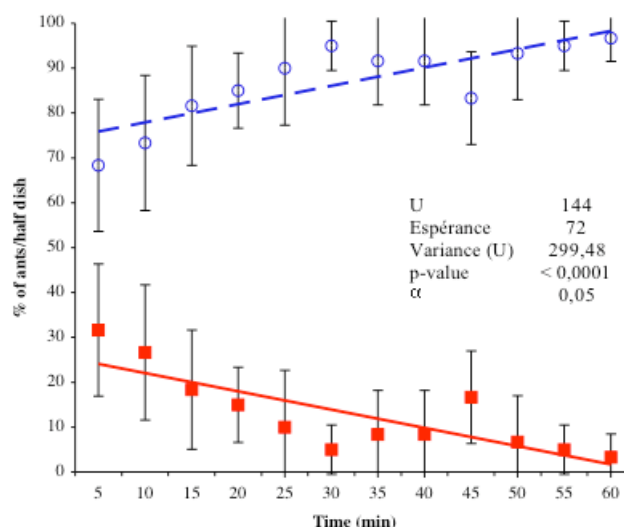


FIGURE 25 – Test d'activité insectifuge de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*.

La figure 25 illustre l'évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d'activité insectifuge de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*. Elle indique que 87 % des fourmis en moyenne choisissent le côté témoin alors que 13 % choisissent le côté du demi-disque imprégné de la décoction. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés de la décoction est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

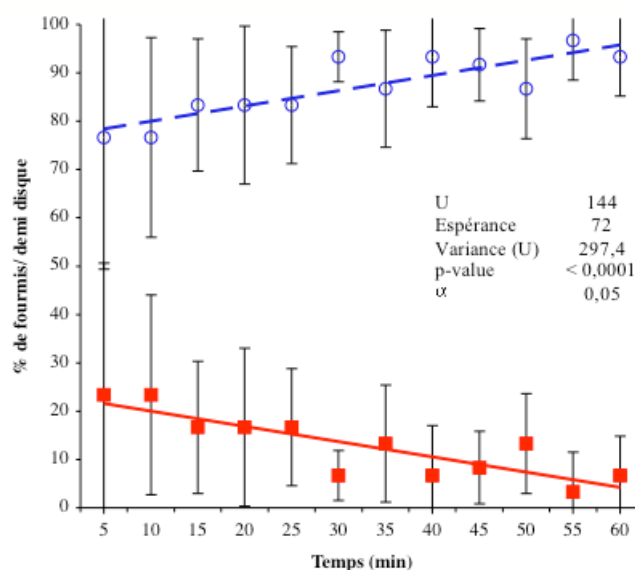


FIGURE 26 – Test d’activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

La figure 26 illustre l’évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d’activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*. Elle indique que 87 % des fourmis en moyenne choisissent le côté témoin alors que 13 % choisissent le côté du demi-disque imprégné du broyat aqueux. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés du broyat est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

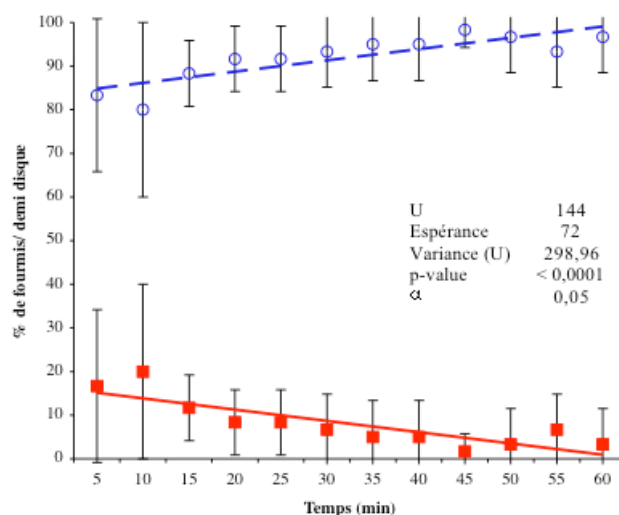


FIGURE 27 – Test d’activité insectifuge de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*.

La figure 27 illustre l'évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d'activité insectifuge de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*. Elle indique que 92 % des fourmis en moyenne choisissent le côté témoin alors que 8 % choisissent le côté du demi-disque imprégné de la décoction. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés de la décoction est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

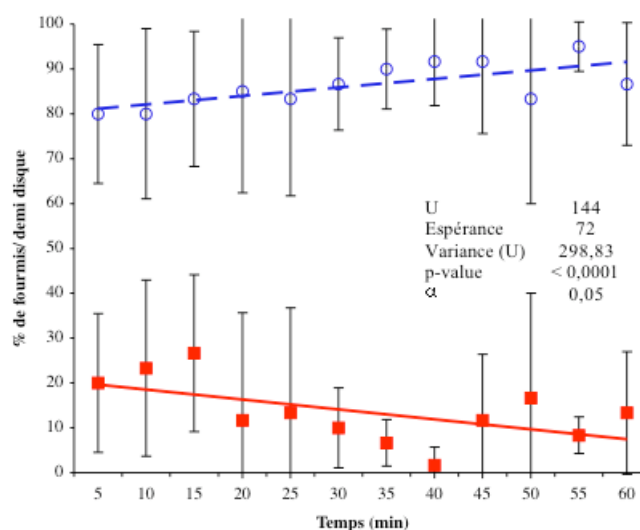


FIGURE 28 – Test d'activité insectifuge de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*.

La figure 28 illustre l'évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d'activité insectifuge de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*. Elle indique que 86 % des fourmis en moyenne choisissent le côté témoin alors que 14 % choisissent le côté du demi-disque imprégné de la décoction. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés de la décoction est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

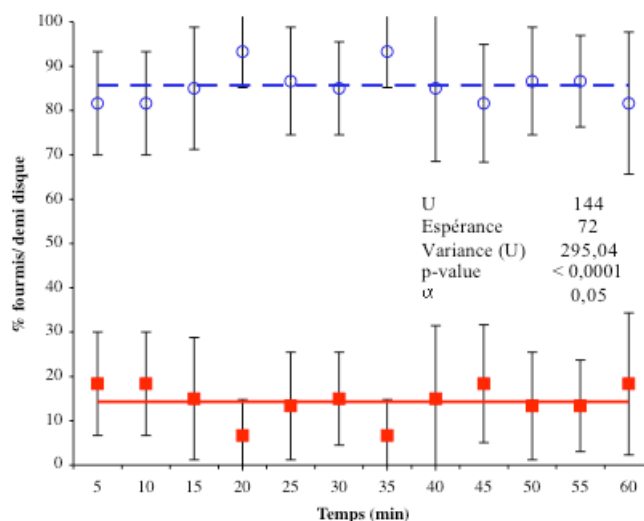


FIGURE 29 – Test d'activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de *Trichilia pallida*.

La figure 29 illustre l'évolution du pourcentage de fourmis présentes par demi-disque en fonction du temps pour le test d'activité insectifuge du broyat aqueux de la feuille sèche de *Trichilia pallida*. Elle indique que 86 % des fourmis en moyenne choisissent le côté témoin alors que 14 % choisissent le côté du demi-disque imprégné du broyat. Le test de Mann-Whitney indique que le nombre moyen de fourmis présentes sur les demi-disques imprégnés du broyat est significativement différent de celui du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=144$) différente de son espérance ($E=72$).

Toutes les préparations traditionnelles testées présentent une activité insectifuge (Figures 24, 25, 26, 27, 28 et 29).

1.3 Test de toxicité par ingestion

Pour tous les graphiques suivants, le témoin montre une mortalité de 3 % après 48 h et d'environ 22 % après 504 h. La quantité de nourriture artificielle témoin ingérée est quant à elle d'environ 0,08 g/jour.

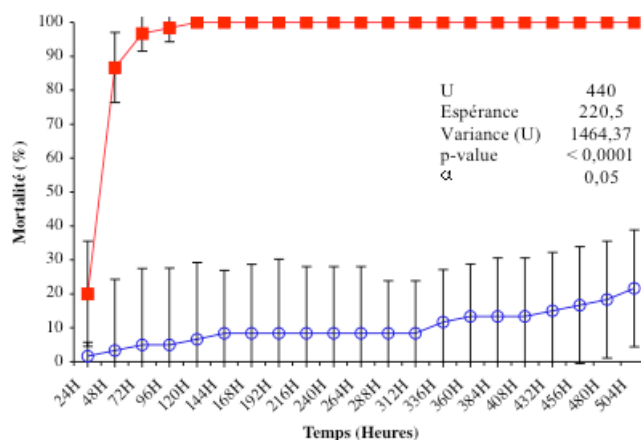


FIGURE 30 – Test de toxicité par ingestion de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*.

La figure 30 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*. Elle indique que la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana* provoque 85 % de mortalité après 48 h et 100 % après 120 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité des fourmis en présence de la macération sont statistiquement différents de ceux du traitement témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=440$) différente de son espérance ($E=220,5$).

La quantité de nourriture artificielle contenant la macération aqueuse de *M. americana* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,05 g/jour.

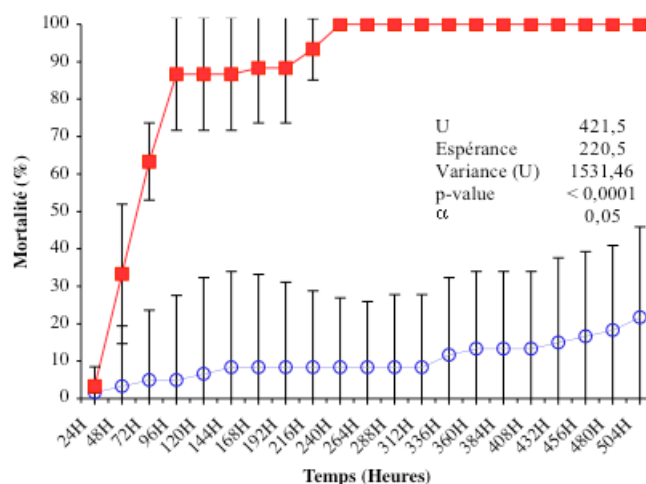


FIGURE 31 – Test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*.

La figure 31 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*. Elle indique que la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander* provoque 33 % de mortalité après 48 h et 100 % après 240 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité pour la décoction sont statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=421,5$) différente de son espérance ($E=220,5$).

La quantité de nourriture artificielle contenant la décoction de *N. oleander* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,06 g/jour.

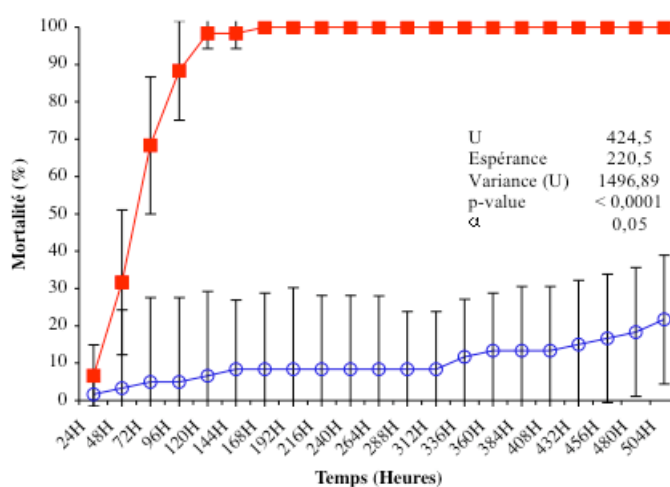


FIGURE 32 – Test de toxicité par ingestion du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

La figure 32 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander*. Elle indique que le broyat aqueux de feuille sèche de *Nerium oleander* provoque 32 % de mortalité après 48 h et 100 % après 168 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité pour le broyat aqueux sont statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieure à α et une valeur de U ($U=424,5$) différente de son espérance ($E=220,5$).

La quantité de nourriture artificielle contenant le broyat aqueux de la feuille sèche de *Nerium oleander* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,02 g/jour.

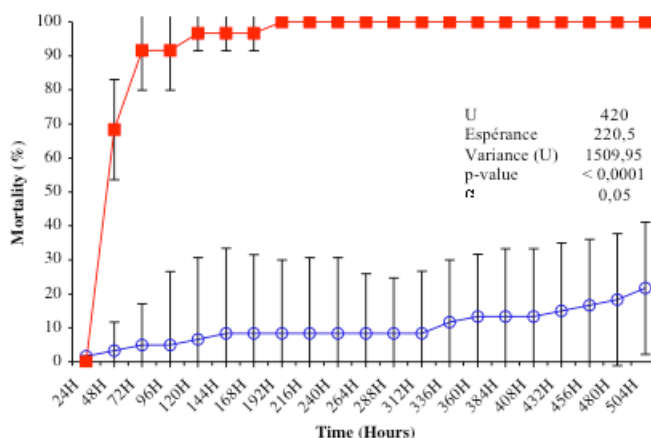


FIGURE 33 – Test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*.

La figure 33 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*. Elle indique que la décoction de feuille sèche de *Nicotiana tabacum* provoque 68 % de mortalité après 48 h et 100 % après 192 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité pour la décoction sont statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value (p-value < 0,0001) inférieure à α et une valeur de U (U=420) différente de son espérance (E=220,5).

La quantité de nourriture artificielle contenant la décoction de la feuille sèche de *N. tabacum* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,02 g/jour.

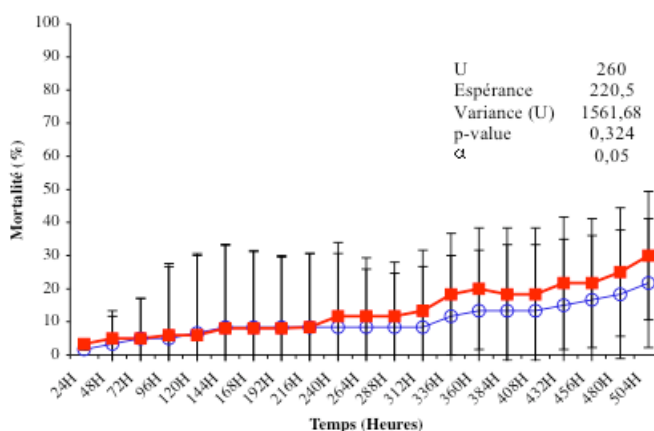


FIGURE 34 – Test de toxicité par ingestion de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*.

La figure 34 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la décoction de la graine de *Rollinia mucosa*. Elle indique que la décoction de la graine de *Rollinia mucosa* provoque 5 %

de mortalité après 48 h et 30 % après 504 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité pour la décoction ne sont pas statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value (p-value= 0,324) supérieure à α et une valeur de U (U=260) proche de son espérance (E=220,5).

La quantité de nourriture artificielle contenant la décoction de la graine de *Rol-
linia mucosa* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,05 g/jour.

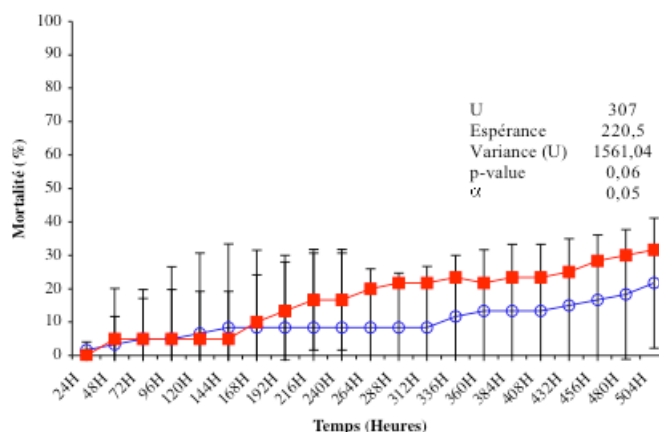


FIGURE 35 – Test de toxicité par ingestion du broyat de la feuille sèche de *Trichilia pallida*.

La figure 35 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du broyat de la feuille sèche de *Trichilia pallida*. Elle indique que le broyat de la feuille sèche de *Trichilia pallida* provoque 5 % de mortalité après 48 h et 32 % après 504 h. Le test de Mann-Whitney indique que les pourcentages de mortalité pour le broyat ne sont pas statistiquement différents de ceux du témoin avec une p-value (p-value= 0,06) supérieure à α et une valeur de U (U=307) proche de son espérance (E=220,5).

La quantité de nourriture artificielle contenant le broyat de la feuille sèche de *T.
pallida* ingérée par les fourmis est en moyenne de 0,05 g/jour.

Tableau 9 – Synthèse des résultats des tests d'activités insecticide et insectifuge.

	<i>M. americana</i>	<i>N. oleander</i> (broyat)	<i>N. oleander</i> (décoction)	<i>N. tabacum</i>	<i>R. mucosa</i>	<i>T. pallida</i>
Toxicité par contact	++	-	-	+++	-	-
Insectifuge	+	++	++	+++	++	++
Toxicité par ingestion	+++	+	+	++	-	-

Test de Mann-Whitney :

++ : Test significatif $p < 0,05$; $\alpha=0,05$

- : Test non significatif

Toxicité par contact :

++ : Mortalité <50 % après 24 h

+++ : Mortalité comprise entre 50 % et 80 % après 24 h

+++ : Mortalité <80 % après 24 h

Activité insectifuge :

++ : Quantité de fourmis présentes par demi-disque <20 %

+++ : Quantité de fourmis présentes par demi-disque comprise entre 10 % et 20 %

+++ : Quantité de fourmis présentes par demi-disque <10 %

Toxicité par ingestion :

++ : Mortalité <50 % après 48 h

+++ : Mortalité comprise entre 50 % et 80 % après 48 h

+++ : Mortalité <80 % après 48 h

Le tableau 9 est une synthèse des résultats des tests d'activité insecticide par contact, par ingestion et insectifuge. Il indique que les usages insecticides de plantes provenant des enquêtes ethnopharmacologiques TRAMIL présentent un potentiel de lutte contre la fourmi manioc. Les six usages testés sont insectifuges. Deux d'entre eux présentent une toxicité par contact (la macération de la graine de *Mammea americana* et la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*). Ces deux derniers usages présentent également une activité insecticide par ingestion comme les deux usages de *Nerium oleander* (la décoction de la feuille fraîche et le broyat de la feuille sèche) (Boulogne *et al.*, 2011c).

La plupart des moyens de lutte contre les Attines en général et *Acromyrmex octospinosus* en particulier sont des appâts toxiques pourvus d'un effet retard destinés à être ingérés et/ou transportés à la colonie par les grandes ouvrières. Le test de

toxicité par ingestion semble donc être le plus intéressant pour un passage *in situ*.

Il convient cependant de remarquer qu'en moyenne, la nourriture artificielle témoin (sans préparation insecticide) est ingérée en plus grande quantité que les préparations testées (Partie 1.3). Ce fait peut probablement être expliqué par la qualité insectifuge de ces substances mais également par un effet anti-appétant de celles-ci. Il faut donc travailler sur le meilleur ratio toxicité/appétence/effet retard possible. Pour ce faire, la lyophilisation des préparations semble être la solution la moins destructive. Les appâts lyophilisés devraient permettre d'augmenter l'attractivité des extraits toxiques par ingestion. De plus, la lyophilisation permettra de déterminer la bonne concentration des appâts leur permettant d'être suffisamment toxique tout en présentant un effet retard de manière à tromper les stratégies de défense de la colonie.

En conclusion, ce sont les quatre usages de plantes présentant un résultat positif au test de toxicité par ingestion qui font l'objet de la suite de ce travail : la macération aqueuse de la graine de *Mammea americana*, la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*, la décoction de la feuille fraîche et le jus de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

1.4 Tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats

Toutes les représentations graphiques des lyophilisats correspondent aux mortalités corrigées par la formule de Abott (1925).

Pour les tests de Kruskal-Wallis, $K_{\text{observé}}$ est la statistique du test. Plus $K_{\text{observé}}$ s'éloigne de K_{critique} , plus on peut estimer qu'il existe une différence significative entre les échantillons. Afin d'identifier quels échantillons sont responsables cette différence significative, une procédure de comparaisons multiples par la méthode de Dunn est utilisé. Les p-values obtenues sont des approximations de la loi de K à un niveau de signification $\alpha=0,05$. Si ces approximations sont inférieures à α , on peut retenir l'hypothèse selon laquelle les échantillons sont différents du témoin.

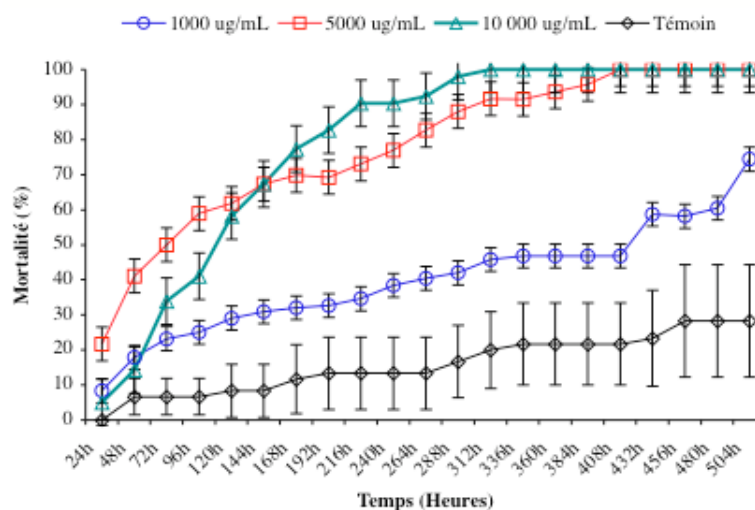


FIGURE 36 – Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la macération de la graine de *Mammea americana*.

La figure 36 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la macération de la graine de *Mammea americana*. Elle indique que la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ provoque 50 % de mortalité après 96 h, la concentration 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ après 72 h et la concentration 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ après 408 h. En observant la mortalité de la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, on constate un effet retard avec 50 % de mortalité après 72 h.

Tableau 10 – Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la macération de la graine de *Mammea americana*.

K observé	51,93
K critique	7,815
α	0,05
Témoin/ <i>Mammea</i> 1000	0,004
Témoin/ <i>Mammea</i> 5000	<0,0001
Témoin/ <i>Mammea</i> 10000	<0,0001

Le test de Kruskal-Wallis (Tableau 10) indique que les trois concentrations de lyophilisat de la macération aqueuse de la graine de *M. americana* provoquent des pourcentages de mortalité significativement différents de ceux provoqués par l'ingestion de la nourriture témoin avec des p-values ($p\text{-value}=0,004$ et $p\text{-value}< 0,0001$) inférieures à α et une valeur de $K_{\text{observé}}$ ($U=51,93$) différente du K_{critique} ($E=7,815$).

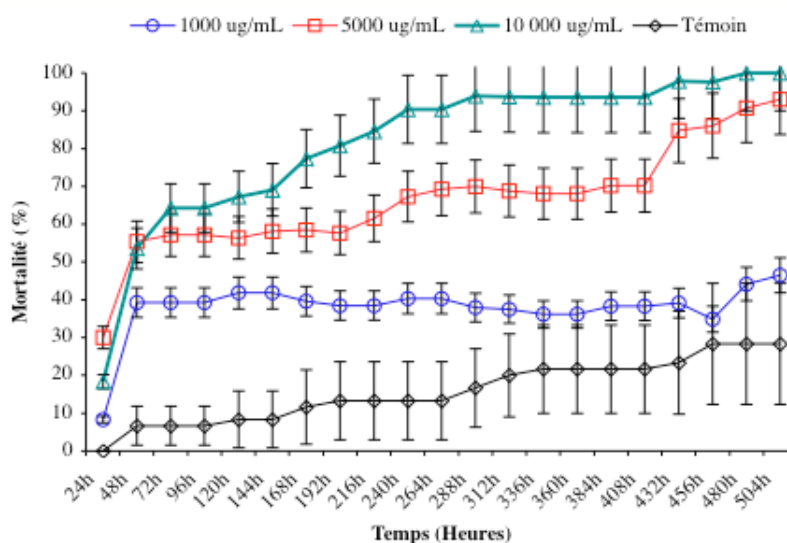


FIGURE 37 – Test de toxicité par ingestion du lyophilisat du broyat de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

La figure 37 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du lyophilisat du broyat de la feuille sèche de *Nerium oleander*. Elle indique que la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ provoque 50 % de mortalité après 48 h. La concentration 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ne provoque que 40 % de mortalité après 504 h. En observant la mortalité de la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, on constate un faible effet retard avec 50 % de mortalité avant 72 h.

Tableau 11 – Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat du broyat de la feuille sèche de *Nerium oleander*.

K observé	64,44
K critique	7,815
α	0,05
Témoin/ <i>Nerium</i> B 1000	0,004
Témoin/ <i>Nerium</i> B 5000	<0,0001
Témoin/ <i>Nerium</i> B 10000	<0,0001

Le test de Kruskal-Wallis (Tableau 11) indique que les trois concentrations de lyophilisat du broyat de la feuille sèche de *N. oleander* provoquent des pourcentages de mortalité significativement différents de ceux provoqués par l'ingestion de la nourriture témoin avec des p-values (p-value= 0,004 et p-value< 0,0001) inférieures à α et une valeur de $K_{\text{observé}}$ ($U=64,44$) différente du K_{critique} ($E=7,815$).

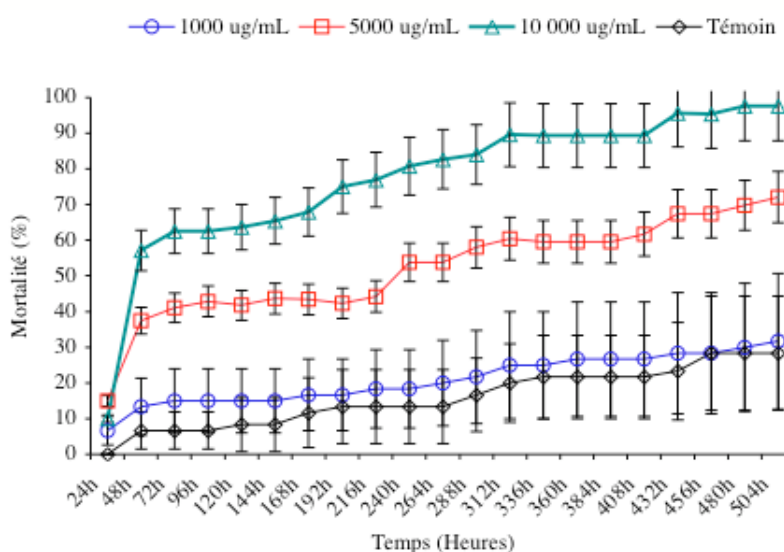


FIGURE 38 – Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*.

La figure 38 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*. Elle indique que la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ provoque 50 % de mortalité après 48 h. La concentration 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ provoque 50 % de mortalité après 240 h. La concentration 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ne provoque qu'une faible mortalité (moins de 30 %) de mortalité après 504 h. En observant la mortalité de la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, on constate un faible effet retard avec 50 % de mortalité avant 72 h.

Tableau 12 – Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de *Nerium oleander*.

K observé	58,39
K critique	7,815
α	0,05
Témoin/ <i>Nerium</i> D 1000	0,273
Témoin/ <i>Nerium</i> D 5000	<0,0001
Témoin/ <i>Nerium</i> D 10000	<0,0001

Le test de Kruskal-Wallis (Tableau 11) indique que les concentrations 5000 et 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de lyophilisat de la décoction de la feuille fraîche de *N. oleander* provoquent des pourcentages de mortalité significativement différents de ceux provoqués

par l'ingestion de la nourriture témoin avec des p-values ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieures à α et une valeur de $K_{\text{observé}}$ ($U=58,44$) différente du K_{critique} ($E=7,815$). La concentration $1000 \mu\text{g/mL}$ ne provoque pas de mortalité significativement différente de celle provoquée par l'ingestion de la nourriture témoin avec une p-value ($p\text{-value}=0,273$) supérieure à α .

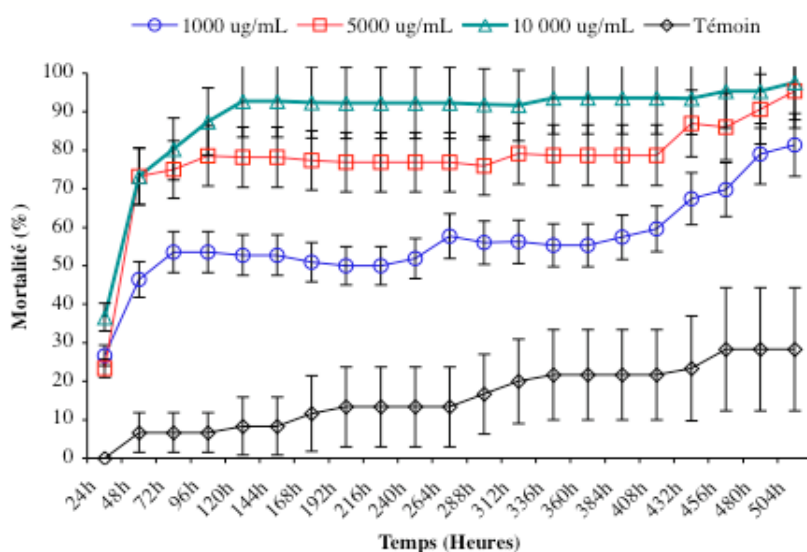


FIGURE 39 – Test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*.

La figure 39 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion du lyophilisat de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*. Elle indique que la concentration $10000 \mu\text{g/mL}$ provoque 50 % de mortalité après 24 h, la concentration $5000 \mu\text{g/mL}$ après 48 h et la concentration $1000 \mu\text{g/mL}$ après 72 h. En observant la mortalité de la concentration $10000 \mu\text{g/mL}$, on constate un faible effet retard avec 50 % de mortalité avant 72 h.

Tableau 13 – Test de Kruskal-Wallis du lyophilisat de la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*.

K observé	66,14
K critique	7,815
α	0,05
Témoin/ <i>Nicotiana</i> 1000	0,001
Témoin/ <i>Nicotiana</i> 5000	<0,0001
Témoin/ <i>Nicotiana</i> 10000	<0,0001

Le test de Kruskal-Wallis (Tableau 13) indique que les trois concentrations de lyophilisat de la décoction de *N. tabacum* provoquent des pourcentages de mortalité significativement différents de ceux provoqués par l'ingestion de la nourriture témoin avec des p-values (p-value= 0,001 et p-value< 0,0001) inférieures à α et une valeur de $K_{observé}$ (U=66,14) différente du $K_{critique}$ (E=7,815).

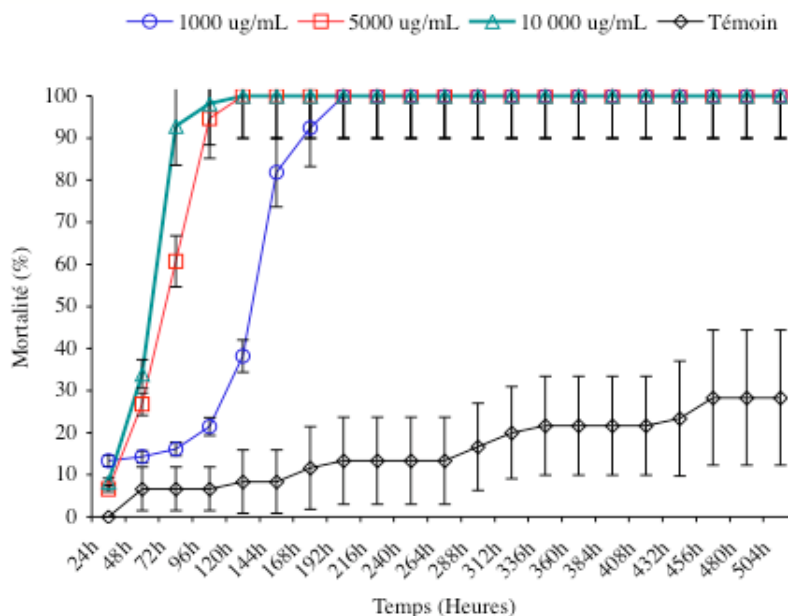


FIGURE 40 – Test de toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant du Blitz®.

La figure 40 illustre l'évolution de la mortalité en pourcentage en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant du Blitz®. Elle indique que la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ provoque 50 % de mortalité après 72 h, la concentration 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ après 96 h et la concentration 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ après 120 h. En observant la mortalité de la concentration 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, on constate un effet retard avec 50 % de mortalité après 72 h.

Tableau 14 – Test de Kruskal-Wallis de la nourriture artificielle contenant du Blitz®.

K observé	48,29
K critique	7,815
α	0,05
Témoin/Blitz 1000	<0,0001
Témoin/Blitz 5000	<0,0001
Témoin/Blitz 10000	<0,0001

Le test de Kruskal-Wallis (Tableau 14) indique que les trois concentrations de Blitz provoquent des pourcentages de mortalité significativement différents de ceux provoqués par l'ingestion de la nourriture témoin avec des p-values ($p\text{-value} < 0,0001$) inférieures à α et une valeur de $K_{\text{observé}}$ ($U=48,29$) différente du K_{critique} ($E=7,815$).

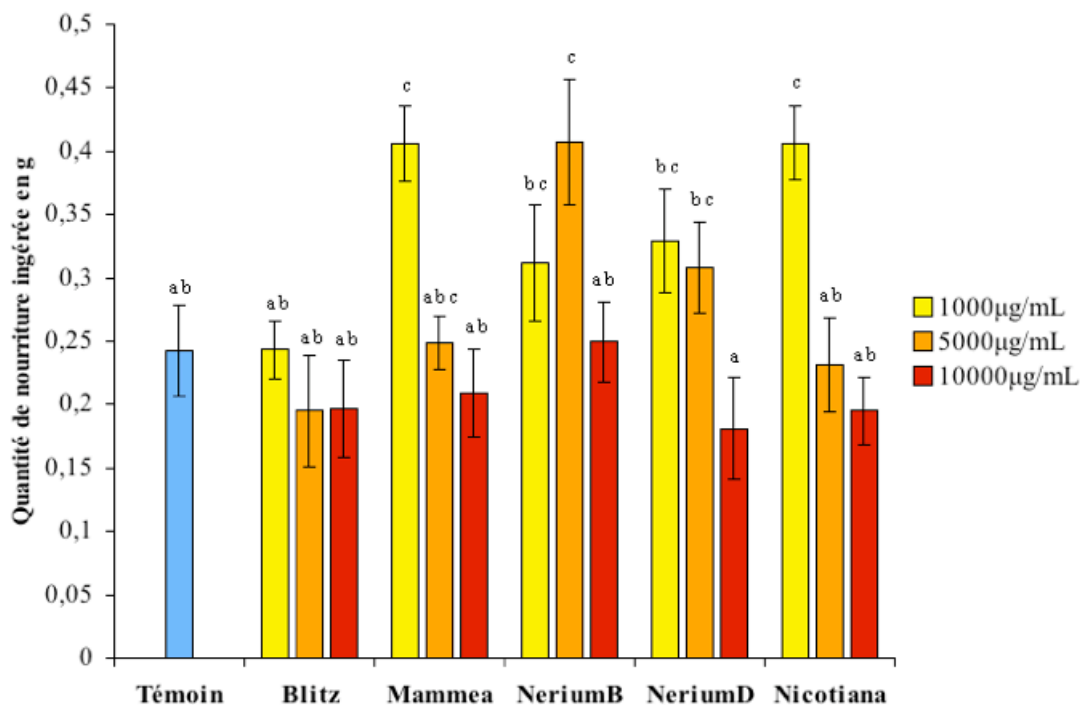


FIGURE 41 – Quantités de nourriture artificielle ingérée en g contenant du Blitz® et les lyophilisats pour le test de toxicité par ingestion.

Les barres jaunes représentent les concentrations 1000 µg/mL, les oranges 5000 µg/mL et les rouges 10000 µg/mL. Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 41 illustre la quantité ingérée en grammes de nourriture artificielle contenant du Blitz® et les lyophilisats pour le test de toxicité par ingestion. Le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn indiquent que les quantités ingérées pour les concentrations 10000 µg/mL ne sont pas significativement différentes du témoin avec des quantités ingérées comprises entre 0,2 et 0,3 g. Les concentrations Mamea 1000 µg/mL, broyat de Nerium 5000 µg/mL et Nicotiana 1000 µg/mL s'avèrent, quant à elles, plus appétentes que le témoin avec des quantités ingérées comprises entre 0,4 et 0,45 g.

1.5 Concentration et dose létales des lyophilisats des usages insecticides

Tableau 15 – Concentrations létales (CL) des lyophilisats et du Blitz® pour obtenir 50 et 99 % de mortalité après 24 h et leurs bornes à 95 % de confiance (pour N=10 fourmis et 6 répétitions).

	CL ₅₀ (µg/mL)	Bornes CL ₅₀ à 95 %	CL ₉₉ (µg/mL)	Bornes CL ₉₉ à 95 %
<i>M. americana</i>	51307,30	10737,63 – 70924,63	131919,54	12973,76 – 178335,85
<i>N. oleander</i> (broyat)	17239,03	12321,93 – 35948,71	44346,08	29491,11 – 102970,99
<i>N. oleander</i> (décoction)	27773,50	16241,18 – 940884,13	65849,88	35723,90 – 251888,18
<i>N. tabacum</i>	13296,47	9962,66 – 22634,43	39302,54	27516,74 – 75489,52
Blitz®	78840,81	47412,90 – 101210,34	196952,92	108046,49 – 248600,42

Le tableau 15 donne les concentrations létales en µg/mL des lyophilisats et du Blitz® pour obtenir 50 et 99 % de mortalité après 24 h et leurs bornes à 95 % de confiance. Il indique que le lyophilisat le plus toxique est celui de la décoction de *Nicotiana tabacum* avec une CL₅₀ de 13296,47 µg/mL et une CL₉₉ de 39302,54 µg/mL après 24 h. Il indique également que les concentrations létales pour obtenir 50 % et 99 % de mortalité après 24 h de *M. americana* (respectivement 51307,3 et 131919,54 µg/mL) sont les plus proches de celles du Blitz® (respectivement 78840,81 et 196952,92 µg/mL).

Tableau 16 – Doses létales (DL) pour obtenir 50 et 99 % de mortalité et leurs bornes à 95 % de confiance des lyophilisats et du Blitz® en mg/g de fourmis (pour N=10 fourmis et 6 répétitions).

	DL ₅₀ (mg/g)	Bornes DL ₅₀ à 95 %	DL ₉₉ (mg/g)	Bornes DL ₉₉ à 95 %
<i>M. americana</i>	4,03	3,24 - 5,54	17,36	15,24 - 20,49
<i>N. oleander</i> (broyat)	3,66	1,32 - 5,54	40,2	34,82 – 48,15
<i>N. oleander</i> (décoction)	8,47	7,41 - 9,52	30,8	27,58 - 35,2
<i>N. tabacum</i>	0,87	0,77 - 2,47	25,19	20,98 - 32,24
Blitz®	1,48	1,14 - 1,82	5,05	4,12 - 6,88

Le tableau 16 donne les doses létales en mg/g de fourmis des lyophilisats et du Blitz® pour obtenir 50 et 99 % de mortalité et leurs bornes à 95 % de confiance.

Il indique que la dose létale pour obtenir 50 % de mortalité de la décoction de *N. tabacum* (0,87 mg/g de fourmis) est la plus proche de celle du Blitz® (1,48 mg/g de fourmis). La dose létale pour obtenir 99 % de mortalité de la macération de *M. americana* (17,36 mg/g de fourmis) est la plus proche de celle du Blitz® (5,05 mg/g de fourmis).

Tableau 17 – Comparaisons des lyophilisats et du Blitz® selon les critères de toxicité, d'appétence et d'effet retard.

	Toxicité CL ₅₀ et CL ₉₉	Toxicité DL ₅₀	Toxicité DL ₉₉	Appétence	Effet retard
<i>M. americana</i>	+	++	+++	++	+++
<i>N. oleander</i> (broyat)	+++	++	+	++	++
<i>N. oleander</i> (décoction)	++	+	++	+	++
<i>N. tabacum</i>	+++	+++	++	++	++
Blitz®	+	+++	+++	++	+++

Toxicité CL₅₀ à 24 h (Table 15) :

+: CL₅₀ < 50 000 µg/mL

++ : 50 000 µg/mL > CL₅₀ > 25 000 µg/mL

+++ : CL₅₀ < 25 000 µg/mL

Toxicité CL₉₉ à 24 h :

+: CL₉₉ > 100 000 µg/mL

++ : 100 000 µg/mL > CL₉₉ > 50 000 µg/mL

+++ : CL₉₉ < 50 000 µg/mL

Toxicité DL₅₀ (Table 16) :

+: DL₅₀ > 5 mg/g

++ : 2 mg/g > DL₅₀ > 5 mg/g

+++ : DL₅₀ < 2 mg/g

Toxicité DL₉₉ :

+: DL₉₉ > 30 mg/g

++ : 20 mg/g > DL₉₉ > 30 mg/g

+++ : DL₉₉ < 20 mg/g

Appétence pour concentration 10000 µg/mL (Figure 41) :

+: Quantité moyenne ingérée par jour < 0,20 g

++ : Quantité moyenne ingérée par jour > 0,20 g

Effet retard pour concentration 10000 µg/mL (Figures 36, 37, 38, 39 et 40) :

+: 50 % de mortalité < 48 h

++ : 48 h < 50 % de mortalité < 72 h

+++ : 50 % de mortalité > 72 h

Le tableau 17 compare les lyophilisats et le Blitz® selon les critères de toxicité, d'appétence et d'effet retard. Il indique que les caractéristiques les plus proches de

celles du Blitz® sont celles de la macération de la graine de *M. americana*. Il s'agit en effet de la préparation insecticide qui présente le ratio toxicité/ appétence/ effet retard le plus proche de celui du Blitz®. C'est donc cette préparation qui est choisie pour les tests sur nids artificiels complets (Chapitre 3).

Chapitre 2

Tests antifongiques

2.1 Test antifongique en milieu liquide

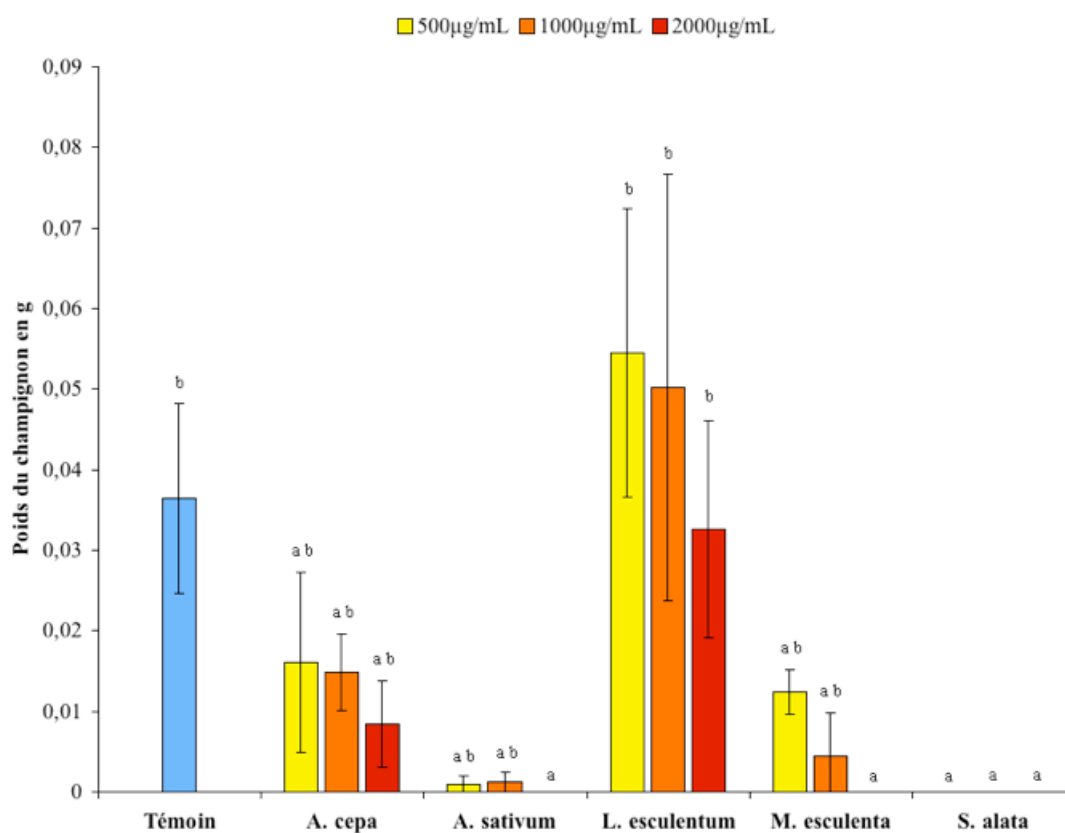


FIGURE 42 – Poids en g du champignon pour le test antifongique en milieu liquide. Les barres jaunes représentent les concentrations 500 µg/mL, les oranges 1000 µg/mL et les rouges 2000 µg/mL. Les lettres a et b représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 42 illustre le poids du champignon en grammes pour le test antifongique en milieu liquide. Le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn indiquent qu'il existe une différence significative entre le témoin (environ 0,035 g) et les préparations de la feuille de *Senna alata* et les préparations à 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de la feuille *Mahinot esculenta* et *Allium sativum* (préparations pour lesquelles la croissance du champignon complètement inhibée). Pour *A. cepa*, *L. esculentum* et les autres concentrations de *M. esculenta* et *A. sativum*, il y a une diminution du poids du champignon mais celle-ci est non significative.

2.2 Test antifongique en milieu gélosé

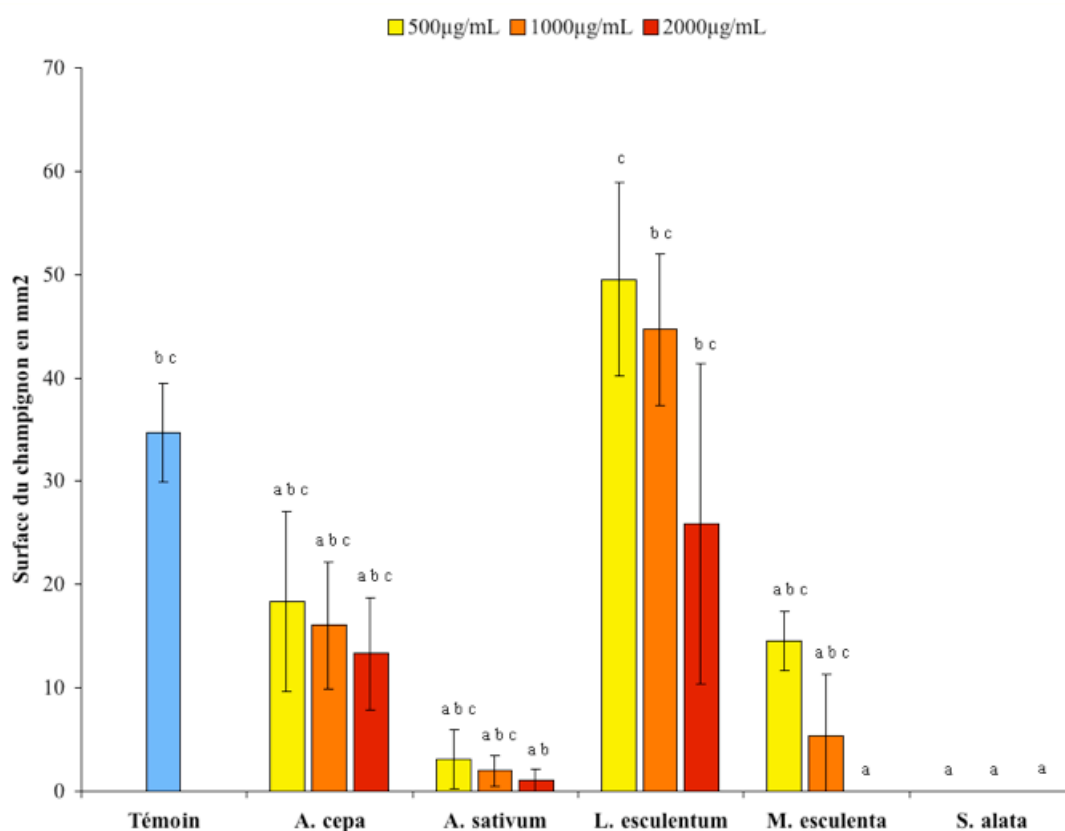


FIGURE 43 – Surface en mm^2 du champignon pour le test antifongique en milieu gélosé. Les barres jaunes représentent les concentrations 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, les oranges 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et les rouges 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 43 illustre la surface du champignon en mm^2 pour le test antifongique en milieu gélosé. Le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn indiquent que

seules les préparations de la feuille de *S. alata* et la préparation à 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de la feuille de *M. esculenta* (préparations pour lesquelles la croissance du champignon complètement inhibée) sont significativement différentes du témoin (qui a une surface d'environ 35 mm^2). Pour *A. cepa*, *L. esculentum* et les autres concentrations de *M. esculenta* et *A. sativum*, il y a une diminution de la surface du champignon comparée au témoin mais celle-ci est non significative.

2.3 Test au sel de tétrazolium MTT

Tableau 18 – Comparaison des lyophilisats pour le test au MTT.

	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
<i>Allium cepa</i>	+	+	+
<i>Allium sativum</i>	+	+	-
<i>Lycopersicon esculentum</i>	+	+	+
<i>Manihot esculenta</i>	+	+	-
<i>Senna alata</i>	-	-	-

+ : si le précipité bleu de formazan se forme indiquant le pouvoir fongistatique de la préparation
 - : si le sel de tétrazolium n'est pas réduit et reste jaune indiquant le pouvoir fongicide de la préparation

Le tableau 18 compare les lyophilisats pour le test au MTT. Il indique que le lyophilisat de la feuille de *Senna alata* est fongicide aux trois concentrations testées. Les lyophilisats de la gousse d'*Allium sativum* et de la feuille de *Manihot esculenta* sont fongistatiques aux plus faibles concentrations puis fongicides à la concentration de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Les lyophilisats d'*Allium cepa* et de *Lycopersicon esculentum* sont quant à eux fongistatiques aux trois concentrations utilisées.

2.4 Concentration inhibitrice de 50 % et 99 % de la croissance du champignon pour les usages antifongiques

Tableau 19 – Concentrations inhibitrices (CI) de 50 % et 99 % de la croissance du champignon et leurs bornes à 95 % de confiance.

	CI ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	Bornes CI ₅₀ à 95 %	CI ₉₉ ($\mu\text{g/mL}$)	Bornes CI ₉₉ à 95 %
<i>A. cepa</i>	1241,55	1063,76 – 1456,96	4356,06	3663,87 – 5490,09
<i>A. sativum</i>	358,36	277,50 – 432,24	1344,02	1199,08 – 1542,04
<i>L. esculentum</i>	2126,64	1998,99 – 2200,98	2577,45	1995,03 – 2704,89
<i>M. esculenta</i>	553,32	490,36 – 615,11	1352,21	1219,01 – 1539,20
<i>S. alata</i>	251,51	170,65 – 325,39	350,78	209,84 – 538,80

Le tableau 19 donne les concentrations inhibitrices de 50 % et 99 % de la croissance du champignon et leurs bornes à 95 % de confiance. Il confirme les résultats précédents. Les concentrations inhibitrices de 50 % et 99 % de la croissance du champignon pour la feuille de *Senna alata* (respectivement 251,51 et 350,78 $\mu\text{g/mL}$) sont très inférieures à la concentration minimale testée (500 $\mu\text{g/mL}$). Les concentrations inhibitrices de 50 et 99 % de la croissance du champignon pour le fruit vert de *Lycopersicon esculentum* (respectivement 2126,64 et 2577,45 $\mu\text{g/mL}$) sont très supérieures à la concentration maximale testée (2000 $\mu\text{g/mL}$).

Les usages antifongiques de plantes provenant des enquêtes ethnopharmacologiques TRAMIL présentent un potentiel de lutte contre le symbiote de la fourmi manioc (Boulogne *et al.*, 2011d).

Au vu des résultats précédents des tests antifongiques exposés aux paragraphes 2.1 et 2.2, du test MTT exposé au paragraphe 2.3 et des concentrations létales données au paragraphe 2.4, l'usage antifongique choisi pour la suite des tests sur nids artificiels est le lyophilisat de la feuille de *Senna alata*.

Chapitre 3

Tests insecticides et antifongiques sur nids artificiels

3.1 Tests d'appétence

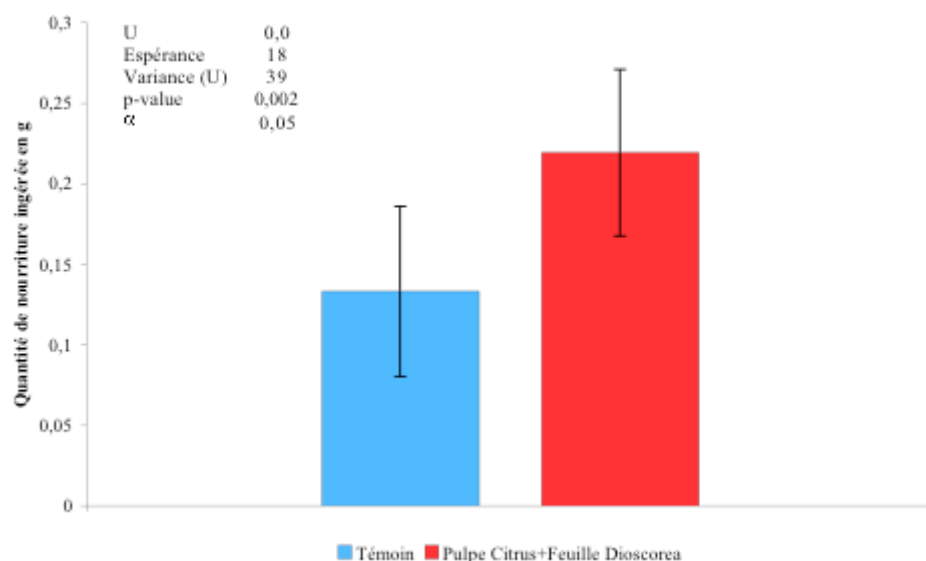


FIGURE 44 – Test d'appétence comparant la quantité de nourriture artificielle témoin à celle contenant de pulpe de *Citrus sinensis* et de la poudre de feuille de *Dioscorea alata*.

La figure 44 illustre le test d'appétence comparant la quantité (en g) de nourriture artificielle témoin à celle contenant de pulpe de *Citrus sinensis* et de la poudre de feuille de *Dioscorea alata*. Le test de Mann-Whitney indique que la nourriture artificielle contenant de la pulpe de *C. sinensis* et de la poudre de feuille de *Dioscorea alata* est plus appétente pour les fourmis que la nourriture artificielle

témoin avec une p-value (p-value= 0,002) inférieure à α et une valeur de U (U=0) différente de son espérance (E=18). Cette nourriture artificielle améliorée est donc utilisée dans les tests sur nids artificiels.

3.2 Test de vérification de la non toxicité par ingestion du fongicide choisi

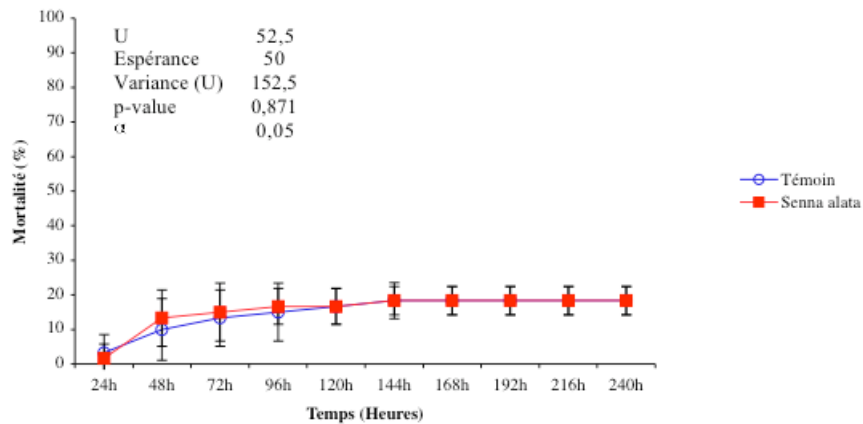


FIGURE 45 – Test de non-toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant le fongicide choisi : *Senna alata*.

La figure 45 illustre le test de non-toxicité par ingestion de la nourriture artificielle contenant le fongicide choisi : *Senna alata*. Le test de Mann-Whitney indique que la nourriture artificielle contenant le lyophilisat de feuille de *Senna alata* à la concentration 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ne présente pas de toxicité par ingestion pour *Acromyrmex octospinosus* avec une p-value (p-value= 0,871) supérieure à α et une valeur de U (U=52,5) proche de son espérance (E=50). Cela confirme notre choix d'utiliser cette préparation pour le test antifongique sur nid artificiel.

3.3 Sélection des nids à prélever par suivi d'activité moyenne

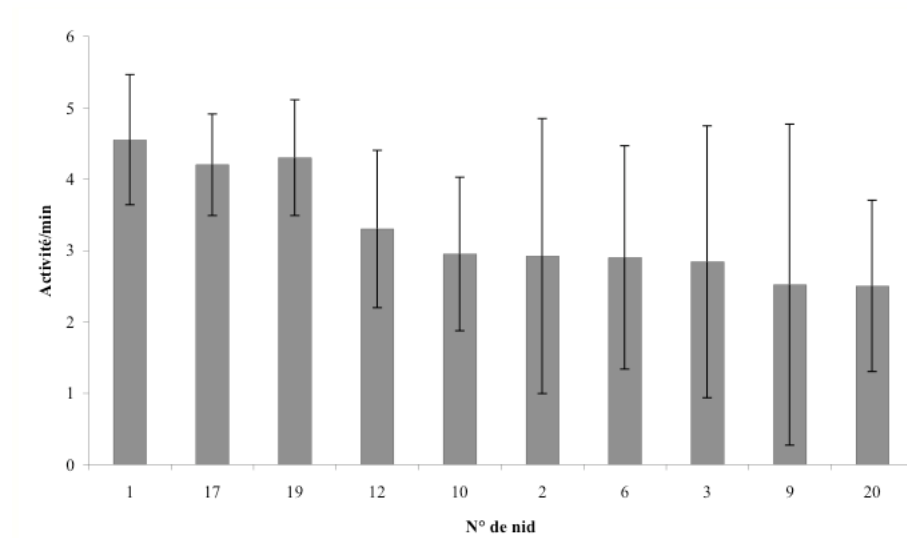


FIGURE 46 – Activité moyenne par minute des nids *in situ* (Sainte-Rose, Guadeloupe, plantation Siard).

La figure 46 illustre l'activité moyenne par minute des nids *in situ* (Sainte-Rose, Guadeloupe, plantation Siard). Elle indique que les 5 nids à prélever sont les nids n° 1, 17, 19, 12 et 10. Ce sont ceux ayant les activités par minute les plus importantes comprises entre 2,95 fourmis/min et 4,55 fourmis/min. Ces cinq nids sont donc prélevés du terrain, ramenés au laboratoire et utilisés pour les tests sur nids artificiels.

3.4 Détermination de l'heure optimale de mesure de l'activité et de dépôt des appâts sur nids artificiels

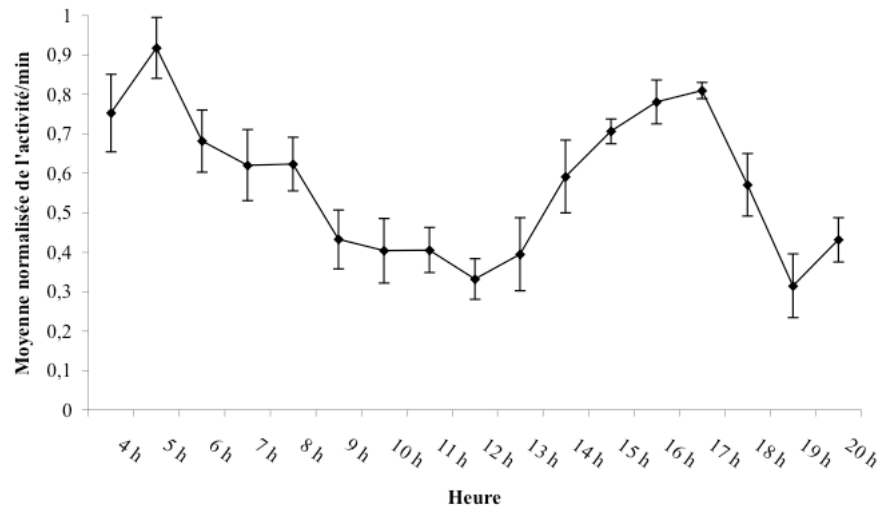


FIGURE 47 – Moyenne normalisée de l'activité par minute des nids artificiels pour déterminer l'heure de mesure d'activité et de pose des appâts.

La figure 47 illustre la moyenne normalisée de l'activité par minute des nids artificiels pour déterminer l'heure de mesure d'activité et de pose des appâts. Elle indique qu'il y a deux pics d'activité pour les 5 nids. Le premier pic se situe entre 4 h et 5 h. Le second pic se situe entre 15 h et 16 h. Ainsi, les relevés d'activité et les poses d'appâts sont réalisés chaque jour au moment de ce deuxième pic d'activité.

3.5 Test d'ingestion sur nids artificiels des usages insecticide et antifongique sélectionnés

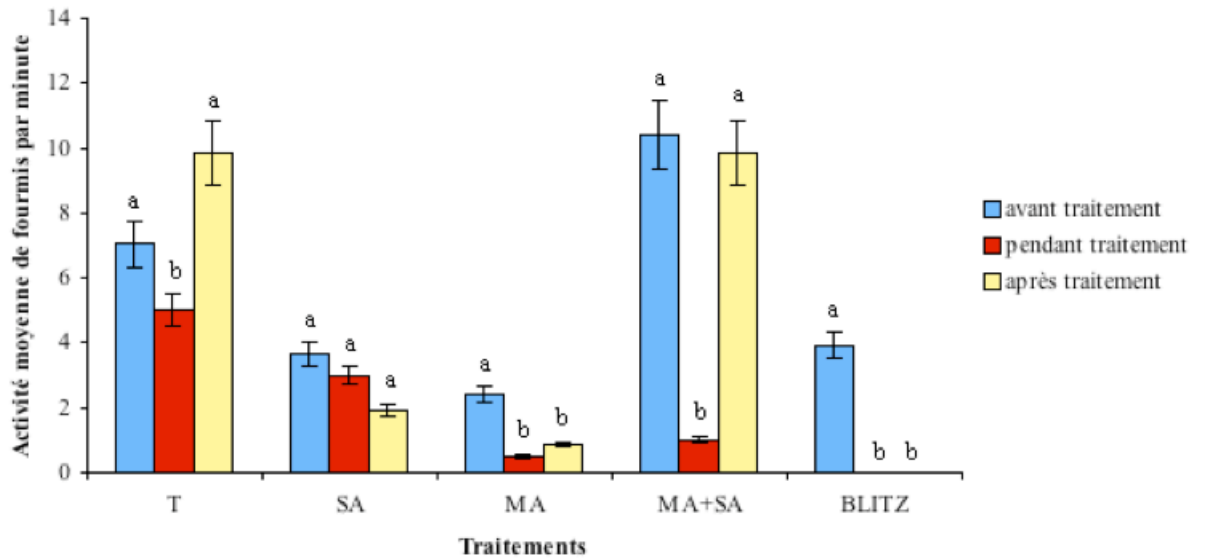


FIGURE 48 – Moyenne de l'activité par minute des nids artificiels avant, pendant et après traitements.

T : Témoin, SA : *Senna alata*, MA : *Mammea americana*, MA+SA : *Mammea americana* et *Senna alata*. Les lettres a et b représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 48 illustre la moyenne de l'activité par minute des nids artificiels avant et après traitements. Elle indique que seuls les nids traités par la nourriture artificielle contenant le lyophilisat de graine de *Mammea americana* et par le Blitz® présentent une baisse significative de leur activité de fourmis entrantes par minute.

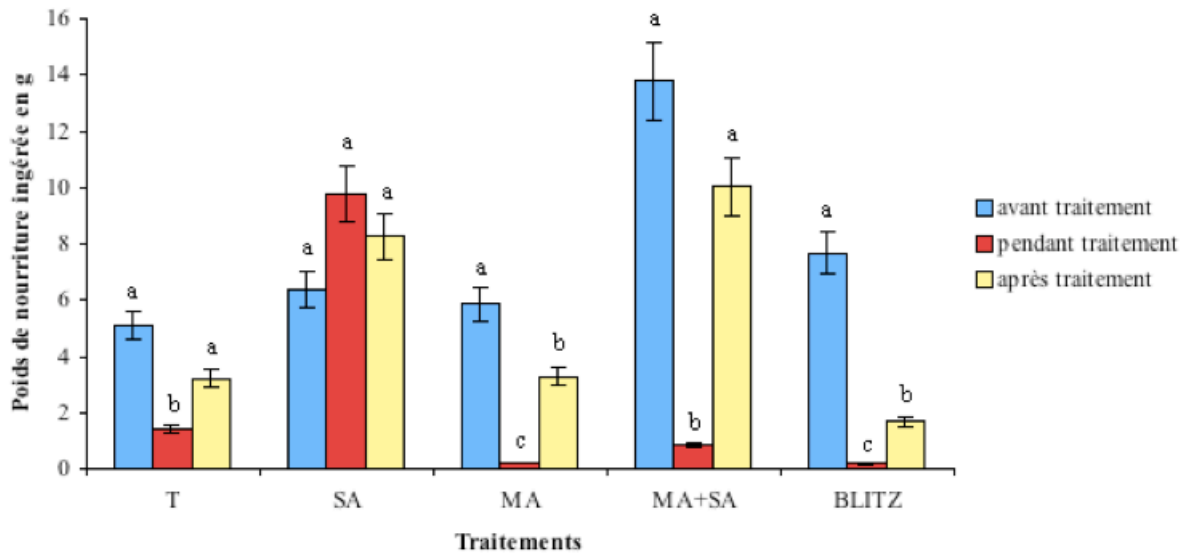


FIGURE 49 – Poids moyen en g de la nourriture artificielle et habituelle ingérée avant, pendant et après traitements.

T : Témoin, SA : *Senna alata*, MA : *Mammea americana*, MA+SA : *Mammea americana* et *Senna alata*. Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 49 illustre le poids moyen en grammes de la nourriture artificielle et habituelle ingérée avant, pendant et après traitements. Elle confirme le résultat précédent. Seuls les nids traités par la nourriture artificielle contenant le lyophilisat de graine de *Mammea americana* et par le Blitz® présentent une baisse significative de la quantité de nourriture ingérée après le traitement. La quantité ingérée est significativement plus faible durant tous les traitements sauf pour le nid traité par la nourriture contenant le lyophilisat de feuille de *Senna alata*.

Il faut noter que le nid traité avec la préparation contenant le lyophilisat de la macération de *Mammea americana* a déperé et que la meule de champignon n'était plus visible après le traitement. Bien que n'ayant pas diminué l'activité et la quantité de nourriture ingérée, la préparation à base du lyophilisat de la feuille de *S. alata* a induit une régression et un changement d'aspect de la meule. Celle-ci a pris un aspect sec et jaunâtre.

Le nid témoin et le nid traité par la préparation contenant la préparation à base de *M. americana* et *S. alata* (MA+SA) n'ont pas connu de changement significatif de leur activité, de leur prise de nourriture avant et après traitement ou de l'aspect de la meule. Il faut aussi noter que les préparations contenant *M. americana* (MA et MA+SA) se sont révélées très peu appétantes pour les fourmis des nids traités.

Chapitre 4

Les composés insecticides et antifongiques des préparations TRAMIL utilisées

4.1 Criblage phytochimique

4.1.1 Les extraits insecticides

Tableau 20 – Criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles insecticides ayant révélé une toxicité par ingestion.

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes
<i>M. americana</i>	+	+	+
<i>N. oleander</i> (broyat)	+	+	+
<i>N. oleander</i> (décoction)	+	+	+
<i>N. tabacum</i>	+	+	+

Le tableau 20 donne les résultats du criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles insecticides ayant révélé une toxicité par ingestion (les + indiquant la présence du composé recherché). Il indique que les alcaloïdes totaux, les composés phénoliques et les terpénoïdes sont présents chez les quatre préparations traditionnelles insecticides. Ces composés sont dosés et les résultats exposés dans le paragraphe suivant 4.2.

4.1.2 Les usages antifongiques

Tableau 21 – Criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles antifongiques ayant révélé une activité fongicide ou fongistatique.

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes
<i>A. cepa</i>	+	+	+
<i>A. sativum</i> (broyat)	+	+	+
<i>L. esculentum</i> (décoction)	+	+	+
<i>M. esculenta</i>	+	+	+
<i>S. alata</i>	+	+	+

Le tableau 21 donne les résultats du criblage de composés d'intérêt pour les préparations traditionnelles antifongiques ayant révélé une activité fongicide ou fongistatique. Il indique que les alcaloïdes totaux, les composés phénoliques et les terpénoïdes sont présents chez les préparations antifongiques ou fongistatiques. Ces composés sont dosés et les résultats exposés dans le paragraphe suivant 4.2.

4.2 Dosage des familles chimiques d'intérêt

4.2.1 Les usages insecticides

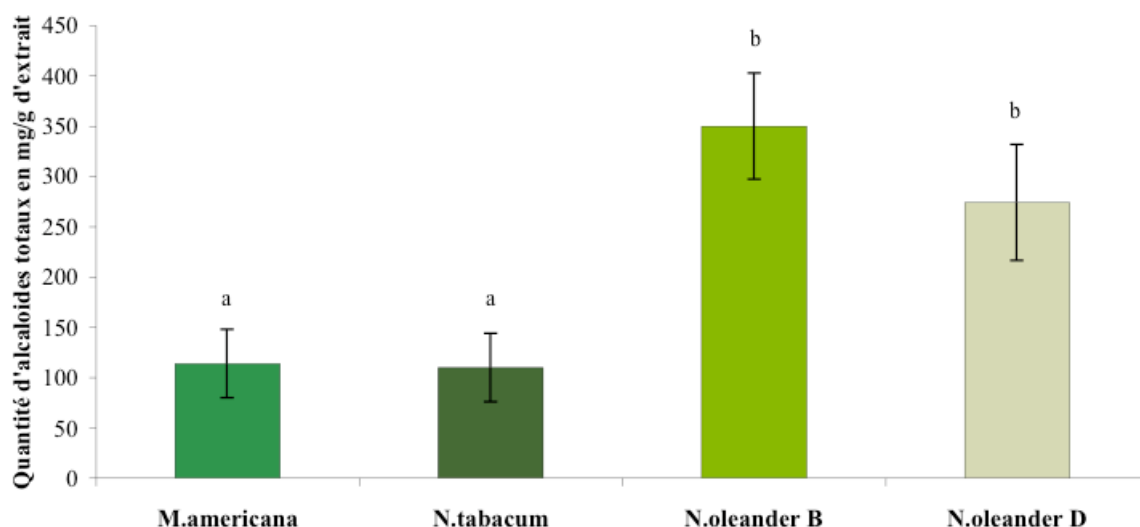


FIGURE 50 – Quantité d'alcaloïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg PI/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a et b représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 50 illustre la quantité d'alcaloïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg de pipérine (PI) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que ce sont les extraits de la feuille de *N. oleander* (décoction et broyat) qui contiennent le plus d'alcaloïdes. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre les quantités d'alcaloïdes présentes dans la macération de graine de *M. americana* et la décoction de feuille de *N. tabacum* (environ 100 mg/g de matière fraîche lyophilisée) comparées aux quantités présentes dans les extraits de *N. oleander* (environ 300 mg/g de matière fraîche lyophilisée).

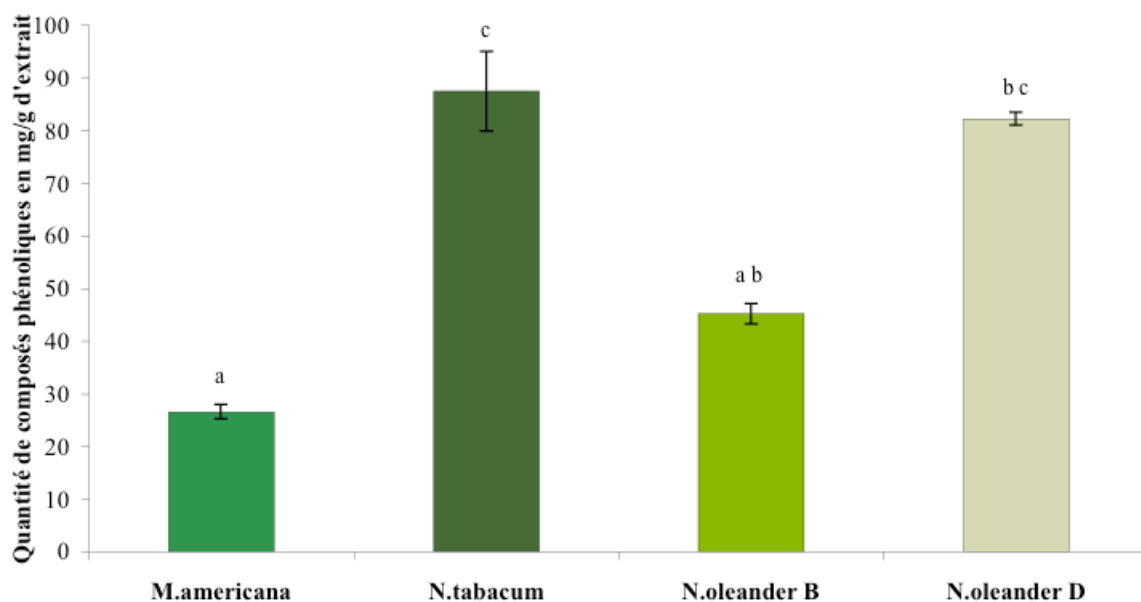


FIGURE 51 – Quantité de composés phénoliques présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg AG/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 51 illustre la quantité de composés phénoliques présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg d'acide gallique (AG) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que ce sont les décoctions de feuilles de *N. tabacum* et de *N. oleander* qui contiennent le plus de composés phénoliques. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre ces deux décoctions (environ 80 mg/g de matière fraîche lyophilisée) et la macération de graine de *M. americana* (environ 25 mg/g de matière fraîche lyophilisée).

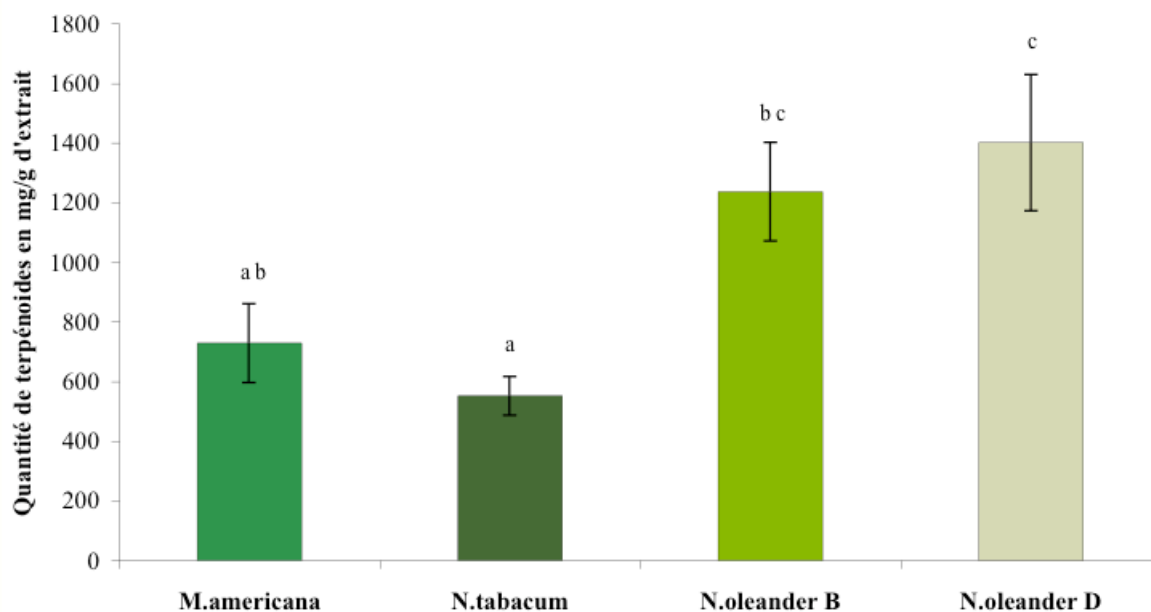


FIGURE 52 – Quantité de terpénoïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg EG/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 52 illustre la quantité de terpénoïdes présents dans les préparations insecticides par ingestion en mg d'ergostérol (EG) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que ce sont les extraits de la feuille de *N. oleander* (décoction et broyat) qui contiennent le plus de terpénoïdes. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre ces deux extraits de *N. oleander* et les extraits de *M. americana* et *N. tabacum*. Les terpénoïdes sont les composés les plus abondants dans les quatre préparations traditionnelles insecticides (entre 550 et 1400 mg/g d'extrait frais lyophilisé).

Tableau 22 – Synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques insecticides.

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes	Insectifuge	Insecticide par contact	Insecticide par ingestion
<i>M. americana</i>	+	+	++	+	++	+++
<i>N. oleander</i> (broyat)	+++	++	+++	++	-	+
<i>N. oleander</i> (décoction)	++	+++	+++	++	-	+
<i>N. tabacum</i>	+	+++	+	+++	+++	++

Tableau 23 – Résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$).

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes
Insectifuge	0,986	0,153	0,821
Insecticide par contact	0,067	0,896	0,018
Insecticide par ingestion	0,132	0,520	0,199

Le tableau 22 est la synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques insecticides. Le tableau 23 donne les résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$). Ces tableaux indiquent qu'il existe une corrélation entre les terpénoïdes et l'activité insecticide par contact avec une p-value de 0,018 avec $\alpha = 0,05$. Il n'existe pas de corrélation entre les autres activités biologiques des quatre préparations traditionnelles et les deux autres familles de molécules qui ont été dosées.

4.2.2 Les usages antifongiques

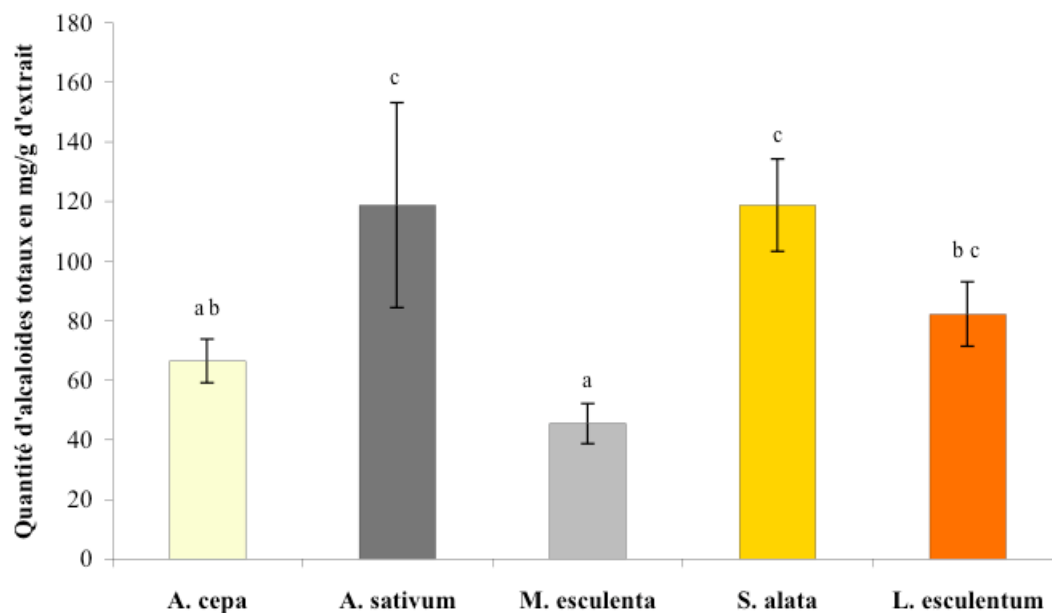


FIGURE 53 – Quantité d'alkaloïdes totaux présents dans les préparations antifongiques en mg (PI)/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a, b et c représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 53 illustre la quantité d'alkaloïdes totaux présents dans les préparations antifongiques en mg de pipérine (PI) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que ce sont les lyophilisats de gousse d'*A. sativum* et de feuille de *S. alata* qui contiennent le plus d'alkaloïdes. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre ces deux extraits (environ 120 mg/g de matière fraîche lyophilisée) comparés aux extraits de bulbe d'*A. cepa* et de feuille de *M. esculenta* (environ 50 mg/g de matière fraîche lyophilisée).

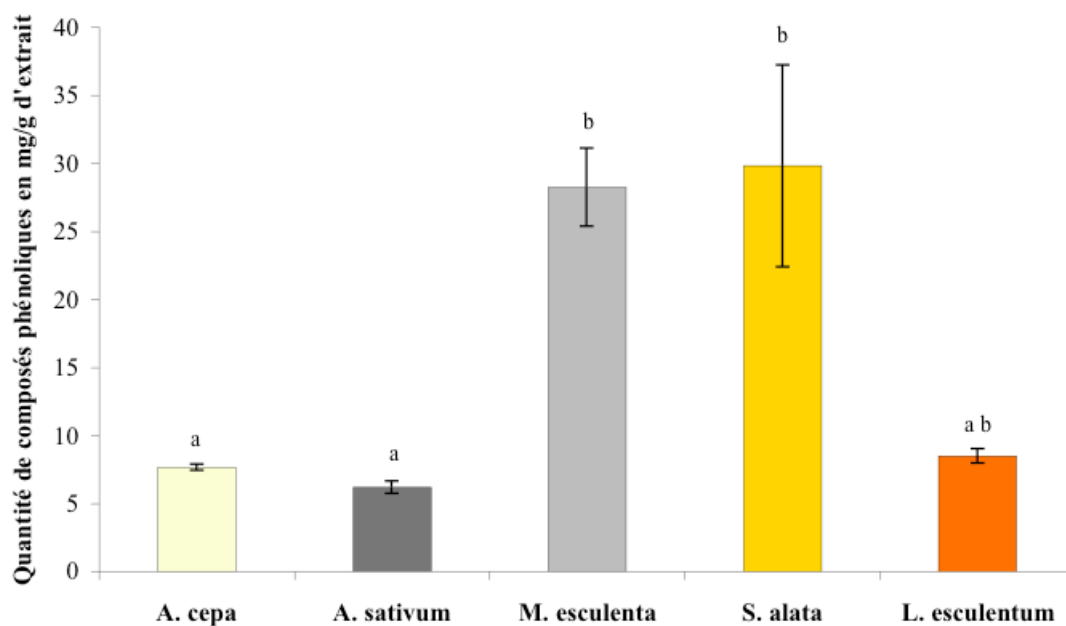


FIGURE 54 – Quantité de composés phénoliques présents dans les préparations antifongiques en mg (AG)/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a et b représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 54 illustre la quantité de composés phénoliques présents dans les préparations antifongiques en mg d'acide gallique (AG) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que ce sont les lyophilisats de feuilles de *M. esculenta* et de *S. alata* qui contiennent le plus de composés phénoliques. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre ces deux extraits (environ 30 mg/g de matière fraîche lyophilisée) comparés aux extraits d'*A. cepa*, *L. esculentum* et *A. sativum* (environ 7 mg/g de matière fraîche lyophilisée).

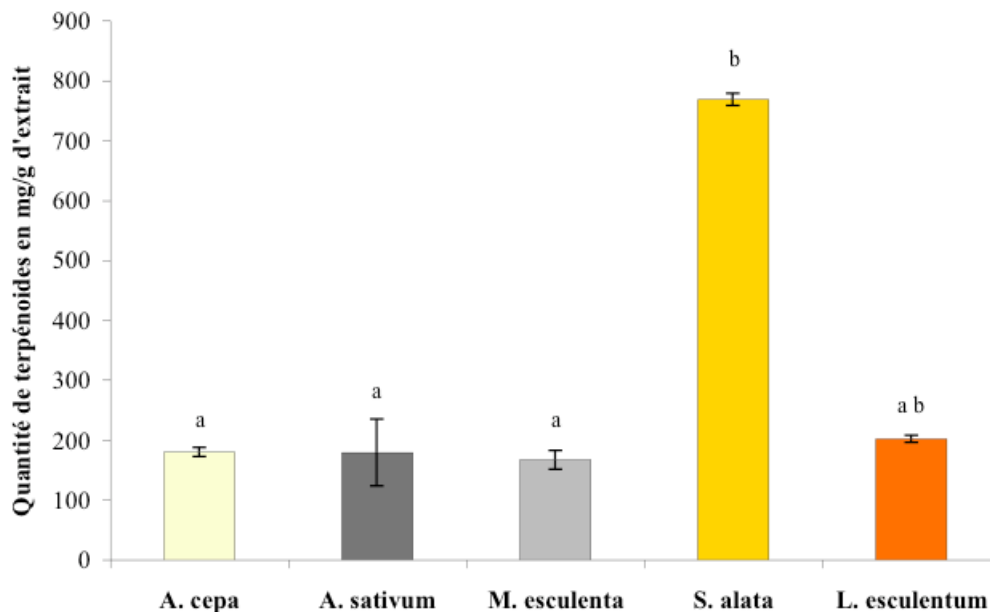


FIGURE 55 – Quantité de terpénoïdes présents dans les préparations antifongiques en mg (EG)/g de matière fraîche lyophilisée.

Les lettres a et b représentent les groupes significativement différents après le test de Kruskal-Wallis et la procédure de Dunn.

La figure 55 illustre la quantité de terpénoïdes présents dans les préparations antifongiques en mg d'ergostérol (EG) par gramme de matière fraîche lyophilisée. Elle indique que le lyophilisat de feuille de *S. alata* contient le plus de terpénoïdes. Le test de Kruskal-Wallis indique qu'il existe une différence significative entre cet extrait (environ 760 mg/g de matière fraîche lyophilisée) et les extraits d'*A. cepa*, *M. esculenta* et *A. sativum* (environ 160 mg/g de matière fraîche lyophilisée). Les terpénoïdes sont les composés les plus abondants dans les quatre préparations traditionnelles antifongiques.

Tableau 24 – Synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques fongicides.

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes	Fongicide	Fongistatique
<i>A. cepa</i>	++	+	+	-	+++
<i>A. sativum</i>	+++	+	+	+	+
<i>L. esculentum</i>	++	+	+	-	+++
<i>M. esculenta</i>	+	+++	+	+	+
<i>S. alata</i>	+++	+++	+++	+++	-

Tableau 25 – Résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$).

	Alcaloïdes	Composés phénoliques	Terpénoïdes
Fongicide	0,325	0,146	0,038
Fongistatique	0,432	0,171	0,244

Le tableau 24 est la synthèse des résultats des dosages chimiques et des activités biologiques fongicides. Le tableau 25 donne les résultats du test de corrélation de Pearson entre les résultats du dosage et ceux des activités biologiques (p-value à un niveau de signification $\alpha = 0,05$). Ces tableaux indiquent qu'il existe une corrélation entre les terpénoïdes et l'activité fongicide avec une p-value de 0,038 avec $\alpha = 0,05$. Il n'existe pas de corrélation entre cette activité et les deux autres familles de molécules qui ont été dosées ; ni entre l'activité fongistatique et les trois familles de molécules dosées.

Il faut également noter que le lyophilisat de feuille de *Senna alata* contient la plus grande quantité des trois familles de molécules dosées et présente également la plus forte activité fongicide.

DISCUSSION

Les préparations insecticides

La macération de la graine de *Mammea americana*

La macération de la graine de *Mammea americana* a montré une activité insecticide par contact (partie Résultats, paragraphe 1.1), une activité insectifuge (partie Résultats, paragraphe 1.2) et une activité insecticide par ingestion (partie Résultats, paragraphe 1.3) sur les ouvrières majors d'*Acromyrmex octospinosus*. Les tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats indiquent que les extraits présentent toujours une toxicité par ingestion après lyophilisation (en particulier aux concentrations 5000 et 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Partie Résultats, Paragraphe 1.4). Il n'y a pas de littérature connue sur l'activité insecticide des extraits de *M. americana* sur les Attines. Mais cette activité a déjà été observée sur d'autres insectes. En effet, les extraits de la graine de *M. americana* ont montré une activité insecticide contre *Cerotoma ruficornis* (Chrysomelidae) (Grainge & Ahmed, 1988 ; Sukh & Opende, 1997) et *Aedes aegypti* (Culicidae) (Sievers *et al.*, 1949). Ils sont également larvicide contre *Laphygma frugiperda* (Noctuidae) et *Plutella maculipennis* (Acrolepiidae) (Plank, 1944).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la macération de la graine de *M. americana* contient des alcaloïdes (114 mg (PI)/g), des composés phénoliques (27 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (729 mg (EG)/g). La littérature indique que les composés responsables de l'activité insecticide de la graine de *M. americana* sont des composés phénoliques bien connus dans la littérature : les coumarines et en particulier la mammeine (Djerassi *et al.*, 1958 ; Duke, 1992). Des extractions au méthanol et à l'acétate d'éthyle et une analyse HPLC et LC-MS ont mis en évidence 4,8 mg de coumarines totales par gramme de graine de *M. americana* (Yang *et al.*, 2006).

Notre étude nous indique que la macération aqueuse de la graine de *M. americana* a une CL_{50} de 51307,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une DL_{50} de 706,65 mg/g d'insecte sur *Acromyrmex octospinosus* (Partie 2, Chapitre 1, Paragraphe 1.5). La préparation contenant le Blitz®, quant à elle, a une CL_{50} de 78840,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une DL_{50} de 278,4 mg/g

d'insecte. Parmi les préparations insecticides testées dans cette étude, la macération de la graine de *M. americana* est celle qui présente le ratio toxicité/appétence/effet retard le plus proche de la préparation contenant le Blitz®. En effet, elles ont toutes les deux une CL₅₀ et une CL₉₉ supérieure à 50000 µg/mL et une DL₉₉ inférieure à 2000 µg/mL. La quantité moyenne ingérée est supérieure à 0,20 g et la mortalité de 50 % des fourmis est obtenue après 72 heures pour les deux préparations (partie Résultats, tableau 10). Une étude sur la toxicité d'extraits aqueux et éthanolique de *M. americana* sur *Artemia salina* (Artemiidae) indique que l'extrait aqueux a une DL₅₀ supérieure à 10000 µg/mL alors que l'extrait éthanolique a une DL₅₀ de 197 µg/mL (Bussmann *et al.*, 2011). Une autre étude sur les coumarines de *M. americana* indique une DL₅₀ sur *Phaedon cochleariae* de 4 µg/insecte (Perez *et al.*, 2007). Ces résultats tendent à faire penser qu'une extraction éthanolique et un fractionnement bioguidé de cet extrait permettraient d'en augmenter la toxicité (les substances actives, les coumarines étant moins miscibles dans l'eau que dans l'éthanol) pour la faire coïncider avec celle de la préparation contenant le Blitz®.

Du point de vue de l'appétence, nos résultats *in vitro* ont confirmé les informations de la littérature (Verza *et al.*, 2006 ; Schockmel, 1985) qui indique que l'apport de pulpe de *Citrus* sp et de poudre de feuille de *Dioscorea alata* augmente l'appétence de l'appât (partie Résultats, paragraphe 3.1). Concernant l'effet retard, la préparation lyophilisée testée est naturellement dotée de cet effet. Cependant, l'augmentation de la toxicité pourrait diminuer cet effet retard. Il serait donc intéressant de masquer l'effet choc en enrobant le lyophilisat dans une gaine digestible en utilisant la technique de la micro-encapsulation (Febvay, 1982 ; Febvay, 1990). Le conditionnement en polyéthylène basse densité a été proposé dans des études précédentes comme une solution pour la protection des appâts contre les moisissures, le soleil et les intempéries (Schockmel, 1985). Néanmoins, la démarche de protection de l'environnement et la législation actuelle d'utilisation des plastiques, incite à s'orienter vers des matières recyclables et valorisables en termes de composts tels que les plastiques végétaux composés d'amidon et de polyesters biodégradables (BASF, 2009).

La décoction de la feuille de *Nicotiana tabacum*

Tout comme la macération de *M. americana*, la décoction de la feuille de *Nicotiana tabacum* a montré une activité insecticide par contact (partie Résultats, paragraphe 1.1), une activité insectifuge (partie Résultats, paragraphe 1.2) et une activité insecticide par ingestion (partie Résultats, paragraphe 1.3) sur les ouvrières majors

d'*Acromyrmex octospinosus*. Les tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats indiquent que les extraits présentent toujours une toxicité par ingestion après lyophilisation pour les trois concentrations appliquées (Partie Résultats, Paragraphe 1.4). Il n'y a pas de littérature connue sur l'activité insecticide des extraits de *N. tabacum* sur les Attines. Mais de nombreuses études indiquent que les feuilles sèches de *N. tabacum* ont une activité insecticide. L'extrait méthanolique de la feuille sèche a montré une activité larvicide contre *Culex pipiens* (Culicidae) (Yamaguchi *et al.*, 1950) et l'extrait acétonique contre *Corcyra cephalonica* (Pyrilidae) (Zhao & Zhang, 1982). L'extrait aqueux de la feuille sèche a une activité insectifuge contre *Phyllocnistis citrella* (Gracillariidae) (Bashin, 1926). La fraction alcaloïde de la feuille sèche a une activité larvicide contre *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae) (Tiwari *et al.*, 1995) et l'extrait méthanolique une activité insecticide contre *Rhipicephalus appendiculatus* (Ixodidae) (Van Puyvelde *et al.*, 1985).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la décoction de la feuille de *N. tabacum* contient des alcaloïdes (110 mg (PI)/g), des composés phénoliques (88 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (552 mg (EG)/g). La littérature indique que feuilles sèches de *N. tabacum* contiennent de nombreux composés chimiques ayant une activité insecticide. Parmi ceux-ci, le plus connu est un alcaloïde, la nicotine (Nagaraj & Chakraborty, 1979). Une étude récente a mis en évidence que l'extraction au méthanol de la feuille et une analyse et GC-MS donne 9 à 36 mg de nicotine par gramme de feuille sèche (Hossain & Salehuddin, 2010).

Notre étude nous indique que la décoction de la feuille sèche de *N. tabacum* a une CL₅₀ de 13296,47 µg/mL et une DL₅₀ de 917,92 mg/g d'insecte sur *Acromyrmex octospinosus* (Partie 2, Chapitre 1, Paragraphe 1.5). La préparation contenant le Blitz®[®], quant à elle, a CL₅₀ de 78840,8 µg/mL et une DL₅₀ de 278,4 mg/g d'insecte. Ces résultats laissent à penser que cette préparation présente également un potentiel de toxicité tout comme la macération de *M. americana* et qu'après augmentation de la toxicité on pourrait masquer l'effet choc par micro-encapsulation. Cependant, outre sa toxicité contre les insectes, la nicotine se révèle également très toxique pour les Mammifères. Mimétique de l'acétylcholine, elle se lie aux récepteurs post-synaptiques et provoque une stimulation suivie de dépression du système végétatif, des terminaisons des nerfs moteurs des muscles et du système nerveux central (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Cette toxicité incite à la prudence et à écarter *N. tabacum* du choix des préparations présentant un potentiel de lutte contre *A. octospinosus*.

La décoction et le broyat de la feuille de *Nerium oleander*

La décoction et le broyat de la feuille de *Nerium oleander* ont montré une activité insectifuge (partie Résultats, paragraphe 1.2) et une activité insecticide par ingestion (partie Résultats, paragraphe 1.3) sur les ouvrières majors d'*Acromyrmex octospinosus*. Les tests de toxicité par ingestion avec les lyophilisats indiquent que les extraits présentent toujours une toxicité par ingestion après lyophilisation aux concentrations 5000 et 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Partie Résultats, Paragraphe 1.4). Il n'y a pas de littérature connue sur l'activité insecticide des extraits de *N. oleander* sur les Attines. Mais, l'utilisation de *N. oleander* comme insecticide est connue de longue date. L'extrait éthanolique de la feuille présente une activité insecticide contre *Muscina stabulans* (Muscidae) (El-Shazly *et al.*, 1996) et l'extrait aqueux de la feuille sèche une activité contre *Phyllocnistis citrella* (Gracillaridae) (Bhasin, 1926). Les extraits méthanolique, acétonique et dichlorométhanolique de la feuille sèche ont une activité contre *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) (Jannet *et al.*, 2000). L'extrait éthanolique de la feuille sèche présente une activité insecticide et larvicide contre *Aedes fluviatilis* (Culicidae) (Consoli *et al.*, 1988).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la décoction de la feuille de *N. oleander* contient des alcaloïdes (274 mg (PI)/g), des composés phénoliques (82 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (1402 mg (EG)/g). Elle indique également que le lyophilisat du broyat de la feuille de *N. oleander* contient des alcaloïdes (350 mg (PI)/g), des composés phénoliques (45 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (1237 mg (EG)/g). La littérature indique que la feuille de *N. oleander* contient des cardénolides (terpénoïdes de types stéroïdes) connues pour être responsables de l'activité insecticide. Parmi ces composés, on peut citer la kaneroside, la neridiginoside, la neritaloside, la neriumoside, la nerizoside, l'odoroside (Begum *et al.*, 1999 ; Siddiqui *et al.*, 1988 ; Siddiqui *et al.*, 1991). La feuille contient 15 mg de cardénolides par gramme de feuille (Bruneton, 1999).

Notre étude nous indique que la décoction de la feuille *N. oleander* a une CL_{50} de 27773,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une DL_{50} de 371,45 mg/g d'insecte sur *A. octospinosus*. Le broyat possède une CL_{50} de 17239,03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une DL_{50} de 493,45 mg/g d'insecte (Partie Résultats, chapitre 1, paragraphe 1.5). La préparation contenant le Blitz®[®], quant à elle, a une CL_{50} de 78840,8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une DL_{50} de 278,4 mg/g d'insecte. À l'instar de ce qu'il serait possible de faire pour la préparation de la graine de *M. americana*, la toxicité de ces lyophilisats pourrait être augmentée, leurs effets choc seraient ensuite masqués par micro-encapsulation et les appâts les contenant

protégés par du plastique végétal.

La décoction de la graine de *Rollinia mucosa*

La décoction de la graine de *Rollinia mucosa* a montré uniquement une activité insectifuge (partie Résultats, paragraphe 1.2) sur les ouvrières majors d'*Acromyrmex octospinosus*. Il n'y a aucune étude indiquant l'activité insecticide d'un extrait aqueux de la graine de *R. mucosa*. L'extrait éthanolique de la graine, quant à lui, a montré une activité insecticide contre *Aedes aegypti* (Culicidae) (Sauvain, 1989). La littérature indique que la graine de *R. mucosa* contient des alcaloïdes comme l'annonine connue pour son activité insecticide (Harper *et al.*, 1947; Duke, 1992). Elle contient également des acétogénines connues pour cette même activité (Rupprecht *et al.*, 1990) comme la jimenezine (Chavez *et al.*, 1998), la polliniastatine (Fontana *et al.*, 1994), la rolliniastatine, la squamocine, l'uvaricine, membranacine (Chavez *et al.*, 1999), l'asimicine ou l'annonine (Bruneton, 1999).

L'absence de toxicité par ingestion de cette décoction a écarté cette préparation de notre étude. Cependant, il est probable que l'utilisation d'un autre type de solvant (éthanolique par exemple) puisse extraire les acétogénines qui pourraient agir sur la fourmi.

Le broyat de la feuille de *Trichilia pallida*

Le broyat de la feuille de *Trichilia pallida* a montré uniquement une activité insectifuge (partie Résultats, paragraphe 1.2) sur les ouvrières majors d'*Acromyrmex octospinosus*. Il n'y a aucune étude indiquant l'activité insecticide d'un extrait aqueux de *T. pallida*. La feuille de *T. pallida* contient deux terpénoïdes qui présentent une activité insecticide contre *Tuta absoluta* (Gelechiidae) : le 24-méthylencycloartan-3-ol et le 24-méthylène-3,22-dihydroxycholestérol (Cunha *et al.*, 2008). L'extrait acétonique présente également une activité contre *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) (Simmonds *et al.*, 2001).

L'absence de toxicité par ingestion de cette décoction a écarté cette préparation de notre étude. Cependant, tout comme *R. mucosa*, il est probable que l'utilisation d'un autre type de solvant (éthanolique ou acétonique par exemple) puisse permettre d'extraire les substances actives qui pourraient agir sur la fourmi.

Les tests insecticides

Le test d'activité insecticide par contact

Les expérimentations de laboratoire ont montré que les extraits traditionnels de la graine de *Mammea americana* et de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum* présentent une activité insecticide par contact (Partie Résultats, chapitre 1, paragraphe 1.1). D'autres études sur les Attines ont mis en évidence cette activité insecticide par contact d'extraits de plantes. Des roténoïdes extraites de *Lonchocarpus floribundus* et *L. chrysophyllus* (Fabaceae) ont montré une activité insecticide de contact contre *Acromyrmex octospinosus* (Petit, 2004). Les extraits des graines de *Sesamum indicum* (Pedaliaceae) (Bueno *et al.*, 2004) et d'*Azadirachta indica* (Meliaceae) (Santos-Oliveira *et al.*, 2006) présentent également cet effet insecticide sur *Atta sexdens rubropilosa*. Les extraits foliaires d'*Ageratum conyzoides* (Asteraceae), de *Mentha piperita* (Lamiaceae), de *Ruta graveolens* (Rutaceae) et de *Cordia verbenacea* (Boraginaceae) sont aussi toxiques par contact direct sur les ouvrières d'*Atta sexdens rubropilosa* et *Acromyrmex subterraneus molestans* (Ribeiro *et al.*, 2008).

Notre étude chimique préliminaire indique qu'il existe une corrélation entre les terpénoïdes et l'activité insecticide par contact avec une p-value de 0,018 avec un niveau de significativité $\alpha = 0,05$. Cependant, la littérature sur les extraits testés en contact direct avec les Attines, celle sur les terpénoïdes (Bruneton, 1999 ; Regnault-Roger *et al.*, 2002) et celle sur les parties de plantes utilisées dans notre étude ne confirme pas ce résultat. Pour notre étude, la bibliographie indique que ce sont les composés phénoliques (pour *M. americana*) et les alcaloïdes (pour *N. tabacum*) qui seraient responsables des activités insecticides par contact observées. Les terpénoïdes sont d'une très grande diversité et même si un certain nombre d'entre eux possèdent cette activité insecticide (en particulier les monoterpènes et les triterpènes), de nombreux autres ne sont pas connus pour cet effet.

Enfin, il convient d'être prudent concernant ce test de toxicité par contact classiquement utilisé pour les essais insecticides de laboratoire. Dans le cas des fourmis, cette activité par contact pourrait, pour certains extraits, être due à leur activité par

ingestion. En effet, les fourmis ont en permanence un comportement de léchage de leurs pattes. La préparation pourrait donc être ingérée par les fourmis car enduites sur leurs pattes (*com. pers.* Mauléon H, 2011).

Le test d'activité insectifuge

Les expérimentations de laboratoire ont montré que tous les extraits étudiés présentent une action insectifuge (Partie Résultats, chapitre 1, section 1.2). Quelques études ont mis en évidence l'action insectifuge d'extraits de plantes sur les Attines. Les sesquiterpènes lactones de l'extrait des feuilles d'*Eupatorium quadrangulare* (Asteraceae) (Okunade & Wiemer, 1985), les terpénoïdes de la feuille de *Melampodium divaricatum* (Asteraceae) (Hubert & Wiemer, 1985a) et un triterpénoïde de *Jacquinia pungens* (Theophrastaceae) (Okunade & Wiemer, 1985b) présentent une activité insectifuge contre *Atta cephalotes*. Les triterpénoïdes de la feuille d'*Abuta racemosa* (Menispermaceae) (Hammond *et al.*, 1990) et des dérivés prenylés de l'acide benzoïque isolés des feuilles de *Piper taboganum* (Roussis *et al.*, 1990) montrent cette activité contre *Acromyrmex octospinosus*. Dans la plupart de ces études, les molécules responsables de cette activité sont des terpénoïdes. Notre étude chimique préliminaire a montré que les composés majoritairement présents sont les terpénoïdes. Mais elle n'a pas mis en évidence de corrélation entre la présence de terpénoïdes et l'activité insectifuge (Partie Résultats, chapitre 4, section 4.2). Ceci s'explique probablement par le fait que la méthode utilisée dans notre étude pour mettre en évidence les terpénoïdes est davantage connue pour doser les stéroïdes que les terpénoïdes totaux (Zak *et al.*, 1957).

Il convient encore une fois d'être prudent concernant ce test classiquement utilisé pour les essais insectifuges de laboratoire. Les fourmis, ayant le choix entre l'eau et la préparation à tester, peuvent choisir l'eau plutôt que l'extrait pour boire. Ainsi, l'effet observé qualifié d'insectifuge pourrait être dû à l'anti-appétence de la préparation.

Cette activité a également été mise en évidence pour la nourriture artificielle. Celle contenant les préparations traditionnelles est ingérée en moins grande quantité que la nourriture témoin (Partie 2, chapitre 1, paragraphe 1.3). L'anti-appétence de certaines plantes a été étudiée et décrite par de nombreux auteurs (Isman, 2002 ; Koul, 2005). Cet effet est dû à la propriété de certaines molécules à induire une diminution de la prise alimentaire ou une inhibition du réflexe de prise alimentaire. Ces molécules sont répertoriées selon trois classes principales : des composés polyphénoliques, des alcaloïdes et les composés terpéniques (Regnault-Roger *et al.*,

2002). Notre étude chimique préliminaire a montré que ces trois classes de composés sont présents dans les quatre préparations traditionnelles présentant une activité insecticide par ingestion (partie Résultats, chapitre 4, paragraphe 4.1).

Le test d'activité insecticide par ingestion

Les expérimentations de laboratoire ont montré que les extraits traditionnels de la graine de *Mammea americana*, de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*, des feuilles fraîches et sèches de *Nerium oleander* présentent une activité insecticide par ingestion (Partie Résultats, chapitre 1, paragraphe 1.3). D'autres études sur les Attines ont mis en évidence cette activité insecticide par ingestion. La ricine de la feuille de *Ricinus communis* incluse dans une nourriture artificielle présente une activité insecticide par ingestion sur *Atta sexdens rubropilosa* (Bigi *et al.*, 2004). Les extraits foliaires de *Ricinus communis* (Euphorbiaceae), de *Melia azedarach* (Meliaceae) et de *Trichillia glauca* (Meliaceae) sont toxiques par ingestion pour *Acromyrmex lundii* (Caffarini *et al.*, 2008). Les extraits des parties aériennes de *Helietta puberula* (Rutaceae) (Almeida *et al.*, 2007) et *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) (Penaflores *et al.*, 2009) sont également insecticide par ingestion pour *Atta sexdens*.

Les préparations antifongiques

La feuille de *Senna alata*

Les tests antifongiques indiquent que seule la feuille de *Senna alata* est fongicide contre *Leucocoprinus gongylophorus* (Partie Résultats, paragraphes 2.1, 2.2 et 2.3). Ces résultats sont en adéquation avec les données trouvées dans la littérature. En effet, l'extrait de la feuille a montré des propriétés antifongiques contre *Candida albicans* (Vaijayanthimala *et al.*, 2000), *Trichophyton mentagrophytes* (Fuzellier *et al.*, 1982), *Malassezia furfur* (Damodaran & Venkataraman, 1994), *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus japonicus*, *Candida tropicalis*, *Rhodotorula glutinis*, *Penicillium funiculosum* (Sakharkar & Patil, 1998), *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypsum*, *Epidermophyton floccosum* (Mehmood *et al.*, 1999), *Microsporum canis*, *Fusarium solani*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium werneckii* (Ibrahim & Osman, 1995), *Penicillium italicum*, *Aspergillus fumigatus*, *Lasiodiplodia theobromae* (Ogunti *et al.*, 1991).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la feuille de *S. alata* contient des alcaloïdes (119 mg (PI)/g), des composés phénoliques (30 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (769 mg (EG)/g). Des études précédentes ont montré que les composés responsables de l'activité antifongique de la feuille de *S. alata* sont des composés phénoliques : les anthraquinones (Somchit *et al.*, 2003) tel que le chrysophanol (Palanichamy & Nagarajan, 1990). La feuille contient au moins 25 mg d'anthraquinones par grammes de feuille (Bruneton, 1999).

Notre étude nous indique que le lyophilisat de la feuille de *S. alata* a une CI_{50} de 251,51 $\mu\text{g}/\text{mL}$ et une CI_{99} de 350,78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sur *Leucocoprinus gongylophorus* (Partie Résultats, chapitre 1, paragraphe 2.4). De nombreuses études affichent des résultats pour d'autres champignons avec des CI_{50} au-delà de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour des extraits éthanoliques ou méthanoliques (Ibrahim & Osman, 1995 ; Sakharkar & Patil, 1998) et au delà de 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pour les extraits aqueux de la feuille de *S. alata* (Fuzellier *et al.*, 1982 ; Damodaran & Venkataraman, 1994). *L. gongylophorus* est donc plus sensible à *S. alata* que les autres champignons testés jusqu'ici avec les extraits de

cette plante.

Le bulbe d'*Allium cepa*

Les tests antifongiques indiquent que le bulbe d'*Allium cepa* ne provoque pas de diminution significative de la surface et du poids du champignon (Partie Résultats, paragraphes 2.1 et 2.2). Le test au MTT et le calcul de la CI_{50} de 1241,55 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indiquent que l'extrait a une activité fongistatique aux concentrations testées. Le calcul de la CI_{99} de 4356,06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indique qu'un effet fongicide pourrait être obtenu au delà de cette concentration (Partie Résultats, paragraphes 2.3 et 2.4). Ces résultats sont en adéquation avec la littérature puisque le bulbe est connu pour ses propriétés antifongiques sur *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* (Elnima *et al.*, 1983), *Aspergillus niger* (Guerin & Reveillere, 1984), *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* (Yin & Tsao, 1999), *Nannizzia gypsea*, *Nannizzia incurvata*, *Nannizzia fulva* (Singh & Deshmukh, 1984).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat du bulbe d'*A. cepa* contient des alcaloïdes (66 mg (PI)/g), des composés phénoliques (8 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (180 mg (EG)/g). Des études précédentes ont montré que ce sont les composés organo-sulfurés : l'allicine et l'ajoène qui sont responsables de l'activité antifongique du bulbe (Cavallito & Bailey, 1944; Duke, 1992; Kim *et al.*, 2004) et non pas une des trois familles que nous avons recherchées dans notre étude chimique préliminaire.

La faible activité antifongique d'*A. cepa*, en dépit de ces composés antifongiques bien connus qu'il contient, peut être due à la dégradation de l'allicine et l'ajoène durant la lyophilisation et la stérilisation des milieux de culture du champignon. En effet, il semblerait que le précurseur de la dégradation enzymatique de ces molécules : l'alliine (présent dans le bulbe d'oignon frais) soit thermo-sensible (Kimbaris *et al.*, 2009).

Il faut noter qu'*Allium cepa* et les *Allium* en général présentent des propriétés insecticides. Divers effets ont été mis en évidence : des effets anti-appétents, des effets répulsifs, des effets toxiques et des perturbations du développement des larves et des œufs (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Il serait donc intéressant, en plus de tester une concentration plus élevée de lyophilisat d'*A. cepa* sur le symbiote fongique, de tester également cet extrait sur les ouvrières d'*Acromyrmex octospinosus*.

La gousse d'*Allium sativum*

Les tests antifongiques indiquent que la gousse d'*Allium sativum* est fongicide pour la concentration 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Partie Résultats, paragraphes 2.1, 2.2, 2.3 et 2.4). Les deux autres concentrations utilisées ne provoquent pas de diminution significative de la surface et du poids du champignon. Le test au MTT et le calcul de la CI_{50} de 358,36 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indiquent que l'extrait a une activité fongistatique aux deux plus faibles concentrations testées (Partie Résultats, paragraphes 2.3 et 2.4). Ces résultats confirment l'abondante bibliographie qui indique que la gousse d'*Allium sativum* est connue pour son activité antifongique. L'extrait aqueux de la gousse a montré des propriétés antifongiques sur de très nombreux organismes : *Microsporium canis* (Prasad *et al.*, 1982), *Microsporium gypseum* (Malaengpoothong, 1980), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* (Yin & chen, 1998), *Candida albicans* (Vaijayanthimala *et al.*, 2000), *Candida stellatoidea*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida rugosa*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida tenuis*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus terreus*, *Cryptococcus uniguttulatus*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula rubra*, *Torulopsis candida*, *Torulopsis inconspicua*, *Torulopsis glabrata*, *Trichosporon capitatum*, *Trichosporon pullulans* (Moore & Atkins, 1977), *Rhizopus arrhizus*, *Mucor pusillus*, *Rhizopus rhizopodiformis*, *Aspergillus fumigatus*, *Cryptococcus albidus*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* (Caporaso *et al.*, 1983), *Fusarium oxysporum* (Tariq & Magee, 1990), *Saccharomyces cerevisiae* (Elnima *et al.*, 1983), *Penicillium digitatum* (Guerin & Reveillere, 1984), *Fusarium moniliforme* (Liu *et al.*, 1985), *Trychophyton asteroides* (Ploddee & Palakornkol, 1977), *Trychophyton violaceum*, *Trychophyton rubrum* (Malaengpoothong, 1980), *Trychophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* (Caceres *et al.*, 1991), *Phytophthora* species, *Rhizopus microsporus*, *Melanconium fuliginum*, *Myrothecium roridum*, *Thanatephorus cucumeris*, *Tricholoma crassum*, *Volvariella volvacea*, *Ceratocystis paradoxa*, *Colletotrichum denatum*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium aphanidermatum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Geotrichum candidum*, *Ustilago maydis* (Soytong *et al.*, 1985), *Trichoderma* species, *Curvularia* species, *Basidiobolus meristosporus* (Imwidththaya *et al.*, 1978), *Trichoconiella padwickii* (Shetty *et al.*, 1989), *Nannizzia fulva*, *Nannizzia gypsea*, *Nannizzia incurvata* (Singh & Deshmukh, 1984).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la gousse d'*A. sativum* contient des alcaloïdes (119 mg (PI)/g), des composés phénoliques (6 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (179 mg (EG)/g). Tout comme *A. cepa*, la littérature indique que ce sont les composés organo-sulfurés qui sont connus pour être respon-

sables de l'activité antifongique de la gousse (Cavallito & Bailey, 1944 ; Duke, 1992 ; Kim *et al.*, 2004). La dégradation de l'allicine et l'ajoène durant la lyophilisation et la stérilisation des milieux de culture du champignon expliquerait également la faible activité antifongique de la gousse d'*A. sativum* en dépit de ses composés organo-sulfurés bien connus (Kimbaris *et al.*, 2009).

Comme pour *A. cepa*, il serait intéressant, en plus de tester une concentration plus élevée de lyophilisat de la gousse sur le symbiote fongique, de tester également cet extrait (connu aussi dans la littérature pour son activité insecticide) sur les ouvrières d'*Acromyrmex octospinosus*.

La feuille de *Manihot esculenta*

Les tests antifongiques indiquent que la feuille de *Manihot esculenta* est fongicide pour la concentration 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Partie Résultats, paragraphes 2.1, 2.2, 2.3 et 2.4). Les deux autres concentrations utilisées ne provoquent pas de diminution significative de la surface et du poids du champignon. Le test au MTT et le calcul de la CI_{50} de 553,32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indiquent que l'extrait a une activité fongistatique aux deux plus faibles concentrations testées (Partie Résultats, paragraphes 2.3 et 2.4). Ces résultats confirment les études précédentes sur l'activité antifongique de la feuille de *Manihot esculenta*. En effet, les extraits de la feuille ont montré une activité fongicide contre *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum fulvum*, *Trichophytum gallinae* (Macrae *et al.*, 1988) et *Ustilago maydis* (Singh & Pathak, 1984).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de la feuille de *M. esculenta* contient des alcaloïdes (45 mg (PI)/g), des composés phénoliques (28 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (167 mg (EG)/g). Des études précédentes indiquent que la feuille de *M. esculenta* contient des coumarines (Buschmann *et al.*, 2000) et des flavonoïdes (Kami *et al.*, 1974). Ces composés phénoliques sont connus pour être responsables de l'activité antifongique de la feuille.

Ces résultats indiquent qu'il serait intéressant de tester une concentration plus élevée du lyophilisat de la feuille sur le symbiote fongique.

Le fruit vert de *Lycopersicon esculentum*

Les tests antifongiques indiquent que le fruit vert de *Lycopersicon esculentum* ne provoque pas de diminution significative de la surface et du poids du champignon

(Partie Résultats, paragraphes 2.1 et 2.2). Le test au MTT et les calculs de la CI_{50} (2126,64 $\mu\text{g}/\text{mL}$) indiquent que l'extrait a une activité fongistatique aux concentrations testées. Le calcul de la CI_{99} de 2577,45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ indique qu'un effet fongicide pourrait être obtenu au delà de cette concentration (Partie Résultats, paragraphes 2.3 et 2.4). Ces résultats confirment les études qui indiquent que le fruit vert de *L. esculentum* inhibe quant à lui la croissance de *Candida albicans* (Cavalin, 1983), de *Fusarium oxysporum* (Singh *et al.*, 1994), de *Ustilago maydis*, de *Ustilago nuda* (Singh & Pathak, 1984), de *Neurospora crassa* (Kubas, 1972) et *Sphacelia segetum* (Celayeta, 1960).

Notre étude chimique préliminaire nous indique que le lyophilisat de fruit de *L. esculentum* contient des alcaloïdes (4 mg (PI)/g), des composés phénoliques (28 mg (AG)/g) et des terpénoïdes (202 mg (EG)/g). La littérature indique que c'est un alcaloïde, la tomatine qui est responsable des propriétés antifongiques du fruit vert de *L. esculentum* (Wilson *et al.*, 1961 ; Lydon & Duke, 1989).

L'absence d'activité fongicide de ce lyophilisat dans nos essais (en dépit de ce composé antifongique bien connu) peut être due au fait que la quantité de ce glycoalcaloïde dépend de la partie de la plante. En effet, la concentration en tomatine mesurée dans la tige, la fleur ou la feuille est 100 fois plus importante que dans le fruit (Barceloux, 2009). Notre lyophilisat ne contiendrait donc pas suffisamment de tomatine, ce qui expliquerait une IC_{50} bien au-delà de la concentration utilisée pour nos essais.

Ces résultats indiquent qu'il serait intéressant de tester une concentration plus élevée du lyophilisat du fruit mais également un lyophilisat de la feuille sur le symbiote fongique.

Les tests antifongiques

Les tests en milieux liquide et gélosé

Il n'y a pas de test antifongique en milieu liquide connu dans la littérature sur *Leucocoprinus gongylophorus*. Ces tests permettant de mesurer la croissance du champignon, grâce à la masse sèche de celui-ci, sont donc l'un des aspects novateurs de ce travail.

Les tests antifongiques réalisés sur ce symbiote de la fourmi se font en général en milieu gélosé. Ces tests estiment macroscopiquement la croissance du champignon (Pagnocca *et al.*, 1990, 1996 ; Bigi *et al.*, 2004) ou mesurent manuellement sa croissance radiale (Miyashira *et al.*, 2010). L'originalité de ce travail tient au fait que la mesure de la croissance du champignon est calculée à l'aide d'un logiciel capable de déterminer une surface à l'aide d'une image réalisée grâce à un scanner (Figure 15).

Notre étude indique qu'il existe une corrélation entre les terpénoïdes et l'activité fongicide avec une p-value de 0,038 avec $\alpha = 0,05$. Le lyophilisat de *Senna alata* contient la plus grande quantité de terpénoïdes et présente également la plus forte activité antifongique. Cependant, la littérature sur les terpénoïdes (Bruneton, 1999 ; Regnault-Roger *et al.*, 2002) et sur les parties de plantes utilisées dans notre étude ne confirme pas ce résultat. Les métabolites terpéniques sont d'une grande diversité et même si un certain nombre d'entre eux possèdent cette activité antifongique (en particulier les monoterpènes, les sesquiterpènes et les lactones), de nombreux autres ne sont pas connus pour cet effet. Dans notre étude, la littérature indique que ce sont les composés phénoliques (pour *S. alata* et *Manihot esculenta*), les alcaloïdes (pour *Lycopersicon esculentum*) et les organo-sulfurés (pour les *Allium*) qui seraient responsables des activités antifongiques observées.

Le test au MTT

Les tests au MTT sont très connus dans la littérature médicale (Hadacek & Greger, 2000). Cependant, ce produit capable de distinguer une activité cytotoxique

d'une activité cytostatique d'un extrait végétal n'a jamais été testée sur des cultures de *Leucocoprinus gongylophorus*. Les résultats de ce test incite à poursuivre les tests en tentant de mettre au point la méthode de quantification colorimétrique spectrophotométrique de l'activité fongistatique des extraits végétaux puisqu'en théorie l'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la quantité de mycélium vivant (Gonçalves *et al.*, 2010).

Le test sur nids artificiels

Nos essais sur nids artificiels ont montré que seuls les nids traités par la nourriture artificielle contenant le lyophilisat de la graine de *Mammea americana* et par le Blitz® présentent une baisse significative de l'activité et donc de la quantité de nourriture ingérée en gramme après le traitement. Le nid traité avec la préparation contenant le lyophilisat de la macération de *M. americana* a dépéri et la meule de champignon n'était plus visible après traitement. La préparation à base du lyophilisat de la feuille de *Senna alata* n'a pas diminué l'activité et la quantité de nourriture ingérée. Cependant, elle a induit une régression et un changement d'aspect de la meule. Le nid traité par la préparation contenant la préparation à base de *M. americana* et de *S. alata* n'a pas connu de changement significatif de son activité, ni de sa prise de nourriture avant et après traitement ou de l'aspect de la meule. Les préparations contenant *M. americana* (*M. americana* et *M. americana* + *S. alata*) se sont révélées très peu appétantes pour les fourmis des nids traités alors que la préparation à base de *S. alata* seule s'est révélée très appétante (Partie Résultats, chapitre 3).

Les résultats obtenus peuvent trouver une explication en relation avec le temps d'application des appâts. En effet, comme nous souhaitons qualifier notre test sur le temps d'action du Blitz® notre traitement a duré 2 semaines alors que d'autres essais en laboratoire d'extraits végétaux sur nids artificiels ont duré plus longtemps. Des nids d'*Atta sexdens rubropilosa* nourris quotidiennement par une nourriture constituée de feuilles de *Ricinus communis* ont montré une diminution graduelle du volume du jardin à champignon et une forte mortalité des fourmis après un traitement de 6 semaines (Hebling *et al.*, 1996). Une autre étude sur nids artificiels d'*Atta sexdens* nourris quotidiennement par une nourriture constituée de feuilles de *Canavalia ensiformis* a montré une mortalité complète des nids après 11 semaines de traitement (Hebling *et al.*, 2000). Ainsi, il est probable que le temps de traitement pour nos essais ait été trop court (14 jours) pour pouvoir observer un réel effet de nos appâts à base des lyophilisats des préparations traditionnelles.

Le changement d'aspect de la meule et sa régression dans le nid traité par *S. alata*

indique que cette préparation a un potentiel de lutte aussi bien *in vitro* et *in vivo* contre *Leucocoprinus gongylophorus*. De plus, sa forte appétence pour les ouvrières en fait un angle d'action de choix contre la fourmi. Il est nécessaire cependant d'en augmenter la concentration de manière à obtenir un effet plus important.

Les préparations à base de *M. americana* se sont révélés peu appétentes pour les fourmis des nids traités. Ceci s'explique par l'anti-appétence des extraits étudiés qui a été abordée précédemment dans cette discussion.

Malgré ce manque d'appétence, le nid traité uniquement par cette préparation a montré une baisse de son activité et de sa nourriture ingérée. Ces résultats confirment les tests *in vitro* et notre choix de l'extrait de la graine de *M. americana* commentés dans la première partie de cette discussion. Comme nous avons pu l'indiquer précédemment, la toxicité pourra être encore augmentée. L'effet choc induit par cette augmentation pourra être masqué par micro-encapsulation. L'appétence de la préparation pourra être augmentée grâce à la pulpe de *Citrus* sp et la poudre de feuille de *Dioscorea alata* et la protection des appâts pourra se faire par un conditionnement en plastique végétal.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

Conclusion

Notre hypothèse de départ était de confirmer que les préparations traditionnelles issues de l'ethnopharmacologie TRAMIL présentaient un potentiel de lutte contre *Acromyrmex octospinosus*, notamment en raison des métabolites secondaires qu'elles contiennent.

Des tests de toxicité par contact et par ingestion et des tests d'activité insectifuge ont été mis en place pour connaître les types d'activité des préparations traditionnelles sur les ouvrières major de colonies d'*A. octospinosus*. Les résultats de ces tests ont montré que les usages insecticides de plantes provenant des enquêtes ethnopharmacologiques TRAMIL présentent un potentiel de lutte contre la fourmi manioc. Les six usages testés sont insectifuges. Deux d'entre eux présentent une toxicité par contact (la macération de la graine de *Mammea americana* et la décoction de la feuille sèche de *Nicotiana tabacum*). Ces deux derniers usages présentent également une activité insecticide par ingestion comme les deux usages de *Nerium oleander* (la décoction de la feuille fraîche et le broyat de la feuille sèche).

Les préparations présentant une toxicité par ingestion ont été lyophilisées puis soumis à un nouveau test de toxicité par ingestion à trois concentrations différentes. Les résultats obtenus indiquent que les caractéristiques les plus proches de celles du Blitz® sont celles de la macération de la graine de *M. americana*. Cette préparation insecticide présente le ratio toxicité/ appétence/ effet retard le plus proche de celui de l'insecticide de synthèse témoin actuellement utilisé pour lutter contre la fourmi manioc.

Des tests antifongiques en milieu liquide et en milieu gélosé et un test au MTT ont été réalisés sur le symbiote fongique de la fourmi, *Leucocoprinus gongylophorus*. Les résultats obtenus ont montré que la feuille de *Senna alata* est fongicide pour toutes les concentrations testées (500, 1000 et 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La feuille de *Manihot esculenta* et la gousse d'*Allium sativum* sont fongicides à la plus forte concentration utilisée (2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Le fruit vert de *Lycopersicon esculentum* et le bulbe d'*Allium cepa* ne présentent pas d'activité fongicide aux concentrations testées. Ces préparations sont cependant fongistatiques contre le symbiote et peuvent devenir fongicides en

augmentant la concentration des lyophilisats.

Cette étude nous a aussi permis, grâce à un criblage et un dosage chimiques préliminaires, de confirmer (pour les extraits antifongiques et insecticides par ingestion) la présence des trois familles de molécules connues dans la littérature pour leurs activités insecticides, insectifuges ou antifongiques. Elle a également mis en évidence une corrélation entre les terpénoïdes et les activités insecticide et antifongique. Cependant, la littérature sur les extraits testés en contact direct avec les Attines et leur symbiote fongique et notre étude n'ont pas permis de confirmer cette corrélation.

Enfin, un test préliminaire «*in situ*» sur des nids artificiels complets a été réalisé et a montré que la suite de la stratégie de lutte devrait être orientée en priorité vers l'extrait de la graine de *M. americana*. Les résultats de ce test indiquent également que la piste de l'antifongique *S. alata* doit être poursuivie en raison de sa forte appétence et du changement d'aspect de la meule qu'il a induit.

En dépit des résultats encourageants obtenus dans ce travail, certains points restent à approfondir. D'autres pistes sont également à explorer dans ce travail de lutte contre cet insecte phytophage. Ces pistes seront développées dans le chapitre suivant.

Perspectives

Complément des analyses phytochimiques préliminaires

Notre étude phytochimique préliminaire a mis en évidence trois familles de molécules connues pour leurs activités insecticides et antifongiques. Il convient maintenant d'affiner les criblages dans ces grandes familles trouvées dans nos extraits et de mettre en évidence les molécules trouvées dans la littérature comme étant responsables des activités mises en évidence dans notre étude grâce à tests bioguidés. Pour les *Allium*, il faudra vérifier la présence et la quantité (s'ils sont présents) des composés soufrés (connus pour être responsables de l'activité antifongique). L'isolation et l'identification des molécules, responsables des activités des extraits testés, pourrait être faites grâce à l'utilisation de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) couplé au spectre de masse (MS) à haute résolution (Regnault-Roger *et al.*, 2002).

Application en conditions naturelles

La suite logique de notre étude est un passage en conditions naturelles. Cependant, avant de passer à ce stade, les résultats préliminaires sur nids artificiels devront être confirmés par un nombre de répétitions probant. Les appâts devront aussi être, au préalable, optimisés de manière à être plus toxiques tout en restant appétants, bénéficiant d'un effet retard et mieux adaptés aux conditions naturelles. Pour cela, il faudra tester les pistes proposées dans la discussion précédente concernant l'augmentation de la toxicité de *S. alata* et de *M. americana*, leur microencapsulation et leur conditionnement en sachets plastiques végétaux.

Les autres «maillons faibles» de la fourmi manioc

La figure 6 de la Partie État de l'art, montrant les relations existant dans un nid d'*Acromyrmex octospinosus*, nous indique qu'il existe d'autres points fragiles sur lesquels il est possible d'agir : l'actinomycète *Pseudonocardia* et les phéromones liant les différents individus de la colonie. Dans ces études, les ressources végétales pourraient encore représenter une solution.

En effet, des études *in vitro* pourraient être menées sur des cultures de *Pseudonocardia* en incluant les extraits de plantes connus pour leurs activités antibactérienne et antifongique.

Pour ce qui est des phéromones, les composés volatiles responsables de l'odeur des plantes sont proches des structures chimiques des phéromones des insectes (Regnault-Roger *et al.*, 2002). Cette propriété pourrait être investiguée pour trouver une molécule odoriférante végétale capable de créer une «confusion sexuelle» entre les sexués lors de l'essaimage ou de perturber les liens entre les différentes castes de la colonie.

Enfin, des études préliminaires sur les enzymes impliquées dans les dégradations par le champignon symbiote de certaines Attines (D'Etterre *et al.*, 2002; Richard *et al.*, 2005) et d'autres en cours sur la laccase du symbiote d'*A. octospinosus* (*com. pers.* P. Mora, 2011), offrent un autre maillon faible à explorer. En effet, certains composés phénoliques d'origine végétale sont connus pour leur action inhibitrice de l'activité des enzymes comme les pectinases, les cellulases et les protéases. Ils sont également capables d'inhiber la production des enzymes protéolytiques, de provoquer des altérations membranaires ou des inhibition au niveau de la chaîne de transport des électrons (Regnault-Roger *et al.*, 2002).

Éthologie de la fourmi manioc

Une lutte efficace contre un insecte ravageur passe par une connaissance approfondie de l'éthologie de l'espèce. De nombreuses données existent sur les Attines, mais seulement quelques-unes font référence à *Acromyrmex octospinosus*. Ces dernières sont parcellaires et un peu anciennes, ne tenant donc pas compte de l'adaptation de l'espèce désormais installée dans l'île depuis 60 ans. Il conviendrait donc de réaliser des expérimentations de terrain pour obtenir des données chiffrées sur l'essaimage et sur l'écologie des nids en fonction des conditions pédoclimatiques. Sur ce dernier point, des essais préliminaires durant la période de notre étude ont permis de mettre

en évidence des comportements différents du point de vue de l'activité en fonction de la localisation des nids (Annexe D). Il s'agira de poursuivre ces essais en faisant varier les localisations, les conditions pédoclimatiques et les saisons.

Les espèces végétales et leurs composés chimiques : une source abondante pour le contrôle d'*Acromyrmex* *octospinosus* ?

Notre étude a mis en évidence le potentiel de lutte contre *Acromyrmex octospinosus* que peuvent représenter les espèces végétales et de fait, le potentiel des métabolites secondaires qu'elles contiennent. De manière à cibler l'insecte et son symbiote fongique, il serait intéressant de focaliser l'étude des espèces végétales sur celles présentant à la fois un potentiel insecticide et antifongique. Lors de notre revue bibliographique exhaustive pour identifier les composés chimiques à activité insecticide, insectifuge et antifongiques issus d'espèces végétales (Partie Etat de l'art, chapitre 3), nous avons également mis en évidence une sélection de composés connus dans la littérature pour leur activité remplissant cette double condition. Nous avons aussi exploré et fait une sélection de plantes contenant ces métabolites et dont il conviendrait d'explorer les effets sur *A. octospinosus* et *Leucocoprinus gongylophorus* (Boulogne *et al.*, 2011e).

Les plantes ont donc tout le potentiel pour lutter contre cet insecte. Il s'agit ici du résultat majeur de ce travail pionnier. D'autres études permettront de compléter et d'affiner ce travail et d'explorer de nouvelles pistes. Une lutte intégrée combinée (contre le champignon, contre l'insecte et contre l'actinomycète) pourrait être une solution à explorer pour le contrôle d'*A. octospinosus*.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbott WS, A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 : 265 – 267 (1925).
- Adfa M, Yoshimura T, Komura K, Koketsu M, Antitermite Activities of Coumarin Derivatives and Scopoletin from *Protium javanicum* Burm. f. *Journal of Chemical Ecology* 36 : 720 – 726 (2010).
- AFSSA, Evaluation des risques pour la santé humaine liés à une exposition au fipronil. Rapport Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) et l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (Afsse) (2005)
- Agnihotri VK, ElSohly HN, Khan SI, Jacob MR, Joshi VC, Smillie T, Khan IA, Walker LA, Constituents of *Nelumbo nucifera* leaves and their antimalarial and antifungal activity. *Phytochemistry Letters* 1 : 89 – 93 (2008).
- Akhtar Y, Isman MB, Larval Exposure to Oviposition Deterrents Alters Subsequent Oviposition Behavior in Generalist, *Trichoplusia ni* and Specialist, *Plutella xylostella* Moths. *Journal of Chemical Ecology* 29 : 1853 – 1870 (2003).
- Akhtar Y, Isman MB, Generalization of a Habituated Feeding Deterrent Response to Unrelated Antifeedants Following Prolonged Exposure in a Generalist Herbivore, *Trichoplusia ni*. *Journal of Chemical Ecology* 30 : 1349 – 1362 (2004).
- Al-Barwani FM, Eltayeb EA, Antifungal compounds from induced *Conium maculatum* L. plants. *Biochemical Systematics and Ecology* 32 : 1097 – 1108 (2004).
- Almeida RNA, Penaflor MFGV, Simote SY, Bueno OC, Hebling MJA, Pagnocca FC, Fernandes JB, Vieira PC, Da Silva MFGF, Toxicity of Substances Isolated from *Helietta puberula* RE Fr. (Rutaceae) to the Leaf-cutting Ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera : Formicidae) and the Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. *BioAssay* 2 : 2 (2007).
- Amicbase, Collections of Antimicrobial Data of Drugs, Natural Compounds and Essential Oils. <http://www.reviewscience.com/Index.html> (2010).
- Anarson JT, Philogène BJR, Morand P, Insecticides of plant origin. *American Symposium Series*, Washington DC (1989).
- Angeli-Papa J, Delmas J, Technique de culture de la fourmi champignoniste : comparaison avec celles pratiquées par l'homme. *Mushroom Science* 11 : 101 – 110 (1981).
- Angeli-Papa J, Eymé J, Le champignon cultivé par la «Fourmi manioc», *Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe ; résultats préliminaires sur le mycélium en culture pure et sur l'infrastructure des hyphes. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 289 : 21 – 24 (1979).
- Asthana A, McCloud ES, Berenbaum MR, Tuveson RW, Phototoxicity of *Citrus jambhiri* to fungi under enhanced UV-B radiation : Role of furanocoumarins. *Journal of Chemical Ecology* 19 : 2813 – 2830 (1993).
- Aurela L, Rapport fourmi manioc : Echantillonnage et analyse statistique. FREDON Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (2008).

- Bafi-Yeboah NFA, Arnason JT, Baker J, Smith ML, Antifungal constituents of Northern prickly ash, *Zanthoxylum americanum* Mill. *Phytomedicine* 12 : 370 – 377 (2005).
- Barceloux DG, Potatoes, Tomatoes, and Solanine Toxicity (*Solanum tuberosum* L., *Solanum lycopersicum* L.). *Disease-a-Month* 55 : 391 – 402 (2009).
- BASF, Des matériaux renouvelables pour faire les courses : Des sacs en matière plastique biodégradable Ecovio dans les supermarchés allemands Aldi. Communiqué de Presse BASF The Chemical Company (2009).
- Begum S, Siddiqui BS, Sultana R, Zia A, Suria A, Bio-active cardenolides from the leaves of *Nerium oleander*. *Phytochemistry* 50 : 435 – 438 (1999).
- Belmain SR, Neal GE, Ray DE, Golob P, Insecticidal and vertebrate toxicity associated with ethnobotanicals used as post-harvest protectants in Ghana. *Food and Chemical Toxicology* 39 : 287 – 291 (2001).
- Bhasin HD, Annual report of the entomologist to government, Punjab, Lyallpur, for the year 1924-25. Report of Operations of Department of Agriculture of Punjab 1 : 69 – 121 (1926).
- Bigi MFMA, Torkomian VLV, De Groot STCS, Hebling MJA, Bueno OC, Pagnocca FC, Fernandes JB, Vieira PC, da Silva MFGF, Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. *Pest Management Science* 60 : 933 – 938 (2004).
- Blanche D, La fourmi manioc. Ministère de l'agriculture, Service de la protection des végétaux. Editions Sep Paris 1er (1960).
- Bloem KA, Kelley KC, Duffey SS, Differential effect of tomatine and its alleviation by cholesterol on larval growth and efficiency of food utilization in *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. *Journal of Chemical Ecology* 15 : 387 – 398 (1989).
- Borg-Karlson A-K, Nordlander G, Mudalige A, Nordenhem H, Unelius CR, Antifeedants in the Feces of the Pine Weevil *Hyllobius abietis* : Identification and Biological Activity. *Journal of Chemical Ecology* 32 : 943 – 957 (2006).
- Boulogne I, Nossin E, Germosen-Robineau L, TRAMIL, un programme de recherche appliquée à l'usage traditionnel des plantes médicinales dans la Caraïbe ». *La Phytothérapie Européenne* n°62 (2011a).
- Boulogne I, Germosen-Robineau L, Ozier-Lafontaine H, Fleury M, Loranger-Merciris G, TRAMIL Ethnopharmacological survey in Les Saintes, Guadeloupe (French West Indies) : a comparative study. *Journal of Ethnopharmacology* 133 : 1039–1050 (2011b).
- Boulogne I, Germosen-Robineau L, Ozier-Lafontaine H, Jacoby-Koaly C, Aurela L, Loranger-Merciris G, *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera : Formicidae) management. I. Effects of TRAMIL's insecticidal plant extracts. *Pest Management Science* 68 : 313–320 (2011c).

- Boulogne I, Germosen-Robineau L, Ozier-Lafontaine H, Desfontaines L, Loranger-Merciris G, *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera : Formicidae) management. Effects of TRAMIL's fungicidal plant extracts. Article soumis à la revue Journal of Economic Entomology (2011d).
- Boulogne I., Petit P., Ozier-Lafontaine H., Desfontaines L., Loranger-Merciris G, Review of naturally occurring insecticidal and antifungal chemicals from plants. Article soumis à la revue Environmental Chemistry Letters (2011e).
- Braga PC, Culici M, Alfieri M, Dal Sasso M, Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. International Journal of Antimicrobial Agents 31 : 472 – 477 (2008).
- Brasseur T, Angenot, Flavonol glycosides from leaves of *Strychnos variabilis*. Phytochemistry 25 : 563 – 564 (1986).
- Bruneton J, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition Tec & Doc (1999).
- Bueno OC, Bueno FC, Betella G, Morini MSC, Hebling MJA, Pagnocca FC, Leite AC, Vieira PC, Fernandes JB, Toxicity of sesame extracts to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae). Sociobiology 44 (3) : 599 – 606 (2004).
- Bueno OC, Hebling MJA, Silva OA, Matenhauer AMC, Effect of sesame (*Sesamum indicum* L.) on nest development of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hym, Formicidae). Journal of Applied Entomology 119 : 341 – 343 (1995).
- Buschmann H, Rodriguez MX, Tohme J, Beeching JR, Accumulation of hydroxycoumarins during post-harvest deterioration of tuberous roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Annals of Botany 86 (6) : 1153 – 1160 (2000).
- Bussmann RW, Malca G, Glenn A, Sharon D, Nilsen B, Parris B, Dubose D, Ruiz D, Saleda J, Martinez M, Carillo L, Walker K, Kuhlman A, Townesmith A, Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru. Journal of Ethnopharmacology doi :10.1016/j.jep.2011.04.071 (2011).
- Caceres A, Lopez BR, Giron MA, Logemann H, Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. Journal of Ethnopharmacology 31 (3) : 263 – 276 (1991).
- Caffarini P, Carrizo P, Pelicano A, Roggero P, Pacheco J, Effects of acetonic and water extracts of *Ricinus communis*, *Melia azedarach* and *Trichillia glauca* on black common cutting ant (*Acromyrmex lundii*). Idesia 26 (1) : 59 – 64 (2008).
- Camargo RS, Forti LC, Lopes JFS, Nagamoto NS, Studies on Leaf-cutting ants, *Acromyrmex* spp. (Formicidae, *Attini*) : Behavior, reproduction and control. Recent Research Developments in Entomology 5 : 1 – 21 (2006).
- Cameron RS, Riggs C, Distribution, impact and control of the Texas leafcutting ant-1983 survey results. Texas Forest Service Publication 139 (1985).

- Caporaso N, Smith SM, Eng RHK, Antifungal activity in human urine and serum after ingestion of garlic (*Allium sativum*). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 23 (5) :700 – 702 (1983).
- Cavalin G, Tomate et tomatine. Thèse Doctorat en Pharmacie. Toulouse, France (1983).
- Cavallito CJ, Bailey JH, Allicin, the Antibacterial Principle of *Allium sativum*. I. Isolation, Physical Properties and Antibacterial Action. *Journal of the American Chemical Society* 66 : 1950–1951 (1944).
- Celayeta F, Action of the tissues of various plants on the growth of *Sphacelia segetum*. *Farmacognosia* 20 : 91 – 101 (1960).
- Chang KS, Ahn YJ, Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. *Pest Management Science* 58 : 161–166 (2002).
- Chavez D, Acevedo LA, Mata R, Jimenezin, a novel annonaceous acetogenin from seeds of *Rollinia mucosa* containing adjacent tetrahydrofuran-tetrahydropyran ring systems. *Journal of Natural Products* 61 : 419 – 421 (1998).
- Chavez D, Acevedo LA, Mata R, Tryptamine derived amides and acetogenins from the seeds of *Rollinia mucosa*. *Journal of Natural Products* 62 : 1119 – 1122 (1999).
- Cheng SS, Liu JY, Chang EH, Chang ST, Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology* 99 : 5145 – 5149 (2008).
- Cheng SS, Wu CL, Chang HT, Kao YT, Chang ST, Antitermitic and Antifungal Activities of Essential Oil of *Calocedrus formosana* Leaf and Its Composition. *Journal of Chemical Ecology* 30 : 1957 – 1967 (2004).
- Consoli RAGB, Mendes NM, Pereira JP, Santos BDS, Lamounier MA, Larvicidal properties of plant extracts against *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera : Culicidae) in the laboratory. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 83 : 87 – 93 (1988).
- Crewe RM, Blum MS, Alarm pheromones of the attini : their phylogenetic significance. *Journal of Insect Physiology* 18 : 31 – 42 (1972).
- Cross JH, West JR, Silverstein RM, Jutsum AR, Cherrett JM, Trail pheromone of the leaf-cutting ant, *Acromyrmex octospinosus* (Reich), (Formicidae : Myrmicinae). *Journal of Chemical Ecology* 8 : 1119 – 1124 (1982).
- Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Viera PC, Bioactivity of *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) derived molecules on *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 37 : 709 – 715 (2008).
- Currie CR, Bot ANM, Boomsma JJ, Experimental evidence of a tripartite mutualism : bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. *Oikos* 101 : 91–102 (2003).

- Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG, The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection* 22 : 39 – 44 (2003).
- Dalgaard T, Hutchings NJ, Porter JR, Agroecology : scaling and interdisciplinarity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 100 : 39 – 51 (2003).
- Dambolena JS, López AG, Cánepa MC, Theumer MG, Zygadlo JA, Rubinstein HR, Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis. *Toxicon* 51 : 37 – 44 (2008).
- Damodaran S, Venkataraman S, A study on the therapeutic efficacy of *Cassia alata*, Linn leaf extract against *Pityriasis versicolor*. *Journal of Ethnopharmacology* 42 (1) : 19 – 23 (1994).
- Dancewicz K, Gabrys B, Dams I, Wawrzęczyk C, Enantiospecific Effect of Pulegone and Pulegone-Derived Lactones on *Myzus persicae* (Sulz.) Settling and Feeding. *Journal of Chemical Ecology* 34 : 530–538 (2008).
- Decharme M, Les champignons symbiotes de quelques fourmis attines; différents aspects de leur cytologie et de leur évolution dans la meule. Thèse de doctorat de 3ème cycle, Université Pierre et Marie Curie Paris VI (1980a).
- Decharme M, Contributions à la connaissance du *Leucocoprinus gongylophorus* (Moller) Heim, champignon symbiote de la fourmi *Acromyrmex octospinosus* Reich. Mémoire de DEA, Université Pierre et Marie Curie Paris VI (1978).
- Decharme M, Observation en microscopie à balayage de la colonisation du substrat de la meule par le champignon symbiote de quelques fourmis attines. *Biologie-Ecologie méditerranéenne* 7 : 133 – 136 (1980b).
- Decharme M, Issaly M, Contribution à l'étude du champignon symbiote de quelques fourmis de la tribu *Attini*. *Cryptogamie, Mycologie* 1 : 1 – 18 (1980).
- Delabie J, L'écologie chimique de la fourmi champignoniste *Acromyrmex octospinosus* (Reich.), (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae, *Attini*). Données préliminaires sur le système sensoriel antennaire. Mémoire de DEA, Université Pierre et Marie Curie Paris VI (1982).
- Delabie J, La communication chimique chez la fourmi champignoniste *Acromyrmex octospinosus* : polymorphisme et développement du système antennaire. Thèse 3ème cycle, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI (1984).
- Delabie J, Masson C, Febvay G, Neurobiological basis of chemical communication in the fungus-growing ant *Acromyrmex octospinosus*. In : "Fire ants and Leaf-cutting ants; Biology and management" Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. (Eds). Westview press Boulder (USA) 302-315 (1986).
- Delag C, Caractérisation phytochimique de plantes d'intérêt agroécologique par des méthodes spectrophotométriques (UV-Visible). Master 2ème année en analyse chimique et biologique. Université Paris Descartes (2011).

- D'Ettorre P, Mora P, Dibangou V, Rouland C, Errard C, The role of the symbiotic fungus in the digestive metabolism of two species of fungus-growing ants. *J Comp Physiol* 172 : 169-176 (2002).
- Di X, Liu Y, Liu Y, Yu X, Xiao H, Tian X, Gao R, Synthesis and insecticidal activities of pyridine ring derivatives of podophyllotoxin. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 89 : 81 – 87 (2010).
- Diawara MM, Trumble JT, White KK, Carson WG, Martinez LA, Toxicity of linear furanocoumarins to *Spodoptera exigua* : Evidence for antagonistic interactions. *Journal of Chemical Ecology* 19 : 2473 – 2484 (1993).
- Djerassi C, Eisenbraun EJ, Gilbert B, Lemin AJ, Marfey SP, Morris MP, Naturally occurring oxygen heterocyclics. II. Characterization of an insecticidal principle from *Mammea americana* L. *Journal of the American Chemical Society* 80 : 3686 – 3691 (1958).
- Dohou N, Yamni K, Tahrouch S, Idrissi Hassani LM, Badoc A, Gmira N, Screening phytochimique d'une endémique Ibéro – Marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Acta Botanica Malacitana* 29 : 233 – 239 (2004).
- Duke JA, Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. Boca Raton, FL, USA CRC Press (1992).
- Duke JA, Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. <http://www.ars-grin.gov/duke> (2010).
- Dunn OJ, Multiple Comparisons Using Rank Sums. *Technometrics* 6 : 241 – 252 (1964).
- Dussourd DE, Chemical Stimulants of Leaf-Trenching by Cabbage Loopers : Natural Products, Neurotransmitters, Insecticides, and Drugs. *Journal of Chemical Ecology* 29 : 2023 – 2047 (2003).
- Elnima EI, Ahmed SA, Mekawi AG, Mossa JS, The antimicrobial activity of garlic and onion extracts. *Pharmazie* 38 (11) : 747 – 748 (1983).
- El-Shazly MM, Nassar MI, El-Sherief HA, Toxic effect of ethanolic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) leaves against different developmental stages of *Muscina stabulans* (Diptera-Muscidae). *Journal of the Egyptian Society of Parasitology* 26 : 461 – 473 (1996).
- Erthal M Jr, Silva CP, Cooper RM, Samuels RI, Hydrolytic enzymes of leaf-cutting ant fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology* 152 (1) : 54 – 59 (2009).
- Evershed RP, Morgan ED, The amounts of trail pheromone substances in the venom of workers of four species of attine ants. *Insect Biochemistry* 13 : 469 – 474 (1983).
- Febvay G, Relations enzymatiques entre la Fourmi Manioc, son champignon et le substrat végétal. Résultats de détection enzymatique par la méthode « Api System ». *Nouv Agron Antilles-Guyane* 4 : 285 – 299 (1978).
- Febvay G, Quelques aspects (anatomie et enyomologie) des relations nutritionnelles entre la Fourmi Attine *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera, Formicidae) et son champignon symbiotique. *Compte-Rendu de l'Académie d'Agriculture de France* 68 : 617 – 622 (1982).

- Febvay G, Bourgeois P, Kermarrec A, Antiappétants pour la fourmi attine, *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera - Formicidae), chez certaines espèces d'igname (Dioscoreaceae) cultivées aux Antilles. *Agronomie* 5 : 439 – 444 (1985).
- Febvay G, Decharme M, Kermarrec A, Digestion of chitin by the labial glands of *Acromyrmex octospinosus* Reich (Hymenoptera : Formicidae). *Canadian Journal of Zoology* 62 : 229 – 234 (1984).
- Febvay G, Hostachy B, Kermarrec A, La lutte chimique contre la fourmi *Acromyrmex octospinosus* (Reich) : Test standardisé d'évaluation de l'effet-retard de matières actives et nouvelle stratégie de lutte. *Med Fac Landbouww Rijks Univ Gent* 50 : 723 – 734 (1985).
- Febvay G, Kermarrec A, Morphologie et fonctionnement du filtre infrabuccal chez une attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera : formicidae), rôle de la poche infrabuccale. *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 10 : 441 – 449 (1981).
- Febvay G, Kermarrec A, Activités enzymatiques des glandes salivaires et de l'intestin moyen d'une fourmi attine (adultes et larves) : *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, *Attini*). *Archives of Biology* 92 : 299 – 316 (1981).
- Febvay G, Kermarrec A, Enzymes digestives de la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) : caractérisation des amylases, maltases et tréhalase des glandes labiales et de l'intestin moyen. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 296 : 453 – 456 (1983).
- Febvay G, Kermarrec A, Nouvelle stratégie de protection des cultures vivrières contre la Fourmi Attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) en Guadeloupe : les plantes résistantes à la défoliation. *Proceedings of the Caribbean Food Crops Society* 20 : 103 – 106 (1984).
- Febvay G, Kermarrec A, Digestive physiology of leaf-cutting ants. In : "Fire ants and Leaf-cutting ants; Biology and management" Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. Eds. Westview press Boulder (USA) 274 – 288 (1986).
- Febvay G, Kermarrec A, Prevention of feeding by *Acromyrmex octospinosus* with deterrents from yams. In : "Fire ants and Leaf-cutting ants : Biology and management" Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. Eds. Westview press Boulder (USA) 247 – 259 (1986).
- Febvay G, Kermarrec A, Maurer P, Considérations sur les fourmis défoliatrices : cas de la fourmi manioc en Guadeloupe (problèmes, contraintes et perspectives). *Info Zoo* 3 : 48 – 56 (1990).
- Febvay G, Mallet F, Kermarrec A, Attractivité du couvain et comportement des ouvrières de la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera, Attini). *Actes des Colloques Insectes Sociaux* 1 : 79 – 86 (1984).
- Febvay G, Ogier C, Observations sur une ponte fertile d'ouvrières d'*Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera-Formicidae). *Turrialba* 34 : 107 – 108 (1983).
- Febvay G, Rahbé Y, Kermarrec A, Analyse par digitalisation d'images du comportement d'affouagement d'une fourmi attine : application aux tests de choix. *Agronomie* 6 : 743 – 749 (1986).

- Febvay G, Rahbé Y, Kermarrec A, La lutte chimique contre la fourmi attine *Acromyrmex octospinosus* (Reich) : efficacité de nouvelles matières actives en conditions naturelles. Med Fac Landbouww Rijks Univ Gent 51 :1187 – 1196 (1986).
- Ferhout H, Bohatier J, Guillot J, Chalchat JC, Antifungal activity of selected essential oils, cinnamaldehyde and carvacrol against *Malassezia furfur* and *Candida albicans*. The Journal of Essential Oil Research 11 : 119 – 129 (1999).
- Fewell AM, Roddick JG, Weissenberg M, Interaction between the glycoalkaloids solasonine and solamargine in relation to inhibition of fungal growth. Phytochemistry 37 : 1007 – 1011 (1994).
- Figgitt DP, Denyer SP, Dewick PM, Jackson DE, Williams P, Topoisomerase II : A potential target for novel antifungal agents. Biochemical and Biophysical Research Communications 160 : 257 – 262 (1989).
- Finney DJ, Probit Analysis. 3rd Edition. Cambridge, London and New York (1971).
- Fokialakis N, Osbrink WLA, Mamonov LK, Gemejeva NG, Mims AB, Skaltsounis AL, Lax AR, Cantrell CL, Antifeedant and toxicity effects of thiophenes from four *Echinops* species against the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. Pest Management Science 2 : 832 – 838 (2006).
- Fontana J, Almeida ERA, Baron M, Guimaraes MF, Deschamps FC, Schwartzmann G, Cervi AC, Zanette F, Lilegas J, Lancas FM, Screening of acetogenin-producing plants in Brazilian Flora. Applied Biochemistry and Biotechnology 45 : 295-313 (1994).
- Forti LC, Pretto DR, Nagamoto NS, Padovani CR, Camargo RS, Andrade APP, Dispersal Of the Delayed Action Insecticide Sulfluramid In Colonies of the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : *Formicidae*). Sociobiology 50 (3) : 1-15 (2007).
- Fowler, H.G., Silva, V.P., Saes, N.B., Population dynamics of leaf-cutting ants : a brief review. In : Lofgren, C.S., Vander Meer, R.K. (Eds.), Fire Ants and Leaf-Cutting Ants : Biology and Management. West-View Press, Boulder, Colorado 123–145 (1986).
- Fuzellier MC, Mortier F, Lectard P, Antifongic activity of *Cassia alata* L. Annales Pharmaceutiques Françaises 40 : 357 – 363 (1982).
- Gallardo F, Boethel DJ, Fuxa JR, Richter A, Susceptibility of *Heliothis zea* (Boddie) larvae to *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson Effects of α -tomatine at the third trophic level. Journal of Chemical Ecology 16 : 1751 – 1759 (1990).
- Ganapaty S, Thomas PS, Fotso S, Laatsch H, Antitermitic quinones from *Diospyros sylvatica*. Phytochemistry 65 : 1265 – 1271 (2004).
- Gao R, Gao CXT, Yu X, Di X, Xiao H, Zhang X, Insecticidal activity of deoxypodophyllotoxin, isolated from *Juniperus sabina* L, and related lignans against larvae of *Pieris rapae* L. Pest Management Science 60 : 1131–1136 (2004).

- Gawde AJ, Cantrell CL, Zheljzkov VD, Dual extraction of essential oil and podophyllotoxin from *Juniperus virginiana*. *Industrial Crops and Products* 30 : 276 – 280 (2009).
- Gayoso CW, Lima EO, Oliveira VT, Pereira FO, Souza EL, Lima IO, Navarro DF, Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. *Fitoterapia* 76 : 247 – 249 (2005).
- Gomel L, Febvay G, Kermarrec A, Madignier ML, Une situation préoccupante en Guadeloupe. La fourmi-manioc met les bouchées doubles. *Phytoma* 410 : 10 – 15 (1989).
- Gonçalves MJ, Cruz MT, Cavaleiro C, Lopes MC, Salgueiro L, Chemical, antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. *sylvestris*. *Industrial Crops and Products* 32 (1) : 70-75 (2010).
- Grainge M, Ahmed S, Handbook of plants with pest-control properties. New York, USA John Wiley & Sons (1988).
- Guerin JC, Reveillere HP, Antifungal activity of plants extracts used in therapy. I. Study of 41 plants extracts againts 9 fungi species. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 42 (6) : 553 – 559 (1984).
- Güntner C, Vázquez A, González G, Usubillaga A, Ferreira F, Moyna P, Effect of *Solanum* Glycoalkaloids on Potato Aphid, *Macrosiphum euphorbiae* : Part II. *Journal of Chemical Ecology* 26 : 1113 – 1121 (2000).
- Hadacek F, Greger H, Testing of Antifungal Natural Products : Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. *Phytochemical Analysis* 11 (3) :137–147 (2000).
- Hadacek F, Müller C, Werner A, Greger H, Proksch P, Analysis, isolation and insecticidal activity of linear furanocoumarins and other coumarin derivatives from *Peucedanum* sp (Apiaceae : Apioideae). *Journal of Chemical Ecology* 20 : 2035 – 2054 (1994).
- Hall CA, Hobby T, Cipollini M, Efficacy and Mechanisms of β -Solasonine and β -Solamargine-Induced Cytolysis on Two Strains of *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Chemical Ecology* 32 : 2405 – 2416 (2006).
- Hammond GB, Baenziger NC, Wiemer DF, Dammara-20,25-dien-3 β ,24 β -diol : A natural repellent of *Acromyrmex octospinosus*. *Phytochemistry* 29 (3) : 783 – 785 (1990).
- Harper SH, Potter C, Gillham EM, *Annona* species as insecticides. *Annals of Applied Biology* 34 : 104 – 112 (1947).
- Hebling MJA, Bueno OC, Maroti PS, Pagnocca FC, Silva OA, Effects of leaves of *Ipomoea batatas* (Convolvulaceae) on nest development and on respiratory metabolism of leaf-cutting ants *Atta sexdens* L (Hym, Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 124 : 249 – 252 (2000).
- Hebling MJA, Bueno OC, Pagnocca FC, Silva OA, Maroti PS, Toxic effects of *Canavalia ensiformis* L. (Leguminosae) on laboratory colonies of *Atta sexdens* L (Hym, Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 124 : 33 – 35 (2000).

- Hebling MJA, Maroti PS, Bueno OC, Silva OA, Pagnocca FC, Toxic effect of *Ricinus communis* leaves in laboratory nests of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera, Formicidae). Bulletin of Entomological Research 86 : 253 – 256 (1996).
- Heilerova L, Buckova M, Tarapcik P, Silhar S, Labuda J, Comparison of antioxidative activity data for aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), oregano (*Origanum vulgare* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.), and agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by conventional methods and the DNA-based biosensor. Czech Journal of Food Sciences 21 (2) : 78 – 84 (2003).
- Hervey A, Rogerson CT, Leong I, Studies on Fungi Cultivated by Ants. Brittonia 29 (2) : 226-236 (1977).
- Hollander M, Wolfe DA, Nonparametric Statistical Methods. 2de Edition. John Wiley and Sons, New York (1999).
- Hosmer DW, Lemeshow S, Applied Logistic Regression. 2de Edition. John Wiley and Sons, New York (2000).
- Hossain AM, Salehuddin SM, Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography–mass spectrometry. Arabian Journal of Chemistry in press (2010).
- Huang Y, Ho S-H, Lee H-C, Yap Y-L, Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera : Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae). Journal of Stored Products Research 38 : 403 – 412 (2002).
- Hubert J, Munzbergova Z, Santino A, Plant volatile aldehydes as natural insecticides against stored-product beetles. Pest Management Science 64 : 57–64 (2008).
- Hubert TD, Wiemer DF, Ant-repellent terpenoids from *Melampodium divaricatum*. Phytochemistry 24 (6) : 1197 – 1198 (1985).
- Ibrahim D, Osman H, Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. Journal of Ethnopharmacology 45 (3) : 151 – 156 (1995).
- Il-Kwon P, Sang-Chul S, Fumigant Activity of Plant Essential Oils and Components from Garlic (*Allium sativum*) and Clove Bud (*Eugenia caryophyllata*) Oils against the Japanese Termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53 : 4388 – 4392 (2005).
- Imwidthaya S, Plangpatanapanichya A, Thasnakorn P, Antifungal activity of garlic extract. Bull Fac Med Tech Mahidol Univ 2 (2) : 67 – 77 (1978).
- INRA, La fourmi manioc et son contrôle.
www.antilles.inra.fr/content/download/3902/54815/file/dernier5.pdf (2001).
- Islam R, Islam Khan R, Al-Reza SM, Jeong YT, Song CH, Khalequzzaman M, Chemical composition and insecticidal properties of *Cinnamomum aromaticum* (Nees) essential oil against the stored product beetle *Callosobruchus maculatus* (F.). Journal of the Science of Food and Agriculture 89 : 1241 – 1246 (2009).

- Isman M, Insect antifeedants. *Pesticide Outlook* 13 :152 – 157 (2002).
- Ito SI, Ihara T, Tamura H, Tanaka S, Ikeda T, Kajihara H, Dissanayake C, Abdel-Motaal FF, El-Sayed MA, ?-Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. *FEBS Letters* 581 : 3217 – 3222 (2007).
- Jannet HB, Skhiri FH, Mighri Z, Simmonds MSJ, Blaney WM, Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neo-cleodane diterpenoids isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves. *Fitoterapia* 71 : 105 – 112 (2000).
- Jianhua W, Hai W, Antifungal susceptibility analysis of berberine, baicalin, eugenol and curcumin on *Candida albicans*. *Journal of Medical Colleges of PLA* 24 : 142 – 147 (2001).
- Kamil M, Ilvas M, Rahman W, Okigawa M, Kawano N, Biflavones from *Manihot utilissima*. *Phytochemistry* 13 (11) : 2619 – 2620 (1974).
- Karapinar M, Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. *International Journal of Food Microbiology* 10 : 193 – 199 (1990).
- Kermarrec A, Etude des relations synécologiques entre les Nématodes et la Fourmi-Manioc : *Acromyrmex octospinosus* Reich. *Annales de Zoologie et d'Ecologie Animale* 7 : 27 – 44 (1975).
- Kermarrec A, Sensibilité à un champ magnétique artificiel et réaction d'évitement chez *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, *Attini*). *Insectes Sociaux* 28 : 40 – 46 (1981).
- Kermarrec A, Abud-Antun A, Variations de la sensibilité au parathion selon l'heure chez *Acromyrmex octospinosus* Reich (Formicidae, *Attini*). *Annales de Zoologie et d'Ecologie Animale* 10 : 29 – 35 (1978).
- Kermarrec A, Febvay G, Une glande épidermique ventrale chez les larves de *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera - Formicidae). *Insectes sociaux* 32 : 213 – 217 (1985).
- Kermarrec A, Febvay G, Decharme M, Protections of leaf-cutting ants against biohazards : is there a future for microbiological control? In : "Fire ants and Leaf-cutting ants : Biology and management" Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. (Eds). Westview press Boulder (USA) 339 – 356 (1986).
- Kermarrec A, Malato G, Febvay G, Données nouvelles sur l'invasion de la Guadeloupe par *Acromyrmex octospinosus* Reich (Formicidae, *Attini*). II-Bases éthologiques et physiologiques d'un contrôle intégré. *Nouv Agron Antilles Guyane* 3 : 486 – 492 (1977).
- Kermarrec A, Mauléon H, Quelques aspects de la pathogénie d'*Entomophthora coronata* Cost. Kervok. Pour la Fourmi-Manioc de la Guadeloupe *Acromyrmex octospinosus* (Formicidae, *Attini*). *Annales de Parasitologie* 50 : 351 – 360 (1975).
- Kermarrec A, Mauléon H, Psychotropic substances impairing the vigilance of *Acromyrmex octospinosus* Reich (*Attini*, Formicidae). *Applied Myrmecology : a world perspective*, Westview Press, Boulder (1988).

- Kermarrec A, Mauléon H, Abud Antun A, La stridulation de *Acromyrmex octospinosus* Reich (Formicidae, *Attini*) : Biométrie de l'appareil stridulateur et analyse du signal produit. *Insectes sociaux* 23 : 29 – 48 (1976).
- Kermarrec A, Mauléon H, Marival D, Comparison of susceptibility of *Acromyrmex octospinosus* Reich (*Attini*, Formicidae) to two insect parasitic nematodes of the genera *Heterorhabditis* and *Neoplectana* (Rhabditina, Nematode). *Applied Myrmecology : a world perspective*, Westview Press, Boulder (1988).
- Keszei A, Hassan Y, Foley WJ, A Biochemical Interpretation of Terpene Chemotypes in *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Chemical Ecology* 36 : 652 – 661 (2010).
- Kim J-C, Choi GJ, Lee S-W, Kim J-S, Chung KY, Cho KY, Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Management Science* 60 : 803–808 (2004).
- Kimbaris AC, Kioulos E, Koliopoulos G, Polissiou MG, Michaelakis A, Coactivity of sulfide ingredients : a new perspective of the larvicidal activity of garlic essential oil against mosquitoes. *Pest Management Science* 65 : 249–254 (2009).
- Knapp JJ, Howse PE, Kermarrec A, Factors controlling foraging patterns in the leafcutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich). *Applied Myrmecology : a world perspective*, Westview Press, Boulder (1988).
- Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E, Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology* 99 : 8788 – 8795 (2008).
- Kotkar HM, Mendki PS, Sadan SVGS, Jha SR, Upasani SM, Maheshwari VL, Antimicrobial and pesticidal activity of partially purified flavonoids of *Annona squamosa*. *Pest Management Science* 58 : 33–37 (2002).
- Koul O, *Insect Antifeedants*. CRC Press (Boca Raton) (2005).
- Kubas J, Investigations on known or potential antitumoral plants by means of microbiological tests. Part III. Biological activity of some cultivated plant species in *Neurospora crassa* test. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 15 : 87 – 100 (1972).
- Lagnika L, Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes Béninoises. Thèse de doctorat Université Louis Pasteur (2005).
- Lee S, Peterson CJ, Coats JR, Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *Journal of Stored Products Research* 39 : 77 – 85 (2003).
- Lee SE, Lee BH, Choi WS, Park BS, Kim JG, Campbell BC, Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science* 57 : 548–553 (2001).

- Lehman AD, Dunkel FV, Klein RA, Oouattara S, Diallo D, Toure GK, N'Diaye M, Insect management products from Malian traditional medicine – Establishing systematic criteria for their identification. *Journal of Ethnopharmacology* 110 : 235 – 249 (2007).
- Lewis T, Colony size, density and distribution of the leaf-cutting ant, *Acromyrmex octospinosus* in cultivated fields. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 127 : 51 – 65 (1975).
- Liu J, Lin X, Li C, Lin X, Peng S, The blocking effect of garlic on dimethylnitrosamine formation mediated by *Fusarium moniliforme*. *Shandong Yixueyuan Xuebao* 23 (2) : 31 – 34 (1985).
- Lopez E, Orduz S, *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma viride* for control of nests of the fungus-growing ant, *Atta cephalotes*. *Biological Control* 27 : 194 – 200 (2003).
- Lydon J, Duke SO, Pesticide effects on secondary metabolism of higher plants. *Pesticide Science* 25 : 361–373 (1989).
- McDonald JH, *Handbook of Biological Statistics* (2nd ed). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland (2009).
- Macrae WD, Hudson JB, Towers GHN, Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology* 22 (2) : 143 – 172 (1988).
- Malaengpoothong B, Studies on the antifungal activity of garlic extract. Undergraduate special project report, Fac Med, (Siriraj Hosp), Mahidol Univ, Bangkok, Thailand (1980).
- Malato G, Kermarrec A, Problèmes posés par la lutte chimique contre la Fourmi-Manioc *Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe. *Nouv Agron Antilles-Guyane* 2 : 193 – 210 (1976).
- Malato G, Kermarrec A, Troup JM, Données nouvelles sur l'invasion de la Guadeloupe par *Acromyrmex octospinosus* Reich (Formicidae, *Attini*). I-Aspects biogéographiques et perspectives de contrôle chimique. *Nouv Agron Antilles Guyane* 3 : 473 – 484 (1977).
- Martínez-Romero D, Serrano M, Bailén G, Guillén F, Zapata PJ, Valverde JM, Castillo S, Fuentes M, Valero D, The use of a natural fungicide as an alternative to preharvest synthetic fungicide treatments to control lettuce deterioration during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 47 : 54 – 60 (2008).
- Maya JD, Cassels BK, Iturriaga-Vásquez P, Ferreira J, Faúndez M, Galanti N, Ferreira A, Morello A, Mode of action of natural and synthetic drugs against *Trypanosoma cruzi* and their interaction with the mammalian host. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A : Molecular & Integrative Physiology* 146 : 601 – 620 (2007).
- Mehmood Z, Ahmad I, Mohammad F, Ahmad S, Indian medicinal plants : a potential source for anticandidal drugs. *Pharmaceutical Biology* 37 (3) : 237 – 242 (1999).
- Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du territoire, Communiqué de presse : Préparations naturelles peu préoccupantes : des autorisations de mise sur le marché bientôt publiées (2010).

- Mishra BB, Singh DD, Kishore N, Tiwari VK, Tripathi V, Antifungal constituents isolated from the seeds of *Aegle marmelos*. *Phytochemistry* 71 : 230 – 234 (2010).
- Mitchell BK, Harrison GD, Effects of Solanum glycoalkaloids on chemosensilla in the Colorado potato beetle. *Journal of Chemical Ecology* 11 : 73 – 83 (1985).
- Miyashira CH, Tanigushi DG, Gugliotta AM, Santos DYAC, Comparison of radial growth rate of the mutualistic fungus of *Atta sexdens rubropilosa* forel in two culture media. *Brazilian Journal of Microbiology* 41 (2) : 506 – 511 (2010).
- Monsálvez M, Zapata N, Vargas M, Berti M, Bittner M, Hernández V, Antifungal effects of n-hexane extract and essential oil of *Drimys winteri* bark against Take-All disease. *Industrial Crops and Products* 31 : 239 – 244 (2010).
- Moore GS, Atkins RD, The fungicidal and fungistatic effects of an aqueous garlic extract on medically important yeast-like fungi. *Mycologia* 69 : 341 (1977).
- Nagamoto NS, Forti LC, Raetano CG, Evaluation of the adequacy of diXubenzuron and dechlorane in toxic baits for leaf-cutting ants (Hymenoptera : Formicidae) based on formicidal activity. *Journal of Pest Science* 80 : 9 – 13 (2007).
- Nagaraj G, Chakraborty MK, Alkaloids and volatile acids of natu Tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Indian Journal of Chemistry* 17 : 648 – 649 (1979).
- Nenaah G, Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. *Journal of Pest Science* DOI 10.1007/s10340-010-0329-y (2010).
- Neri F, Mari M, Brigati S, Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. *Plant Pathology* 55 : 100 – 105 (2005).
- Ngoh SP, Choo LEW, Pang FY, Huang Y, Kini MR, Ho SH, Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *Pesticide Science* 54 : 261–268 (1998).
- Ogunti EO, Aladesanmi AJ, Adesanya SA, Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia* 62 (2) : 537 – 539 (1991).
- Okunade AL, Wiemer DF, Ant-repellent sesquiterpene lactones from *Eupatorium quadrangularae*. *Phytochemistry* 24 (6) : 1199 – 1201 (1985a).
- Okunade AL, Wiemer DF, Jacquinonic acid, an ant-repellent triterpenoid from *Jacquinia pungens*. *Phytochemistry* 24 (6) :1203 – 1205 (1985b).
- Osei-Safo D, Addae-Mensah I, Garneau FX, Koumaglo HK, A comparative study of the antimicrobial activity of the leaf essential oils of chemo-varieties of *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth. *Industrial Crops and Products* 32 : 634 – 638 (2010).

- Pagnocca FC, Bacci M, Fungaro MH, Bueno OC, Hebling MJ, Santanna A, Capelari M, RAPD analysis of the sexual state and sterile mycelium of the fungus cultivated by the leaf-cutting ant *Acromyrmex hispidus fallax*. Mycology Research 105 (2) : 173-176 (2001).
- Pagnocca FC, Victor SR, Bueno FC, Crisostomo FR, Castral TC, Fernandes JB, Correa AG, Bueno OC, Bacci M, Hebling MJA, Vieira PC, da Silva MFGF, Synthetic amides toxic to the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* L. and its symbiotic fungus. Agricultural and Forest Entomology 8 : 17 – 23 (2006).
- Palanichamy S, Nagarajan S, Antifungal activity of *Cassia alata* leaf extract. Journal of Ethnopharmacology 29 : 337 – 340 (1990).
- Paneru RB, le Patourel GNJ, Kennedy SH, Toxicity of *Acorus calamus* rhizome powder from Eastern Nepal to *Sitophilus granaries* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera, Curculionidae). Crop Protection 16 : 759 – 763 (1997).
- Papa F, Papa J, Etude de l'activité microbiologique dans les nids d'*Acromyrmex octospinosus* Reich en Guadeloupe. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 75 : 404 – 414 (1982).
- Papa J, Papa F, Inhibition des bactéries dans les nids d' *Acromyrmex octospinosus* Reich. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 75 : 415 – 425 (1982).
- Park IK, Choi KS, Kim DH, Choi IH, Kim LS, Bak WC, Choi JW, Shin SC, Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*A Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera : Sciaridae). Pest Management Science 62 : 723–728 (2006).
- Pastel J, Papa J, Kermarrec A, Présence d'*Acromyrmex moellerius landolti* (For.) (Hymenoptera, Myrmicinae) en Guyane française. Caribbean Plant Protection 9 : 2 – 6 (1980).
- Patin M, Analyse des facteurs de répartition spatiale des dommages causés par la fourmi-manioc *Acromyrmex octospinosus* sur les fougères arborescentes du genre *Cyathea*. Mémoire de Master 2, Université Antilles-Guyane (2007).
- Penafior MFGV, Almeida RNA, Simote SY, Yamane E, Bueno OC, Hebling MJA, Fernandes JB, Vieira PC, Da Silva MFGF, Pagnocca FC, Toxicity of Substances Isolated from *Simarouba versicolor* St. Hil. (Simaroubaceae) to the Leaf-cutting Ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera : Formicidae) and the Symbiotic Fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Möller. BioAssay 4 : 1 (2009).
- Perez OP, Lazo FJ, Morales JET, Khambay BPS, Isolation and characterisation of active compounds from *Mammea americana* Lin. Revista cubana de Química 19 : 1 (2007).
- Petit P, Contribution à l'étude chimique de *Lonchocarpus floribundus* Benthham et de *Lonchocarpus chrysophyllus* Kleinhoonte. Synthèse de dérivés soufrés à partir d'éthers phénoliques naturels. Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane (2004).
- Philogene BJR, L'utilisation de produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives in Lutte anti-acridienne. Editions AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris (1991).

- Picman AK, Antifungal activity of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology* 12 : 13 – 18 (1984).
- Pinto LMN, Azambuja AO, Diehl E, Fiuza LM, Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* isolated from two species of *Acromyrmex* (Hymenoptera, Formicidae). *Brazilian Journal of Biology* 63 (2) : 301 – 306 (2003).
- Plank H, Insecticidal properties of mamey and other plants in Puerto Rico. *Journal of Economic Entomology* 37 : 737 (1944).
- Ploddee A, Palakornkol R, Antifungal activity of garlic. Undergraduate special project report. Mahidol Univ Fac Med (Siriraj Hosp) Bangkok Thailand (1977).
- Prasad G, Sharma VD, Kumar A, Efficacy of garlic (*Allium sativum* L.) therapy against experimental dermatophytosis in rabbits. *Indian Journal of Medical Research* 75 : 465 – 467 (1982).
- Qin W, Huang S, Li C, Chen S, Peng Z, Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera :Hispididae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 96 : 132 – 139 (2010).
- Rahbé Y, Febvay G, Kermarrec A, Foraging activity of the attine ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera : Formicidae) on resistant and susceptible yam varieties. *Bulletin of Entomological Research* 78 : 329 – 337 (1988).
- Rakotonirainy MS, Lavedrine B, Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *International biodeterioration & biodegradation* 55 : 141 – 147 (2005).
- Regnault-Roger C, Philogène BJR, Vincent C, Biopesticides d'origine végétale. Editions Tec & Doc (2002).
- Ribeiro KAL, Monteiro de Carvalho C, Molina MT, Pereira Lima E, López-Montero E, Rui M Reys J, Farias de Oliveira MB, Ventura Pinto A, Santana AEG, Goulart MOF, Activities of naphthoquinones against *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera : Culicidae), vector of dengue and *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica* 111 : 44 – 50 (2009).
- Ribeiro MMR, Lucia TMCD, Bacci L, Moreira MD, Picanço MC, Effect of plant extracts on survival of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology* 52 (2) : 387 – 398 (2008).
- Richard FJ, Mora P, Errard C, Rouland C, Digestive capacities of leaf-cutting ants and the contribution of their fungal cultivar to the degradation of plant material. *J Comp Physiol* 175 (5) : 297-303 (2005).
- Roussis V, Ampofo SA, Wiemer DF, A prenylated benzoic acid derivate from the leaves of *Piper taboganum*. *Phytochemistry* 29 (6) :1787 – 1788 (1990).

- Rupprecht JK, Hui YH, McLaughlin JL, Annonaceous acetogenins : A review. *Journal of Natural Products* 53 : 237 – 278 (1990).
- Sakharkar PR, Patil AT, Antifungal activity of *Cassia alata*. *Hamdard Medical Journal* 41 (3) : 20 – 21 (1998).
- Salmon S, Ponge JF, Earthworm excreta attract soil springtails : laboratory experiments on *Heteromurus nitidus* (Collembola : Entomobryidae). *Soil Biology & Biochemistry* 33 : 1959 – 1969 (2001).
- Salvatore A, Borkosky S, Willink E, Bardón A, Toxic Effects of Lemon Peel Constituents on *Ceratitis capitata*. *Journal of Chemical Ecology* 30 : 323 – 333 (2004).
- Santos-Oliveira MFS, Bueno OC, Marini T, Reiss IC, Bueno FC, Toxicity of *Azadirachta indica* to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology* 47 (2) : 423 – 431 (2006).
- Sauvain M, Etudes de plantes antiparasitaires du plateau des Guyanes en amazonie : antipaludiques et antileishmaniens. Thèse de doctorat, Université Paris Sud (1989).
- Schockmel C, Le contrôle chimique d'*Acromyrmex octopinosus* (Hym, Formicidae). Mise au point d'un appât attractif et toxique : étude de différentes matières actives nouvelles. Mémoire de fin d'études, Institut supérieur technique d'Outre-Mer Le Havre (1985).
- Science direct, Elsevier scientific database. <http://www.sciencedirect.com> (2010).
- Seaman FC, The Effects of Tannic Acid and Other Phenolics on the Growth of the Fungus Cultivated by the Leaf-cutting Ant, *Myrmicocrypta buenzlii*. *Biochemical Systematics and Ecology* 12 (2) : 155 – 168 (1984).
- Sen-Sung C, Hui-Ting C, Chi-Lin W, Shang-Tzen C, Anti-termite activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. *Bioresource Technology* 98 : 456 – 459 (2007).
- Sen-Sung C, Ju-Yun L, Chun-Ya L, Yen-Ray H, Mei-Chun L, Wen-Jer W, Shang-Tzen C, Terminating red imported fire ants using *Cinnamomum osmophloeum* leaf essential oil. *Bioresource Technology* 99 : 889 – 893 (2008).
- Shaaya E, Ravid U, Paster N, Juven B, Zisman U, Pissarev V, Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology* 17 : 499 – 504 (1991).
- Shetty SA, Prakash HS, Shetty HS, Efficacy of certain plant extracts against seed-borne infection of *Trichoconiella padwickii* in paddy (*Oriza sativa*). *Canadian Journal of Botany* 67 (7) : 1956 – 1958 (1989).
- Siddiqui S, Hafeez F, Begum S, Ara I, Faizi S, Siddiqui BS, Studies on the constituents of *Nerium oleander* and *Azadirachta indica*. *Studies in Natural Products Chemistry* 1988 : 497 – 528 (1988).

- Siddiqui S, Siddiqui BS, Begum S, Faizi S, Ara I, Ghiasuddin, Isolation and structure elucidation of new cytotoxic agents from Nerium oleander and chemical constituents of *Azadirachta indica* with reference to their biological activity. *Studies in Natural Products Chemistry* 9 : 293 – 311 (1991).
- Siegel S, Castellan NJ, *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*, Second Edition. McGraw-Hill, New York (1988).
- Sievers AF, Archer WA, Moore RH, Mc Govran BR, Insecticidal tests of plants from tropical America. *Journal of Economic Entomology* 42 : 549 (1949).
- Silvy C, Quantifions... le phytosanitaire. *Le Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA n°18* (1992).
- Simas NK, Ferrari SF, Pereira SN, Leitão GG, Chemical Ecological Characteristics of Herbivory of *Siparuna guianensis* Seeds by Buffy-Headed Marmosets (*Callithrix flaviceps*) in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *Journal of Chemical Ecology* 27 : 93 – 107 (2001).
- Simmonds MSJ, Stevenson PC, Porter EA, Veitch NC, Insect antifeedant activity of three new tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida*. *Journal of Natural Products* 64 : 1117 – 1120 (2001).
- Singh J, Dubey A, Tripathi N, Antifungal activity of *Mentha spicata*. *International Journal of Pharmacognosy* 32 (4) : 314 – 319 (1994).
- Singh K, Pathak R, Effect of leaves extracts of some higher plants on spore germination of *Ustilago maydes* and *U. nuda*. *Fitoterapia* 55 (5) : 318 – 320 (1984).
- Singh KV, Deshmukh SK, Volatile constituents from members of Liliaceae and spore germination of *Microsporium gypseum* complexes. *Fitoterapia* 55 (5) : 297 – 299 (1984).
- Singleton VL, Ortofer R., Lamuela-Raventos RM, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Packer L Eds *Methods in enzymology*. Orlando Academic Press London (1999).
- Somchit MN, Reezal I, Elysha Nur I, Mutalib AR, *In vitro* antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology* 84 (1) : 1 – 4 (2003).
- Soytong K, Rakvidhvasastra V, Sommartya T, Effect of some medicinal plants on growth of fungi and potential in plant disease control. Abstr 11th Conference of Science and Technology Thailand Kasetsart University, Bangkok, Thailand, 24 – 26 (1985).
- SpringerLink, Springer scientific database. <http://www.springerlink.com> (2010).
- Sreelatha T, Hymavathi A, Murthy JM, Rani PU, Rao JM, Babu KS, Bioactivity-guided isolation of mosquitocidal constituents from the rhizomes of *Plumbago capensis* Thunb. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20 : 2974 – 2977 (2010).
- Staneva J, Denkova P, Todorova M, Evstatieva L, Quantitative analysis of sesquiterpene lactones in extract of *Arnica montana* L. by 1H NMR spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* doi :10.1016/j.jpba.2010.08.018 (2010).

- Sukh D, Opende K, Insecticides of natural origin. Amsterdam, Holland : Overseas Publishers Association (1997).
- Szabo B, Lakatos A, Kiszegi T, Botz L, HPTLC and HPLC determination of alkaloids in poppies subjected to stress. *Journal of planar chromatography* 16 : 293 – 297 (2003).
- Tariq VN, Magee AC, Effect of volatiles from garlic bulb extract on *Fusarium oxysporum* F. sp. *lycopersici*. *Mycological Research* 94 (5) : 617 – 620 (1990).
- Tavares AC, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Lopes MC, Canhoto J, Salgueiro LR, Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus* : Composition, antifungal activity and cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology* 119 : 129 – 134 (2008).
- Therrien P, Behavioral ecology of the leaf-cutting ant, *Acromyrmex octospinosus* (Reich), in Guadeloupe (F.W.I). Thèse de doctorat, University of British Columbia (Canada) (1986).
- Therrien P, McNeil JN, Wellington WG, Febvay G, Ecological studies of the leafcutting ant, *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Hymenoptera : Formicidae) in Guadeloupe. In : "Fire ants and Leaf-cutting ants ; Biology and management" Lofgren C.S. & Vander Meer R.K. (Eds). Westview press Boulder (USA) 172 – 183 (1986).
- Tiwari A, Kumar L, Saxena RC, Effect of *Nicotiana tabacum* on *Tribolium castaneum*. *International Journal of Pharmaceutics* 33 : 348 – 350 (1995).
- Toral G, Évaluation *in vitro* de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Thèse de doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse (2005).
- Torregrossa JP, Febvay G, Kermarrec A, Larval instars of the worker caste in the Attine ant, *Acromyrmex octospinosus* (Hymenoptera : Formicidae). *Colemania* 1 : 141 – 147 (1982).
- Torregrossa JP, Kermarrec A, Incidence de deux Myrmicines (*Acromyrmex landolti* et *Solenopsis geminata*) sur le développement des pâturages en Guyane. *Les Colloques de l'INRA* 24 : 280 – 290 (1984).
- Traboulsi AF, Taoubi K, El-Haj S, Bessiere JM, Rammal S, Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science* 58 : 491 – 495 (2002).
- TRAMIL, Pharmacopée Végétale Caraïbienne. 2^{de} édition, Eds Josué, St Domingue, Rep. dominicaine (2007).
- Tropicos, Tropicos Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org/Name/7800722> (2011).
- UNEP (Programme des Nations Unies pour l'environnement), Projet d'évaluation de la gestion des risques : sulfonate de perfluorooctane. Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants, Comité d'étude des polluants organiques persistants (2007).

- Upadhyay RK, Rohatgi L, Chaubey MK, Jain SC, Ovipositional Responses of the Pulse Beetle, *Bruchus chinensis* (Coleoptera : Bruchidae) to Extracts and Compounds of *Capparis decidua*. *J Agric Food Chem* 54 (26) : 9747–9751 (2006).
- Vagionas K, Ngassapa O, Runyoro D, Graikou K, Gortzi O, Chinou I, Chemical analysis of edible aromatic plants growing in Tanzania. *Food Chemistry* 105 : 1711 – 1717 (2007).
- Vaijayanthimala J, Anandi C, Udhaya V, Pugalendi KV, Anticandidal activity of certain South Indian medicinal plants. *Phytotherapy Research* 14 (3) : 207 – 209 (2000).
- Valmir Santos A, Lorenz de Oliveira B, Samuels RI, Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid : perspectives for the control of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera : Formicidae). *Mycopathologia* 163 : 233 – 240 (2007).
- Van Puyvelde L, Geysen D, Ayobangira FX, Hakizamungu E, Nshimiyimana A, Kalisa A, Screening of medicinal plants of Rwanda for acaricidal activity. *Journal of Ethnopharmacology* 13 : 209 – 215 (1985).
- Vázquez BI, Fente C, Franco CM, Vázquez MJ, Cepeda A, Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. *International Journal of Food Microbiology* 67 : 157 – 163 (2001).
- Vencl FV, Morton TC, Mumma RO, Schultz JC, Shield Defense of a Larval Tortoise Beetle. *Journal of Chemical Ecology* 25 : 549 – 566 (1999).
- Ventura J, Belmares R, Aguilera-Carbo Gutiérrez-Sanchez A, Rodriguez-Herrera R, Aguilar CN, Fungal biodegradation of tannins from Crosote bush (*Larrea tridentata*) and tar bush (*Flourensia cernua*) for gallic and ellagic acid production. *Food Technology and Biotechnology* 46 (2) : 213 – 217 (2008).
- Verza SS, Forti LC, Matos CAO, Garcia MG, Nagamoto NS, Attractiveness of *Citrus* Pulp and Orange Albedo Extracts to *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology* 47 (2) : 1 – 9 (2006).
- Victor SR, Crisostomo FR, Bueno FC, Pagnocca FC, Fernandes JB, Correa AG, Bueno OC, Hebling MJA, Bacci MJr, Vieira PC, da Silva MFGF, Toxicity of synthetic piperonyl compounds to leaf-cutting ants and their symbiotic fungus. *Pest Management Science* 57 : 603 – 608 (2001).
- Vokou D, Tziolas M, Bailey SER, Essential-Oil-Mediated Interactions Between Oregano Plants and *Helicidae* Grazers. *Journal of Chemical Ecology* 24 : 1187 – 1202 (1998).
- Waliwitiya R, Kennedy CJ, Lowenberger CA, Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science* 65 : 241–248 (2009).
- Weber NA, The fungus growing ants. *Science* 153 : 587 – 604 (1966).

- Wiley, Wiley-Blackwell international publishing business of John Wiley & Sons. <http://onlinelibrary.wiley.com> (2010).
- Wilson RH, Poley GW, DeEds F, Some pharmacologic and toxicologic properties of tomatine and its derivatives. *Toxicology and Applied Pharmacology* 3 (1) : 39 – 48 (1961).
- Woo-Chul J, Young-Su J, Tran Trung H, Chong-Kyu L, Young-Joon A, Toxicity of *Myristica fragrans* Seed Compounds Against *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae). *Journal of Medical Entomology* 44 (3) : 524 – 529 (2007).
- Xu H, He XQ, Natural products-based insecticidal agents 6. Design, semisynthesis, and insecticidal activity of novel monomethyl phthalate derivatives of podophyllotoxin against *Mythimna separata* Walker *in vivo*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20 : 4503 – 4506 (2010).
- Yamaguchi K, Suzuki T, Katayama A, Sasa M, Iida S, Insecticidal action of Japanese plants. II. A general method of detecting effective fractions and its application to 24 species of insecticidal plants. *Botyu Kagaku* 15 : 62 – 70 (1950).
- Yang H, Jiang B, Reynertson KA, Basile MJ, Kennelly EJ, Comparative Analyses of Bioactive Mammalian Coumarins from Seven Parts of *Mammea americana* by HPLC-PDA with LC-MS. *J Agric Food Chem* 54(12) : 4114–4120 (2006).
- Yin MC, Chen WS, Inhibition of *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus* by some herbs and spices. *Journal of Food Protection* 61 (1) : 123 – 125 (1998).
- Yin MC, Tsao SM, Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology* 49 (1/2) : 49 – 56 (1999).
- Zak B, Luz DA, Fisher M, Determination of serum cholesterol. *American Journal of Medical Technology* 23 : 283 (1957).
- Zhao SH, Zhang X, On the antifeedant and toxicities of natural organic insecticides against snout moth's larva of rice. *China Journal of Agricultural Sciences* 2 : 55 – 60 (1982).
- Zhu BCR, Henderson G, Chen F, Fei H, Laine RA, Evaluation of Vetiver Oil and Seven Insect-Active Essential Oils Against the Formosan Subterranean Termite. *Journal of Chemical Ecology* 27 : 1617 – 1625 (2001).
- Zhu BCR, Henderson G, Sauer AM, Yu Y, Crowe W, Laine RA, Structure–Activity of Valencenoid Derivatives and Their Repellence to the Formosan Subterranean Termite. *Journal of Chemical Ecology* 29 : 2695 – 2701 (2003).
- Zhu BCR, Henderson G, Yu Y, Laine RA, Toxicity and Repellency of Patchouli Oil and Patchouli Alcohol against Formosan Subterranean Termites *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera : Rhinotermitidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 : 4585 – 4588 (2003).

Annexe A

Cartes de la répartition géographique des *Attines* et d'*Acromyrmex octospinosus*



FIGURE 56 – Distribution géographique des Attines (*Atta* sp et *Acromyrmex* sp).

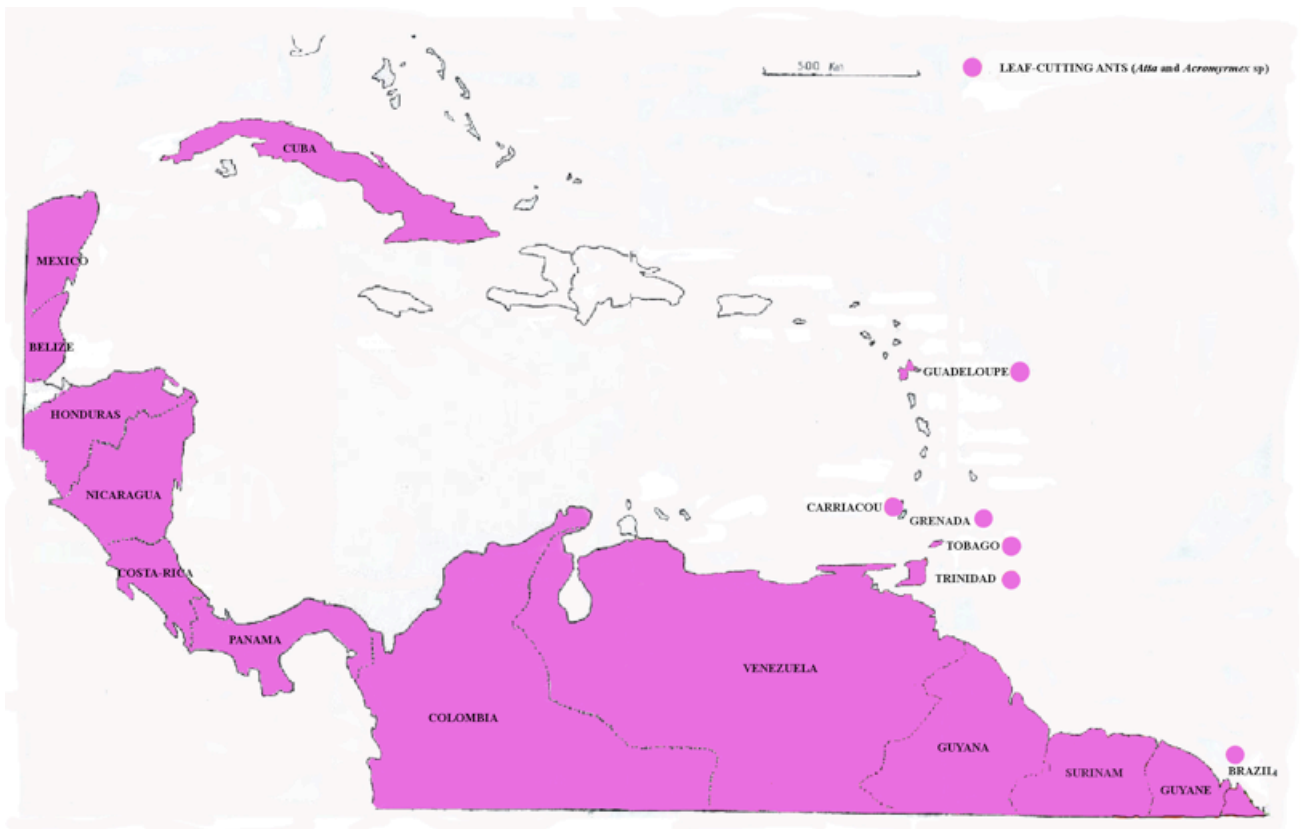


FIGURE 57 – Distribution des Attines (*Atta* sp et *Acromyrmex* sp) dans la zone Caraïbe



FIGURE 58 – Distribution d'*Acromyrmex octospinosus* Reich. dans la zone Caraïbe

Annexe B

Photothèque des plantes à usages insecticides et antifongiques utilisées



FIGURE 59 – Photo de *Mammea americana* L. (abricot pays)

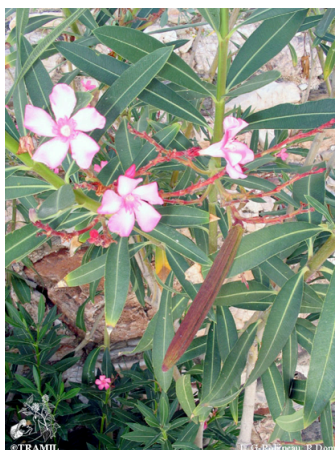


FIGURE 60 – Photo de *Nerium oleander* L. (laurier rose)



FIGURE 61 – Photo de *Nicotiana tabacum* L. (tabac)



FIGURE 62 – Photo de *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. (cachiman morveux)



FIGURE 63 – Photo de *Trichilia pallida* Sw. (bois de fer batard)



FIGURE 64 – Photo d'*Allium cepa* L. (oignon)



FIGURE 65 – Photo d'*Allium sativum* L. (ail)



FIGURE 66 – Photo de *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate)

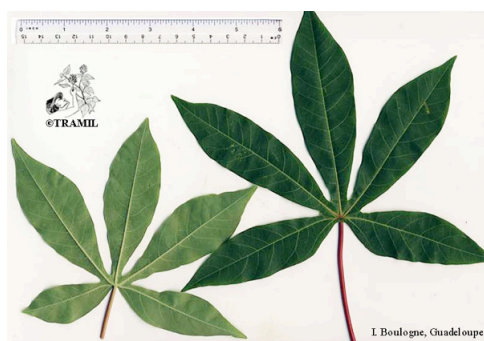


FIGURE 67 – Photo de *Manihot esculenta* Crantz (manioc)



FIGURE 68 – Photo de *Senna alata* (L.) Roxb. (darterrier)

Annexe C

Exemples de calculs de régression logistique

Dose létale *Mammea americana*

Modèle : Probit

Type de réponse : Somme(Binaire)

Intervalle de confiance (%) : 95

Conditions d'arrêt : Itérations = 100 / Convergence = 0,0001

Maximisation de la fonction de vraisemblance en utilisant l'algorithme de Newton-Raphson

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	avec données manquans	données man	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Mortalité	51	0	51	0,500	10,000	6,212	2,527
Dose lyoph (ug)	51	0	51	458,333	27210,000	9563,431	6783,041

Coefficients d'ajustement (Variable Mortalité) :

Statistique	Indépendant	Complet
Observations	510	510
Somme des poids	510,000	510,000
DDL	509	508
-2 Log(Vraisemblance)	676,722	544,689
R ² (McFadden)	0,000	0,195
R ² (Cox and Snell)	0,000	0,228
R ² (Nagelkerke)	0,000	0,310
AIC	678,722	548,689
SBC	682,956	557,158
Itérations	0	6

Test de l'hypothèse nulle H0 : Y=0,621 (Variable Mortalité)

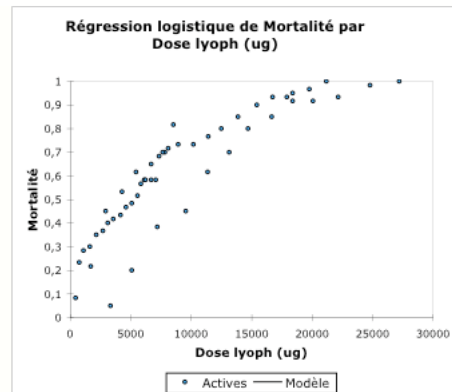
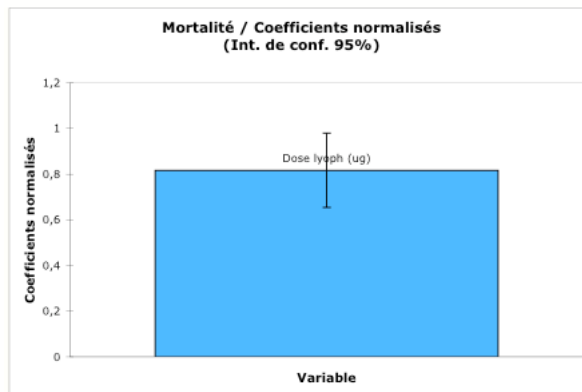
Statistique	DDL	Khi ²	Pr > Khi ²
-2 Log(Vraisemblance)	1	132,033	< 0,0001
Score	1	126,753	< 0,0001
Wald	1	96,391	< 0,0001

Analyse de Type III (Variable Mortalité)

Source	DDL	Khi ² (Wald)	Pr > Wald	Khi ² (LR)	Pr > LR
Dose lyoph (ug)	1	96,391	< 0,0001	132,033	< 0,0001

Equation du modèle (Variable Mortalité) :

Mortalité = XLSTAT_CDFNormal(-0,705500494930374+0,000120467345714395*Dose lyoph (ug))



Analyse des probabilités après ajustement du modèle (Variable Mortalité) :

Probabilité	Dose lyoph (ug)	Borne inf 95%	Borne sup 95%
0,01	-13454,662	-18812,740	-9839,772
0,05	-7797,575	-11787,168	-5081,550
0,10	-4781,803	-8056,432	-2530,388
0,20	-1129,939	-3568,205	588,270
0,30	1503,312	-373,467	2878,631
0,40	3753,327	2296,849	4895,131
0,50	5856,363	4695,573	6877,060
0,60	7959,398	6940,270	9013,017
0,70	10209,414	9147,981	11492,121
0,80	12842,665	11552,514	14572,687
0,90	16494,528	14737,685	18994,402
0,95	19510,301	17313,128	22700,856
0,99	25167,387	22091,884	29705,894

Concentration inhibitrice Manihot esculenta

Modèle : Probit
 Type de réponse : Somme(Binaire)
 Intervalle de confiance (%) : 95
 Conditions d'arrêt : Itérations = 100 / Convergence = 1e-06
 Maximisation de la fonction de vraisemblance en utilisant l'algorithme de Newton-Raphson

Statistiques descriptives :

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
Pourcentage inhibiti	4	0,000	100,000	60,667	38,124
Concentration	4	0,000	2000,000	875,000	740,436

Coefficients d'ajustement (Variable Pourcentage inhibition) :

Statistique	Indépendant	Complet
Observations	400	400
Somme des poids	400,000	400,000
DDL	399	398
-2 Log(Vraisemblance)	536,171	245,075
R ² (McFadden)	0,000	0,543
R ² (Cox and Snell)	0,000	0,517
R ² (Nagelkerke)	0,000	0,700
AIC	538,171	249,075
SBC	542,163	257,057
Itérations	0	6

Test de l'hypothèse nulle H0 : Y=0,607 (Variable Pourcentage inhibition)

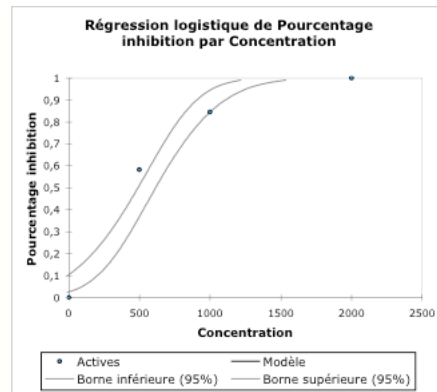
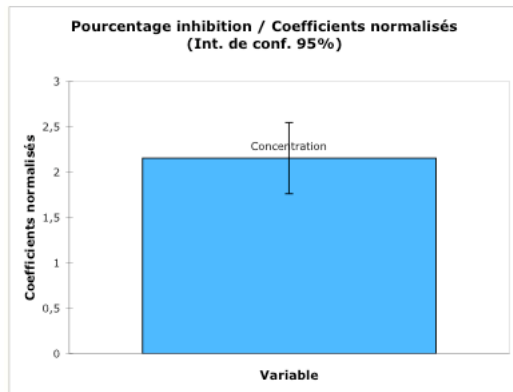
Statistique	DDL	Khi ²	Pr > Khi ²
-2 Log(Vraisemblance)	1	291,097	< 0,0001
Score	1	209,132	< 0,0001
Wald	1	115,511	< 0,0001

Analyse de Type III (Variable Pourcentage inhibition)

Source	DDL	Khi ² (Wald)	Pr > Wald	Khi ² (LR)	Pr > LR
Concentration	1	115,511	< 0,0001	291,097	< 0,0001

Equation du modèle (Variable Pourcentage inhibition) :

Pourcentage inhibition = XLSTAT_CDFNormal(-1,61125120644889+0,00291196872167376*Concentration)



Analyse des probabilités après ajustement du modèle (Variable Pourcentage inhibition) :

Probabilité	Concentration	Borne inf 95%	Borne sup 95%
0,01	-245,572	-439,685	-107,596
0,05	-11,539	-157,771	94,656
0,10	113,222	-8,885	203,876
0,20	264,299	168,836	338,703
0,30	373,236	293,907	439,001
0,40	466,318	397,429	528,048
0,50	553,320	490,360	615,106
0,60	640,322	579,056	706,400
0,70	733,405	669,545	808,480
0,80	842,342	771,001	932,394
0,90	993,418	906,738	1109,204
0,95	1118,180	1016,367	1257,681
0,99	1352,212	1219,011	1539,204

Annexe D

Etude préliminaire en conditions naturelles de l'activité de nids de fourmis en fonction de conditions pédoclimatiques contrastées

D.1 Les conditions pédoclimatiques choisies

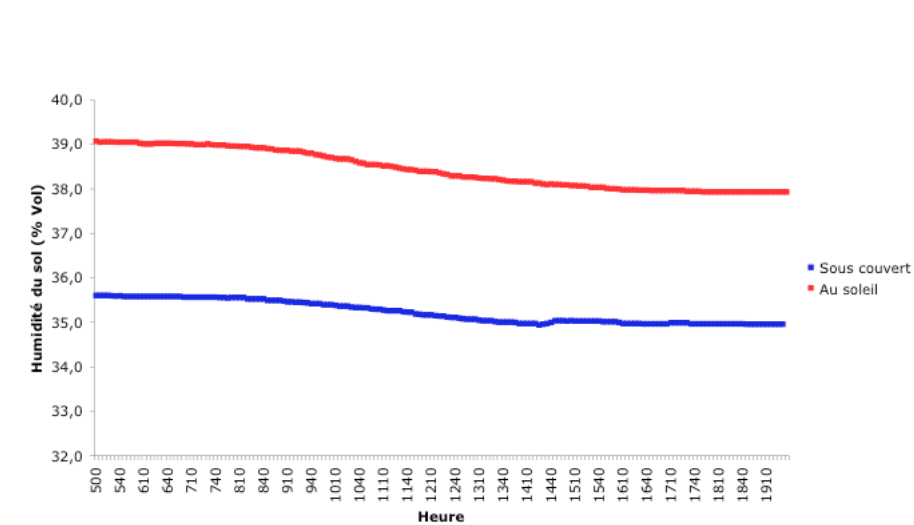


FIGURE 69 – Humidité du sol en % par volume de sol.

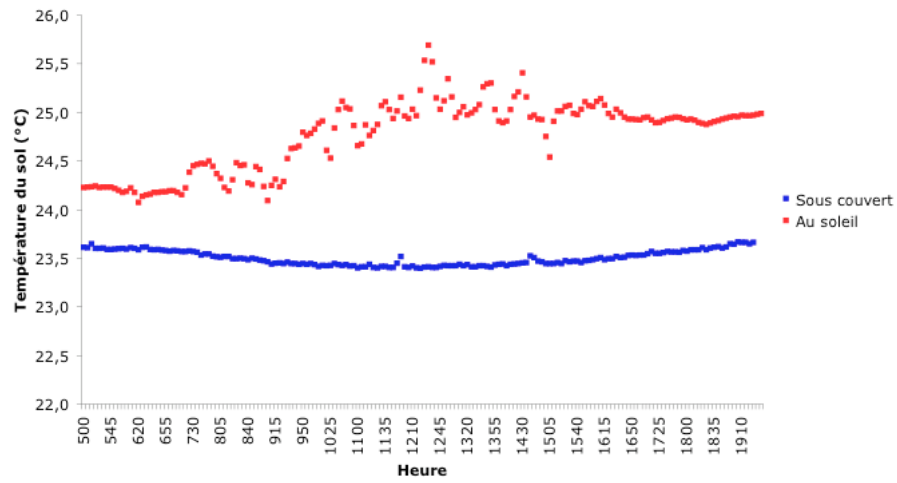


FIGURE 70 – Température du sol (°C).

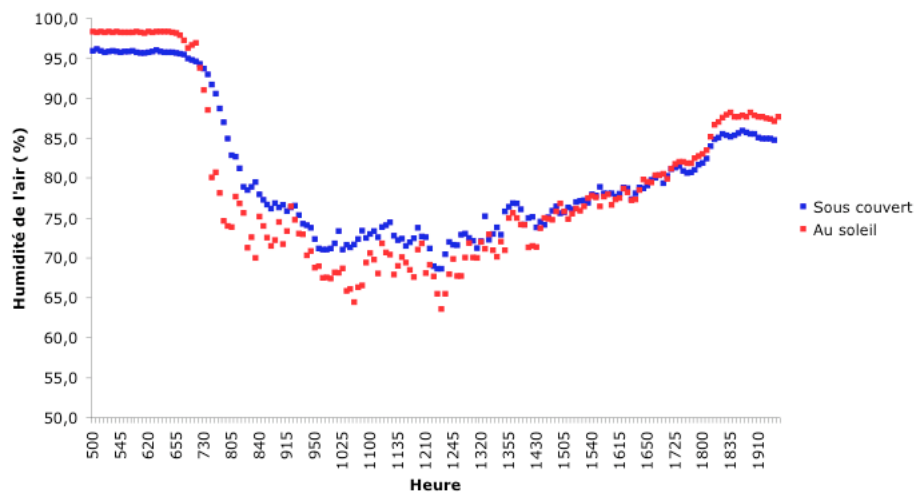


FIGURE 71 – Humidité de l'air en %.

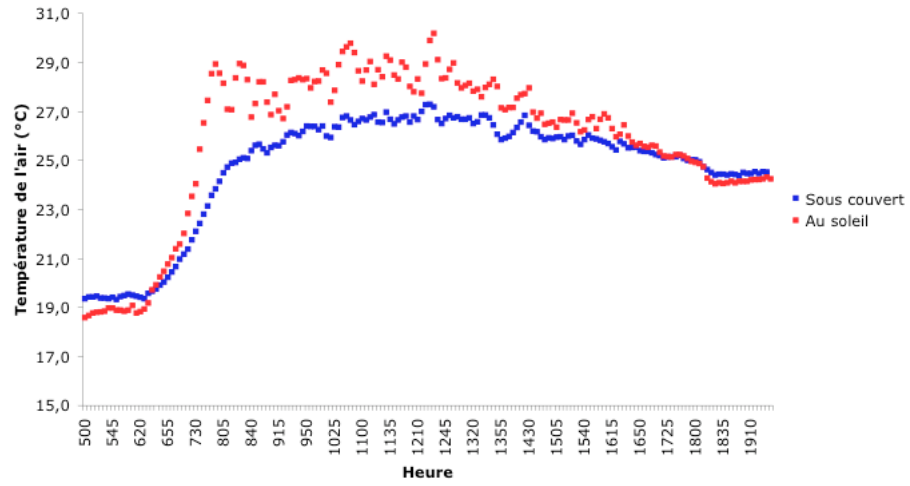


FIGURE 72 – Température de l'air en °C.

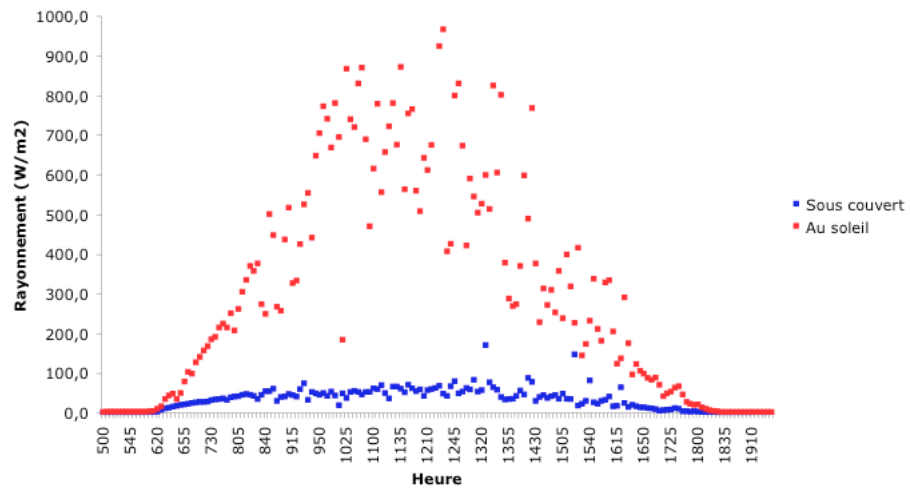


FIGURE 73 – Flux solaire global en W/m².

D.2 L'activité des nids

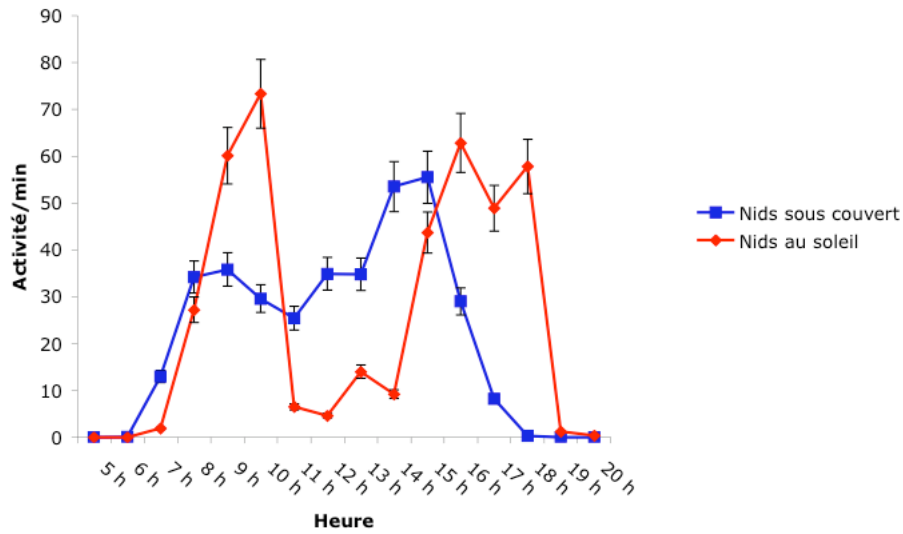


FIGURE 74 – Mesures moyennes de l'activité (nombre de fourmis entrantes /minute) de 5h à 20h de quatre nids localisés en plein soleil et sous couvert arboré (deux nids pour chaque condition).

D.3 Les corrélations activité des nids/conditions pédoclimatiques

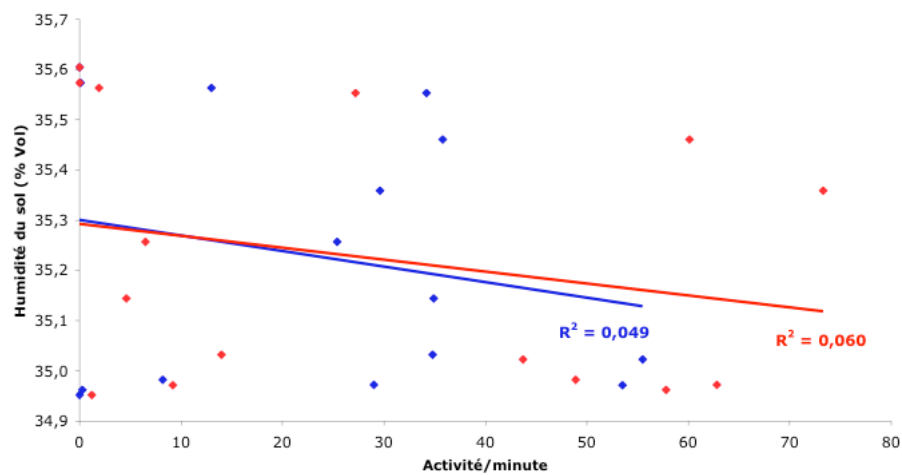


FIGURE 75 – Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité du sol en % par volume de sol.

La figure 75 illustre les activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité du sol en % par volume de sol. Les nuages de points, régressions linéaires et coefficients de corrélation en bleu correspondent au nid sous couvert et en rouge au nid au soleil. Cette figure indique qu'il n'y a pas de corrélation entre l'activité des fourmis et l'humidité du sol ($R^2=0,06$ et $0,049$).

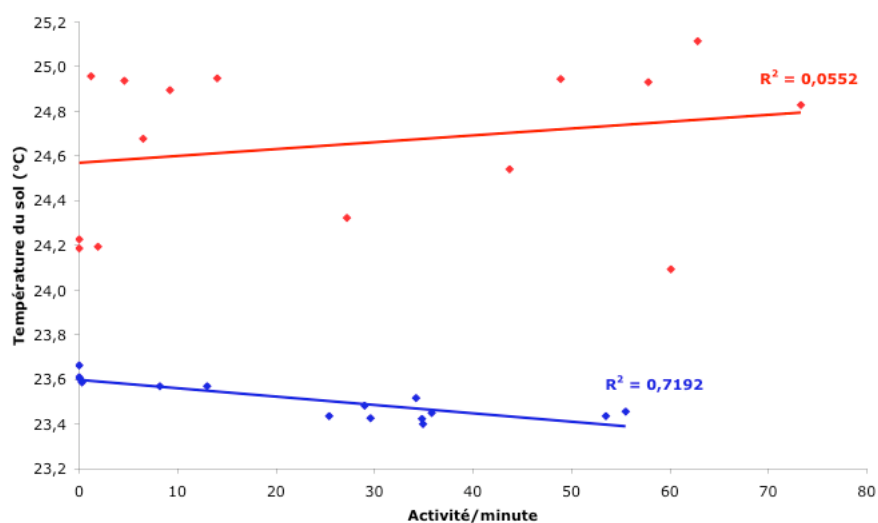


FIGURE 76 – Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température du sol en °C.

La figure 76 illustre les activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température du sol en °C. Les nuages de points, régressions linéaires et coefficients de corrélation en bleu correspondent au nid sous couvert et en rouge au nid au soleil. Cette figure indique il y a une corrélation entre l'activité des fourmis et la température du sol pour le nid sous couvert ($R^2=0,7192$). En revanche, il n'y a pas de corrélation pour le nid au soleil ($R^2=0,0552$).

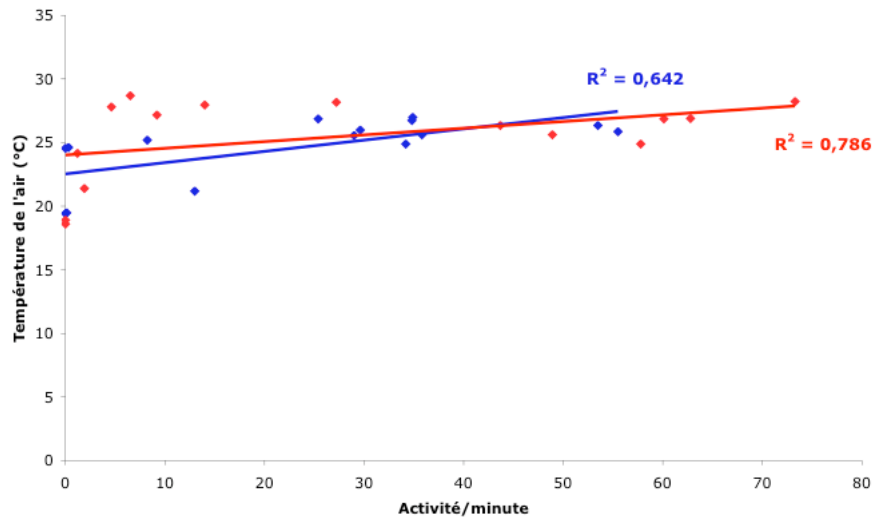


FIGURE 77 – Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température de l'air en °C.

La figure 77 illustre les activités de fourmis entrantes par minute en fonction de la température de l'air en °C. Les nuages de points, régressions linéaires et coefficients de corrélation en bleu correspondent au nid sous couvert et en rouge au nid au soleil. Cette figure indique il y a une corrélation entre l'activité des fourmis et la température de l'air ($R^2=0,786$ et $0,0642$).

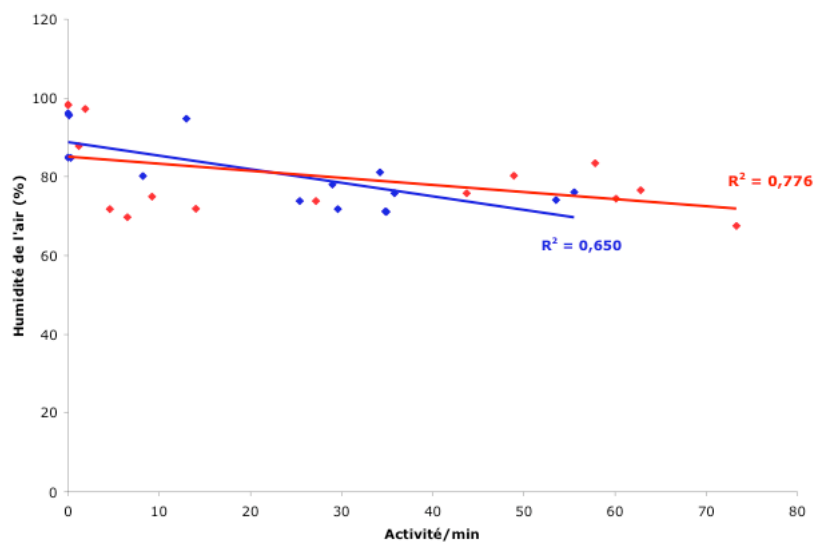


FIGURE 78 – Activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité de l'air en %.

La figure 78 illustre les activités de fourmis entrantes par minute en fonction de l'humidité de l'air en %. Les nuages de points, régressions linéaires et coefficients de

corrélation en bleu correspondent au nid sous couvert et en rouge au nid au soleil. Cette figure indique il y a une corrélation entre l'activité des fourmis et l'humidité de l'air ($R^2=0,776$ et $0,650$).

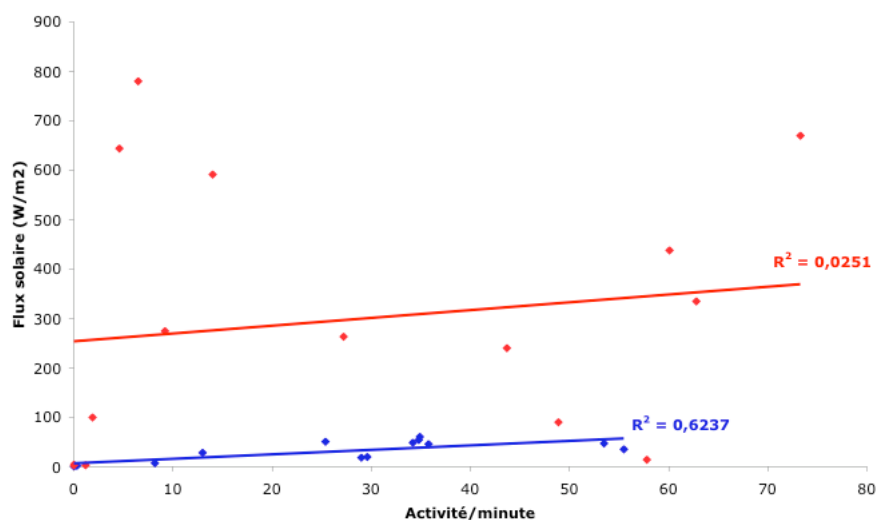


FIGURE 79 – Activités de fourmis entrantes par minute en fonction du flux solaire en W/m^2 .

La figure 79 illustre les activités de fourmis entrantes par minute en fonction du rayonnement en W/m^2 . Les nuages de points, régressions linéaires et coefficients de corrélation en bleu correspondent au nid sous couvert et en rouge au nid au soleil. Cette figure indique qu'il y a une corrélation entre l'activité des fourmis et le flux solaire pour le nid sous couvert ($R^2=0,6237$). En revanche, il n'y a pas de corrélation pour le nid au soleil ($R^2=0,0251$).

Les figures précédentes indiquent qu'il existe une différence d'activité entre les nids situés au soleil comparés aux nids sous couvert arboré. De plus, il pourrait exister une corrélation linéaire entre cette activité et la température et ainsi que l'humidité de l'air quelque soit les conditions d'exposition des nids. En revanche, il n'y a pas de corrélation entre l'humidité du sol et l'activité des fourmis. Enfin, il existe une corrélation entre l'activité et la température du sol et entre l'activité et le rayonnement pour les nids sous couvert uniquement.

Ces essais préliminaires ont permis de mettre en évidence des comportements différents du point de vue de l'activité en fonction de la localisation des nids et de conditions pédoclimatiques. Une telle information, si elle est avérée par d'autres observations de terrain, permettrait de mieux connaître les heures les favorables aux dépôts des appâts et ainsi d'optimiser la lutte en conditions naturelles.

Annexe E

Les composés chimiques
insecticide et antifongique
d'origine naturelle, les espèces
végétales et sélection d'espèces
végétales d'intérêt à tester sur *A.*
octospinosus et *L. gongylophorus*

Molécules végétales présentant une activité insecticide et antifongique, certains insectes et champignons sur lesquels elles ont été testées et les méthodes d'extraction et d'identification les plus citées dans la littérature.

Molécules	Insectes	Champignons	Extraction	Identification
Anéthole (Composés phénoliques)	Spodoptera litura (Akhtar & Isman, 2003), Blattella germanica (Chang & Ahn, 2002)	Aspergillus parasiticus (Karapinar, 1990)	hydro-distillation (Osei-Safo et al., 2010)	GC-MS (Osei-Safo et al., 2010)
Anisaldéhyde (Composés phénoliques)	Lycoriella ingenua (Park et al., 2006)	Penicillium expansum (Neri et al., 2005)	hydro-distillation (Park et al., 2006)	GC-MS (Park et al., 2006)
Anonaine (Alcaloïdes)	Macrosiphum solanifolii (Harper et al., 1947), Callosobruchus chinensis (Kotkar et al., 2002)	Candida spp (Agnihotri et al., 2008)	hexane et méthanol (Simas et al., 2001)	HPTLC et HPLC (Simas et al., 2001)
Caryophyllène oxide (Terpénoïdes)	Coptotermes formosanus (Cheng et al., 2004)	Lenzites betulina, Pycnoporus coccineus, Trametes versicolor, Laetiporus sulphureus (Cheng et al., 2004)	hydro-distillation (Cheng et al., 2004)	GC-MS (Cheng et al., 2004)
Cinnamaldéhyde (Terpénoïdes)	Callosobruchus maculatus Hubert et al., 2008 ; Islam et al., 2009), Coptotermes formosanus (Zhu et al., 2001)	Malassezia furfur, Candida albicans (Ferhout et al., 1999)	hydro-distillation (Islam et al., 2009)	GC-MS (Islam et al., 2009)
Elémicine (Composés phénoliques)	Coléoptères (Paneru et al., 1997)	Ascomycètes, dermatophytes and Aspergillus spp (Tavares et al., 2008)	hydro-distillation (Tavares et al., 2008)	GC-MS (Tavares et al., 2008)
Eugénol (Terpénoïdes)	Tribolium castaneum, Sitophilus sp, Oryzaephilus sp (Huang et al., 2002) Periplaneta americana (Ngho et al., 1998)	Basidiomycetes, Candida spp, Penicillium sp et autres dermatophytes (Vasquez et al., 2001; Gayoso et al., 2005; Cheng et al., 2008; Jianhua & Hai, 2001)	méthanol (Zhu et al., 2001; Borg-Karlson et al., 2006)	GC-MS (Zhu et al., 2001; Borg-Karlson et al., 2006)
Hélénaline (Terpénoïdes)	vecteur de la maladie de Chagas (Maya et al., 2007)	Ascomycètes (Picman, 1984)	chloroforme (Staneva et al., 2010)	GC-MS et NMR (Staneva et al., 2010)
Isopimpinéline (Composés phénoliques)	Spodoptera littoralis (Hadacek et al., 1994)	Cladosporium herbarum, Botrytis cinerea, Alternaria brassicicola, Dreschslera sorkiniana, Alternaria spp, Bipolaris spp et Fusarium spp (Al-Barwani & Eltayeb, 2004)	éther de pétrole ou hexane-diéthyl éther-méthanol (Hadacek et al., 1994)	HPTLC et HPLC (Hadacek et al., 1994; Al-Barwani & Eltayeb, 2004)
Linalool (Terpénoïdes)	coléoptères (Shaaya et al., 1991), Ceratitis capitata (Salvatore et al., 2004), Culex pipiens molestus (Traboulsi et al., 2002)	Aspergillus, Cladosporium, Penicillium, Trichoderma, Chaetomium, Paecilomyces et Stachybotrys spp (Rakotonirainy & Lavedrine, 2005)	éthanol (Keszei et al., 2010)	GC-MS (Keszei et al., 2010)
Menthone (Terpénoïdes)	Tribolium castaneum, Sitophilus oryzae, Oryzaephilus surinamensis, Musca domestica, Blattella germanica (Lee et al., 2003)	Fusarium verticillioides (Dambolena et al., 2008), Botrytis spp., Sclerotinia spp. (Martinez-Romero et al., 2008), Botrytis cinerea, Fusarium solani, Clavibacter michiganensis (Daferera et al., 2003)	hydro-distillation (Daferera et al., 2003)	GC-MS (Daferera et al., 2003; Lee et al., 2001)

Myristicine (Terpénoïdes)	Musca sp, Tribolium sp, chenilles (Dussourd, 2003), Brontispa longissima (Qin et al., 2010)	Gaeumannomyces graminis (Monsalvez et al., 2010)	hydro-distillation (Monsalvez et al., 2010; Qin et al., 2010)	GC-MS (Monsalvez et al., 2010; Qin et al., 2010)
Plumbagine (Composés phénoliques)	termite, Odontotermes obesus (Ganapaty et al., 2004; Adfa et al., 2010), larve de Aedes aegypti (Sreelatha et al., 2010)	Aspergillus fumigatus, Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Candida parapsilosis, Candida tropicalis, C. albicans, C. neoformans, T. mentagrophytes, S. schenckii, Trichoderma viride, Microsporium gypseum, Absidia ramosa, Pseudallescheria boydii, Saccharomyces (Mishra et al., 2010)	chloroforme (Ganapaty et al., 2004), éther de pétrole et éthanol (Mishra et al., 2010)	NMR (Ganapaty et al., 2004)
Podophyllotoxine (Composés phénoliques)	Drosophila melanogaster, Plutella xylostella, Culex pipiens pallens, Bombyx mori, Pieris rapae (Di et al., 2010), Mythimna separata (Xu & He, 2010), larve de Pieris rapae (Gao et al., 2004)	Aspergillus niger, Geotrichum flavo-bnmneum, Microspotum canis, Fusarium culmorum, Trichophyton erinacei (Figgitt et al., 1989)	hydro-distillation (Gawde et al., 2009)	HPLC (Gawde et al., 2009)
Psoralen (Composés phénoliques)	Spodoptera exigua (Diawara et al., 1993)	Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Penicillium digitatum, Penicillium italicum (Asthana et al., 1993), Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Microsporium gypseum, Pseudallescheria boydii, Rhizopus sp., Trichophyton mentagrophytes, Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Wangiella dermatitidis (Bafi-Yebo et al., 2005)	éthanol (Bafi-Yebo et al., 2005)	HPLC (Bafi-Yebo et al., 2005)
Pulégone (Terpénoïdes)	Tribolium sp, Sitophilus sp, Oryzaephilus sp, Musca domestica, Blattella germanica (Dancewicz et al., 2008), Aedes aegypti (Waliwitiya et al., 2009)	Ascomycota sp (Dancewicz et al., 2008)	hydro-distillation (Vagionas et al., 2007)	GC-MS (Vagionas et al., 2007)
Solamargine (Alcaloïdes)	moustiques (Ribeiro et al., 2009), Macrosiphum euphorbiae (Güntner et al., 2000)	Ascomycetes (Fewell et al., 1994)	méthanol (Vencl et al., 1999)	HPLC (Hall et al., 2006)
Tomatine (Alcaloïdes)	Macrosiphum euphorbiae Güntner et al., 2000), Leptinotarsa decemlineata (Mitchell & Harrison, 1985) Melanopus bivittatus, Heliothis zea, Hyposoter exiguae, Spodoptera	Fusarium solani, Nomuraea rileyi (Gallardo et al., 1990), Fusarium oxysporum (Ito et al., 2007)	éthanol (Nenaah, 2010)	HPTLC, NMR and MS (Nenaah, 2010)

	exigua (Bloem et al., 1989), Tribolium castaneum, Sitophilus oryzae (Nenaah, 2010)			
Thymol (Terpénoides)	Tribolium sp, Musca domestica, Blattella sp, termite (Zhu et al., 2003), Culex pipiens molestus (Traboulsi et al., 2002)	champignons phytopathogènes (Kordali et al., 2008), Penicillium sp (Vasquez et al., 2001) and Candida sp (Braga et al., 2008)	hydro-distillation (Vokou et al., 1998)	GC-MS (Vokou et al., 1998)
Xanthotoxine (Composés phénoliques)	Spodoptera litura, S. exigua, Trichoplusia ni (Akhtar and Isman, 2004)	Cladosporium herbarum, Botrytis cinerea, Alternaria brassicicola, Dreschlera sorkiniana, Fusarium spp, Alternaria spp (Al-Barwani & Eltayeb, 2004)	éther de pétrole ou hexane-diéthyl éther-méthanol (Hadacek et al., 1994)	HPLC (Hadacek et al., 1994)

Familles botaniques, espèces végétales et les molécules qu'elles contiennent possédant les activités insecticides et antifongiques. En gras, les 19 plantes à tester en priorité sur la fourmi et son symbiote fongique contenant 4 à 7 de ces molécules.

Familles botaniques	Espèces végétales	Molécules
Acoraceae	Acorus calamus L.	eugenol, elemicin, menthone
Amaranthaceae	Chenopodium album L.	xanthotoxin
Amaryllidaceae	Narcissus tazetta L.	eugenol
	Polianthes tuberosa L.	eugenol
Annonaceae	Annona cherimola Mill.	anonaine
	Annona glabra L.	anonaine
	Annona montana L.	anonaine
	Annona reticulata L.	anonaine
	Annona squamosa L.	anonaine
	Cananga odorata (Lam.) Hook. f. & Thomson	eugenol
	Rollinia mucosa (Jacq.) Baill.	anonaine
Apiaceae	Ammi majus L.	xanthotoxin, isopimpinellin
	Ammi visnaga (L.) Lam.	xanthotoxin, isopimpinellin
	Anethum graveolens L.	eugenol, elemicin, myristicin, anethole
	Angelica archangelica L.	xanthotoxin, psoralen, isopimpinellin
	Angelica dahurica Benth & Hook.	xanthotoxin, psoralen
	Apium graveolens L.	eugenol, thymol, menthone, myristicin, xanthotoxin, psoralen, isopimpinellin
Apiaceae	Carum carvi L.	myristicin
	Coriandrum sativum L.	myristicin, psoralen
	Cuminum cyminum L.	eugenol, caryophyllene oxide, anisaldehyde
	Daucus carota L.	eugenol, elemicin, caryophyllene oxide, myristicin, isopimpinellin, psoralen, xanthotoxin
	Ferula alliacea Boiss.	isopimpinellin
	Ferula assa-foetida L.	isopimpinellin

	Foeniculum vulgare Miller	myristicin, anisaldehyde, isopimpinellin, psoralen, xanthotoxin
	Glehnia littoralis F. Schmidt & Miquel	psoralen, xanthotoxin
	Heracleum laciniatum	isopimpinellin
	Heracleum lanatum Michx.	isopimpinellin
	Levisticum officinale W.D.J. Koch	eugenol, myristicin, psoralen
	Oenanthe aquatica (L.) Poir.	myristicin
	Oenanthe crocata L.	myristicin
	Oenanthe javanica (Blume) DC.	eugenol, myristicin
	Pastinaca sativa L.	myristicin, isopimpinellin, psoralen, xanthotoxin
	Petroselinum crispum (Mill.) Fuss	elemicin, myristicin, isopimpinellin, psoralen, xanthotoxin
Apiaceae	Pimpinella anisum L.	eugenol, myristicin, anisaldehyde
	Trachyspermum ammi (L.) Sprague	thymol
Aristolochiaceae	Asarum canadense L.	elemicin
	Asiasarum heterotropoides (F. Schmidt) F. Maek.	elemicin
Asparagaceae	Hyacinthus orientalis L.	eugenol, cinnamaldehyde
Asteraceae	Achillea millefolium L.	eugenol
	Ageratum conyzoides L.	eugenol, caryophyllene oxide
	Arnica montana L.	helenalin, thymol
	Artemisia annua L.	caryophyllene oxide
	Artemisia capillaris Thunb.	eugenol
	Artemisia dracunculus L.	eugenol, menthone, anethole, anisaldehyde
	Artemisia herba-alba Asso.	thymol
	Cnicus benedictus L.	cinnamaldehyde
	Cynara cardunculus subsp. cardunculus L.	eugenol
	Eupatorium perfoliatum L.	helenalin
	Helianthus annuus L.	eugenol
	Helichrysum angustifolium DC.	eugenol
	Inula helenium L.	helenalin
	Saussurea lappa C. B. Clarke	caryophyllene oxide
Berberidaceae	Podophyllum hexandrum Royle	podophyllotoxin
	Podophyllum peltatum L.	podophyllotoxin
	Podophyllum pleianthum L.	podophyllotoxin
Bursерaceae	Boswellia sacra Flueck	anisaldehyde

	Canarium indicum L.	elemicin, anethole
	Commiphora myrrha (T. Nees) Engl.	eugenol, cinnamaldehyde
Cannabaceae	Humulus lupulus L.	eugenol, caryophyllene oxide
Cistaceae	Cistus ladaniferus L.	eugenol
	Juniperus communis L.	caryophyllene oxide
Cucurbitaceae	Citrullus colocynthis (L.) Schrad.	anethole, anisaldehyde
Cupressaceae	Juniperus sabina L.	podophyllotoxin
	Juniperus virginiana L.	elemicin, podophyllotoxin
Droseraceae	Dionaea muscipula E.	plumbagin
Ericaceae	Vaccinium corymbosum L.	eugenol, pulegone, thymol, myristicin
	Vaccinium macrocarpon Aiton	eugenol, anisaldehyde
Euphorbiaceae	Croton eluteria (L.) W. Wright	eugenol
Fabaceae	Acacia farnesiana (L.) Willd.	eugenol, anisaldehyde
	Copaifera spp	caryophyllene oxide
	Glycyrrhiza glabra L.	eugenol, thymol, anethole, xanthotoxin
	Myroxylon balsamum (L.) Harms	eugenol, cinnamaldehyde
	Psoralea corylifolia L.	psoralen
	Tamarindus indica L.	cinnamaldehyde
	Trifolium pratense L.	eugenol
Geraniaceae	Pelargonium graveolens L'Hér.	eugenol, menthone
Ginkgoaceae	Ginkgo biloba L.	thymol
Iridaceae	Iris x germanica L.	eugenol
Juglandaceae	Juglans regia L.	eugenol
Lamiaceae	Acinos alpinus var. meridionalis (Nyman) P. W. Ball	caryophyllene oxide
	Acinos suaveolens G. Don	pulegone, thymol, menthone
	Agastache foeniculum (Pursh) Kuntze	anisaldehyde
	Agastache pallidiflora (A. Heller) Rydb.	pulegone, menthone
	Agastache rugosa (Fischer & C. Meyer) Kuntze	anisaldehyde
	Agastache urticifolia (Benth.) Kuntze	pulegone, menthone
	Calamintha nepeta (L.) Savi	pulegone, menthone
	Calamintha nepeta subsp. glandulosa (Req.) P.W. Ball	eugenol, pulegone, thymol, menthone
	Collinsonia canadensis L.	elemicin
	Coridothymus capitatus (L.) Rechb. f.	thymol
	Cunila origanoides (L.) Britton	thymol

	Dracocephalum thymiflorum L.	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
	Elsholtzia blanda (Benth.) Benth.	eugenol
	Elsholtzia eriostachya var. pusilla	caryophyllene oxide
	Elsholtzia pilosa (Benth.) Benth.	thymol
	Elsholtzia polystachya Benth.	thymol
	Galeopsis tetrahit L.	caryophyllene oxide
	Hedeoma drummondii Benth.	pulegone, menthone
	Hedeoma pulegioides (L.) Pers.	pulegone, menthone
	Hyptis suaveolens (L.) Poit.	thymol, caryophyllene oxide
	Hyptis verticillata Jacq.	podophyllotoxin
	Hyssopus officinalis L.	eugenol, thymol
	Isanthus brachiatus (L.) Bsp	caryophyllene oxide
	Lavandula angustifolia Miller	caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
	Lavandula latifolia Medik.	eugenol, caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
	Lavandula x intermedia Emeric ex Loisel.	eugenol, caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
	Leonotis leonurus (L.) R. Br.	caryophyllene oxide
	Lepechinia calycina Epling	menthone
	Lycopus europaeus L.	caryophyllene oxide
	Lycopus virginicus L.	pulegone
	Melissa officinalis L.	thymol, caryophyllene oxide
	Mentha aquatica L.	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
	Mentha arvensis var. piperascens Malinv. ex Holmes	eugenol, pulegone, menthone, anisaldehyde
	Mentha longifolia (L.) Huds.	pulegone, thymol, caryophyllene oxide, menthone
	Mentha pulegium L.	eugenol, pulegone, thymol, menthone
	Mentha spicata L.	eugenol, pulegone, thymol, menthone

Lamiaceae	Mentha x piperita L.	eugenol, pulegone, thymol, caryophyllene oxide, menthone, anethole
	Mentha x rotundifolia (L.) Huds.	pulegone, menthone
	Micromeria congesta Boiss. & Hausskn.	eugenol, pulegone, thymol, menthone
	Micromeria croatica (Pers.) Schott	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
	Micromeria dalmatica Benth.	pulegone
	Micromeria fruticosa Druce	pulegone, menthone
	Micromeria fruticosa subsp. barbata (Boiss. & Kotschy) P.H. Davis	eugenol, pulegone, thymol, caryophyllene oxide, menthone
	Micromeria juliana (L.) Bentham ex Reichb.	pulegone, thymol, menthone
	Micromeria myrtifolia Boiss. & Hohen.	eugenol, pulegone, thymol, menthone
	Micromeria thymifolia Fritsch	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
	Minthostachys mollis (Kunth) Griseb.	pulegone, menthone
Lamiaceae	Moldavica thymiflora (L.) Rydb.	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
	Monarda citriodora Cerv. ex Lag.	thymol
	Monarda clinopodia L.	pulegone
	Monarda didyma L.	pulegone, thymol
	Monarda fistulosa L.	pulegone, thymol
	Monarda media Willd.	thymol
	Monarda punctata L.	pulegone, thymol
	Monarda russeliana Nutt. ex Sims	pulegone, thymol
	Nepeta cataria L.	pulegone, thymol, caryophyllene oxide
	Nepeta racemosa Lam.	pulegone, thymol
	Ocimum basilicum L.	eugenol, thymol, caryophyllene oxide, menthone
	Ocimum canum Sims	eugenol

Ocimum gratissimum L.	eugenol, thymol
Ocimum kilimandscharicum Baker ex Gürke	eugenol
Ocimum sanctum L.	eugenol
Ocimum suave Willd.	eugenol
Ocimum tenuiflorum L.	caryophyllene oxide
Origanum majorana L.	eugenol
Origanum minutiflorum O. Schwarz & P.H. Davis	eugenol, thymol
Origanum onites L.	eugenol, thymol, caryophyllene oxide
Origanum sipyleum L.	linalool, thymol
Origanum syriacum L.	thymol, caryophyllene oxide
Origanum vulgare L.	eugenol, thymol, caryophyllene oxide
Origanum vulgare subsp. hirtum Ietsw.	thymol
Origanum vulgare var. hirtum (Schur) Soó	thymol
Origanum vulgare var. viride Boiss.	thymol
Perilla frutescens (L.) Britton	elemicin, myristicin
Pogostemon cablin (Blanco) Benth.	eugenol, caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
Pycnanthemum albescens Torr. & A. Gray	pulegone, menthone
Pycnanthemum beadleii (Small) Fernald	pulegone, menthone
Pycnanthemum californicum Torr. ex Durand	pulegone, menthone
Pycnanthemum clinopodioides Torr. & A. Gray	pulegone, menthone
Pycnanthemum incanum (L.) Michx.	pulegone, menthone
Pycnanthemum loomisii Nutt.	pulegone, caryophyllene oxide
Pycnanthemum montanum Michx.	pulegone, menthone
Pycnanthemum muticum (Michx.) Pers.	pulegone, menthone
Pycnanthemum nudum Nutt.	thymol
Pycnanthemum pilosum Nutt.	pulegone, menthone, anisaldehyde
Pycnanthemum pycnanthemoides (Leavenw.) Fernald	pulegone, menthone
Pycnanthemum setosum Nutt.	eugenol, pulegone, menthone
Pycnanthemum tenuifolium Schrad.	pulegone, caryophyllene oxide, menthone
Pycnanthemum torreyi Benth.	pulegone, menthone
Pycnanthemum verticillatum (Michx.) Pers.	pulegone, menthone
Pycnanthemum virginianum (L.) Durand & Jackson	pulegone, thymol, menthone

	<i>Rosmarinus eriocalyx</i> Jordan & Fourr.	caryophyllene oxide
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Rosmarinus tomentosus</i> Huber	caryophyllene oxide
	<i>Rosmarinus x lavandulaceus</i> De Noe	caryophyllene oxide
	<i>Rosmarinus x mendizabalii</i> Sagredo Ex Rosua	caryophyllene oxide
	<i>Salvia canariensis</i> L.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Salvia dorisiana</i> Standl.	caryophyllene oxide
	<i>Salvia gilliesii</i> Benth.	caryophyllene oxide
	<i>Salvia officinalis</i> L.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Salvia sclarea</i> L.	caryophyllene oxide
	<i>Satureja cilicica</i> P.H. Davis	pulegone, thymol
	<i>Satureja cuneifolia</i> Ten.	thymol
	<i>Satureja douglasii</i> (Benth.) Briq.	pulegone, thymol, menthone
Lamiaceae	<i>Satureja glabella</i> (Michx.) Briq.	pulegone, menthone
	<i>Satureja grandiflora</i> (L.) Scheele	pulegone, menthone
	<i>Satureja hortensis</i> L.	thymol
	<i>Satureja montana</i> L.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Satureja obovata</i> Lag.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Satureja odora</i> (Griseb.) Epling	pulegone
	<i>Satureja parvifolia</i> (Phil.) Epling	pulegone, menthone
	<i>Satureja subspicata</i> subsp. <i>liburnica</i> Silic	thymol
	<i>Satureja thymbra</i> L.	thymol
	<i>Scutellaria churchilliana</i> Fernald	caryophyllene oxide
	<i>Scutellaria galericulata</i> L.	menthone
	<i>Scutellaria parvula</i> Michx.	caryophyllene oxide
	<i>Sideritis athoa</i> Papanicolaou & Kokkini	thymol
	<i>Sideritis scardica</i> Griseb.	thymol, anethole
	<i>Teucrium arduini</i> L.	caryophyllene oxide
	<i>Teucrium asiaticum</i> L.	thymol
	<i>Teucrium cyprium</i> Boiss.	thymol, caryophyllene oxide, anethole
	<i>Teucrium divaricatum</i> var. <i>canescens</i> (Čelak.) Holmboe	thymol, caryophyllene oxide, anethole
	<i>Teucrium gnaphalodes</i> L'Hér.	thymol

	<i>Teucrium kotschyanum</i> Poech	thymol, caryophyllene oxide, anethole
Lamiaceae	<i>Teucrium micropodioides</i> Rouy	thymol, caryophyllene oxide, anethole
	<i>Teucrium oxylepis</i> fo. <i>marianum</i> Ruíz Torre & Ruíz Cast.	thymol
	<i>Teucrium oxylepis</i> subsp. <i>oxylepis</i> Font Quer	thymol
	<i>Teucrium polium</i> L.	pulegone
	<i>Teucrium valentinum</i> Schreb.	thymol
	<i>Teucrium pseudoscorodonia</i> Desf.	thymol
	<i>Teucrium salviastrum</i> Schreb.	thymol
	<i>Teucrium scorodonia</i> L.	thymol
	<i>Thymus broussonettii</i> Boiss.	thymol
	<i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. & Link	eugenol, thymol, caryophyllene oxide
	<i>Thymus cilicicus</i> Boiss. & Balansa	eugenol, caryophyllene oxide
	<i>Thymus funkii</i> Coss.	eugenol, linalool, thymol
	<i>Thymus longicaulis</i> C. Presl	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Thymus mastichina</i> L.	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Thymus orospedanus</i> Huguet del Villar	thymol
	<i>Thymus riatarum</i> Humbert & Maire	thymol, caryophyllene oxide
	<i>Thymus saturejoides</i> Coss.	thymol
	<i>Thymus serpyllum</i> L.	thymol
	<i>Thymus vulgaris</i> L.	eugenol, thymol, menthone, anethole
	<i>Thymus x citriodorus</i> Schreb.	thymol
<i>Thymus zygis</i> L.	thymol	
<i>Thymus zygis</i> subsp. <i>sylvestris</i> Brot. ex Cout.	thymol	
<i>Trichostemma dichotomum</i> L.	caryophyllene oxide	
<i>Vitex agnus-castus</i> L.	caryophyllene oxide	
Lauraceae	<i>Cinnamomum aromaticum</i> Nees	eugenol, cinnamaldehyde
	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl	eugenol
	<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	eugenol, caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
	<i>Laurus nobilis</i> L.	eugenol, elemicin, caryophyllene oxide
	<i>Litsea glaucescens</i> var. <i>glaucescens</i>	caryophyllene oxide
	<i>Persea americana</i> Miller	anethole

	Sassafras albidum (Nutt.) Nees	eugenol, elemicin, myristicin, anethole
	Umbellularia californica (Hook. & Arn.) Nutt.	eugenol, thymol
Magnoliaceae	Magnolia denudata Desr.	caryophyllene oxide
	Magnolia kobus DC.	eugenol, anethole
	Magnolia officinalis Rehder & E.H. Wilson	anonaine
Malvaceae	Hibiscus sabdariffa L.	anisaldehyde
	Tilia sp.	eugenol
Meliaceae	Melia azedarach L.	eugenol
Menispermaceae	Jateorhiza palmata (Lam.) Miers	thymol
Monimiaceae	Peumus boldus Molina	eugenol
Moraceae	Ficus carica L.	psoralen, xanthotoxin
	Morus alba L.	eugenol
Myristicaceae	Myristica fragrans Houtt.	eugenol, elemicin, myristicin
Myrtaceae	Eucalyptus citriodora Hook.	eugenol
	Melaleuca bracteata F. Muell.	eugenol, cinnamaldehyde
	Melaleuca viridiflora Sol. ex Gaertn.	eugenol
	Myrtus communis L.	caryophyllene oxide
	Pimenta dioica (L.) Merr.	eugenol, cinnamaldehyde, caryophyllene oxide
	Pimenta racemosa (Mill.) J.W. Moore	eugenol
	Psidium guajava L.	caryophyllene oxide
	Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M. Perry	eugenol, caryophyllene oxide, cinnamaldehyde
Nelumbonaceae	Nelumbo nucifera L.	anonaine
Oleaceae	Jasminum officinale L.	eugenol
	Ligustrum japonicum Thunb.	eugenol
	Syringa vulgaris L.	elemicin, anisaldehyde
Orchidaceae	Vanilla planifolia Andrews.	eugenol, anisaldehyde
	Vanilla tahitensis J.W. Moore	anisaldehyde
Passifloraceae	Turnera diffusa Willd. ex Schult.	thymol
Pinaceae	Pinus mugo Turra	anisaldehyde
	Pinus sylvestris L.	anisaldehyde
Piperaceae	Piper betle L.	eugenol
	Piper nigrum L.	eugenol, caryophyllene oxide, myristicin
Poaceae	Cymbopogon winterianus Jowitt ex Bor	eugenol
	Zea mays L.	eugenol, thymol, xanthotoxin
Rosaceae	Prunus cerasus L.	eugenol
	Prunus dulcis (Mill.) D.A. Webb	eugenol
	Rosa centifolia L.	eugenol

	Rosa damascena Mill.	eugenol, cinnamaldehyde
	Rosa gallica L.	eugenol
Rubiaceae	Coffea arabica L.	eugenol
Rutaceae	Aegle marmelos Correa	psoralen
	Agathosma betulina (P.J. Bergius) Pillans	pulegone
	Barosma betulina Bartl. & H.L. Wendl.	pulegone
	Boronia megastigma Nees ex Bartl.	eugenol
	Casimiroa edulis Llave & Lex.	isopimpinellin
	Citrus aurantiifolia (Christm.) Swingle	isopimpinellin
	Citrus aurantium L.	thymol
	Citrus limon (L.) Osbeck	thymol, caryophyllene oxide, isopimpinellin
	Citrus reticulata Blanco	thymol
	Dictamnus albus L.	psoralen, xanthotoxin
	Limonia acidissima L.	isopimpinellin, psoralen
	Ruta graveolens L.	isopimpinellin, psoralen, xanthotoxin
	Skimmia arborescens T. Anderson Ex Gamble	isopimpinellin
Santalaceae	Santalum album L.	eugenol
Schisandraceae	Illicium verum Hook. f.	anisaldehyde
Solanaceae	Capsicum annum L.	eugenol, pulegone
	Capsicum frutescens L.	pulegone
	Lycopersicon esculentum Mill.	eugenol, cinnamaldehyde, tomatine
	Nicotiana tabacum L.	eugenol
	Solanum carolinense L.	solamargine
	Solanum dulcamara L.	solamargine
	Solanum melongena L.	solamargine
	Solanum nigrum L.	solamargine
Theaceae	Camellia sinensis (L.) Kuntze	eugenol, thymol
Verbenaceae	Aloysia citriodora Palau	caryophyllene oxide
	Lantana camara L.	eugenol
	Lippia graveolens Kunth	thymol
Violaceae	Viola odorata L.	eugenol
Winteraceae	Drimys winteri J.R. Forst. & G. Forst.	eugenol
Zingiberaceae	Alpinia galanga (L.) Willd.	eugenol, caryophyllene oxide
	Alpinia officinarum Hance	eugenol
	Curcuma longa L.	eugenol

Isabelle BOULOGNE

Évaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL

Les Attines sont des fourmis champignonnistes localisées dans la zone allant du sud des États-Unis à l'Argentine en passant par la Caraïbe. Les dégâts causés par ces ravageurs sont considérables et estimés à plusieurs millions de dollars par an. Elles sont de ce fait considérées comme l'un des premiers fléaux de l'agriculture de la zone (Cameron & Riggs, 1985; Fowler *et al.*, 1986). En Guadeloupe, la «fourmi manioc» (*Acromyrmex octospinosus* Reich) cause de nombreux dommages, aussi bien pour l'agriculture que dans les milieux naturels. Les dégâts occasionnés par ces fourmis ont nécessité l'utilisation de pesticides de synthèse pour tenter de les combattre. La dangerosité de ces substances pour les milieux naturels et anthropisés ainsi que pour la santé publique est un contexte favorable à l'exploration de nouvelles pistes telles que l'utilisation de plantes à usages phytosanitaires.

L'objet principal de cette thèse consiste à savoir si on peut déceler à partir de l'ethnopharmacologie TRAMIL des usages permettant de combattre cette fourmi et son symbiote fongique, *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller. Les protocoles retenus et présentés dans ce travail permettent d'observer les effets des usages de plantes choisis sur la survie et le comportement des insectes et sur la croissance du symbiote. Ils ont été sélectionnés pour leur potentialité à mettre en évidence les différents types d'effets des extraits végétaux (insecticide par contact, insectifuge, toxique par ingestion, fongistatique ou fongicide). Six usages traditionnels issus de cinq plantes sont testés sur la fourmi : *Mammea americana* L., *Nerium oleander* L., *Nicotiana tabacum* L., *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. et *Trichilia pallida* Sw. Cinq autres usages traditionnels sont testés sur le champignon : *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Manihot esculenta* Crantz et *Senna alata* (L.) Roxb. Les résultats obtenus permettent de dégager quelques pistes de lutte intéressantes contre ce ravageur.

Mots-clés : agroécologie, *Attini*, biopesticides d'origine végétale, *Leucocoprinus gongylophorus*, lutte intégrée, myrmécologie.

Leaf-cutting ants are fungus-growing ants. Their geographic distribution ranges from southern United States to northern Argentina, including the West Indies. Economic losses due to these ants were estimated at several million dollars per year. The latter statement makes them are considered as one of the most important pest species of the agricultural productions (Cameron & Riggs, 1985; Fowler *et al.*, 1986). In Guadeloupe, the most important invasive pest species which caused important losses in forests, gardens and field crops is 'cassava ant' (*Acromyrmex octospinosus* Reich). These huge losses required to use synthetic chemical pesticides to control these leaf-cutting ants, the consequence of which is, irreversible injuries on environment and on human health. As a matter of fact, this situation has prompted an increasing interest in alternative methods for pest control like plants with pesticide used.

The main objective of this thesis is to know if traditional ethnopharmacological TRAMIL uses could help to fight against this ant and against the symbiotic fungus, *Leucocoprinus gongylophorus* (Heim) Moeller. Methods used and presented in this work allowed to observe effects of selected plant uses on mortality and insect's behavior. The protocols performed were selected for their potentiality to detect the different types of insecticidal effects (contact toxicity, repellent effect, toxicity by ingestion, fungicidal or fungistatic). Six traditional plant uses of five plants were tested on the ant : *Mammea americana* L., *Nerium oleander* L., *Nicotiana tabacum* L., *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. and *Trichilia pallida* Sw. Five other plant uses were tested on the fungus : *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Lycopersicon esculentum* Mill., *Manihot esculenta* Crantz and *Senna alata* (L.) Roxb. The obtained results provide us with some interesting trails to fight against this pest.

Keywords : agroecology, *Attini*, biopesticides of plant origin, integrated pest management, *Leucocoprinus gongylophorus*, myrmecology.