UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Etude photochimique et activités insecticides de gymnanthemum amygdalinum (umubirizi) et pogonospermum subsessile (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Niyondiko, Claver

2023-08
UB
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/399

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

REPUBLIQUE DU BURUNDI

UNIVERSITE DU BURUNDI
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITES INSECTICIDES DE *GYMNANTHEMUM AMYGDALINUM* (UMUBIRIZI) *ET PO-GONOSPERMUM SUBSESSILE* (UMUBAZIBAZI) SUR LES INSECTES RAVAGEURS DES CULTURES ET DES RECOLTES

Par

Claver NIYONDIKO

Mémoire présenté et défendu publiquement en vue d'obtention du diplôme de Master en Sciences Chimiques

Orientation :Contrôle et analyses chimiques

Sous la direction de :

Directeur **:** Dr. Jérémie NGEZAHAYO

Co-directeur : Dr. Pierre Claver MPAWENAYO

Bujumbura, août 2023

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

MEMBRES DU JURY

Président : Prof. DE CLIFF Steve

Directeur : Dr. NGEZAHAYO Jérémie

Co-directeur : Dr. MPAWENAYO Pierre Claver

Secrétaire : Dr. NTAKIYIRUTA Pierre

Membre : Prof. NDUWARUGIRA Déogratias

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

DEDICACES

A mes parents

A mes frères et sœurs pour leurs encouragements

A ma chère épouse MUHIMPUNDU Marie Ange

A mon fils IRATUNGANYA Eden Dorian

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent d'abord au bon Dieu qui m'a pu garder et m'a donné le courage et la capacité de mener à bon terme ce travail.

J'exprime ma profonde gratitude à mon directeur de mémoire à Dr. Jérémie NGEZAHAYO et à mon co-directeur de Mémoire Dr. Pierre Claver MPAWENAYO pour les conseils, la patience ainsi que pour la confiance et l'aide qu'ils m'ont donnée pour bien réaliser ce travail.

Je remercie tous mes enseignants du département de chimie, et surtout ceux qui enseignent en Master en contrôle et analyses chimiques pour leurs encouragements

Je remercie également tous les membres de laboratoire de chimie, Faculté des Sciences, Université du Burundi pour m'avoir aidé à développer mon sens de recherche surtout pour la grande confiance qu'ils ont prêtée en moi.

A mes camarades de ma promotion et spécialement ceux qui étudient en Master en contrôle et analyses chimiques

Enfin, je remercie les membres du jury qui, malgré leurs multiples et grandes responsabilités, ont pu accepter à participer dans l'évaluation de ce travail de recherche.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

RESUME

Les maladies parasitaires, notamment celles causées par certains insectes ravageurs de cultures et de récoltes comme les bruches de haricots, les charançons de maïs, les chenilles légionnaires, et les pucerons noirs, sont à l'origine de la faible production agricole surtout dans les pays en voie de développement. Plus de 90 % de la population burundaise vivent au dépend de l'agriculture. Au Burundi, il y a cinq grands groupes de cultures : les céréales, les légumineuses, les tubercules, les oléagineux, les bananes et les maraîchères. On estime les pertes agricoles dues aux ravageurs et maladies entre 30-50 %. Les pesticides insecticides utilisés le plus souvent pour lutter contre ces ravageurs ont des effets néfastes sur la santé dont les plus importants sont la maladie d'Alzheimer, les troubles du développement, la stérilité, les malformations congénitales, les cancers, l'asthme, etc.

Pour surmonter ces problèmes, une autre source de produits insecticides est souvent recommandée pour avoir une alimentation saine, durable et suffisante pour la population ainsi que la protection environnementale. C'est dans cette optique que cette recherche a été menée sur les plantes notamment *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip. ex Walp et *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I. Darbysh. & Kiel pour une étude phytochimique ainsi qu'une évaluation de leurs propriétés insecticides. Cinq extraits ont été ainsi utilisés (hexanique, méthanoïque, acétate d'éthyle, dichlorométhanique, et aqueux) pour évaluer leurs effets insecticides. L'extrait le plus efficace était l'extrait hexanique (4 mg/ml) avec un taux de mortalité de 100 % sur les bruches et une DL_{50} de 1,36 mg/ml ; 94,4 % sur les charançons de maïs avec DL50 = 2,33 mg/ml dans le cas de l'extrait de *P. subsessile* alors que l'extrait hexanique de *G. amygdalinum* a un taux de mortalité de 100 % sur les bruches avec DL_{50} = 1,42 mg/ml, et 61,1 % pour les charançons avec DL50 = 2,833 mg/ml. Les extraits aqueux ont montré également un effet toxique sur les chenilles légionnaires et les pucerons noirs avec une dose de 250 g/l.

Ce travail a montré qu'il y a des solutions alternatives en utilisant des produits naturels (bio pesticides) pour lutter contre ces ravageurs.

Mots clés : *Pogonospermum subsessile, Gymnanthemum amygdalinum,* extraits, activités insecticides.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Abstract

Parasitic diseases, diseases caused by certain insect pests of crops and harvests, bean bruchids, corn weevils, army worms, black aphids, are the cause of low agricultural production, especially in developing countries. More than 90 % of the Burundian population live at the expense of agriculture. In Burundi, there are five major crop groups: cereals, legumes, tubers, oilseeds, bananas and market gardening. Agricultural losses due to pests and diseases are estimated at between 30-50 % .The synthetic pesticides most often used to fight against these pests have harmful effects on health, the most important of which are Alzheimer's disease, developmental disorders, sterility, congenital malformations, cancers, asthma. To overcome these problems, another source of insecticide products is often necessary to have a healthy, sustainable and sufficient supply of the population as well as environmental protection.

It is with this in mind that our research took place on pesticidal plants, in particular *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Beep. ex Walp and *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I. Darbysh. & Kiel for phytochemical study as well as biological properties. The five extracts (hexanic, methanoic, ethyl acetate, dichloromethane as well as the aqueous extract) were evaluated for their insecticidal effects. The most effective extract is the hexane extract (4 mg/ml) with a mortality rate of 100 % for bruchids with DL50 = 1.36 mg/ml and 94.4 % for maize weevils with LD50 = 2.33 mg/ml in the case of the extract of *P. subsessile* whereas the hexane extract of *G. amygdalinum* has a mortality rate of 100 % for weevils with DL50 = 1.42 mg/ml and 61.1 % for weevils with DL_{50} = 2.83 mg/ml. The aqueous extracts also showed a toxic effect for armyworms and black aphids at a dose of 250 g/ml. This work has shown that there are alternative solutions using natural products (biopesticides) to fight against these pests.

Keywords: *Pogonospermum subsessile, Gymnanthemum amygdalinum*, extracts, insecticidal activities

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

TABLE DES MATIERES

MEMBRES DU JURY ..... **i**

DEDICACES ..... **ii**

REMERCIEMENTS ..... **iii**

RESUME ..... **iv**

Abstract ..... **v**

TABLE DES MATIERES ..... **vi**

SIGLES ET ABREVIATIONS ..... **x**

LISTE DES FIGURES ..... **xi**

LISTE DES TABLEAUX ..... **xiii**

AVANT- PROPOS ..... **xv**

INTRODUCTION GENERALE **1**

1. Problématique et contexte du sujet 1

2. Objectif et intérêt du sujet 1

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES PLANTES PESTICIDES ET LES INSECTES RAVAGEURS DES CULTURES ET DES RECOLTES 3

1.1. Les plantes pesticides 3

1.1.1. Introduction 3

1.1.2. Quelques généralités sur les plantes étudiées 4

Description botanique 4

Synonymes 5

Habitat et répartition géographique 5

Usages en médecine traditionnelle 5

21`Phytochimie et propriétés pharmacologiques 6

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

b) *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I. Darbysh. & Kiel 7

Position dans la systématique 7

Description botanique 7

Habitat et répartition géographique 9

Usages en médecine traditionnelle 9

Phytochimie et propriétés pharmacologiques 9

1.2. Les insectes ravageurs des cultures et des récoltes 10

1.2.1. La chenille légionnaire 10

1.2.2. Les pucerons noirs 12

1.2.3. Les charançons 13

1.2.4. Le bruche du haricot 14

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES 16

2.1. Matériel végétal 16

2.2. Réactifs et solvants utilisés 16

2. 3. Méthodes 16

2.3.1. Séchage des feuilles récoltées et préparation de la poudre 16

2.3.2. Préparation des extraits secs 16

2.3.3. Evaporation 17

2.3.4. Préparation des extraits frais 18

2.4. Etude phytochimique de *P. subsessile* et de *G. amygdalinum* 18

2.5. Matériel animal 20

2.6. Evaluation de l'activité pesticide des extraits frais 20

2.6.1. Etude de l'activité insecticide sur les chenilles légionnaires 20

2.6.2. Etude de l'activité insecticide sur les pucerons noirs du haricot 21

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

2. 7. Test de toxicité par contact sur les bruches de haricot 21

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION 23

3.1. Présentation des résultats.....24

3.1.1. Effet insecticide des extraits de *P. subsessile* sur la chenille légionnaire 24

3.1.2. Activité insecticides de *G. amygdalinum* sur la chenille légionnaire.....25

3.1.3. Activité insecticides d'extrait aqueux de *P. subsessile* sur les pucerons noirs.....25

3.1.4 Activité insecticide d'extraits aqueux de *G. amygdalinum* sur les pucerons noirs. 26

3.1.5. Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les charançons de maïs.....26

3.1.6 Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les bruches de haricots. 28

3.1.7 Activité insecticide des différents extraits de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs.29

3.1.8 Activité insecticide des différents extraits de *G. amygdalinum* sur les bruches de.....30

haricots.....30

3.2. Comparaison des différents extraits de *P. subsessile* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les charançons de maïs. 32

3.3. Comparaison des différents extraits de P. subsessile en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les bruches de haricots 32

3.4. Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les charançons de maïs. 33

3.5. Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les bruches du haricot.....34

3.6. Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités *à* 4mg/ml sur les cha rançons de maïs 35

3.7. Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités à 4 mg/ml sur les bruches de haricots 36

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

3.8. Détermination de la dose létale (DL50) 36

3.8.1. Détermination de DL50 pour les charançons de maïs 37

3.8.2. Détermination de DL50 pour les bruches de haricots 37

3.8.3. Détermination de DL50 pour la chenille légionnaire 38

3.8.4. Détermination de DL50 pour les pucerons noirs 39

3.9. Discussion des résultats 39

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....41

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 42

ANNEXES 44

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

SIGLES ET ABREVIATIONS

DL_{50} `: Dose létale administrée en une seule fois causant la mort de 50%

PHD ` : Pesticide Hautement Dangereux

OMS `: Organisation Mondiale de la Santé

CRUPHAMET ` : Centre de Recherche Universitaire en Pharmacopée et Médecine Traditionnelle

PND : Plan National de Développement du Burundi

GyEhex : extrait hexanique

GyEdcm : extrait dichlorométhane

GyEaceta : extrait acétate d'éthyle

GyEmeOH : extrait méthanolique

GyEQ : extrait aqueux

GY : *Gymnanthemum amygdalinum*

Pos hexa : extrait hexanique

PosDCM : extrait dichlorométhane

PosACE : extrait d'acétate d'éthyle

PosMeOH : extrait méthanolique

PosEAQ : Extrait Aqueux

Pos : *Pogonospermum subsessile*

INADES : Institut Africain pour le Développement Economique et Social

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Echantillonnage de G. amygdalinum 5

Figure 2 : P. subsessile lors de l'échantillonnage à Kirundo 8

Figure 3: Représentation des sites d'échantillonnage.....8

Figure 4 : Différentes couleurs de la chenille légionnaire aux premiers stades de croissance....10

Figure 5 : Dégâts causés par Spodoptera frugiperda. 11

Figure 6 : Cycle biologique de la chenille légionnaire 11

Figure 7: Plants de haricots infectées par le puceron noir 12

Figure 8 : Cycle biologique du puceron noir du haricot 12

Figure 9 : Grains de maïs dégradés par les charançons lors de notre travail.....13

Figure 10: Cycle biologique du charançon.....14

Figure 11 : Grains de haricot dégradés par les bruches 15

Figure 12 : Cycle biologique de bruche du haricot 15

Figure 13 : Dispositif d'extraction par macération.....17

Figure 14 : Photo de l'évaporateur rotatif utilisé dans ce travail.....17

Figure 15 : Flacons contenant les différentes concentrations des extraits aqueux frais 18

Figure 16 : Quelques photos prises lors de l'étude phytochimique.....19

Figure 17 : Quelques images prises lors du test de l'activité insecticide sur la chenille légionnaire 20

Figure 18 : Plants de haricot infectés par les pucerons noirs.....21

Figure 19 : Test de toxicité des extraits des plantes.....22

Tableau 20: Activité insecticides des différents extraits.....30

Figure 21: comparaison de l'évolution de la mortalité des bruches de haricot en fonction des doses et de types d'extrait.....33

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

La figure 22 : montre la comparaison de mortalités des charançons suivants les différentes doses et les différents extraits de G. amygdalinum.....33

Figure 22: Comparaison de l'évolution de la mortalité des charançons en fonction des doses et de types d'extrait (G. amygdalinum) 33

Figure 23: Comparaison de l'évolution de la mortalité des bruches en fonction des doses et de type d'extrait (G. amygdalinum).....34

Figure 24: Comparaison de l'évolution de la mortalité des charançons en fonction des plantes utilisées à 4 mg/ml.....35

Figure 25: comparaison de l'évolution de la mortalité des Bruches en fonction des plantes utilisées à 4 mg/ml.....36

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Usages de *G. amygdalinum* dans certains pays d'Afrique 6

Tableau 2 : Phytochimie et propriétés pharmacologiques de *G. amygdalinum* 7

Figure 3: *Représentation des sites d'échantillonnage***.**.....8

Tableau 3 : Usages traditionnelles de *P. subsessile* dans certains pays d'Afrique 9

Tableau 4 : La phytochimie et propriétés pharmacologiques.....10

Tableau 5 : Réactifs et méthodes utilisés pour l'étude phytochimique 19

Tableau 6: Rendement des extraits de *G. amygdalinum* 23

Tableau 7: Rendement des extraits de *P. subsessile*.....23

Tableau 8 : Résultats du criblage phytochimique des extraits de ces plantes étudiées.....24

Tableau 9: Activité insecticides de *P. subsessile* sur la chenille légionnaire.....24

Tableau 10 : Activité insecticides de *G. amygdalinum* sur la chenille légionnaire**.** 25

Tableau 11 : Activité insecticides d'extrait aqueux de *P. subsessile* sur les pucerons noirs 26

Tableau 12 : Activité insecticides d'extrait aqueux de *G. amygdalinum* sur les pucerons noirs 26

Tableau 13: Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les charançons de maïs.....27

Tableau 14 : Activité insecticide des différents extraits *à* 2 mg/ml de *P. subsessile* sur les 27

Charançons de maïs 27

Tableau 15 : Activité insecticides des différents extraits à 1 mg/ml de *P. subsessile* sur les charançons de maïs**.**.....27

Tableau 16 : Activité insecticides des différents extraits à 4 mg/ml de *Pogonospermum subses sile* sur les bruches de haricots**.** 28

Tableau 17 : Activité insecticides des différents extraits à 2 mg/ml de *P. subsessile* sur les bruches de haricots**.** 28

Tableau 18 : Activité insecticides des différents extraits à 1 mg/ml de *P. subsessile* sur les bruches de haricots 29

Tableau 19: Activité insecticides des différents extraits à 4 mg/ml de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**.**.....29

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 20: **Activité insecticides des différents extraits** à 2 mg/ml **de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**. 30

Tableau 21: **Activité insecticide des différents extraits** à 1mg/ml **de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**.....30

Tableau 22 : Activité insecticides des différents extraits à 4mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots**.** 31

Tableau 23 : Activité insecticides des différents extraits à 2 mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots 31

Tableau 24 : Activité insecticides des différents extraits à 1mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots**.** 32

Tableau 25: DL50 pour l'extrait le plus efficace de *P. subsessile sur* les charançons du maïs ..37

Tableau 26 : DL50 pour l'extrait le plus efficace de *G. amygdalinum sur* les charançons de maïs.....37

Tableau 27: DL50 pour l'extrait le plus efficace de P. subsessile sur les bruches de haricots ...37

Tableau 28: DL50 pour l'extrait le plus efficace de *G. amygdalinu*m sur les bruches de haricots.....38

Tableau 29: DL50 pour l'extrait aqueux de P. subsessile sur la chenille légionnaire. 38

Tableau 30: DL50 pour l'extrait aqueux de G. amygdalinum sur la chenille légionnaire 38

Tableau 31: DL50 pour l'extrait aqueux de *P. subsessile*.....39

Tableau 32: DL50 pour l'extrait aqueux de *G. amygdalinum*.....39

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

AVANT- PROPOS

Ce travail est réalisé dans l'optique non pas seulement de l'obtention du diplôme de master mais aussi de Contribuer lors de la lutte des insectes ravageurs des cultures et des Récoltes en utilisant les plantes pesticides.

Selon la littérature, l'emploi des insecticides de synthèses chimiques a provoqué une contamination de la chaine alimentaire, la disparition des espèces non cibles, et l'apparition des espèces résistantes.

C'est pour cette raison que l'OMS a interdit l'utilisation de certains produits chimiques, qui sont aussi à l'origine des maladies comme Alzheimer, les troubles du développement, la stérilité, les malformations congénitales, les cancers, l'asthme, etc.

L'idée de faire ce travail est de trouver d'autres voies alternatives de lutte contre ces ravageurs.

L'usage des biopestides présentent moins de risque pour l'environnement et la santé des utilisateurs.

Ce travail consiste donc à évaluer le pouvoir insecticide des extraits des plantes *G. amygdalinum* et *P. subsessile*, et faire leur étude phytochimique, ainsi que la détermination de la dose optimale.

Ce travail de recherche a pour objectif de mettre en évidence les molécules bioactives d'origine végétale responsables de l'activité pesticide, utilisées seules ou en association. On pourra ainsi éclairer les agriculteurs sur la meilleure méthode d'utilisation des plantes pesticides concernées afin de mieux protéger les cultures, l'environnement et les récoltes.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

INTRODUCTION GENERALE

1. Problématique et contexte du sujet

Le Burundi est un pays où l'on trouve différentes espèces végétales dont certaines sont exotiques et d'autres autochtones. Certaines de ces espèces sont utilisées comme plantes médicinales, d'autres interviennent dans l'alimentation alors que d'autres restent inexploitées. Parmi les plantes médicinales utilisées localement, certaines sont connues comme des pesticides (INADES, 2022).

Dans le but d'éviter la famine, le Burundi a investi dans l'agriculture où les légumineuses et les cultures céréalières occupent une place prépondérante, tout en préservant l'environnement. Malheureusement, ces cultures sont souvent attaquées par des insectes dits ravageurs. Les insectes ravageurs des cultures et des récoltes plus précisément la chenille légionnaire, le puceron noir, les charançons et les bruches de haricots, restent les plus redoutés par les agriculteurs (Boyombe et al., 2021)

L'emploi des insecticides de synthèmises chiques a provoqué une contamination de la chaine alimentaire, la disparition des espèces non cibles, et l'apparition des espèces résistantes (Abhilash & Singh, 2009). C'est pour cette raison que l'OMS a interdit l'utilisation de certains produits chimiques, qui sont aussi à l'origine des maladies comme Alzheimer, les troubles du développement, la stérilité, les malformations congénitales, les cancers, l'asthme, etc. (INADES, 2020).

Afin de protéger l'écosystème, il est conseillé d'utiliser les produits naturels dits bio pesticides d'origine végétale qui contiennent des molécules dites bioactives. Ces dernières contribuent par ailleurs dans la lutte contre les insectes ravageurs des plantes tout en substituant les pesticides industriels plus coûteux et plus dangereux pour l'environnement (Tang et al., 2021).

C'est ainsi que notre travail fait partie d'un projet de recherche intitulé « *Identification et valorisation des molécules bioactives des espèces végétales utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes au Burundi* », dont le promoteur est Prof. Liberata NIZIGIYIMANA.

2. Objectif et intérêt du sujet

Ce travail de recherche a pour objectif de mettre en évidence les molécules bioactives d'origine végétale responsables de l'activité pesticide, utilisées seules ou en association. Il pourra ainsi éclairer les agriculteurs sur la meilleure méthode d'utilisation des plantes pesticides concernées afin de mieux protéger les cultures, l'environnement et les récoltes.
Dans le présent travail, nous avons travaillé sur deux espèces de plantes : *G. amygdalinum* et *P. Subsessile.*

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

L'intérêt d'utiliser les plantes pesticides est multiple :

1. elles luttent les ravageurs de façon spécifique
2. les pesticides synthétiques sont plus coûteux et peuvent être mélangés d'une façon incorrecte ; pire encore ils peuvent être vendus après leur date de péremption (Stevenson et al., 2012).
3. les pesticides synthétiques peuvent éliminer aussi les prédateurs naturels de ces insectes, ce qui pourrait entrainer le déséquilibre de l'écosystème.
4. la majorité des africains utilisent les pesticides de synthèse importés et ne participent pas à leur production ou à leur commercialisation (De La Torre et al., 2014) ; c'est la raison pour laquelle la multiplication et la vente des plantes pesticides en Afrique (et plus particulièrement au Burundi) pourraient augmenter le rendement agricole et ainsi améliorer les revenus de la population.

L'innovation ainsi que la technologie lors de l'utilisation de ces plantes pesticides peuvent créer l'emploi.

Question de recherche et organisation du travail

Ce travail consiste donc à évaluer le pouvoir insecticide des extraits des plantes *G. amygdalinum* et *P. subsessile*, et faire leur étude phytochimique, ainsi que la détermination de la dose optimale.

Notre travail est subdivisé en deux parties, la première partie porte sur une synthèse bibliographique sur les insectes ravageurs étudiés (la chenille légionnaire ; les pucerons noirs ; les bruches et les charançons) et les produits issus des espèces végétales *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip. ex Walp (umubirizi) et *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I.

Darbysh. & Kiel (umubazibazi)) ainsi que la description de certains principes actifs de ces plantes.

La 2ème partie concerne l'expérimentation qui montre la méthodologie utilisée, la présentation des résultats obtenus et leurs discussions ainsi que la conclusion générale.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

CHAPITRE 1 : GENERALITES SUR LES PLANTES PESTICIDES ET LES INSECTES RAVAGEURS DES CULTURES ET DES RECOLTES

1.1. Les plantes pesticides

1.1.1. Introduction

Plusieurs plantes pesticides sont utilisées pour lutter contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes en stock. C'est le cas, notamment, de *Clausena anisata, Cupressus sempervirens, Capsicum frutescens, Chenopodium ambrosioides, Eucalyptus saligna* ou *Lantana camara* qui sont souvent utilisées dans les hauts plateaux de l'Ouest-Cameroun (INADES, 2022)

Des études antérieures ont montré que les plantes pesticides possèdent des molécules ayant la capacité de détruire, chasser, prévenir, repousser, tuer, limiter ou contrôler les insectes ravageurs des cultures et des récoltes (Barthélémy et al., 2017).

D'autres plantes pesticides sont utilisées dans le traitement des maladies infectieuses ;
il s'agit de *Platostoma rotundifolium* (Briq.) A. J. Paton (Lamiaceae); *Pavetta ternifolia* (Oliv.) Hiern (Rubiaceae), *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I. Darbysh. & Kiel (Acanthaceae), *Virectaria major* (Schum.) Verdc. (Rubiaceae), et *Stomatanthes africanus* (Oliv. & Hiern) R. M. King & H. Rob. (Asteracea) (Ngezahayo et al., 2017).

Au Burundi, les plantes pesticides utilisées contre les insectes ravageurs des plantes sont, entre autres, *Tephrosia vogeli; Gymnanthemum amygdalinum ; Tithonia diversifolia ; Ricinus communis ; Solanum aculeastrum, Dioscorea alata* ; *Azadirachta indica*; etc. Ces biopestides sont souvent utilisés en combinaison.
Exemples : a) les extraits aqueux de *Ricinus communis* + *Tephrosia* vogeli + *Gymnanthemum amygdalinum* (1kg/10litres) pour lutter contre les chenilles légionnaires ;
b) Dioscorea alata + calcaire lors de la conservation des graines ;
c) *Tithonia diversifolia* + *Azadirachta indica* (Neem) sur les tomates et le sorgho contre les chenilles légionnaires d'automne (INADES, 2022).

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

1.1.2. Quelques généralités sur les plantes étudiées

a) *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip. ex Walp

G. amygdalinum fait partie des plantes à fleurs de la tribu des Vernonieae et de la famille des Asteraceae. Ces dernières constituent une importante famille des dicotylédones comprenant environ 23500 espèces qui se répartissent en 1600 genres différents(Paddick et al., 2015). Ce sont principalement des arbustes, plantes herbacées vivaces, bisannuelles ou annuelles. C'est une espèce multirégionale d'Afrique.

Position systématique

Règne	: Plantae
Embranchement	: Tracheophyta (Plantes vasculaires)
Sous-embranchement	: Angiospermes (plantes à fleurs)
Classe	: Equisetopsida
Sous-classe	: Magnoliidae
Ordre	: Asterales
Famille	: Asteraceae
Sous-famille	: Cichorioideae
Tribu	: Vernonieae
Genre	: *Gymnanthemum*
Espèce	: *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip. ex Walp., 1843

Description botanique

G. amygdalinum est un arbuste qui peut atteindre 3-5m de haut ; ses branches sont souvent cylindriques, à pubescence glanduleuse dense. Les feuilles sont alternées, elliptique, ovale, très variables, de 2-6 cm. Les fleurs sont exclusivement diversifiées et possèdent de nombreuses formes. La tige forme un tronc ligneux sans ramification d'une taille pouvant atteindre 5 mètres (Paddick et al., 2015).
Les photographies suivantes peuvent résumer la description de cette plante au niveau des feuilles (figure 1).

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes



Figure 1: Echantillonnage de G. amygdalinum : 1. Photo prise lors de la récolte à Kirundo, 2. Confection d'un herbier des feuilles de la plante

Synonymes

- Homotypiques : *Vernonia amygdalina* Delice (1826)
- Hétérotopiques : *Vernonia randii* S.Moore (1899) = *Vernonia eritreana* Klatt (1896) = *Vernonia giorgii* De Wild.(1915) = *Vernonia vogeliana* Benth.(1849) = *Vernonia weis-seana* Muschl.(1911)= *Vernonia adenosticta* Fenzl = *Gymnanthemum abyssinicum* Sch.Bip (1843) (Conservatoire et Jardin Botanique (CJB) de la Ville de Genève).

Au Burundi, selon les tradipraticiens, *G. amygdalinum* s'appelle « umufumya », « umubirizi » en Kirundi .

Habitat et répartition géographique

G. amygdalinum est présent à l'état sauvage dans la plupart des pays d'Afrique tropicale, depuis la Guinée jusqu'à la Somalie et vers le sud jusqu'au nord-est de l'Afrique du Sud, ainsi qu'au Yémen. Il est couramment cultivé comme légume au Bénin, au Nigeria, au Cameroun, au Gabon et en R.D. Congo.

Au Burundi, on la trouve principalement dans les districts de Mosso–Malagarazi (Makamba) ; Rwanda – Burundi (Kirundo) ; affromontagnard (Nsabimana et al., 2020) et aussi dans les buis-sons et francs des collines ; les champs, jardins, jachères (Habyarimana et al. , 2020).

Usages en médecine traditionnelle

Cette plante est utilisée pour soigner certaines maladies en Afrique comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Usages de *G. amygdalinum* dans certains pays d'Afrique (Habyarimana et al., 2020)

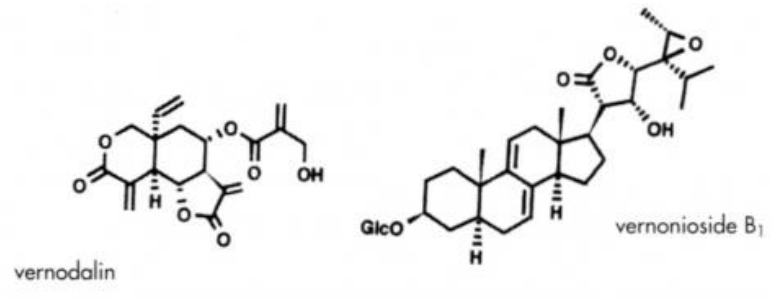
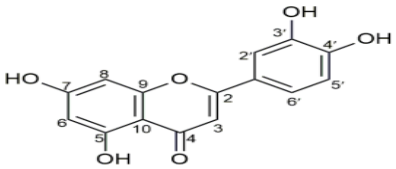
Usages	**Pays**	**Parties utilisées**	**Commentaires**
Entérites	Nigeria	Racines	
Constipation	Nigeria, Tanzanie, Ethiopie	Feuilles, sève	Comme laxatif
Diarrhée	Afrique de l'Ouest	Tige, écorces de racine, feuilles	-
Douleur de l'estomac	Angola, Ethiopie	Tige, écorces de racine, feuilles	-
Schistomiase	Zimbabwe, Mozam-bique, Nigeria	Racine, écorces, fruit	-
Malaria	Afrique de l'Est, Angola, Guinée, Nigeria, Ethiopie	Racine, écorces, feuilles	En remplacement de la quinine
Infection au trématode	Afrique de l'Est	Racine, feuilles,	Traitement pour enfant comme suppositoire
Dysenterie amibienne	Afrique du Sud	Ecorces de racine	-
Diabète	Nigeria	Toutes parties amères	-
Fièvre	Tanzanie, Uganda, Congo	Feuilles	-
Manque d'appétit	Afrique de l'Ouest	Feuilles	Feuilles trempées dans l'eau froide pour enlever l'amertume et bouillie dans la soupe
Pneumonie	Côte du voire	Feuilles	-
Dentifrice	Nigeria	Rameau, baguette	-
Désinfectant	Ethiopie	-	-
Savon	Uganda	Tige	-
Maladies Sexuellement Transmissibles, diabète, antiparasitaires	Zimbabwe	Racines	Infusion

21`Phytochimie et propriétés pharmacologiques

L'espèce contient des molécules ayant des propriétés thérapeutiques comme le montre le tableau ci-dessous.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 2 : Phytochimie et propriétés pharmacologiques de *G. amygdalinum*

Phytochimie	**Propriétés pharmaco-logiques**	**Références**
Sesquiterpènes, Glucosides-stéroïdes 	anthelmintique, antiamibienne, antibiotique, antitumoral, inhibiteur du mouvement chez les parasites adultes et de la quantité des œufs pondus par les femelles adultes antiseptique et analgésique	Gaborit, 2018
 Flavonoïdes		Vonia et al., 2022

b) *Pogonospermum subsessile* (Oliv.) I. Darbysh. & Kiel

Position dans la systématique

Règne : Plantae
Embranchement : Tracheophyta (Plantes vasculaires)
Sous-embranchement : Angiospermes (plantes à fleurs)
Classe : Eudicotyledones
Sous-classe : Asteridae
Ordre : Lamiales
Famille : Acanthaceae
Tribu : Ruellieae
Genre : Pogonospermum
Espèce : *Pogonospermum subsessile*

Description botanique

P. subsessile est une plante de 20 à 80 cm de haut. Elle possède une couleur blanchâtre ou jaunâtre, ses feuilles sont subsessiles avec un limbe elliptique. Ses tiges sont en touffes lâches. Les feuilles pouvant atteindre des dimensions de 8 à18 mm de long et 3 à 8 mm de large.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Herbacée ligneuse de petite taille qui a les caractères d'un sous-arbrisseau (suffrutescente), ses fleurs sont blanches ou jaunes avec des marques pourpres; ses fruits sont de type capsule (Toupin, 1985).



Figure 2 : *P. subsessile* lors de l'échantillonnage à Kirundo

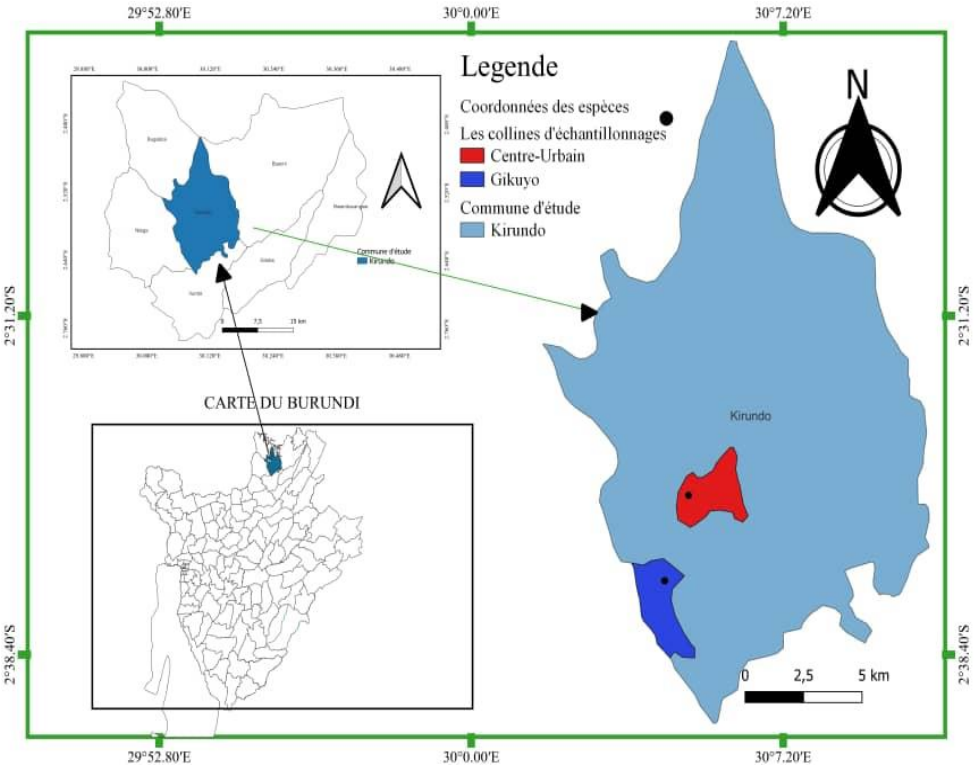


Figure 3: *Représentation des sites d'échantillonnage***.**

Ses synonymes sont:

- Synonymes homotypiques: *Justicia subsessilis* Oliv, .*Monechma subsessilis* (oliv.) C.B Clarke
- Synonymes hétérotypiques: *Monechma nemoralis* S. Moore, *Justicia simplicispica* C.B .Clarke (CJB, 2023)

Au Burundi, *P. subsessile* s'appelle « umubazibazi », « umubazi », « imbazi » en Kirundi.

Habitat et répartition géographique

Cette plante se trouve généralement dans les savanes, les prairies sur les sols rocheux ou secs principalement dans certains pays d'Afrique comme le Zimbabwe et tous les pays de la Communauté de l'Afrique de l'Est.

Usages en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée pour traiter les différentes maladies comme le montre le tableau suivant :

Tableau 3 : Usages traditionnelles de *P. subsessile* dans certains pays d'Afrique (Ngezahayo et al., 2017)

Maladies traitées	Dysenterie, maladie de la peau	Acné, rhumatisme, Vers intestinaux	Diarrhées	Toux épilepsie, déshydratation	Morsures de serpent	Douleurs à l'estomac	Hépatite, colique
Parties de la plante utilisée	Parties aériennes	Feuilles	Parties aériennes	Feuilles	Feuilles, rameaux, fleurs	Feuilles	Racines

Au Rwanda, umubazi était autrefois l'un des ingrédients permettant de préparer des crèmes de beauté appelées *amadahano* ou *imbiribiri* à base de beurre et de parfums divers (Ngezahayo et al., 2017)**.**

Phytochimie et propriétés pharmacologiques

Le *P. subsessile* est utilisé en médecine traditionnelle grâce à ses métabolites secondaires comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : La phytochimie et propriétés pharmacologiques

Phytochimie	**Propriétés pharmacologiques**	**Références**
Le 3´,4´-dihydroxyflavonol - apigénine - kaempféritrine vitexine - justicisaponine, - allantoïne et ciliatoside A, - diphylline, justicidine A et justicidinoside A-C, tuberculatine	- Antioxydant - anti-tumeur et anti-oxydant - anti-inflammatoire et antimicrobien - anti-inflammatoire - anti-inflammatoire - faciliter la fertilité - antiviral - antitumeur	(Prishchepov et al., 2012)

1.2. Les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Les maladies parasitaires, maladies causées par certains insectes ravageurs de cultures et de récoltes, notamment le bruche du haricot, le charançon du maïs, la chenille légionnaires, le puceron noirs, sont à l'origine de faible production agricole surtout dans les pays en voie de développement où la population est incapable d'avoir tous produits nécessaires afin de lutter contre ses insectes.

1.2.1. La chenille légionnaire

Depuis 2016, une nouvelle chenille est apparue en Afrique. Elle se trouve actuellement dans de nombreux pays dont le Burundi, Nigeria, Benin, Togo, Afrique du Sud, etc… Cette chenille cause dégâts énormes sur le maïs. Elle a pour nom scientifique *Spodoptera frugiperda.* La figure 4 ci-dessous présente la chenille légionnaire qui change la couleur de temps en temps suivant son évolution



Figure 4 : Différentes couleurs de la chenille légionnaire aux premiers stades de croissance

Spodoptera *frugiperda* attaque toutes les parties des plants: les feuilles, les fleurs, les tiges et les épis

La figure 5 présente des dégâts causés par les chenilles légionnaires



Figure 5 *:* Dégâts causés par *Spodoptera frugiperda.*

La chenille attaque la culture de maïs dans les différents stades : 1 : feuilles défrichées par les chenilles. 2 : larve jeune. 3 : larve adulte . 4 : intérieur de l'épi de maïs (Kouanda, 2020).

Pour pouvoir lutter contre cette chenille, il faut maîtriser son cycle biologique :

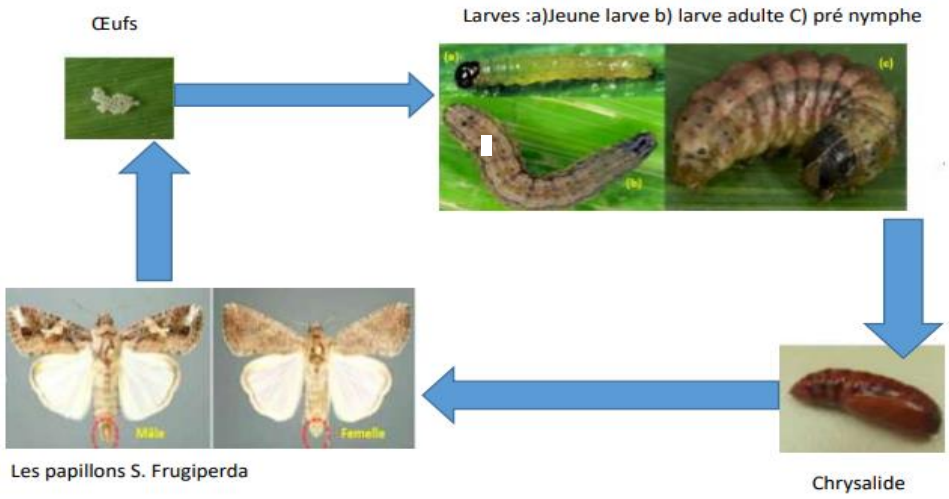


Figure 6 : Cycle biologique de la chenille légionnaire (*https://encryptedtbn0.gstatic)*

1.2.2. Les pucerons noirs

Le haricot est une légumineuse riche en protéines. Malheureusement cette culture présente très souvent des faibles rendements suite aux contraintes biotiques et abiotiques.

Pour les facteurs biotiques, on peut citer les insectes ravageurs et certaines maladies de culture de haricot en l'absence de leur lutte.

Parmi les ravageurs, on parle entre autre du puceron noir du haricot. Le puceron noir du haricot est un insecte qui attaque le haricot le plus souvent au niveau des feuilles et qui véhicule parfois le virus de la mosaïque du haricot (Barthélémy et al., 2017). L'attaque s'est caractérisée par la présence de colonies d'insectes sur les tiges et les faces inferieurs des feuilles. Les plantes infestées par les pucerons noirs se développent mal.



Figure 7: Plants de haricots infectées par le puceron noir (INADES, 2021)

Pour savoir lutter contre ces pucerons, il faut savoir leur cycle biologique (Kulimushi, 2015)**.**

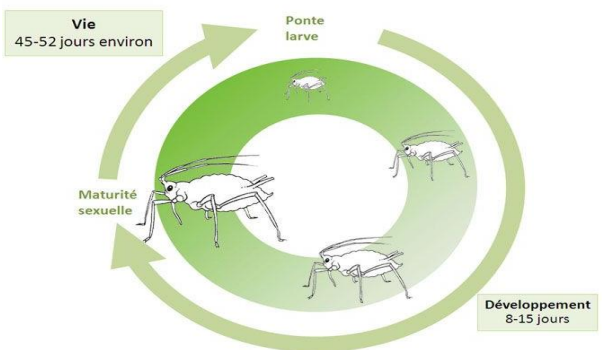


Figure 8 : Cycle biologique du puceron noir du haricot (http://ephytia.inra.fr*)*

1.2.3. Les charançons

Le maïs est une céréale qui occupe une place prépondérante au Burundi. Malheureusement, le produit – poste récolte pose des problèmes au moment de stockage.

Les charançons sont des insectes qui causent d'énormes pertes de quantité de maïs lors du stockage. Le charançon du mais est un insecte ravageur qui appartient à l'ordre des coléoptères. L'une de ses particularités est qu'il possède la faculté de s'attaquer aux céréales (figure 4).



Figure 9 : Grains de maïs dégradés par les charançons lors de notre travail

La figure 10 présente le cycle biologique de charançons de maïs

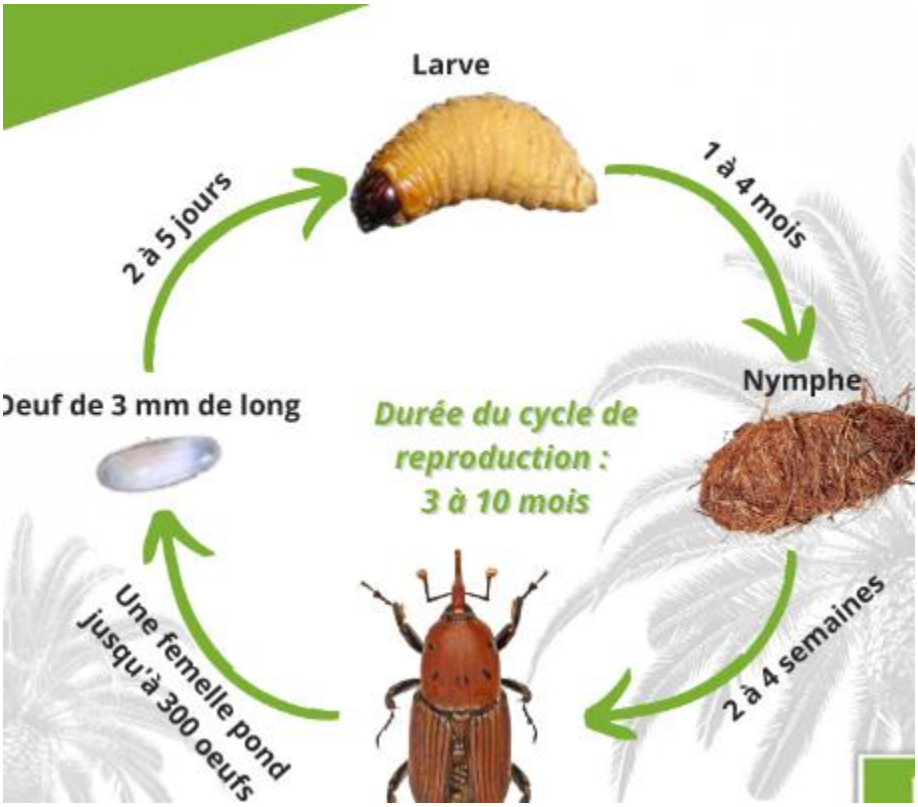


Figure 10: Cycle biologique du charançon

(om/images?q=tbn:ANd9GcTTM2JcZx_-Aq5UTgAB5_Md2d71RCxrJJejdWSAQ5crZQ&s)

1.2.4. Le bruche du haricot

La bruche (coléoptère) est un insecte qui attaque exclusivement les haricots et les petits pois. Elle détériore le pouvoir germinatif des graines et les rend inutilisables pour la consommation humaine.

Les symptômes de l'attaque se caractérisent par les trous et les poudres qui se dégénèrent dans les graines (figure 11)

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes



Figure 11 : Grains de haricot dégradés par les bruches

La figure12 présente le cycle biologique de bruche d'haricots

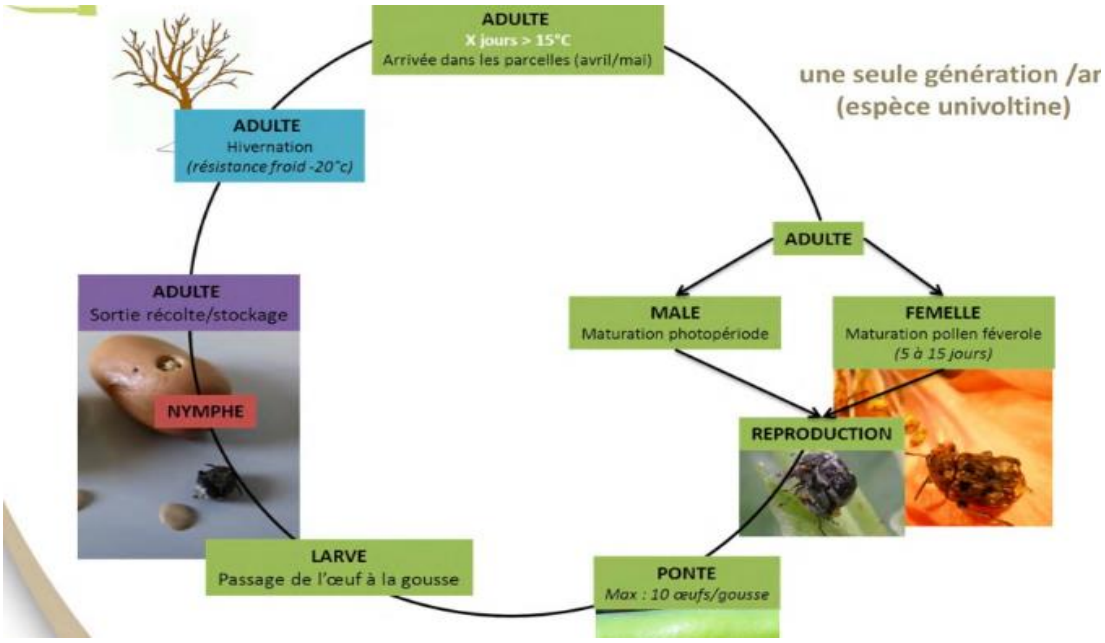


Figure 12 : Cycle biologique de bruche du haricot (ttps.//pbs.twing.com/media)

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Les échantillons de plantes utilisés dans ce travail ont été prélevés dans la province Kirundo, en commune Kirundo, zone Kirundo.

2.2. Réactifs et solvants utilisés

Les solvants utilisés dans notre travail sont n-Hexane ; dichlorométhane ; acétate d'éthyle ; méthanol ; diméthyl–sulfoxyde (DMSO) et les réactifs utilisés sont : $FeCl_3$ 1 % ; H_2SO_4 concentré ; $FeCl_3$ 2 % ; $CHCl_3$; HCl 1%

2. 3. Méthodes

2.3.1. Séchage des feuilles récoltées et préparation de la poudre

Les échantillons prélevés ont été acheminés directement au laboratoire C5 de la faculté des sciences de l'Université du Burundi, pour les faire sécher à l'air libre. Après un mois de séchage, ils ont été broyés à l'aide d'un pilon et d'un mortier et tamisés avec un tamis de maille de 1 mm de diamètre afin d'avoir une poudre de granulométrie homogène.

2.3.2. Préparation des extraits secs

L'extraction est un procédé d'extraire une substance chimique par des solvants spécifiques. La méthode utilisée dans ce travail était la macération.
Deux ampoules à décanter dans lesquelles on a initialement mis une petite quantité de coton ont été utilisées pour l'extraction. Nous avons utilisé les solvants de polarité croissante à savoir n-hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol. Cent grammes de poudre de feuilles sèches ont été pesées et dissous dans 1000 ml de solvant. L'extrait a été obtenu après 24 h de macération et l'opération a été continuée jusqu'à l'épuisement complet.
L'épuisement complet de l'extrait a été testé par l'absence de fluorescence de la solution de l'extrait à 254 nm et à 366 nm et puis la révélation par l'acide sulfurique.



Figure 13 : Dispositif d'extraction par macération

2.3.3. Evaporation

L'extrait obtenu a été concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif, pour éliminer le solvant extractant.



Figure 14 : Photo de l'évaporateur rotatif utilisé dans ce travail

L'évaporation des solvants a été effectuée à une température de 40 °C et sous pression réduite. Les extraits obtenus ont été séchés dans l'étuve à 40 °C et conservés dans un réfrigérateur à 4 °C en attendant les tests biologiques y relatifs.

.

2.3.4. Préparation des extraits frais

L'extrait frais a été préparé en suivant le Protocole de l'INADES (2021) qui consiste à mélanger 5 kg de matières fraiches dans 20 litres d'eau (INADES, 2022).

Les feuilles échantillonnées ont été broyées à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Les poudres fraîches ont été mélangées avec de l'eau du robinet dans les proportions de 250 g/l afin de faire l'extraction. Ce mélange a été conservé dans un droit ambiant et à l'abri de la lumière pendant 24 h. Après, nous avons fait la filtration à l'aide d'un sac préalablement bien nettoyé. Le filtrat a été recueilli dans un erlenmeyer de 1000 ml, puis transvasé dans un flacon de 1,5 l. Les différentes concentrations ont été préparées à partir de la solution mère (250 g/l). Ainsi les différentes concentrations qui ont été préparées sont : 250 g/l ; 125 g/l et 62,5 g/l.

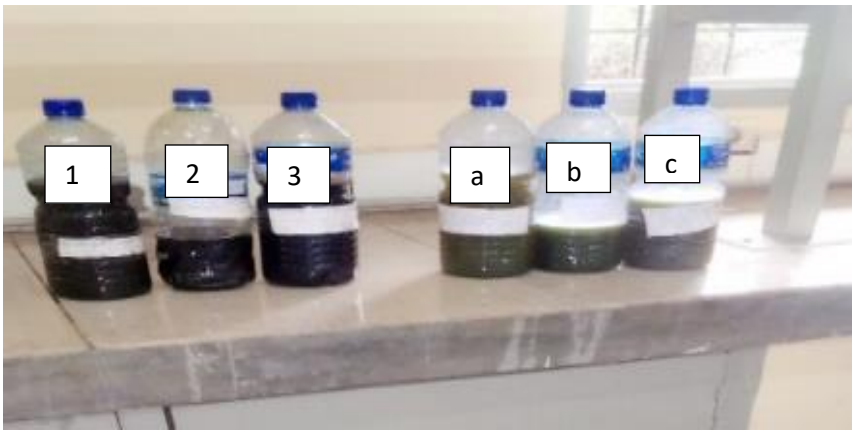


Figure 15 : Flacons contenant les différentes concentrations des extraits aqueux frais

1 : extrait de *G. amygdalinum* de 250 g/l ; 2 : extrait de *G. amygdalinum* de 125 g/l ; 3 : extrait de *G. amygdalinum* de 62,5 g/l ; a : extrait de *P. subsessile* de 250 g/l ; b : extrait de *P. subsessile* de 125g/l ; c : extrait de *P. subsessile* de 125 g/l

2.4. Etude phytochimique de *P. subsessile* et de *G. amygdalinum*

Le criblage phytochimique a été effectué sur les différents extraits en suivant le protocole décrit par Evans (2009). Ce protocole est décrit dans le tableau 7.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 5 : Réactifs et méthodes utilisés pour l'étude phytochimique

Les classes de métabolites identifiés	**Réactifs et méthode utilisée**	**Observations**
Saponosides	1 ml d'extrait + 5 ml d'eau distillée ; agitation vigoureuse	Formation d'une mousse persistante
Tanins	1 ml d'extrait + 30 ml d'eau distillée ; chauffage à l'ébullition et laisser reposer puis filtrer avec $FeCl_3$ 1 %	Coloration bleue –noire
Flavonoïdes	1 ml d'extrait ; 5 ml de HNO_3 diluée ; 2 ml H_2SO_4 concentré ; chauffage pendant 2 min	Formation d'une coloration jaune
Glucosides	0,1 g d'extrait + 2 ml de $CHCl_3$ + 2 ml de H_2SO_4 concentré ; agitation douce	Coloration brun-rouge
Alcaloïdes	0,1 g d'extrait + HCl 1% + chauffage douce ; filtrer + 3 goutes de solution du réactif de Dragendorff dans le filtrat	Formation d'une couleur jaune persistant
Stéroïdes	2 ml d'extrait + 2 ml de $CHCl_3$ + 2 ml de H_2SO_4 concentré + agitation	Une couche de chloroforme de coloration rouge et une couche Acide qui montre une fluorescence jaune
Phénols	1 ml d'extrait + 2 gouttes de $FeCl_3$ 2 %	Formation d'une coloration noire



Figure 16 : Quelques photos prises lors de l'étude phytochimique

1 : vérification de la présence des flavonoïdes ; 2 : présence des tanins (coloration bleue-noire)

2.5. Matériel animal

Les charançons et les bruches ont été élevés dans le laboratoire dans des grains du haricot et de maïs. On a cultivé le champ de maïs et du haricot pour avoir la chenille légionnaire et les pucerons noirs.

2.6. Evaluation de l'activité pesticide des extraits frais

Les champs de maïs et d'haricot utilisés pour évaluer l'activité insecticide des extraits frais des espèces végétales *G. amygdalinum* et *P. subsessile* sur les chenilles légionnaires et les pucerons noirs étaient dans la faculté des sciences agronomiques et Bio-Ingénierie (FABI).

Après préparation des extraits, nous avons visité le champ d'expérimentation (c'est-à-dire sur lequel on teste l'activité insecticide). Nous avons commencé à identifier les plants endommagés par la chenille légionnaire. Après cette opération, le champ a été subdivisé en 3 parties : une partie témoin (sur laquelle aucun extrait de plante n'a été pulvérisé) et les deux autres pour l'application de chacun des deux extraits frais.

2.6.1. Etude de l'activité insecticide sur les chenilles légionnaires

Le dénombrement des chenilles légionnaires dans chaque plant infecté a été réalisé avant l'application, et la pulvérisation a été faite le soir de ce même jour.
L'observation des chenilles mortes a été suivie pendant 7 jours et la pulvérisation a eu lieu une fois par semaine.

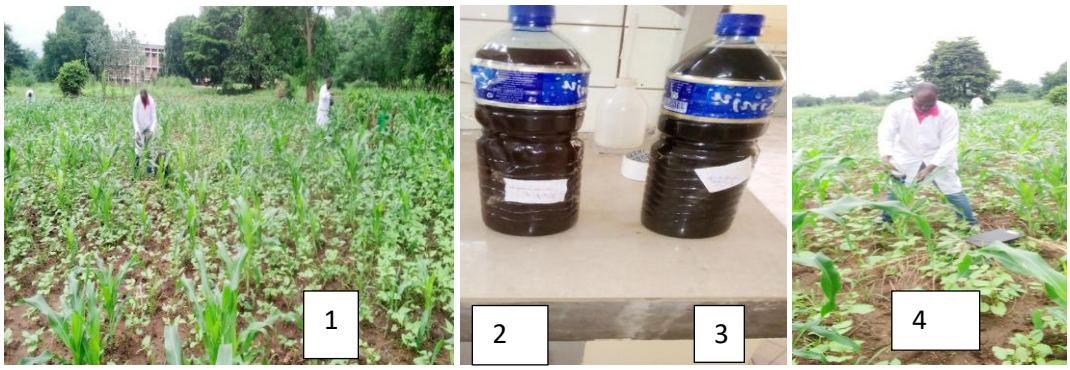


Figure 17 : Quelques images prises lors du test de l'activité insecticide sur la chenille légionnaire

1 : Dénombrement des plants infectés par les chenilles légionnaires ; 2 : extrait aqueux de *G. amygdalinum* de 250 g/l ; 3 : Extrait aqueux de *P. subsessile* de 250 g/l ;

4 : Pulvérisation des chenilles légionnaires

Les pourcentages de mortalités ont été calculés pour chaque jour et chaque dose a été utilisée en trois répétions.

2.6.2. Etude de l'activité insecticide sur les pucerons noirs du haricot

Le protocole expérimental est le même que celui utilisé pour la lutte de la chenille légionnaire, sauf que dans ce cas-ci, nous avons utilisé une loupe lors du dénombrement afin de bien visualiser le nombre de pucerons noirs.



Figure 18 : Plants de haricot infectés par les pucerons noirs

2. 7. Test de toxicité par contact sur les bruches de haricot

Les tests ont été effectués au laboratoire dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. 0,2 g de chaque extrait ont été dilués dans 2,5 ml de Diméthyl sulfoxyde (DMSO) et puis après homogénéisation, la solution obtenue a été alors diluée avec de l'eau distillée jusqu'à 50 ml. Nous avons ainsi obtenu une solution mère de 4 mg/ml qui, par la suite, servira à la préparation solutions filles (Ngezahayo, 2017). Chaque extrait sec a été préparé en raison de trois doses différentes (4 ; 2 et 1 mg/ml). Chaque dose a été utilisée avec trois répétitions.
8 g de grains de haricot ont été mélangés en agitant avec 1 ml de chaque extrait dans une boîte de Pétri de 90 mm de diamètre.

Le mélange a été laissé reposer à température ambiante et à l'abri du soleil et de la poussière pendant 30 min afin d'évaporer complètement les solvants utilisés (Ndomo et al., 2009) .

Dans chaque boite de pétri, 6 insectes vivants ont été ajoutés. Les contrôles réguliers des insectes morts ont été suivis en utilisant des pinces pendant les 10 jours. Le taux de mortalité a été calculé comme suit :

Taux de mortalité = (Nombre d'insectes morts observés/Nombre total d'insectes introduits)*100.

Signalons qu'on a utilisé ce même protocole lors du test de toxicité par contact sur les charançons de maïs.



Figure 19 : Test de toxicité des extraits des plantes

P. subsessile (à gauche) et G. amygdalinum (à droite), la couleur blanche correspond aux charançons de maïs, la mauve aux bruches de haricot

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie, nous présenterons les résultats sous forme des graphiques et de tableaux.

Le rendement d'extraction a été calculé comme suit :

R (%) = (masse de l'extrait*100)/masse de la poudre avant l'extraction et les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 6: Rendement des extraits de *G. amygdalinum*

Masse de la poudre	Volume solvant	Masse d'extrait	Rendement
100,00 g	1000 ml d'hexane	1,28 g	1,28 %
98,71 g	1000 ml de dichlorométhane	4,72 g	4,78 %
93,98 g	1000 ml d'acétate d'éthyle	1,53 g	1,63 %
25,00 g	250 ml de méthanol	2,60 g	10,40 %

Tableau 7: Rendement des extraits de *P. subsessile*

Masse de la poudre	Volume solvant	Masse d'extrait	Rendement
100,00 g	1000 ml d'hexane	3,75 g	3,75 %
96,25 g	1000 ml de dichlo-rométhane	5,03 g	5,23 %
91,22 g	1000 ml d'acétate d'éthyle	0,98 g	1,07 %
25,00 g	250 ml de métha-nol	2,57 g	10,29 %

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

3.1. Présentation des résultats

Le tableau 8 montre les résultats obtenus après avoir fait l'étude phytochimique.

Tableau 8 : Résultats du criblage phytochimique des extraits de ces plantes étudiées

	Principaux principes actifs						
Types d'extrait	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tanins	Glucosides	Saponosides	Stéroïdes	Phénols
Pos E hex	-	-	-	-	-	+	+
PosEDCM	+	+	-	+	-	+	+
Pos EACE	+	+	-	+	-	+	+
PosEMeOH	+	+	+	+	+	+	+
PosEAQ	-	+	+	+	+	-	-
GYEhex	-	-	-	+	-	+	+
GYEdcm	-	+	-	+	-	+	+
GYEacet	+	+	-	+	+	+	+
GYEmeOH	+	+	+	+	+	+	+
GYEAQ	-	+	+	+	+	-	-
Le signe + signifie la présence d'un type de métabolites secondaire identifié tandis que le signe – indique son absence.							

3.1.1. Effet insecticide des extraits de *P. subsessile* sur la chenille légionnaire

Le tableau 9 montre la mortalité des chenilles légionnaires en fonction du temps et traitées par les différentes doses d'extrait aqueux de la *P. subsessile* (250 g/l ; 125 g/l ; 62,5 g/l). La concentration de 250 g/l a provoqué un taux de mortalité de 58,33 %; 28,5 % pour une dose de 125 g/l ; 10 % pour une dose de 62,5 % pour le 3eme jour. Au-delà de cette date, on a enregistré les taux de mortalité croissants et des taux optimaux s'observent après une période 6 jours soit un taux de 91,66 %; 50 % et de 30 % respectivement pour une dose de 250 g/l ; de 125 g/l et de 62,5 g/l.

Tableau 9: Activité insecticides de *P. subsessile* sur la chenille légionnaire

Concentrations des extraits aqueux	Taux de mortalité (%) de la chenille légionnaire en fonction du temps (en jours)						
	1	2	3	4	5	6	7
250 g/l	0,00	8,33	58,33	66,66	75,00	91,66	91,66
125 g/l	0,00	0,00	28,57	35,71	42,85	50,00	50,00
62,5 g/l	0,00	0,00	10,00	20,00	30,00	30,00	30,00
T-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T- : Témoin négatif (champs non pulvérisé) ; j : jour (s)							

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

3.1.2. Activité insecticides de *G. amygdalinum* sur la chenille légionnaire.

Le tableau 10 montre la mortalité des chenilles légionnaires en fonction du temps après traitement par les différentes doses d'extrait aqueux de *G. amygdalinum* sur la chenille légionnaire (250 g/l ; 125 g/l ; 62,5 g/l). La dose 250 g/ml provoque un taux de mortalité de 30,76 %; de 16,66 % pour une dose de 125 g/ml et de 8,33 % pour une dose de 62,5 % pendant le 3eme jour. Au-delà de cette date, on a enregistré un taux de mortalité croissant et des valeurs maximales s'observent à partir des 5ème et 6 ^{ème} jours : 69,23 % pour une dose de 250 g/ml et 50% pour une dose de 125 g/ml et 33,33 % pour une dose de 62,5 g/ml.

Tableau 10 : Activité insecticides de *G. amygdalinum* sur la chenille légionnaire**.**

Concentrations des extraits aqueux	Taux de mortalité (%) de la chenille légionnaire en fonction du temps (en jours)						
	1	2	3	4	5	6	7
250 g/l	0,00	0,00	30,76	53,84	61,53	69,23	69,23
125 g/l	0,00	0,00	16,66	41,66	41,66	50,00	50,00
62,5 g/l	0,00	0,00	8,33	25,00	33,33	33,33	33,33
T-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T- : Témoin négatif (Champs non pulvérisé); j : jour (s)							

3.1.3. Activité insecticides d'extrait aqueux de *P. subsessile* sur les pucerons noirs

Le tableau 11 montre la mortalité des pucerons noirs du haricot en fonction du temps après traitement par les différentes doses d'extrait aqueux de *P. subsessile* (250 g/l ; 125 g/l ; 62,5 g/l). La dose 250 g/ml provoque un taux de mortalité de 68,51 %; 36,84 % pour une dose de 125 g/l et 18,51 % pour une dose de 62,5g/l au 3ème jour. Au-delà de cette période, on a enregistré un taux de mortalité de 87,03 % pour une dose de 250 g/l ; 40,35 % pour une dose de 125 g/l ; 29,62 % pour une dose de 62,5 g/l.

Tableau 11 : Activité insecticides d'extrait aqueux de *P. subsessile* sur les pucerons noirs

Concentrations des extraits aqueux	Taux de mortalité (%) de pucerons noirs en fonction du temps (en jours)						
	1	2	3	4	5	6	7
250g/l	0,00	0,00	68,51	70,37	87,03	87	87,03
125g/l	0,00	0,00	36,84	38,59	38,59	40	40,35
62, 5g/l	0,00	0,00	18,51	20,37	20,37	29	29,62
T-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T- : Témoin négatif (champs non pulvérisé) ; j : jour (s)							

3.1.4 Activité insecticide d'extraits aqueux de *G. amygdalinum* sur les pucerons noirs.

Le tableau 12 montre la mortalité des pucerons noirs traités avec des extraits de *G. amygdalinum* en fonction du temps. L'observation des pucerons morts a été suivie pendant 7 jours et la pulvérisation a eu lieu deux fois par semaine (mardi et vendredi).on a utilisé une loupe lors du dénombrement. Les doses 250g/l ; 125g/l ; 62,5g/l ont présenté un taux de mortalité 62,85 ; 40 ; 30,43 respectivement durant les 7 jours d'observation.

Tableau 12 : Activité insecticides d'extrait aqueux de *G. amygdalinum* sur les pucerons noirs

	Taux de mortalité (%) de pucerons noirs en fonction du temps (en jours)						
Concentrations des extraits aqueux	1	2	3	4	5	6	7
250g/l	0	20	48,57	51,42	62,85	62,85	62,85
125g/l	0	0	34,54	38,18	40	40	40
62, 5g/l	0	0	19,56	21,73	30,43	30,43	30,43
T-	0	0	0	0	0	0	0

3.1.5. Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les charançons de maïs.

Les résultats de l'effet insecticide de *P. subsessile* sur les charançons de maïs sont enregistrés dans le tableau suivant (Tableau 13) et l'évolution de la mortalité des charançons en fonction du temps à différentes doses pour le *P. subsessile* est illustrée par la figure 24.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 13: Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les charançons de maïs

Extrait à 4 mg/ml	Nombre de charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	2	2	2	2	3	3	5	5	5
EMeOH	0	0	3	3	3	4	4	4	4	4
E ACOET	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
E DCM	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Tableau 14 : Activité insecticide des différents extraits *à* 2 mg/ml de *P. subsessile* sur les Charançons de maïs

Extrait à 2 mg/ml	nombre charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	2	2	2	2	3	3	3	3
E MeOH	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3
E ACOET	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2
E DCM	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO ; T- : contrôle négatif (eau distillée),										

Tableau 15 : Activité insecticides des différents extraits à 1 mg/ml de *P. subsessile* sur les charançons de maïs**.**

Extrait à 1 mg/ml	Nombre de charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
E MeOH	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E ACOET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
E DCM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

3.1.6 Activité insecticide des différents extraits de *P. subsessile* sur les bruches de haricots.

Pendant les 10jours d'observation, l'activité insecticide de *P. subsessile* sur les bruches de Haricots a montré les résultats consignés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 16 : Activité insecticides des différents extraits à 4 mg/ml de *Pogonospermum subsessile* sur les bruches de haricots**.**

Extrait à 4 mg/ml	Nombre de bruches de haricots morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	2	4	4	6	6	6	6	6	6
E MeOH	0	1	3	3	5	6	6	6	6	6
E ACOET	0	0	2	2	3	4	4	5	6	6
E DCM	0	0	0	3	3	3	3	4	5	5
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Tableau 17 : Activité insecticides des différents extraits à 2 mg/ml de *P. subsessile* sur les bruches de haricots**.**

Extrait à 2 mg/ml	Nombre de bruches de haricots morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	2	2	5	5	6	6	6	6
E MeOH	0	0	2	2	3	3	3	4	4	6
E ACOET	0	0	1	2	2	2	4	4	4	4
E DCM	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Tableau 18 : Activité insecticides des différents extraits à 1 mg/ml de *P. subsessile* sur les bruches de haricots

Extrait à 1 mg/ml	Nombre de bruches du haricot morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2
E MeOH	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E ACOET	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E DCM	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

3.1.7 Activité insecticide des différents extraits de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs.

L'**activité insecticide d**es différents extraits de *G. amygdalinum et leurs toxicités sur* les charançons de maïs ont été aussi évaluées et les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 19: Activité insecticides des différents extraits à 4 mg/ml de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**.**

Extrait à 4 mg/ml	Nombre de charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	2	2	2	2	3	4	4	4
E MeOH	0	0	1	1	2	2	2	3	3	3
E ACOET	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2
E DCM	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 20: **Activité insecticides des différents extraits** à 2 mg/ml **de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**.

Extrait à 2 mg/ml	Nombre de charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2
E MeOH	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2
E ACOET	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2
E DCM	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Tableau 21: **Activité insecticide des différents extraits** à 1mg/ml **de *G. amygdalinum* sur les charançons de maïs**

Extrait à 1mg/ml	Nombre de charançons de maïs morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1
E MeOH	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
E ACOET	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
E DCM	0		0	0	0	0	0	0	0	1
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

3.1.8 Activité insecticide des différents extraits de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots.

Les tableaux n°22,23 et 24 montrent le nombre de mortalités de bruches mortes sur 6 bruches introduites dans une boite de pétrie en fonction du temps traitées par des différentes doses d'extraits (hexanique ; méthanoïque, acétate d'éthyle ; dichlorométhanique) de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots (4 mg/ml ; 2 mg/ml ; 1mg/ml) dans une période de 10 jours.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 22 : Activité insecticides des différents extraits à 4mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots**.**

Extrait à 4 mg/ml	Nombre de bruches de haricots morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	3	3	5	5	6	6	6	6
E MeOH	0	0	2	2	4	5	5	5	6	6
E ACOET	0	0	0	0	2	3	4	4	6	6
E DCM	0	0	0	2	2	2	2	2	4	6
T+	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Tableau 23 : Activité insecticides des différents extraits à 2 mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots

Extrait à 2 mg/ml	Nombre de bruches de haricots morts en fonction du temps (en jours)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	2	3	4	4	4	4	6	6
E MeOH	0	0	0	3	4	4	4	5	5	6
E ACOET	0	0	0	2	3	3	6	6	6	6
E DCM	0	0	0	1	1	2	3	4	5	5
DMSO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau 24 : Activité insecticides des différents extraits à 1mg/ml de *G. amygdalinum* sur les bruches de haricots**.**

	Nombre de bruches de haricots morts en fonction du temps (en jours)									
Extrait à 1mg/ml	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E Hexane	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
E MeOH	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
EACOET	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
E DCM	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
T+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+ : Contrôle DMSO										

3.2. Comparaison des différents extraits de *P. subsessile* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les charançons de maïs.

La figure 20 montre la comparaison de mortalités des charançons suivants les différentes doses et les différents extraits de ***P. subsessile*.**

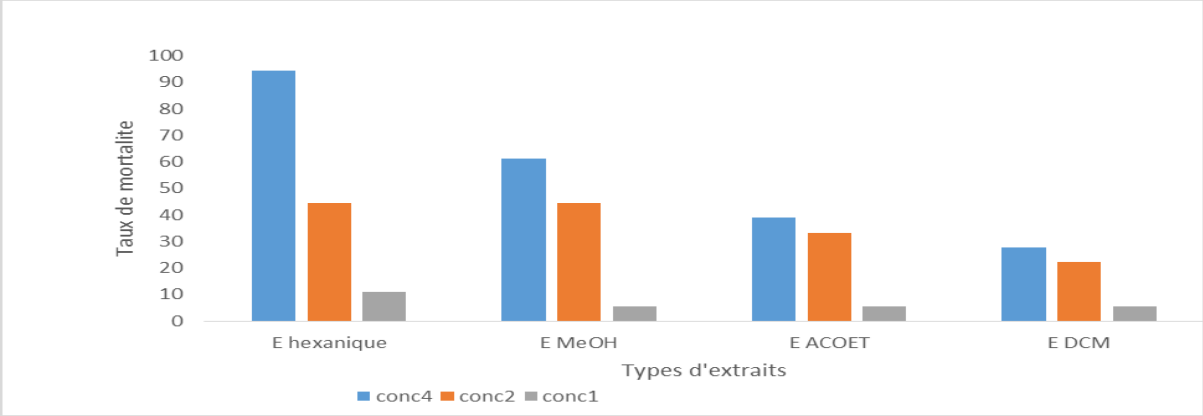


Figure 20: Comparaison de l'évolution de la mortalité des charançons en fonction des doses et de types d'extrait (p. subsessile)

3.3. Comparaison des différents extraits de P. subsessile en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les bruches de haricots.

La figure 21 montre la comparaison de mortalités des Bruches de haricots suivants les différentes doses et les différents extraits de *P. subsessile*

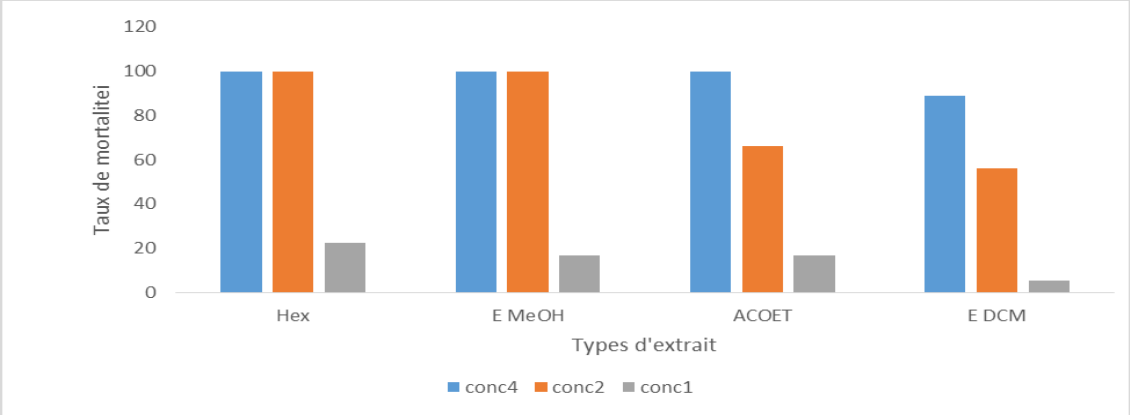


Figure 21: comparaison de l'évolution de la mortalité des bruches de haricot en fonction des doses et de types d'extrait (*P. subsessile*)

3.4. Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les charançons de maïs.

La figure 22 : montre la comparaison de mortalités des charançons suivants les différentes doses et les différents extraits de *G. amygdalinum*

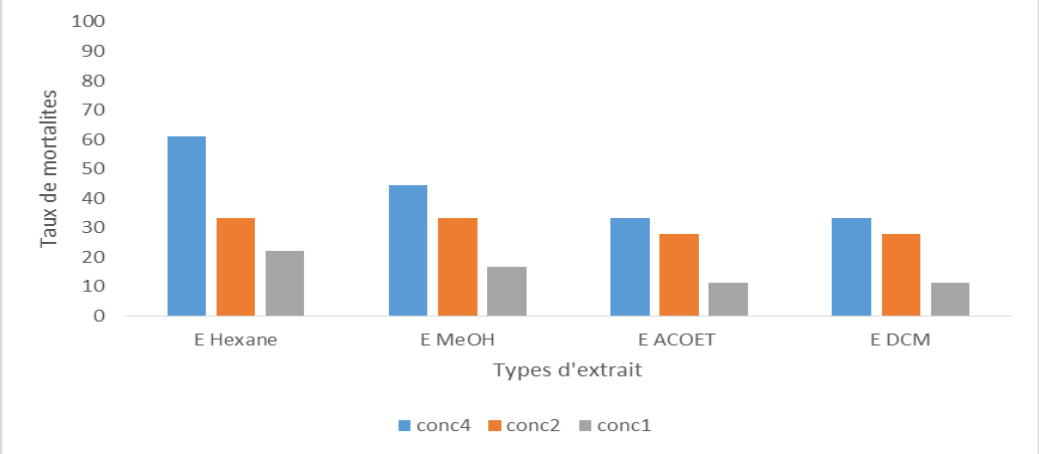


Figure 22**: Comparaison de l'évolution de la mortalité des charançons en fonction des doses et de types d'extrait (***G. amygdalinum)*

3.5. Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses et de types d'extrait sur les bruches du haricot

La figure 23 montre la comparaison de mortalités des bruches de haricots suivants les différentes doses et les différents extraits de *G. amygdalinum*

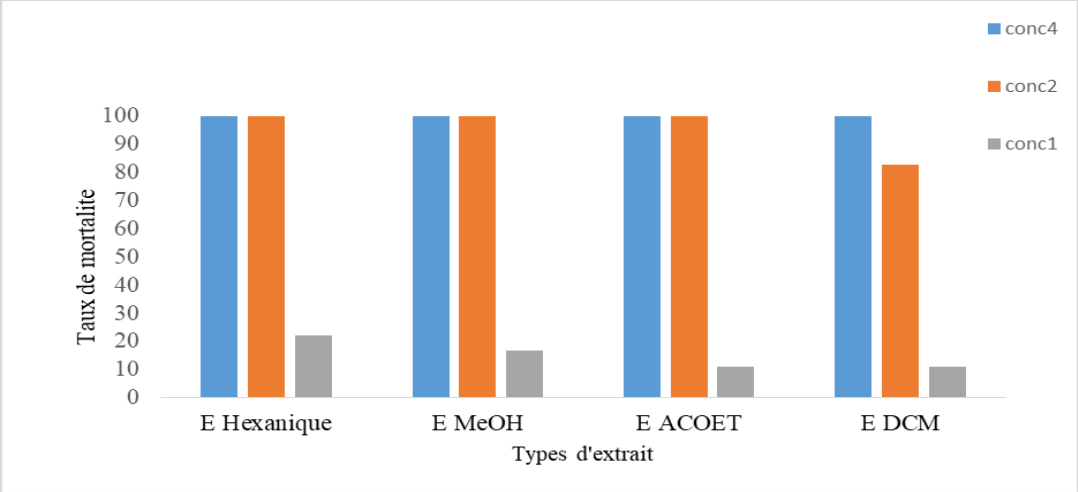


***Figure 23*:** Comparaison de l'évolution de la mortalité des bruches en fonction des doses et de type d'extrait (*G. amygdalinum)*

3.6. Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités *à* 4mg/ml sur les cha rançons de maïs

La figure 24. montre taux de mortalités des charançons suivant les plantes pesticides utili sées pour une concentration de 4 mg/ml.

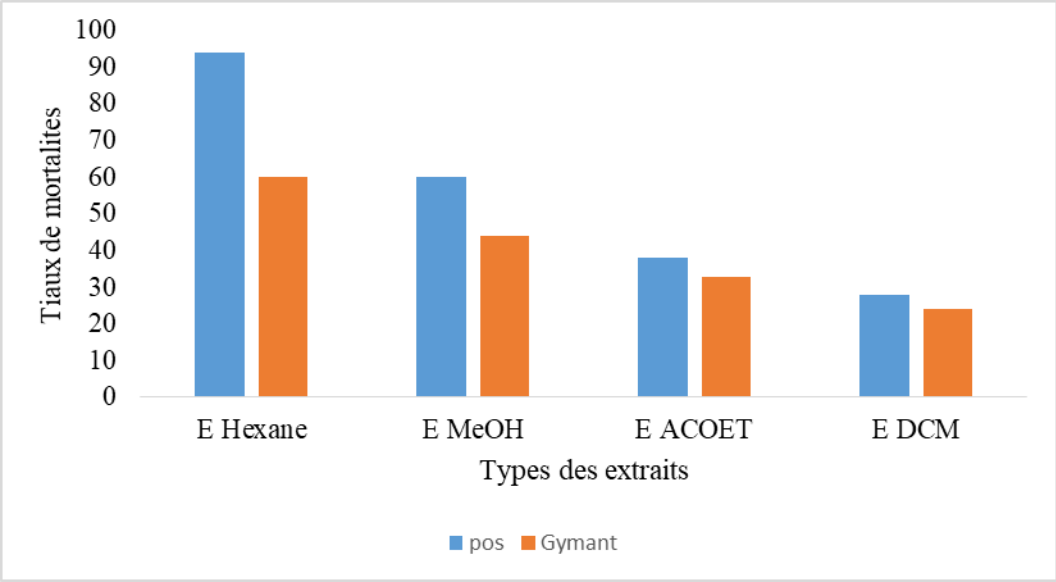


Figure 24: Comparaison de l'évolution de la mortalité des charançons en fonction des plantes utilisées à 4 mg/ml

3.7. Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités à 4 mg/ml sur les bruches de haricots

La figure 25 montre taux de mortalités des bruches de haricots suivant les plantes bio pesticides utilisées pour une concentration de 4 mg/ml dans une période de 10jours

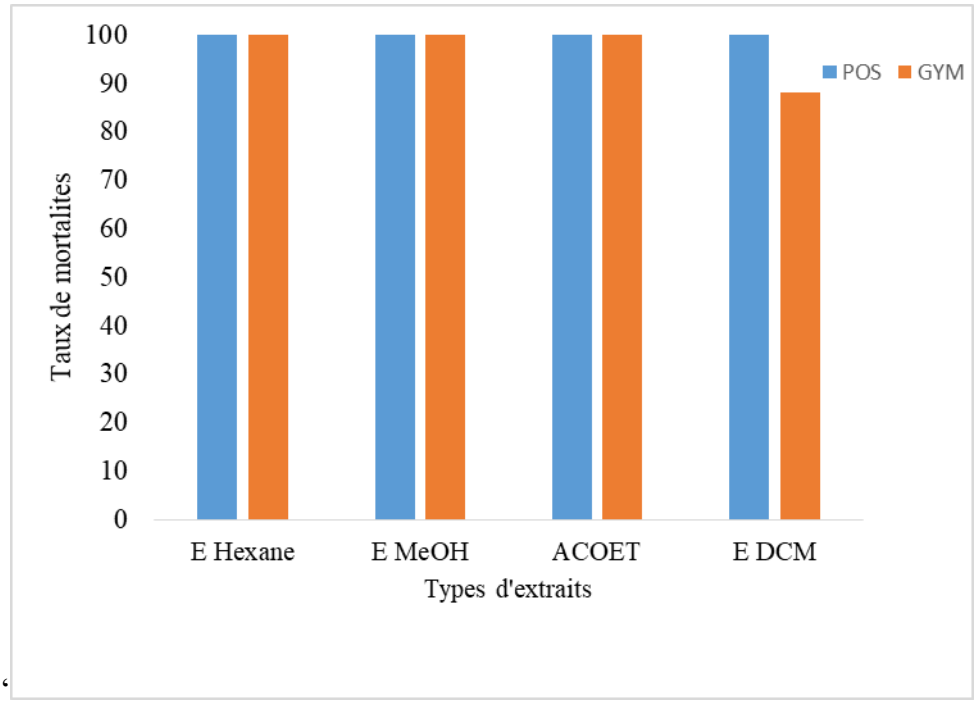


Figure 25: comparaison de l'évolution de la mortalité des Bruches en fonction des plantes utilisées à 4 mg/ml

3.8. Détermination de la dose létale (DL50)

Pour déterminer la dose létale (DL50), on a utilisé la méthode arithmétique de Karber et Behrens (1935).

DL50 = DL100 – Σ (a*b)/n avec a : la différence entre deux doses successives ; b : moitié de la somme des insectes morts entre deux doses successives ; n : nombre d'insectes introduits dans la boîte de Pétrie.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

3.8.1. Détermination de DL50 pour les charançons de maïs

Tableau 25: DL50 pour l'extrait le plus efficace de *P. subsessile sur* les charançons du maïs

Doses (mg/ml)	Moyenne des Nombres de charançons morts	n	% de mortalités	a	B	a *b
1	0,67	6	11,11	1	1,67	1,67
2	2,67	6	44,44	2	4,17	8,34
4	5,67	6	94,44			
						Σ= 10,01

DL50 = 1mg/ml*(4-10,01/6) =2,33 mg/ml

Tableau 26 : DL50 pour l'extrait le plus efficace de *G. amygdalinum sur* les charançons de maïs

Doses mg/ml	Moyenne des Nombres de charançons morts	n	% de mortalités	A	B	a *b
1	0,67	6	11,11	1	1,335	1,335
2	2	6	33,33	2	2,835	5,67
4	3,67	6	61,11			
						Σ= 7,005

DL50 = 1mg/ml*(4-7,005/6) =**2,833 mg/ml**

3.8.2. Détermination de DL50 pour les bruches de haricots

Tableau 27: DL50 pour l'extrait le plus efficace de P. subsessile sur les bruches de haricots

Doses (mg/ml)	Moyenne des Nombres des Bruches mortes	n	% de mortalités	A	B	a *b
1	1,33	6	22,22	1	3,66	3,66
2	6	6	100	2	6	12
4	6	6	100			
						Σ= 15,66

DL50 = 1 mg/ml*(4-15,66/6) = **1,36 mg/ml**

Tableau 28: DL50 pour l'extrait le plus efficace de *G. amygdalinu*m sur les bruches de haricots

Doses (mg/ml)	Moyenne du nombre de bruches mortes	n	% de mortalités	*A*	*B*	*a *b*
1	1	6	16,66	1	3,5	3,5
2	6	6	100	2	6	12
4	6	6	100			
						Σ= 15,5

DL50 = 1mg/ml(4-15,5/6) = 1,42 mg/ml*

3.8.3. Détermination de DL50 pour la chenille légionnaire

Tableau 29: DL50 pour l'extrait aqueux de P. subsessile sur la chenille légionnaire.

Doses g/ml	Moyenne des Nombres de chenilles mortes	n	% de mortalités	A	B	a *b
62,5	1,20	4	30	62,5	1,6	100
125	2,00	4	50	125	2,83	353,75
250	3,66	4	91,66			
						Σ= 453,75

DL50 = 1g/ml(250-453,75/4) =* ***136,5625g/l***

Tableau 30: DL50 pour l'extrait aqueux de G. amygdalinum sur la chenille légionnaire

Doses g/ml	Moyenne des Nombres de chenilles mortes	n	% de mortalités	A	B	a *b
62,5	1,33	4	33,33	62,5	1,665	104,0625
125	2	4	50	125	2,385	298,125
250	2,77	4	69,23			
						Σ= 402,1875

DL50 = 1g/ml(250- 402,1875/4) =* ***149,453 g/l***

3.8.4. Détermination de DL50 pour les pucerons noirs

Tableau 31: DL50 pour l'extrait aqueux de *P. subsessile*

Doses g/ml	Moyenne des Nombres de pucerons noirs morts	n	% de mortalités	a	b	a *b
62,5	5,92	20	29,6	62,5	6,96	435
125	8,00	20	40,35	125	12,7	1587,5
250	17,4	20	87			
						Σ= 2022,5

DL50 = 1 g/ml*(250-2022,5/20) = 148,875g/l

Tableau 32: DL50 pour l'extrait aqueux de *G. amygdalinum*

Doses (g/ml)	Moyenne des Nombres de pucerons noirs morts	n	% de mortalités	a	b	a *b
62,5	6,10	20	30,45	62,5	7	437,5
125	8,00	20	40	125	10,285	1285,625
250	12,57	20	62,85			
						Σ=1723,125

DL50 = 1 g/ml*(250-1723,125/20) = 163,843 g/l

3.9. Discussion des résultats

L'étude phytochimique réalisée montre la présence des alcaloïdes, saponosides, flavonoïdes, tanins, glycosides, stéroïdes et phénols pour toutes les deux espèces faisant l'objet de l'étude.

Des études intérieures de Ngezahayo (2017) ont montré la présence de ces métabolites secondaires dans l'extrait de feuille de *P. subsessile*. Les flavonoïdes ont un effet perturbateur sur la motricité naturelle de l'insecte (Erasto et al., 2006). Les flavonoïdes possèdent le goût désagréable contre les insectes, raison pour laquelle ils peuvent protéger les plantes contre ces insectes (Liesse M.et al., 2013)

L'activité insecticide des extraits a été réalisée. Les cinq extraits de chacun de deux plantes ci-haut citées ont été testés pour leurs effets insecticides, et au moins un extrait de chaque plantes a présenté un effet positif.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Les doses utilisées sont 4 mg/ml ; 2 mg/ml ; 1mg/ml pour les extraits secs et 250 g/l ; 125 g/l ; 62,5 g/l pour les extraits frais. Dans les deux cas, les doses de 4 mg/ml et 250 g/l ont montré une forte activité toxique durant la période d'observation. L'efficacité des extraits est en fonction de la dose. Ces études corroborent avec celles de Johnson et al. (2006). Les extraits hexaniques, méthanoïques ont présenté des effets positifs que les extraits acétate d'éthyle et de dichlorométhane. La toxicité est en fonction de la dose. Les principaux résultats trouvés aux cours de notre travail montrent que l'extrait le plus efficace a été l'extrait hexanique (4 mg/ml) avec un taux de mortalité de 100 % pour les bruches et une DL50 de 1,36 mg/ml ; et 94,4 % ± 0,57 pour les charançons de maïs avec DL50 = 2,33 mg/ml dans le cas de l'extrait de *P. subsessile.* Quant à l'extrait hexanique de *G. amygdalinum*, il a été observé un taux de mortalité de 100 % pour les bruches avec DL50 = 1,42 mg/ml et 61,1 % pour les charançons avec DL50 = 2,833 mg/ml. Les extraits aqueux ont montré également un effet toxique sur les chenilles légionnaires et les pucerons noirs à une dose de 250 g/ml. En médecine traditionnelle burundaise, *P. Subsessile* était utilisée pour traiter certaines maladies notamment la dysenterie, la diarrhée, les maladies de la peau, la toux et les vers intestinaux (Ngezahayo, 2017). Aussi la plante *G. amygdalinum* est utilisée dans certains pays d'Afrique dans le traitement de divers pathologie comme la fièvre, la malaria, la dysenterie, les maladies sexuellement transmissibles (Gaborit 2018). Les molécules bioactives trouvées dans ces deux espèces ont des propriétés répulsives, insecticides, nématicides, anti-appétantes, anti-bactériennes, fongicides et vermifuges (Fortin et al., 2000) ce qui nous a poussé via nos résultats et ces études antérieures de confirmer l'usage de ces plantes dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes au Burundi.

Concernant les denrées alimentaires en stocks, les extraits ont révélés des tests positifs pour les bruches de haricots que pour les charançons de maïs. Toutes les plantes pesticides utilisées dans notre travail ont montré l'effet insecticide. Dans une période de 10 jours, la mortalité pour les bruches du haricot et les charançons du maïs s'arrête alors qu'il faut 7 jours pour les chenilles légionnaires ainsi que les pucerons noirs de haricots (Tixier P. et al., 2010). Au de-là de période, le taux de mortalité reste constant. Les insectes introduits dans les boites de pétrie témoins pendant la période de cette étude restent toujours en vie.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de notre travail était de faire une étude phytochimique, étudier l'activité pesticide, déterminer les doses optimales applicables aux ravageur pour les deux espèces étudiées (*P. subsessile* et *G. amygdalinum*). L'étude phytochimique de ces plantes a montré la présence des métabolites secondaires ayant des propriétés biologiques différentes.
Les cinq extraits utilisés (hexanique, méthanoïque, acétate d'éthyle, dichlorométhanique, et aqueux) ont été évalués pour leurs effets insecticides. L'extrait le plus efficace était l'extrait hexanique (4 mg/ml) avec un taux de mortalité de 100 % sur les bruches ; 94,4 % sur les charançons de maïs dans le cas de l'extrait de *P. subsessile* alors que l'extrait hexanique de *G. amygdalinum* a un taux de mortalité de 100 % sur les bruches et 61,1 % pour les charançons de maïs .
Cela nous aide à confirmer l'usage de ces biopesticides contre les insectes ravageurs des cultures et des récoltes étudiés. Selon cette étude, il est conseillé de pulvériser le plutôt possible lors de la lutte des chenilles légionnaires.

L'objectif de notre étude a été atteint car toutes les deux plantes ont montré un effet insecticide grâce à ses métabolites secondaires déjà identifiés lors de l'étude.

Pour les études ultérieures, nous proposons :

1° **Au gouvernement** :
- d'implanter une industrie Pharmaceutique de ces substances naturelles afin de faciliter, améliorer les conditions de recherche et d'en procurer les produits de qualité et en quantités suffisantes ;
- de cultiver les plantes pesticides et de les protéger dans un endroit bien précis afin de faire des entretiens nécessaires car certaines de ces plantes sont saisonnière.

2° **Aux chercheurs :**
- de faire une recherche poussée en ce qui concerne l'étude phytochimique de ces extraits ;
- d'étudier le principe actif afin de vérifier leur intérêt ;
- de recenser d'autres plantes pesticides et d'autres insectes ravageurs de cultures et de récoltés afin de les éradiquer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abhilash, P. C., & Singh, N. (2009). Pesticide use and application: An Indian scenario. Journal of Hazardous Materials, 165(1), 1–12.

Barthélémy Yarou, B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F. (2017). Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique).

De La Torre, R., De Sola, S., Pons, M., Duchon, A., De Lagran, M. M., Farré, M., Fitó, M., Benejam, B., Langohr, K., Rodriguez, J., Pujadas, M., Bizot, J. C., Cuenca, A., Janel, N., Catuara, S., Covas, M. I., Blehaut, H., Herault, Y., Delabar, J. M., & Dierssen, M. (2014). Epigallocatechin-3-gallate, a DYRK1A inhibitor, rescues cognitive deficits in Down syndrome mouse models and in humans. Molecular Nutrition & Food Research, 58(2), 278–288.

Erasto, P., Grierson, D. S., & Afolayan, A. J. (2006). Bioactive sesquiterpene lactones from the leaves of Vernonia amygdalina. Journal of Ethnopharmacology, 106(1), 117–120.

Evans, P. A., Beardmore, A. P., Page, K. L., Osborne, J. P., O'Brien, P. T., Willingale, R., Starling, R. L. C., Burrows, D. N., Godet, O., Vetere, L., Racusin, J., Goad, M. R., Wiersema, K., Angelini, L., Capalbi, M., Chincarini, G., Gehrels, N., Kennea, J. A., Margutti, R., … Tanvir, N. (2009). Methods and results of an automatic analysis of a complete sample of Swift-XRT observations of GRBs. Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, 397, 1177–1201.

Gaborit, J. (2018). Tell Qoumlouk (Syrie) – D05. In La vallée engloutie (Volume 2: Catalogue des sites): Géographie historique du Moyen-Euphrate (du IVe s. Av. J.-C. au VIIe s. Apr. J.-C.). Presses de l'Ifpo.

G.Troupin (eds). (1985). Flore du Rwanda spermatophytes -.

INADES (2022.). Retrieved September 3, 2023, from

Ngezahayo J, Havyarimana F, Hari L, Caroline S (2017). Medicinal plants used by Burundian traditional healers for the treatment of microbial diseases .

Kouanda, N. (2020). Monitoring et méthodes alternatives de lutte contre Spodoptera frugiperda JE Smith dans la région du Centre-Ouest du Burkina Faso.

Kulimushi, E. (2015). Evaluation des effets d ' insecticides botaniques sur les pucerons noirs du haricot (aphis fabae) a goma en republique evaluation des effets d ' insecticides botaniques sur les pucerons noirs du haricot (aphis fabae) a par. july.

Liess, M., Foit, K., Becker, A., Hassold, E., Dolciotti, I., Kattwinkel, M., & Duquesne, S. (2013). Culmination of low-dose pesticide effects. Environmental Science & Technology, 47(15), 8862-8868.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Louis Looli Boyombe, François Malaisse, Elie Nguo, & Monzenga Lokela Jean Claude. (2021) Incidence de la chenille légionnaire d'automne (Spodoptera frugiperda J.E. Smith) et niveau de connaissance de ce ravageur par les agriculteurs de Kisangani et ses environs, R.D. Congo.

Ndomo, Agnès Flore, A. L. Tapondjou, F. Tendonkeng, et F. Mbiopo Tchouanguep. (2009). « Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminali*s (Myrtaceae) contre les adultes d'Acanthoscelides obtectus (Say) (Coleoptera; Bruchidae) ». Tropicultura 27(3):137–143.

Nsabimana, A., Bali Swain, R., Surry, Y., & Ngabitsinze, J. C. (2020). Income and food Engel curves in Rwanda: A household microdata analysis. Agricultural and Food Economics, 8(1), 11.

Paddick, S.-M., Gray, W. K., Ogunjimi, L., lwezuala, B., Olakehinde, O., Kisoli, A., Kissima, J., Mbowe, G., Mkenda, S., Dotchin, C. L., Walker, R. W., Mushi, D., Collingwood, C., & Ogunniyi, A. (2015). Validation of the Identification and Intervention for Dementia in Elderly Africans (IDEA) cognitive screen in Nigeria and Tanzania. BMC Geriatrics, 15(1), 53.

Prishchepov, A. V., Radeloff, V. C., Dubinin, M., & Alcantara, C. (2012). The effect of Landsat ETM/ETM+ image acquisition dates on the detection of agricultural land abandonment in Eastern Europe. Remote Sensing of Environment, 126, 195–209.

Rapport d'activité INADES (2020).

Stevenson, T. J., Trinh, T., Kogelschatz, C., Fujimoto, E., Lush, M. E., Piotrowski, T., Brimley, C. J., & Bonkowsky, J. L. (2012). Hypoxia Disruption of Vertebrate CNS Pathfinding through EphrinB2 Is Rescued by Magnesium. PLoS Genetics, 8(4), e1002638.

Tang, F. H. M., Lenzen, M., McBratney, A., & Maggi, F. (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. Nature Geoscience, 14(4), 206–210.

Thierry Habyarimana , Christelle Uwizeye , Emmanuel Munyeshyaka , Cedrick Izere , Joseph Mucumbitsi , Callixte Yadufashije. (2020). Bacteriological Study of Electronic Devices Used by Healthcare Workers at Ruhengeri Referral Hospital—PubMed.

Tixier, P., Vinatier, F., Cabrera Cabrera, J., Padilla Cubas, A., Okolle, J., Chabrier, C., & Guillon, M. (2010). Lutte intégrée contre le charançon noir dans les systèmes de culture bananière.

Vonia, S., Hartati, R., & Insanu, M. (2022). In Vitro Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity and the Isolation of Luteolin from the Flower of *Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip ex Walp. Molecules, 27(7), 2132.

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

ANNEXES

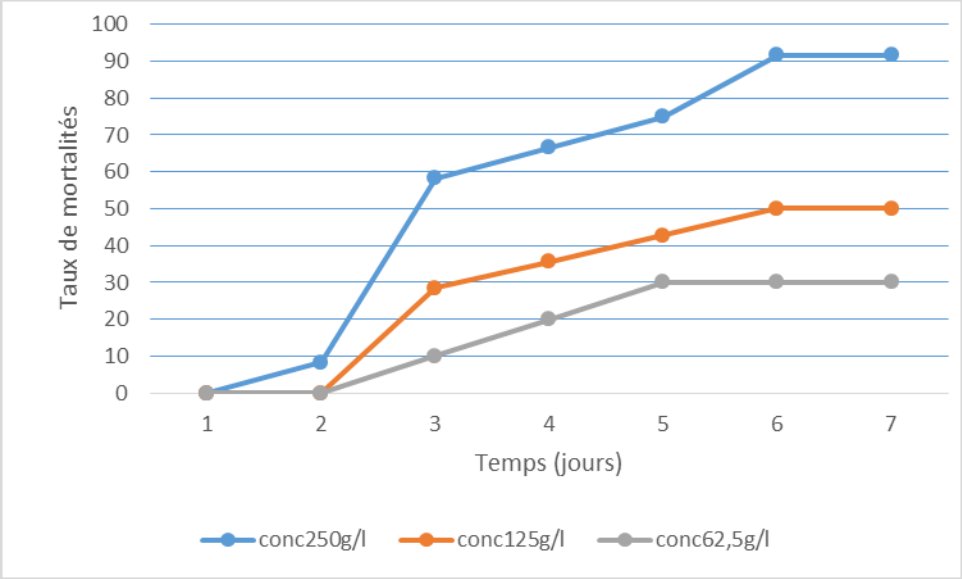


Figure a : Evolution de la mortalité de chenilles légionnaires en fonction du temps (*P. subsessile*)

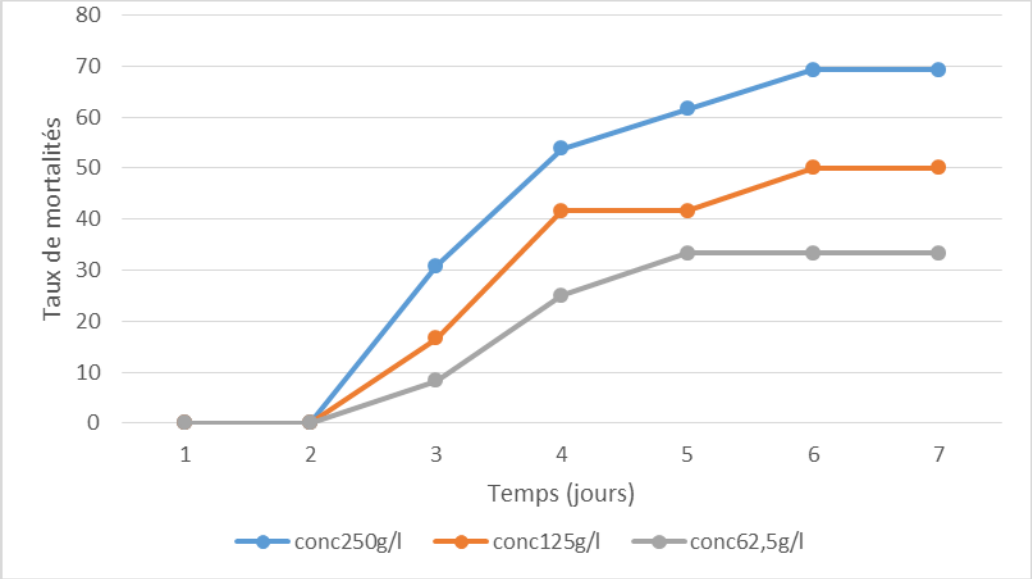


Figure b: Evolution de la mortalité des chenilles légionnaires en fonction du temps (*G. amygdalinum*)

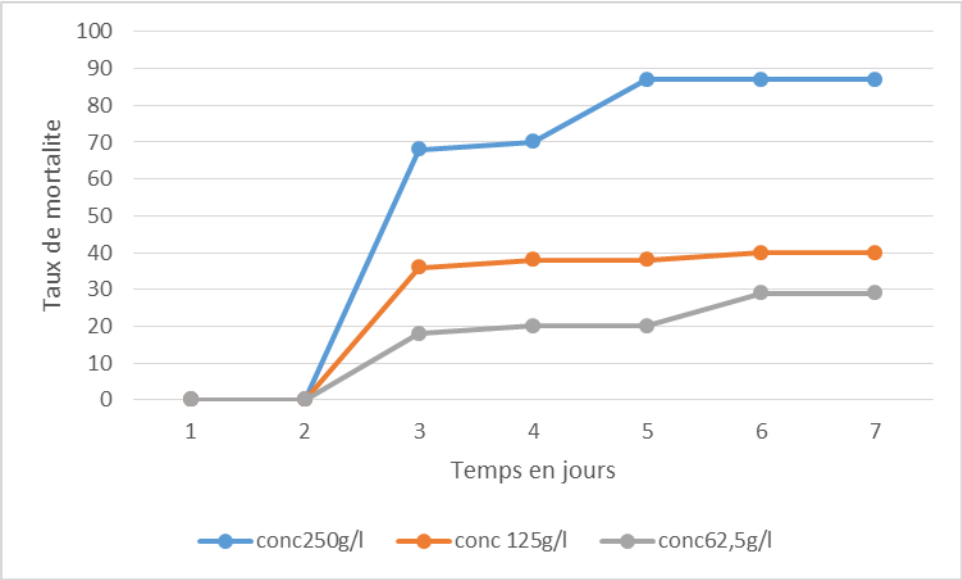


Figure c : Evolution de la mortalité des pucerons noirs en fonction du temps (*P. subsessile*)

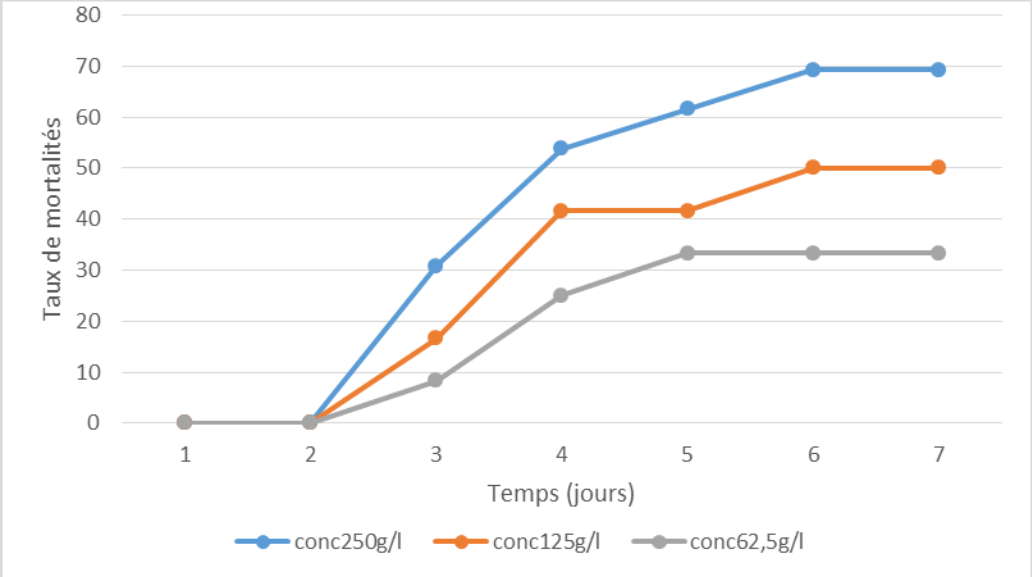


Figure d : Evolution de la mortalité des pucerons noirs en fonction du temps (G. amygdalinum)

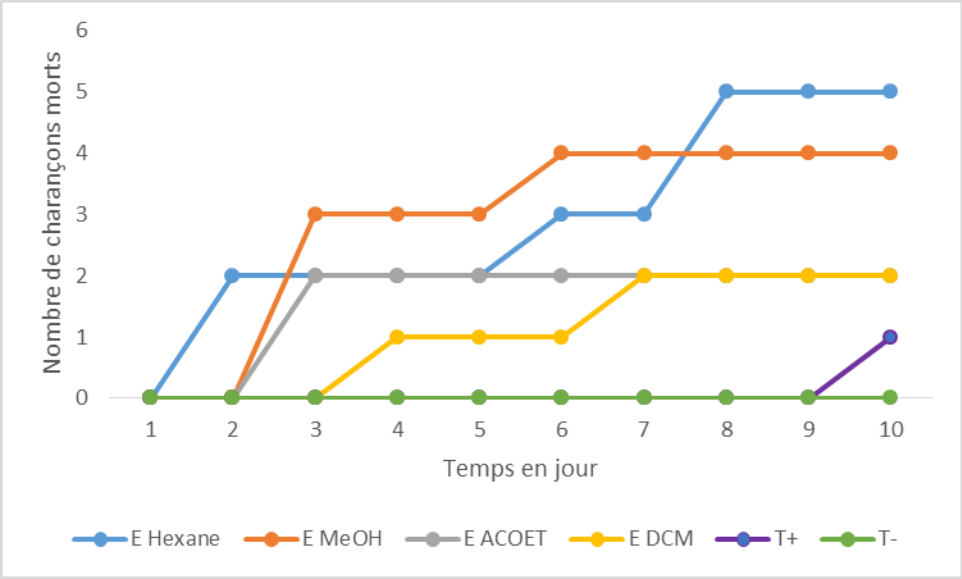


Figure e : Evolution de la mortalité des charançons en fonction du temps à 4 mg/ml (*P. subses sile*)

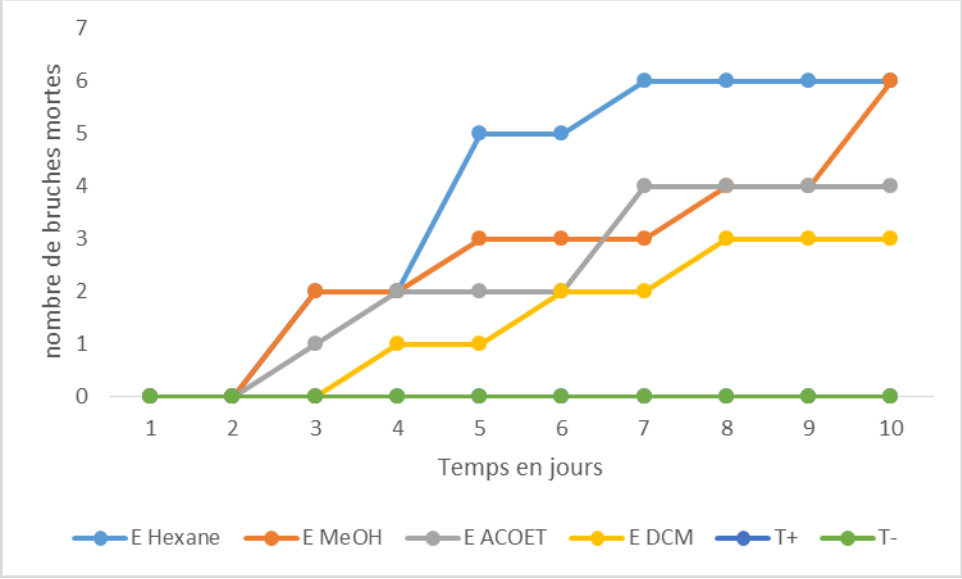


Figure f : Evolution de la mortalité des bruches en fonction du temps à 4 mg/ml (*P. subsessile*)

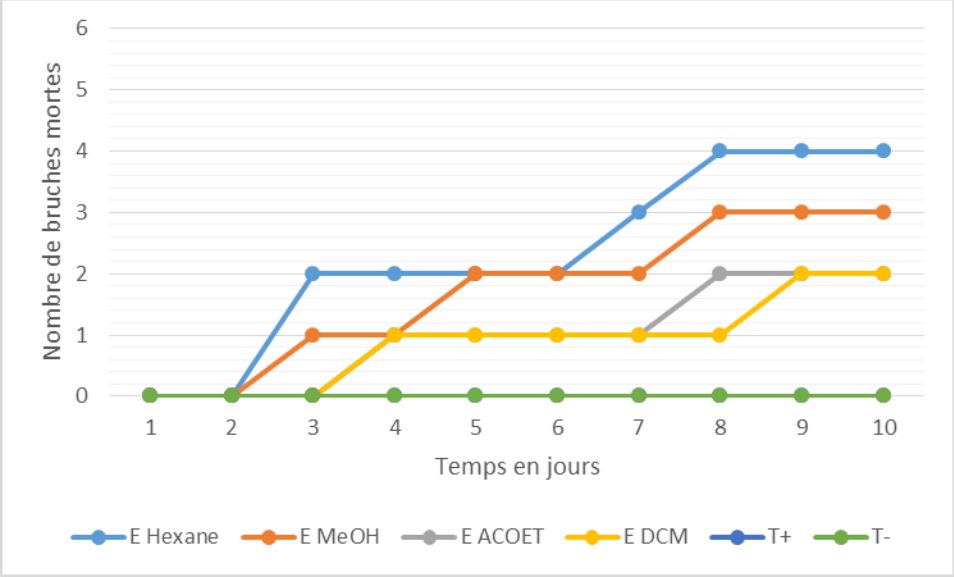


Figure g: Evolution de la mortalité des charançons en fonction du temps à 4 mg/ml (*G. amygdalinum*)

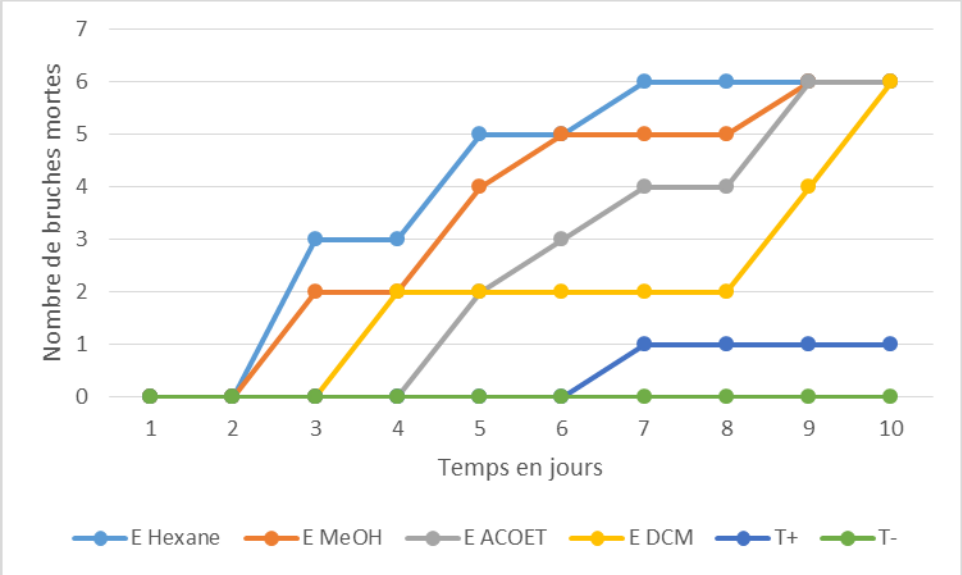


Figure h: Evolution de la mortalité des bruches en fonction du temps à 4mg/ml (*G. amygdalinum*)

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau a: Comparaison des différents extraits de *P. subsessile* en fonction de différentes doses sur les charançons de maïs

Types d'extraits	Taux de mortalité (%) des charançons de maïs dans une période de 10jours		
	4 mg/ml	2 mg/ml	1 mg/ml
E hexanique	94,44	44,44	11,11
E MeOH	61,11	44,44	5,55
E ACOET	38,88	33,33	5,55
E DCM	27,77	22,22	5,55
T+	0,00	0,00	0,00
T-	0,00	0,00	0,00
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+: Contrôle DMSO			

Tableau b: Comparaison des différents extraits de *P. subsessile* en fonction de différentes doses sur les Bruches de haricots.

Types d'extrait	Taux de mortalité (%) des bruches de haricots dans une période de 10jours		
	Conc4	conc2	conc1
E HEX	100,00	100,00	22,22
E MeOH	100,00	100,00	16,66
	100,00	66,00	16,66
E DCM	89,00	56,00	5,50
T+	0,00	0,00	0,00
T-	0,00	0,00	0,00
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+:Contrôle DMSO : conc : concentration			

Tableau c : Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses sur les charançons de maïs.

Types d'extraits	Taux de mortalité (%) des charançons de maïs dans une période de 10 jours		
	Conc4	Conc2	Conc1
E Hexane	61,11	33,33	22,22
E MeOH	44,44	33,33	16,66
E ACOET	33,33	27,77	11,11
E DCM	33,33	27,70	11,11
T+	0,00	0,00	0,00
T^-	0,00	0,00	0,00
E Hexane : extrait hexanique ; E DCM : extrait au dichlorométhane ; E ACOET : extrait à l'acétate d'éthyle ; E MeOH : extrait méthanolique ; T+:Contrôle DMSO			

Tableau d : Comparaison des différents extraits de *G. amygdalinum* en fonction de différentes doses sur les bruches de haricot

Types d'extraits	Taux de mortalité (%) des bruches de haricots dans une période de 10jours		
	Conc4	conc2	conc1
E Hexane	100,00	100,00	22,22
E MeOH	100,00	100,00	16,66
E ACOET	100,00	100,00	11,11
E DCM	100,00	83,00	11,11
T+	0,00	0,00	0,00
T-	0,00	0,00	0,00

Etude phytochimique et activités insecticides de *Gymnanthemum amygdalinum* (umubirizi) *et Pogonospermum subsessile* (umubazibazi) sur les insectes ravageurs des cultures et des récoltes

Tableau e : Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités à 4 mg/ml sur les charançons de maïs

Types d'extrait	Taux de mortalité (%) des charançons en fonction des biopesticides	
	Pos	Gym
E Hexane	94,44	61,11
E MeOH	61,11	44,44
E ACOET	38,88	33,33
E DCM	27,77	24,00
Pos : *P. subsessile* ; Gym : *G. amygdalinum*		

Tableau f : Comparaison des plantes utilisées en fonction de leurs toxicités *à* 4mg/ml sur les bruches de haricot

Types d'extrait	Taux de mortalité (%) des bruches en fonction du bio pesticide	
	POS	GYM
E Hexane	100	100
E MeOH	100	100
ACOET	100	100
E DCM	100	88
Pos : *P. subsessile* ; Gym : *G. amygdalinum*		