

EFFET BIOCIDÉ DE *CRYPTOSTEGIA MADAGASCARIENSIS* SUR *RETICULITERMES SANTONENSIS*

ROUKIA D^{1,2,3}, AHMED SAÏD F³, RAZAFINIRINA E I^{1,2,3}, LOUFI Y², RAJAONARISON J F^{1,2,3}

(1) Laboratoire de Recherche en Biotechnologie, Environnement et Santé (LRBES), Université de Mahajanga.

(2) École Doctorale "Génie du Vivant et de Modélisation (EDGVM)", Université de Mahajanga.

(3) Faculté des Sciences, de Technologies et de l'Environnement (FSTE), Université de Mahajanga.

roukiadjoudi@gmail.com

Résumé

L'activité insecticide des extraits de *Cryptostegia madagascariensis* a été évaluée sur les *Reticulitermes*. Des concentrations de 0,62; 1,25; 2,5; 5; 10mg/ml des extraits ont été testées sur les termites de *Reticulitermes* dans un essai d'efficacité réalisé en laboratoire. Les résultats obtenus dans ces essais mettent en évidence un effet biocide des traitements appliqués qui augmente avec la concentration et la durée d'observation. Les extraits des tiges et des graines de *Cryptostegia madagascariensis* ont donné les rendements les plus élevés 34,74% pour les tiges et (3,81%) pour les graines. L'effet insecticide sur les termites *Reticulitermes* atteint un niveau maximum après 12heures de traitement avec les extraits des racines. La concentration de 0,47mg/ml des extraits des racines et celle de 0,62mg/ml des tiges ont montré une meilleure efficacité pour tuer 50% de *Reticulitermes* testés. Pour tuer 90% des *Reticulitermes*, la concentration de 7,57mg/ml des extraits des racines et celle de 8,33mg/ml pour les feuilles ont été les plus efficaces après 12 heures.

Mots clés : Plantes insecticides, *Reticulitermes*, Toxicité, Région-Boeny.

Abstract

The insecticidal activity of the extracts of *Cryptostegia madagascariensis* was has been evaluated on *Reticulitermes*. Concentrations of 0.62; 1.25; 2.5; 5; 10mg/ml of the extracts was tested on the termites of *Reticulitermes* in a test of effectiveness carried out in laboratory. The results obtained in these tests highlight a biocide effect of the treatments applied which increases with the concentration and the duration of observation. The extracts of the stems and seeds of *Cryptostegia madagascariensis* gave the outputs the highest 34.74% for the stems and (3.81%) seed. The insecticidal effect on the *Reticulitermes* termites reaches a maximum level after 12heure of treatment with the extracts of the roots. The concentration of 0.47mg/ml of the extracts of the roots and that of 0.62mg/ml of the stems showed a better effectiveness to kill 50% of *Reticulitermes* tested. To kill 90% of *Reticulitermes*, the concentration of 7.57mg/ml of the extracts of the roots and that of 8.33mg/ml for the sheets were most effective after 12 hours.

Keywords: Plants insecticide, *Reticulitermes*, toxicity, Region Boeny.

Introduction

Les termites constituent une des composantes majeures des écosystèmes tropicaux (Jones et al., 1994, Lavelle et al., 1997). Ils représentent près de 65 % de la biomasse de la faune du sol. De nombreuses études ont montré leur importance écologique dans les écosystèmes tropicaux (Wood et al.,

1991). Ils sont impliqués dans le processus de décomposition de la matière organique, la concentration, le stockage et la redistribution des constituants minéraux et organiques.

La présence des termites dans les constructions humaines est connue depuis la fin du XVIII^{ème} siècle, mais il ne leur est accordé jusqu'à la seconde guerre mondiale qu'une curiosité scientifique. Tirant leurs

aliments énergétiques de la cellulose, les termites sont de redoutables destructeurs de maisons, d'archives, de bibliothèques, d'œuvres d'art en bois (Ndiaye, 1998). En effet, les termites peuvent occasionner des dégâts importants dans les bâtiments.

Par ailleurs, la lutte contre les termites ravageurs du bois se focalise sur l'utilisation de produits insecticides chimiques en traitant le bois par des termiticides. En effet, en raison de son efficacité et de son application facile et pratique, l'utilisation d'insecticides chimiques constitue à l'heure actuelle la technique la plus utilisée. Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides pourrait provoquer une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non ciblées telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants. Ces dangers ont conduit l'OMS à interdire l'usage de certains insecticides chimiques. Pour toutes ces raisons, il devient indispensable de trouver des méthodes alternatives fiables et respectueuses de l'environnement pour garder une meilleure qualité du bois et qui le permettra une durée de vie longue. Le potentiel des plantes à vertus insecticides et ou insectifuges est énorme surtout dans les pays tropicaux comme Madagascar qui est connu par sa richesse spécifique tant qu'au niveau de sa flore qu'au niveau de sa faune. Les orientations modernes de la défense des bois de construction, des cultures et de la protection de l'environnement ont le regard désormais tourné vers ces biomolécules naturelles biodégradables. C'est pourquoi le présent travail porte sur étude des extraits aqueux de *Cryptostegia madagascariensis*. dans la lutte contre les

termites *Reticulitermes santonensis* destructeurs du bois sec des bâtiments.

Matériels et Méthodes

Méthodes

Cryptostegia madagascariensis a été récolté en Avril 2014 à Mahajanga. Les feuilles, tiges, graines et les racines ont été séchées et broyées à l'aide d'un broyeur mécanique traditionnel puis conservées avec une température ambiante.

Méthodes d'extraction

60g de poudre de graine et de feuille, 2.21g de tige et 5.6 de racines ont été décoctée dans 750 L d'eau pendant 30 min et filtrée. Le filtrat est réchauffé à une température de 100°C pour avoir un extrait sec. 375 mg d'extrait est dissout dans 37,5 ml d'eau pour obtenir une solution de 10 mg/ml. Une série de dilution en cascade a été faite pour les tests biologiques sur les termites. Deux témoins dont l'un est positif (Cypermethrine) et l'autre négatif (eau distillée) ont été utilisés. Pour ce qui est de la Cypermethrine, 5 ml de cet insecticide ont été dilués dans 1000 ml de pétrole, puis 251,25 ml de ce mélange ont été appliqués directement sur les termites témoins.

Test biologique

Préparation de la solution mère des extraits végétaux

Pour chaque extrait végétal, une solution « mère » est préparée à une concentration de 10mg/ml dans H₂O et conservée dans le réfrigérateur à 4°C.

**Préparation des solutions filles
des extraits végétaux**

Pour chaque extrait végétal, une solution à 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml et 0,62 mg/ml est préparée à partir de la solution mère.

**Capture des termites
*Reticulitermes santonensis***

La capture des termites se base sur la recherche de signes révélateurs de leur présence et sur le grattage des bois ou de leurs habitats (galerie).

**Test de toxicité sur les termites
*Reticulitermes santonensis***

Le test de toxicité consiste à évaluer la mortalité des termites en présence d'extraits végétaux. Les tests sont effectués dans des petites boîtes de pétris. Chaque concentration est testée trois fois (Tripliquat). Dix termites ont été placés dans une boîte de pétri une fois prélevé de leur habitat naturel. Ensuite, on pulvérise 4,3 ml d'H₂O pour les témoins (contrôle), 4,3 ml de Cyperméthrine pour le contrôle positif et 4,3 ml de chaque concentration (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml et 0,62 mg/ml) d'extraits végétaux pour les termites à tester.

Le nombre de termites morts a été compté après 2, 4, 6, 12 heures.

**Détermination de la
concentration létale 50% (CL50 12h)
(BOYD, 1966)**

La CL50 (12 h) ou la concentration qui tue 50% des animaux testés pendant 12 h, est déterminée par la méthode de régression linéaire de la relation :

Où C = concentration en mg/ml

L'équation de la droite de régression linéaire est de la forme : $Y = A + BX$.

Où Y = le pourcentage de mortalité

A = une constante

$$\% \text{ de mortalité} = f(\log C)$$

B = le coefficient de régression

X = le logarithme décimal de la concentration (log C).

Il peut être également estimé par la présentation graphique où l'axe des abscisses représente la concentration et celui des ordonnées représente le taux de mortalité.

Calcul du rendement

L'extrait obtenu est évaporé à sec et le rendement est donné par le pourcentage du poids de ce résidu par rapport à celui du matériel de départ.

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Poids du résidu d'évaporation à sec (g)}}{\text{Poids du matériel végétal de départ (g)}} \times 100$$

Analyse statistique des données

Les informations concernant nos expériences ont été transcrites dans un tableur (MS Excel ®) et ont servi comme étant la base de données initiale de nos travaux de recherche pour les analyses de données. Les variables statistiques qui ont été analysées sont d'une part, les extraits des plantes et d'autre part, le taux de mortalité des termites.

**Statistique descriptive (Fowler,
Cohen and Jarvis, 1998)**

À l'aide du programme Statistica ® 6.0, les paramètres statistiques à l'exemple d'une part, des valeurs de la tendance centrale : moyenne et la médiane et d'autre part, de la valeur de dispersion : l'écart-type ont été décrits sous forme de tableaux pour chaque partie de la plante.

Statistique analytique

Test de corrélation : il est représenté par le coefficient de corrélation. Le rapport de corrélation donne la part de la variabilité totale des données expliquée par l'effet du facteur A : C'est un indice de liaison, pas nécessairement linéaire entre les variables étudiées qui varie entre 0 et 1. Il mesure la qualité de l'ajustement des effets du facteur au travers des moyennes.

Test de normalité de la distribution des fréquences des données : Avant d'entreprendre l'analyse, un test de normalité est indispensable afin de déterminer l'allure de la distribution de fréquence de ces données. A l'issue de ce test, la distribution de fréquence des données aura une allure normale ou subnormale. Avec une distribution de fréquence normale, les données seront classées comme étant des données paramétriques, sinon des données non paramétriques pour la distribution de fréquence subnormale. Pour notre cas, les observations sont considérées comme des données non paramétriques (JIM F. et al., 1998).

Comparaison des moyennes : Pour la comparaison des moyennes (JIM F. et al., 1998), le test de Mann-U-Whitney a été utilisé qui est un test qui compare les médianes de deux échantillons non appariés. Les valeurs des observations sont converties en des rangs dont le principe est comme suit :

$$U1 = n1n2 + \frac{n2(n2 + 1)}{2} - R2$$

et

$$U1 = n1n2 + \frac{n1(n1 + 1)}{2} - R1$$

Résultats et Interprétations

Rendement des extraits végétaux

D'après les résultats, à partir de 60 g ; 60 g ; 2,21 g ; 5,60 g de poudre respectivement des graines, feuilles, tiges, et racines, le résidu d'évaporation à sec de l'extrait brut pèse 2,29 g pour les graines soit 3,81% ; 7,71 g pour les feuilles soit 12,85% ; 0,61 g pour la tige soit 29,41% et 1,38 g pour la racine soit 24,64% de rendement.

Effets de toxicités des extraits végétaux

Effets insecticides de l'extrait de C. madagascariensis sur les termites R. sentonensis

Les tableaux 1 et 2 représentent le taux de mortalité des différentes concentrations des extraits de C. *madagascariensis* en fonction du temps (2h, 4h, 6h et 12 h).

Tableau 1 : Résultats de la détermination de l'effet insecticide chez les termites cas de *C. madagascariensis* (2h et 4h). (DA : Durée Après ; C° : Concentration (mg/ml) ; T(+) : Témoin positif : Cyperméthrine ; F : Feuille ; G : Graine ; T : Tige ; R : Racine)

DAC°	2 heures				4 heures			
	F	G	T	R	F	G	T	R
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,62	6,7±5,8	6,7±11,5	0	6,7±5,8	13,3±5,8	13,3±5,8	6,7±11,5	10,0± 0
1,25	10,0±10,0	10,0± 10,0	3,3±5,8	6,7±5,8	13,3±15,3	20,0± 10,0	6,7±11,5	16,7±5,8
2,5	16,7±5,8	13,3±5,8	6,7±11,5	10,0±10,0	23,3±5,8	23,3±5,8	16,7±15,3	26,7±5,8
5	23,3±5,8	13,3±15,3	13,3±15,3	16,7±5,8	33,3±5,8	23,3±5,8	20,0±17,3	36,7±5,8
10	40,0±10,0	30,0±17,3	13,3±5,8	13,3±11,5	60,0±30,0	53,3±23,1	33,3±5,8	53,3±35,1
T (+)	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0

Tableau 2 : Résultats de la détermination de l'effet insecticide chez les termites cas de *C. madagascariensis* (6h et 12h). (DA : Durée Après ; C° : Concentration (mg/ml) ; T(+) : Témoin positif : Cyperméthrine ; F : Feuille ; G : Graine ; T : Tige ; R : Racine)

DA C°	6 heures				12 heures			
	F	G	T	R	F	G	T	R
0	0	0	0	0	6,7±5,8	3,3±5,8	3,3±5,8	6,7±5,8
0,62	20,0± 10,0	16,7±5,8	33,3±25,2	50,0± 10,0	40,0±26,5	43,3±5,8	50,0±20,0	63,3±5,8
1,25	16,7±20,8	20,0± 10,0	33,3±25,2	43,3±25,2	46,7±15,3	50,0± 10,0	50,0±30,0	46,7±11,5
2,5	26,7±5,8	26,7±5,8	36,7±40,4	56,7±11,5	70,0± 10,0	53,3±5,8	56,7±30,6	70,0± 10,0
5	40,0± 10,0	36,7±11,5	50,0±34,6	60,0± 10,0	76,7±5,8	73,3±5,8	66,7±23,1	76,7±5,8
10	76,7±15,3	73,3±5,8	66,7±20,8	76,7±15,3	100,0± 0	93,3±5,8	83,3±15,3	100,0±0
T (+)	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0± 0	100,0±0,	100,0±0	100,0±0

Tableau 3 : Corrélation de la concentration de l'extrait de *C. madagascariensis* avec le taux de mortalité de *R. sentonensis* (termites) (F : Feuille ; G : Graine ; T : Tige ; R : Racine)

Durées	Probabilité				Coefficient de corrélation r			
	F	G	T	R	F	G	T	R
2h		0,0003	0,0012	0,0458	1,0000	0,9856	0,9710	0,8196
4h	0,0048	0,0003	0,0003		0,9428	0,9856	0,9856	1,0000
6h	0,0048		0,0003	0,0048	0,9428	1,0000	0,9856	0,9428
12h			0,0003	0,0048	1,0000	1,0000	0,9856	0,9428

Le taux de mortalité des termites provoquée à différentes concentrations des extraits de feuilles, graines, tige et racine de *C. madagascariensis*, ceci indique que plus la concentration des extraits augmente, plus le

taux de mortalité augmente également. La mortalité des termites varie considérablement en fonction de la concentration de l'extrait de *C. madagascariensis* ($P < 0,001$). La mortalité augmente aussi avec la durée du traitement.

Le nombre de mort des termites augmente au fur et à mesure que le temps passe après le traitement de toutes les concentrations allant jusqu'à 12 heures. Les résultats du test de corrélation présentés dans le tableau 3, indique qu'au seuil de 5% requis pour ce test, les tests sont importants, quel que soit le moment de l'observation. La valeur positive du coefficient de corrélation montre que la mortalité des termites augmente en fonction de la concentration et de temps d'observation.

Détermination de la concentration létale (CL 50, CL 90) de l'extrait de *C. madagascariensis*

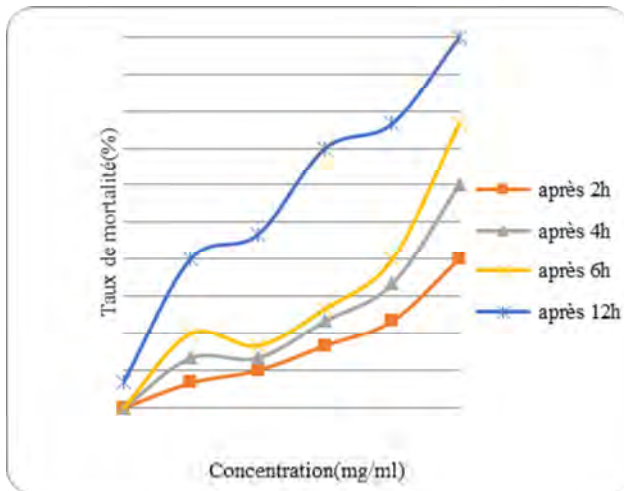


Figure 1: Extrait des feuilles

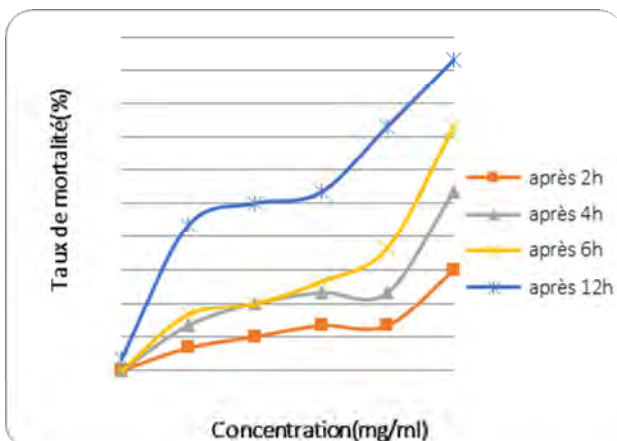


Figure 2: Extrait des Graines

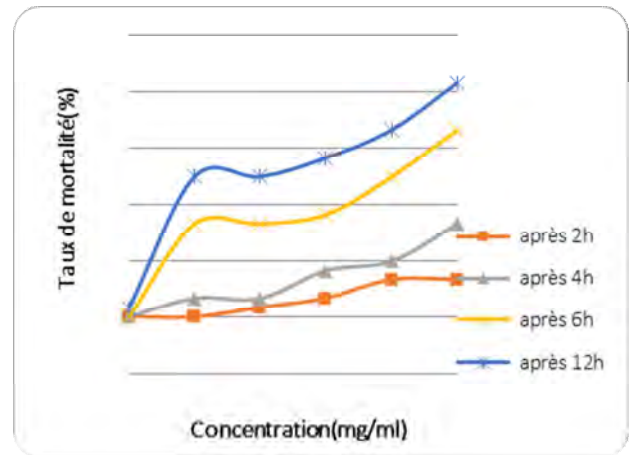


Figure 3: Extrait des tiges

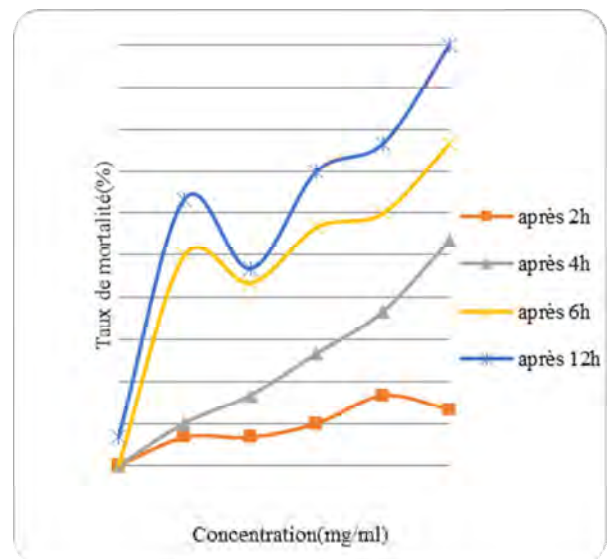


Figure 4: Extrait des racines

D'après les résultats obtenus à partir des figures 1, 2, 3 et 4 et résumés dans le tableau IV, indiquent que les concentrations létales 50% et 90% diminue en fonction de la durée du traitement. La concentration létale qui permet de tuer 50% des termites pour l'extrait de *C. madagascariensis* est d'environ 8,33 mg/ml après 4 heures et atteint à 1,46 mg/ml après 12 heures pour le cas de l'extrait des feuilles. Pour les extraits graines, et des racines, les CL 50 sont respectivement de 9,5 mg/ml et 9,17 mg/ml après 2 heures et de 1,25 mg/ml et 0,47 mg/ml après 12 heures. La CL 50 pour l'extrait des tiges n'est atteint qu'après

6 heures qui est de 5 mg/ml et de 0,62 mg/ml après 12 heures.

La concentration létale qui permet d'éliminer 90% de termites est d'environ 8,33mg/ml de l'extrait des feuilles, 8,75 mg/ml

pour l'extrait des graines et 7,57 mg/ml pour l'extrait des racines, après 12 heures. Par contre, aucune concentration de l'extrait des tiges n'est capable de tuer 90% des termites testés après 12 heures (Tableau 4).

Tableau 4: Estimation de la concentration létale de *Cryptostegia madagascariensis* (-- : Absence)

Durée après	CL 50				CL 90			
	Feuille	Graine	Tige	Racine	Feuille	Graine	Tige	Racine
2h	--	--	--	--	--	--	--	--
4h	8,33	9,5	--	9,17	--	--	--	--
6h	6,62	6,67	5	1,88	--	--	--	--
12h	1,46	1,25	0,62 /1,25	0,47	8,33	8,75	--	7,57

Discussion

Pour les extraits aqueux des quatre parties de *Cryptostegia madagascariensis* ont présenté un effet termiticide à une probabilité inférieure à 0.5 quel que soit la concentration utilisée. Les résultats obtenus montrent qu'en considérant la concentration de 10 mg/ml, les feuilles et les racines de *Cryptostegia madagascariensis* présentent un effet termiticide maximal (100% des termites tués). Selon les études menées par Debray et ses collaborateurs en 1971, ont montré que la toxicité de *Cryptostegia madagascariensis* est due à la présence de deux composés organiques naturels : le cryptosgioside et le cryptograndioside.

Selon nos résultats les concentrations de 1,46 mg/ml ; 1,25 mg/ml ; 0,62 mg/ml ; 0,47 mg/ml respectivement pour les feuilles, graines, tiges et racines de *C. madagascariensis* seraient nécessaire pour tuer 50% des termites après 12 heures et de 8,33 mg/ml ; 8,75 ; 7,57 mg/ml respectivement de l'extrait des feuilles, des graines et des racines pour éliminer 90% de termites testés.

Ces résultats sont plus ou moins comparables à ceux obtenus par Solsoloy et

ses collaborateurs en 1997, qui ont testé des émulsions d'huile contre les insectes ravageurs qui attaquent les grains de maïs stockés et légèrement différent à ceux obtenus par Habou et al. (2011) qui ont testé l'effet insecticide de l'huile sur le puceron *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) et sur les principaux ravageurs du niébé (*Vigna unguiculata*) au Niger. Toutefois, les résultats obtenus par Bissuel (2001), se montrent plus efficace, qui a testé l'effet insecticide de l'ébène de Virginie (*Diospyros virginiana*), une espèce d'Amérique qui synthétise la méthyljuglone, substance toxique pour les *Reticulitermes*. Des termites exposés à 0,1 mg de méthyljuglone meurent en 24 heures. Il est également à noter que les résultats de Charpentier (2005), qui a testé la molécule organique de pinène (monoterpènes) du duramen du Pin ou *Pinus pinaster* contre des *Reticulitermes*, se montrent également plus efficaces.

Jusqu' à ce stade de nos recherches, il est encore très tôt de comparer nos résultats avec les insecticides déjà mis aux marchés. Selon Clément et ses collaborateurs en 2002, les molécules utilisées dans le traitement anti-

termites sont l'alphaméthrine, la bifentrine, la cyperméthrine, la deltaméthrine et la perméthrine qui possèdent des groupements halogénés leur conférant une plus grande stabilité que les pyrèthres naturels, très sensibles à la lumière.

Conclusion

Les résultats des travaux réalisés dans le cadre de ce travail, nous ont permis de mettre en évidence l'activité insecticide de *Cryptostegia madagascariensis* sur les termites *Reticulitermes*, destructeurs des maisons, d'améliorer les connaissances sur les propriétés biologiques de cette plante, connaissances qui pourront être utilisées pour orienter des recherches dans l'avenir sur cette plante. Un effet insecticide sur les termites *Reticulitermes sentonensis* qui attaquent le bois sec a été démontré pour *Cryptostegia madagascariensis* de la région Boeny. L'utilisation d'essences durables pourrait devenir une alternative à l'emploi de pesticides, dont on découvre un impact de plus en plus important sur la santé humaine et l'environnement. Toutefois, l'application de biocides naturels est à minimiser car il existe plusieurs problèmes. Leur extraction est difficile et les rendements sont faibles. Mais surtout leur nature phénolique les rend labiles et oxydables, perdant ainsi toute propriété toxique envers les agents biologiques.

Références bibliographiques

- Abdoulaye Baila Ndiaye (1998). Contribution à l'étude des termites ravageurs d'arbres fruitiers au Sénégal : inventaire systématique, études écologiques et dégâts. Thèse. Université Cheikh Anta DIOP de Dakar, Faculté des Sciences et Techniques. 113pp.
- Bissuel, B. (2001). La lutte contre les dégâts des termites commencent à s'organiser. *Le monde*, 55p.
- Debray, M., Jacquemin H., Razafindrambao R. (1971). Contribution à l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar. ORSTOM, Paris. 150p.
- Habou, Z. A., A. Haougui, G. Mergeai, E. Haubruge, A. Toudou, & F.J. Verheggen (2011). Insecticidal effect of *Jatropha curcas* oil on the aphid *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) and on the main insect pests associated with cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Niger. *Tropicicultura*, **29** (4): 225-229.
- Jones, CG, Lawton, JH. and Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*, **69**: 373-386.
- Lavelle, P: (1997). Faunal Activities and Soil Processes: Adaptive Strategies That Determine Ecosystem Function. *Advances in ecological research*, **21**: 1-40.
- Solsoloy, A.D. & Solsoloy, T.S. (1997). Pesticidal efficacy of formulated product *J. curcas* oil on pests of selected field crops in: Gubitiz G.M., Mithelbach M. and Trabi M., *Symposium on Biofuel and Industrial Products from Jatropha curcas and other Tropical Oil Seed Plants*, February 23-27, Managua, Nicaragua.
- Wood, T.G. & Pearce, M. J. (1991). Termites in Africa: The Environmental. Impact of Control Measures and Damage to Crops, Trees, Rangeland and Rural Buildings. *Sociobiology*, **19**: 221-234.
- Yann Claude Louis Charpentier (2005). Étude des termites souterrains Français : les *Reticulitermes* et l'homme » Thèse. Université Paul-Sabatier de Toulouse.