

**ETUDE DE L'EFFET DES HUILES ESSENTIELLES BRUTES FOLIAIRES DE
Colocynthis vulgaris (L.) SCHRAD (CUCURBITACEAE) SUR L'ACTIVITE
CHOLINESTERASIQUE CHEZ DES IMAGOS DE *Schistocerca gregaria*
(FORSKÅL, 1775)**

HAMID OUDJANA Aicha, BOUDRAISSA Idriss, MOKADEM Samia, ROUBAH Meriem,
KEMASSI Abdellah, BOUAL Zakaria et OULD EL HADJ Mohamed Didi
Laboratoire de Protection des Ecosystèmes en Zones Arides et Semi arides
Université de Ouargla, Ouargla, Algérie
E-mail: mohameddididi@yahoo.fr

Résumé.- Le présent travail porte sur l'étude de l'effet de la toxicité sur l'activité cholinestérasique et quelques paramètres physiologiques chez des individus mâles et femelles de *S. gregaria* élevé en laboratoire et exposé aux huiles essentielles brutes des feuilles de *Colocynthis vulgaris* (L). Les manifestations d'intolérance générale à cet extrait apparaissent vers 30 à 60 minutes après l'exposition, l'activité cholinestérasique montre une diminution par rapport aux individus témoins, elle est de $8,08 \pm 2,65$ nanomole/mn/ml chez les mâles, et de $16,34 \pm 1,15$ nanomole/mn/ml chez les femelles de *S. gregaria* traités par l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*. Pour les lots des individus traités, le taux de protéines laisse apparaître une différence entre les femelles et les mâles. Il augmente chez les individus mâles pour atteindre $46,11 \pm 16,17$ mg/ml alors qu'il est $35 \pm 13,22$ mg/ml chez les individus femelles. Toutefois, l'activité spécifique chez les individus traités diminue chez les mâles ($0,19 \pm 0,04$ nanomole /min /mg), mais pour les femelles traitées semble stable avec $0,49 \pm 0,26$ nanomole /min /mg. De même, les individus de *S. gregaria* exposés à l'extrait foliaire des huiles essentielles brutes, laissent apparaître des perturbations au niveau des réponses neurochimiques et comportementales, d'où une toxicité accrue de cet extrait de *Colocynthis vulgaris* (L).

Mots clés: Cholinestérase, toxicité, *C. vulgaris*, *S. gregaria*, huiles essentielles.

**STUDY OF EFFECT OF ESSENTIAL OILS OF RAW LEAF *Colocynthis vulgaris*
(L.) SCHRAD (CUCURBITACEAE) AT CHOLINESTERASE ACTIVITY IN
IMAGOS OF *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775).**

Abstract.- The present work focuses on the study of the effect of toxicity on the acetylcholinesterase activity and on some physiological parameters in male and female of *S. gregaria* bred in laboratory and exposed to essential oils leaves of *Colocynthis vulgaris* (L). The manifestations of general intolerance to this extract appear between 30 to 60 minutes after the exposure of the insect. The acetylcholinesterase activity shows a decrease compared to individuals of the control group, it is of 8.08 ± 2.65 nanomole/mn/ml for males and 16.34 ± 1.15 nanomole/mn/ml for females of *S. gregaria* treated with essential oils of *Colocynthis vulgaris*. For the lots of treated individuals, the protein level reveals a difference between females and males. It increase in male individuals, reaching 46.11 ± 16.17 µg of proteins / ml while it is 35 ± 13.22 µg of proteins / ml in female individuals. However, the acetylcholinesterase specific activity for treated individuals decreases in males (0.19 ± 0.04 nanomole /mn / mg), but it appears stable for treated females with 0.49 ± 0.26 nanomole /mn / mg. Similarly, *S. gregaria* individuals exposed to the leaf extract of crude oil reveal disruptions at the level of neurochemical and behavioral responses, showing a greater toxicity of the *Colocynthis vulgaris* (L) extract.

Key words: Cholinesterase, toxicity, *C. vulgaris*, *S. gregaria*, essential oils.

Introduction

Le refus de consommation par un grand nombre d'insectes à l'égard de certaines plantes hôtes, est dû à la présence de substances naturelles allélochimiques répulsives et/ou toxiques. Ces composés permettent aux plantes de se prémunir contre les attaques dévastatrices des ravageurs. Plusieurs familles végétales sont connues pour leur pouvoir insecticide parmi lesquelles, *Azadirachta indica* et *Melia volkensii* qui sont connus pour leurs effets remarquables sur plusieurs espèces d'insectes nuisibles, en particulier le Criquet pèlerin [1]. C'est une espèce redoutée en raison de la capacité des essaims à se déplacer sur de très grandes distances et envahir les cultures. Elle bénéficie de ce fait d'une organisation particulière [2]. Elle représente une des espèces acridiennes les plus importantes en raison, de sa grande mobilité (les essaims peuvent parcourir 1000 km en quelques jours), de son aire d'invasion très vaste, de son grand potentiel reproducteur induisant, son aptitude à multiplier très rapidement ses effectifs, de sa capacité à consommer chaque jour son propre poids de nourriture fraîche, de sa grande polyphagie le conduisant à s'attaquer à une très large gamme de cultures et à leur causer des dégâts très sévères [3].

La présente étude recherche les propriétés acridicides ou acridifuges de *Colocynthis vulgaris* (L.) Schrad; une plante spontanée du Sahara algérien, épargnée par le Criquet du désert, sur l'activité cholinestérasique et sur quelques paramètres physiologiques de ce locuste.

1.- Méthodologie

1.1.- Matériel biologique

Le matériel biologique se compose d'individus de *S. gregaria* (imago) issus d'un élevage de masse réalisé au laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides de l'université de Ouargla (Algérie) et d'une plante spontanée *C. vulgaris*, récoltée à Oued-Bouchen situé dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien), connue pour sa qualité acridifuge ou acridicide.

1.1.1.- Choix de stade chez *S. gregaria*

Le choix des stades porte sur des individus adultes (mâles et femelles). Le choix des individus adultes se justifie car c'est le stade où l'insecte est le plus à craindre à cause de l'amplitude de ses déplacements [4].

1.1.2.- *Colocynthis vulgaris* (L.)

La plante *C. vulgaris* malgré sa forte occurrence sur terrain conjointement avec le Criquet pèlerin, n'a jamais été consommée par les imagos et son absence dans les excréments de *S. gregaria* peut s'expliquer par son inappétence [5]. Plante annuelle ou vivace appartient à la famille de Cucurbitaceae. Bien que xérophYTE typique, la coloquinte n'a pas une structure xéromorphe mais au contraire de larges feuilles palmatilobées crénelées [6, 7].

1.2.- Extraction des huiles essentielles

Les feuilles de *C. vulgaris* soumises à l'extraction, sont prélevées à partir de plantules en stade végétation, récoltées de leur biotope d'existence naturelle loin des endroits

anthropisés. Elles sont nettoyées et séchées à l'obscurité à la température ambiante, puis elles sont broyées. A l'aide d'un montage d'hydrodistillation simple, 200g de poudre de feuilles sèches de *C. vulgaris*, sont portées à ébullition pendant 6 heures, la décantation du distillat est ensuite réalisée. La fraction huileuse récupérée, est déshydratée à l'aide du sulfate de sodium anhydre, afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique. Le produit ainsi obtenu, représente les huiles essentielles brutes foliaires, servira pour le traitement des insectes.

1.3.- Etude de la toxicité

A l'aide d'un micro-pulvérisateur (Ultra Bas Volume), les huiles essentielles brutes foliaires de *C. vulgaris*, sont pulvérisées directement sur les adultes de *S. gregaria*, afin d'étudier leur action par contact ou par inhalation. Pour éviter l'effet cumulatif de l'extrait, ce dernier est pulvérisé sur chaque individu isolé. Il est noté avant et après traitement, l'activité motrice, l'étude des pulsations cardiaques par dénombrements sous la loupe binoculaire de la fermeture et de l'ouverture des stigmates de l'insecte, pendant une minute, le temps d'exposition avant la mise à mort pour chaque individu dure deux heures. Il est suivi immédiatement de l'étude de la cinétique de l'activité cholinestérasique.

A cet effet, pour la présente étude, 4 lots d'insectes, à raison de deux lots dont 30 mâles et 30 femelles respectivement pour le groupe destiné pour le traitement. Les deux autres lots sont constitués d'un témoin pour les femelles et l'autre pour les mâles. Il est utilisé pour la présente étude, un total de 120 individus de ce locuste.

1.4.- Préparation des extraits enzymatiques

L'extraction est réalisée selon la méthode décrite par LIU *et al.* (2006) [8]. Les différentes étapes sont réalisées à froid pour éviter l'altération de l'enzyme. Les têtes sont amputées et homogénéisées dans un mortier porté à l'avance dans un congélateur. L'homogénat est récupéré avec 0,5 ml d'eau glacée et 1 ml d'un mélange de 0,1M tampon phosphate (pH 7,5) contenant 0,1% d'un détergent: le triton X-100. Afin d'éliminer les impuretés et les lipides membranaires détruits par le détergent, une sédimentation est effectuée par centrifugation à 10.000 g pendant 20 mn dans une centrifugeuse de type SEGMA 6300, 5666. Le surnageât renfermant l'enzyme est récupéré à l'aide d'une micropipette.

1.4.1.- Etude de la cinétique enzymatique

Le dosage est réalisé selon la méthode d'ELLMAN *et al.* (1961) [9]. Le mélange réactionnel est ajouté directement dans la cuve de mesure du spectrophotomètre. Il comporte le tampon phosphate (0,1M et pH 7,4), homogénéiser avec 20µl d'extrait brut. Les mesures sont effectuées juste après addition d'un mélange d'acetylthiocholine et DNTB. La lecture de la DO se réalise à une longueur d'onde égale à 412 nm. La densité optique est notée après chaque minute, pendant 12 mn. L'inhibition de l'activité cholinestérasique chez les individus traités est comparée par rapport à l'activité moyenne des témoins non exposés à l'extrait des huiles essentielles brutes foliaires de *C. vulgaris*.

1.4.2.- Dosage de protéines

Le dosage est réalisé selon la méthode de LOWRY *et al.* (1951) [10]. La teneur en protéines (ug/ml), est obtenue grâce à une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant le

sérum albumine bovine (BSA) dans les mêmes conditions expérimentales. Ainsi le dosage des protéines permet de déterminer l'activité enzymatique spécifique qui exprime la quantité de substrat hydrolysée en unité de temps et de protéine présent dans le milieu réactionnel.

2.- Résultats et discussion

2.1.- Description chronologique de comportement de l'insecte après traitement

Les manifestations d'intolérance générale à cet extrait, apparaissent au bout de 30 à 60 minutes après traitement par l'extrait d'huiles essentielles brutes foliaires de *C. vulgaris*. Il est noté des mouvements désordonnés et des tremblements des pattes, avec frottement des pattes supérieures sur les antennes. Au-delà de 80 minutes après traitement, l'agitation se généralise à tout le corps, avec une chute notable des mouvements. SUCHAIL *et al.* (2003) [11] notent que chez les abeilles environ 20 minutes après leur intoxication par l'imidaclopride, elles sont, dans un premier temps, hyperactives (mouvements désordonnés et tremblements), puis elles deviennent apathiques. Ces symptômes diffèrent d'un individu à l'autre et les individus femelles semblent être plus résistants que les individus mâles. Ainsi les résultats montrent que le poids corporel des individus mâles est inférieur à celui des individus femelles, avec respectivement $2,3 \pm 0,10$ g et $3,15 \pm 0,23$ g (tab. I). Le BRAS (1990) [12] signale que les individus de petite taille restent plus sensibles que ceux de grandes tailles. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait qu'en règle générale, l'absorption étant un phénomène de surface.

Tableau I.- Poids des individus mâles et femelles de *S. gregaria* avant traitement

Individus	Poids (g)
Femelles	$3,15 \pm 0,23$
Males	$2,3 \pm 0,10$

1.2.- Activité cholinestérasique

Il apparaît une diminution de l'activité cholinestérasique entre les individus mâles et les individus femelles de *S. gregaria* (fig. 1).

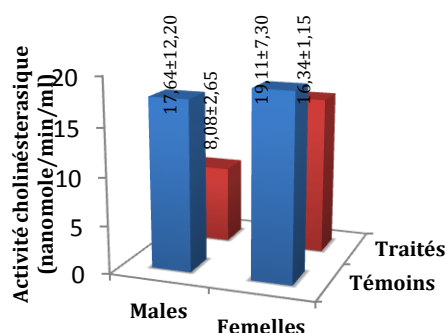


Figure 1: Activité cholinestérasique chez les individus mâles et femelles de *S. gregaria* traités par l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*

Les mâles présentent le maximum d'inhibition avec 54,16%, alors que les femelles ont un minimum d'inhibition avec 14,53% (fig. 2). OULD AHMEDOU *et al* (2001) [1] montre que quelques espèces végétales telles que *Citrillus colocynthis* (Cucurbitaceae), se distingue par un pouvoir répulsif vis à vis des criquets dont les extraits provoquent également des mortalités sur les larves du criquet pèlerin. Ils signalent la présence de la cucurbitacine dans *Citrillus colocynthis* qui est une substance inhibitrice.

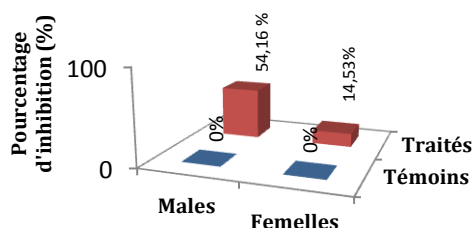


Figure 2: Pourcentage d'inhibition de l'enzyme cholinesterase chez les individus mâles et femelles de *S. gregaria* traités par l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*

2.3.- Taux de protéines

Il apparaît que le taux de protéines des individus mâles du lot témoin, est de $35 \pm 19,22$ mg/ml et celle des femelles du lot témoin de $41,66 \pm 31,79$ mg/ml. Elle semble plus élevée chez les individus femelles comparativement aux individus mâles. Après un traitement des individus du Criquet du désert par l'extrait des huiles essentielles brutes foliaires de *C. vulgaris*, le taux de protéines est de $46,11 \pm 16,77$ ug/ml pour les mâles et pour les femelles de $35 \pm 13,22$ ug/ml. Les valeurs du taux de protéines semblent en augmentation chez les individus mâles et en diminution chez les individus femelles par rapport aux lots témoins (fig. 3). MORETEAU et CHAMINADE (1983) [13] notent que les insecticides provoquent la libération de certaines hormones chez les insectes, parmi ces hormones, RACCAUD-SCHOELLER (1980) [14] décrit la libération d'hormones hyper glycémiantes de nature peptidique chez *S. gregaria*, ce qui peut contribuer à l'augmentation du taux de protéines. L'importance des signes d'intoxication diffère d'un individu à un autre, toutefois les individus femelles semblent être plus résistants que les individus mâles de cet insecte.

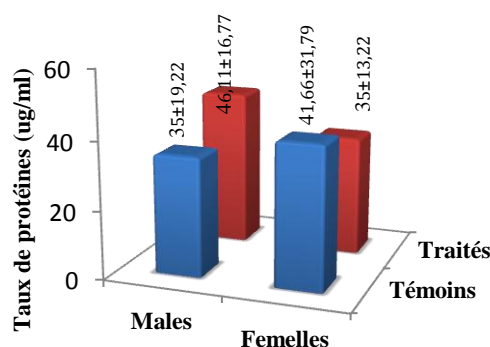


Figure 3: Taux de protéines chez les individus mâles et les individus femelles de *S. gregaria* traités par l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*

2.4.- Activité spécifique

Les valeurs de l'activité spécifique chez les individus mâles et femelles témoins notées respectivement, sont de $0,50 \pm 0,21$ nanomole /min /mg et $0,45 \pm 0,15$ nanomole /min /mg. Il

est constaté que les individus mâles traités avec les huiles essentielles de *C. vulgaris* présentent une diminution très importante d'activité spécifique égale à $0,19 \pm 0,04$ nanomole /min /mg alors que les individus femelles présentent une activité proche de celle des femelles témoins, soit $0,49 \pm 0,26$ nanomole /min /mg (fig. 4). Les variations de l'activité spécifique, sont en relation avec le taux de protéines et l'activité cholinestérasique. BRUNET (1997) [15], signale que la diminution de l'activité cholinestérasique spécifique coïncide avec la chute de l'activité cholinestérasique cérébrale. L'inhibition de l'acétylcholinestérase provoque une accumulation anormale de l'acétylcholine dans les tissus. Les récepteurs étant, saturés en acétylcholine, la membrane demeure dépolarisée, ce qui a pour effet de stopper la transmission nerveuse dans la portion cholinergique du système nerveux.

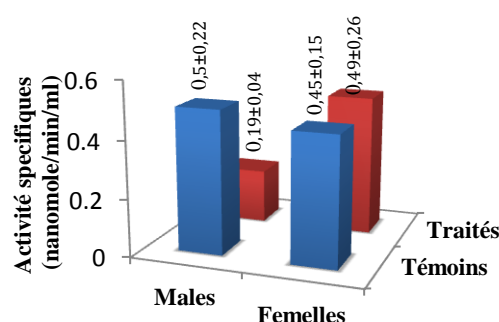


Figure 4: Activité spécifique chez les individus mâles et femelles de *S. gregaria* traités par l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*

Conclusion

L'étude de l'action toxique de l'extrait des huiles essentielles de *C. vulgaris*, sur les individus mâles et femelles de Criquet pèlerin *S. gregaria*, a porté sur les mesures comportementales, physiologiques et neurochimiques. Il ressort que les manifestations d'intolérance générale à cet extrait apparaissent vers 30 à 60 minutes après l'exposition. Les mesures neurochimiques laissent apparaître une diminution de l'activité cholinestérasique par rapport aux individus témoins. Le taux de protéines montre une augmentation chez les individus mâles traités par les huiles essentielles et une diminution chez les individus femelles. L'activité spécifique chez les individus traités montre une diminution chez les mâles, alors que l'activité spécifique chez les femelles traitées, semble relativement stable. Les feuilles de *C. vulgaris*, arbuste annuelle ou vivace fréquent en Afrique du Nord présentent des effets biocides marqués vis-à-vis du criquet pèlerin *S. gregaria* et l'utilisation de préparations à base de feuilles de *C. vulgaris* pourrait être valorisée.

Références bibliographiques

- [1].- OULD AHMEDOU M. L., BOUAICHI A., IDRISSE HASSANI L. M., 2001.- Mise en évidence du pouvoir répulsif et toxique de *Glinus lotoides* (Aizoacées) sur les larves du criquet pèlerin, *S. gregaria* Forskal I. Ed. Zool. baetica, VOLUME. 12: 109-117.
- [2].- BELHARAT M., BENDDINE F., BENKARA A., BOUDIFA A., CHARA B., GRABA A., GUENDOZ E., KHEDDAM M., NEZZAL T., TOUZENE N., 1999.-

Instrument de développement de la protection phytosanitaire. INPV, Alger, 31 p.

- [3].- DURANTON J. et LECOQ M., 1990.- Le criquet pèlerin au Sahel. Collection acridologie opérationnelle, CIRAD, VOLUME. 6, Paris, 83 p.
- [4].- OULD EL HADJ M. D., TANKARI DAN-BADJO A., HALOUANE F., DOUMANDJI S., 2006.- Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *S. gregaria* Forskål, 1775 (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). Sécheresse VOLUME. 17 (3): 407-414.
- [5].- GUENDOZ-BENRIMA A., 2005.- Régime alimentaire de *S. gregaria* (Forsk., 1775) à l'état solitaire dans quelques biotopes du Sud algérien. Thèse de doctorat, INA, Alger, 212 p.
- [6].- PARIS R., DILLEMANN G., 1960.- Les plantes médicinales des régions arides. Unesco. NS.59/III.17, Paris, 95 p.
- [7] QUEZEL P., SANTA S., 1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. VOLUME. 1, CNRS, Paris, 565 p.
- [8].- LIU H., YI M., SHI X., 2006.- Substrate specificity of brain acetylcholinesterase and its sensitivity to carbamate insecticides in *Carassius auratus*. Fish physiol Biochem, n° 33: 29-34.
- [9].- ELLMAN G. L., COURTNEY K. D., ANDRES V. et FEATHERSTONE R. M., 1961.- A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology and Physiology, VOLUME. 38: 84-90.
- [10].- LOWRY H., ROSEBROUGH N., FARR A., RANDA R., 1951.- Protein measurement with the folin-phenol reagent, Biol. Biochem, n° 193: 265-275.
- [11].- SUCHAIL S., BELZUNCES L., VAISSIÈRE B., 2003.- Toxicité aiguë de l'imidaclopride et de ses métabolites chez l'abeille domestique "*Apis mellifera*". Abeilles et fleurs n°643: 27-30.
- [12].- LE BRAS S., 1990.- Modification de la sensibilité au lindane d'*Asellus aquaticus* L. en fonction de la variation de facteurs biotiques (poids et métabolisme) et abiotiques (concentration de l'insecticide et température). Revue des sciences de l'eau, n° 3: 183-193.
- [13].- MORETEAU B., CHAMINADE N., 1983.- Effets de quatre insecticides de contact (Lindane, Fenthion, Baygon, Deltamethrine) sur la glycémie et la tréhalosémie au cours du dernier stade larvaire de *Locusta migratoria* L. (Orthoptera-Acrididae). Rev., Annales de la Société entomologique de France: 433-439.
- [14].- RACCAUD-SCHOELLER J., 1980.- Les insectes physiologie développement. Ed. Masson, Paris, 287 p.
- [15].- BRUNET R., 1997.- Impact d'agents anti cholinergiques sur différents paramètres des rythmes circadiens aviaires. Université de Sherbrooke, Canada, 214 p.