

EFFET DU *NERIUM OLEANDER*, LAURIER-ROSE, (APOCYNACEES) SUR LE TAUX DES PROTEINES, L'ACTIVITE DE L'ACHE ET LES MOUVEMENTS DES VERS BLANCS RHIZOTROGINI, (COLEOPTERA SCARABAEIDAE)

Résumé

L'extrait hydro alcoolique des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynacées) est administré par trempage (10mg/100 ml) des larves de Rhizotrogini (Coleoptera Scarabaeidae) a un effet sur le taux de protéines de l'hémolymphe et sur l'activité de l'acétylcholinestérase.

Les résultats statistiques ont montré une variation très significative niveau du taux de protéines $p < 0,0001$ par rapport au témoin et une variation significative ($p = 0,003$) sur l'activité de l'acétylcholinestérase.

Utilisé sous forme de boutures, le *Nerium oleander* repousse les larves de Rhizotrogini jusqu'à 20cm en profondeur du sol et limitent les dégâts de ces larves sur les cultures de céréales.

Le spectre aux rayons UV, montre que le *Nerium* contient des acides phénoliques, des flavonoides et des tanins.

Mots clés : *Nerium oleander*, Répulsif, Toxicité, Rhizotrogini

Abstract

The hydroalcoholic extract of *Nerium oleander* (Apocynacées) leaves incorporated to temper larva Rhizotrogini (Coleoptera Scarabaeidae) 10mg/100ml has effect on proteins of hemolymph and on Acetylcholinesterase activity.

The statistic result appeared a signification variation $p < 0,0001$ on the level of proteins rate in comparison with witness, and significant $P = 0,003$ variation on acetylcholinesterase activity.

Used in cutting form *Nerium oleander* grow the Rhizotrogini larva again until 20cm from the deep of soil and reduce damage of this larva on cereal culture.

The spectral of UV rays, show, that *Nerium oleander* contains phenolic acids, flavonoides and tannins.

Keywords: *Nerium oleander*, repulsif, toxicity, Rhizotrogini.

B. MADACI¹
R. MERGHEM¹
B. DOUMANDJI²
N. SOLTANI³

¹Faculté des Sciences Laboratoire de Bio systématique et Ecologie des Arthropodes. Université Mentouri Constantine. Algérie.

²Département de zoologie. Institut National Agronomique. El Harrach. Alger. Algérie.

³Département de Biologie Animale. Université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.

ملخص

المستخلص الهيدروكولي لأوراق الدفلة *Nerium oleander* المأخوذ عن طريق الغطس بتركيز 10مغ في 100مل ليرقا ت Rhizotrogini (Coleoptera Scarabaeidae) له تأثير على مستوى بروتين الهيمولانف و على نشاط الكولينستيراز. النتائج الإحصائية تبين تغيير له دلالة جد معتبرة على مستوى البروتين من جهة $P < 0,001$ مقارنة مع الشاهد. وله تغيير معتبر $p = 0,003$ على مستوى الكولينستيراز.

Nerium oleander المستعمل على شكل فساتل يدفع يرقات بـ 20سم تحت سطح الأرض و ينقص من حدة الأضرار التي تسببها هذه اليرقات للالحبوب.

التحليل الطيفي للأشعة UV يبين أن نبات الدفلة يحتوى على الأحماض الفينولية و الفلافنيدات

الكلمات المفتاحية: *Nerium oleander*, راد, تسمم, Rhizotrogini

La toxicité du *Nerium oleander* (Apocynacées) a été démontrée par plusieurs auteurs [1] et [8] aussi bien sur l'homme, sur les animaux que sur les oiseaux et les insectes. Il suffit de 80g de poudre de laurier rose pour tuer un bœuf et 10g pour tuer une oie. [1]

Ce n'est pas d'hier que datent les premières observations sur les propriétés insecticides des plantes aromatiques puisque [4] rapporte que Languet, curé de saint-Suplice à Paris exhortait dès 1760 ses paroissiens à lutter contre les insectes en utilisant une décoction d'un mélange plantes odorantes (Rue verte, basilic..).

Les petits producteurs du Sud-Ouest de la France avaient coutume de mettre dans les sacs de grains des plantes odorantes comme la menthe l'ail ou le laurier). [8]

Le *Nerium oleander* est utilisé d'une manière traditionnelle sous forme de boutures par les agriculteurs dans la région de Constantine pour limiter les dégâts des vers blancs. Mais jusqu'à présent aucun travail scientifique n'a été fait dans ce sens pour montrer son effet sur les insectes en général et plus particulièrement sur les vers blancs.

Les Rhizotrogini sont des insectes Scarabéidés dont les larves appelées communément vers blancs se nourrissent des racines des plantes. (Céréales et cultures maraîchères).

La mise au point des bio pesticides d'origine végétale est beaucoup moins sujette à polémique, sans doute parce leur emploi ne pose pas de problème d'éthique et qu'il y a beaucoup de progrès à faire pour que leur utilisation devienne une réalité dans les pays industrialisés et en voie de développement [15]

Bien que les pesticides de synthèse dominent actuellement largement les marchés mondiaux (89% des matières actives). Les bio- pesticides issus des extraits des plantes devraient occuper une place de plus en plus prépondérante dans ce secteur.

Actuellement, l'analyse chromatographique des résidus botaniques hydro distillés montrent que de nombreux composés poly phénoliques, acides phénols et flavonoïdes y sont identifiés.

Parmi ceux-ci, l'acide rosmarinique et la lutéoline 7-glucoside sont les composés les plus abondants Ces molécules provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte. [6]

Ainsi d'autres plantes aromatiques et leur molécule allélo chimiques exercent une double activité : Sur les adultes par une action toxique rapide inhalatoire (mono terpènes) d'une part et par une action, qui concourt à l'activité insecticide de la plante aromatique [11].

MATERIEL ET METHODES

Les larves sont traitées par l'extrait de la plante et il est administré par trempage à une dose 10mg/100ml. Elles

sont récoltées des champs de céréales situés dans la région de Constantine (Chaabet ersas).

Le dosage des protéines est déterminé selon la méthode de BRADFORD (1976) [5]. L'activité de ACÉTYLCHOLINESTÉRASE est déterminée par la méthode colorimétrique décrite par [7].

Une comparaison des résultats entre les individus traités et témoins a été faite. Des larves du stade 3 sont réparties en trois lots de 5 puis introduites dans 3 cages ayant une profondeur de 30cm, une longueur de 45cm et une largeur de 15cm. (fig1) Les cages 1,2 et 3 contiennent chacune 5 larves plus des boutures de *Nerium oleander* alors que la cage 4 contient le lot témoins (sans boutures). Toutes les cages sont semées d'une variété de blé tendre. Après une semaine les cages sont ouvertes et des observations sont effectuées.

Les feuilles de *Nerium oleander* sont séchées puis découpées en morceaux. Elles sont traitées par une solution hydro alcoolique d'éthanol puis affrontées par des solvants tel que l'éther de pétrole, l'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle. Des plaques de chromatographie sont préparées avec du polyamide C6 et 50ml d'éthanol.

Ces plaques sont observées dans une chambre noire avec une lampe à UV. Les taches sont délimitées puis grattées et récupérées afin d'être purifiées dans des seringues munies d'un filtre. L'extrait est récupéré par du méthanol dans des tubes à hémolyse. La lecture est effectuée l'aide d'un spectrophotomètre à rayon UV.

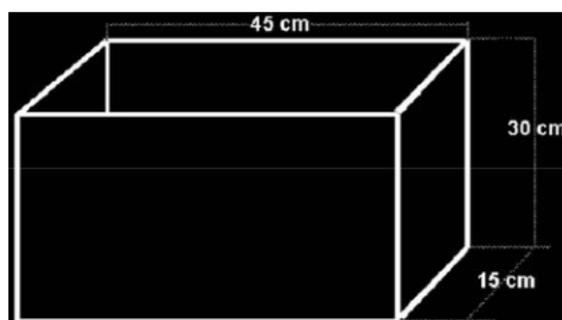


Figure 1 : Modèle et dimensions des cages isolées.

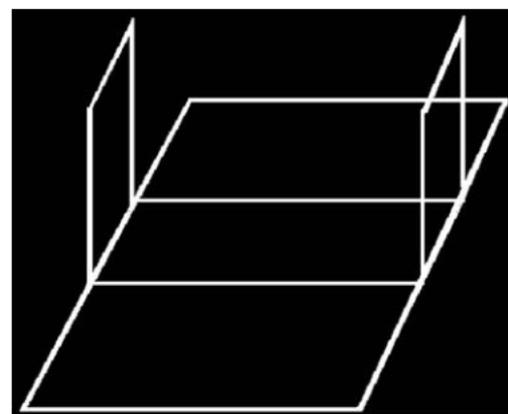


Figure 2 : Modèle ouvert des cages utilisées

RESULTATS

Les résultats des dosages des protéines et de l'activité de l'acétylcholinestérase sont exprimés dans les tableaux N°1, tableau N°2, tableau N°3, tableau N°4 et tableau N°5.

Tableau 1 : Dosage des protéines de la tête (dans 1 ml) (mg de protéines/mg de tête)

(mg de protéines /mg de tête)	Témoins	Traités
	20,56	73,88
	31,05	65,96
	21,55	78,4
	25,53	66,72
	36,95	73,5
m ± s	27,12 ±6,86	71,69 ±5,26 p < 0,0001

Tableau 2 (témoins) : Dosage de l'AchE (100µl)

Temps (heures)	0	4	8	12	16	20
Absorbance	0,078	0,118	0,126	0,13	0,138	0,157
	1,009	1,032	1,049	1,053	1,068	1,08
	0,15	0,204	0,213	0,218	0,229	0,226
	0,989	1,104	1,138	1,159	1,192	1,198
	0,733	0,82	0,859	0,866	0,869	0,874

Tableau 3 (traités) : Dosage de l'AchE (100µl)

Temps (heures)	0	4	8	12	16	20
Absorbance	0,701	0,732	0,753	0,755	0,76	0,766
	0,642	0,681	0,705	0,708	0,719	0,72
	0,404	0,443	0,462	0,463	0,465	0,466
	0,05	0,058	0,065	0,075	0,076	0,09
	0,701	0,75	0,772	0,78	0,785	0,792

Tableau 4: Gamme d'étalonnage

Quantité standard (µg)	0	20	40	60	80	100
Absorbance	0	0,280	0,409	0,601	0,805	0,990

L'équation de la droite de régression est de la forme : $y=0,00352+0,00961x$ et le coefficient de détermination $R^2=0,999$ exprime une très bonne qualité de l'ajustement des estimations de l'équation de régression.

Tableau 5 : Taux de L'AchE (µm/min/mg de protéines)

(µm/min /mg de protéines)	Témoins	Traités
	0,038	0,027
	0,038	0,0021
	0,027	0,016
	0,029	0,011
	0,029	0,011
m±s	0,032 ±0 005	0,017 ± 0,006 P=0,003

Effet répulsif

Les résultats concernant l'effet répulsif du *Nerium oleander* sont exprimés dans le tableau N°6.

Tableau 6 : Effet répulsif : n=5

Jours après traitement	Profondeur (cm)			
	Lot1	lot2	lot3	Témoin
2	3,9 ±0,2	3,5 ±0,3	4±0,3	3,8±0,2
5	10,3 ±0,3	8,6 ±0,1	9,8 ±0,3	4,1±0,1
7	19,6 ±0,1	20 ±0,1	22 ±0,2	4,2±0,3
m±s	0,2	0,16	0,26	0,2

Analyse spectrale

Le spectre d'UV visible du *Nerium oleander* a montré que les feuilles contiennent des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins.

DISCUSSION

Comparativement aux témoins l'extrait de *Nerium oleander* influe de manière très significative sur le taux des protéines chez les individus traités (Tableau N° 1) Des résultats similaires ont été trouvé pour le dosage de l'activité enzymatique de L'acétylcholinestérase.

Les calculs statistiques montrent une différence significative aussi bien pour les protéines que pour l'activité de L'ache. $p=0,003$ Tableaux (N°3, 4 et 5).

L'effet de l'extrait hydroalcoolique du *Nerium oleander* se manifeste par une diminution significative du substrat hydrolysé exprimé en moles par heure par mg de tissu.

L'activité enzymatique est presque nulle au niveau des têtes 4 et 5 (fig.6) et (fig7). Par contre une différence avec les témoins apparaît au niveau des têtes 2 et 3 (fig.4) et (fig.5). Pour les têtes 1 la différence entre le témoin et les traités est très réduite. (fig.2).

Cette influence sur le taux des protéines et sur l'activité de L'AchE pourrait être due à des composés qui se trouvent dans l'extrait de *Nerium oleander*.

Le spectre à UV des feuilles de *Nerium oleander* montre la présence d'acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins..(fig10).

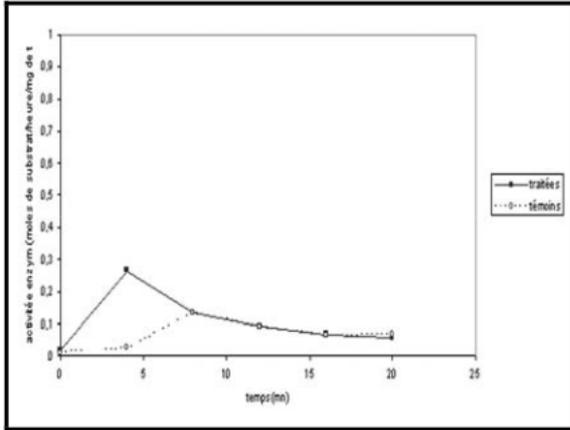


Figure 3 : Activité enzymatique tête1 (témoin et traités)

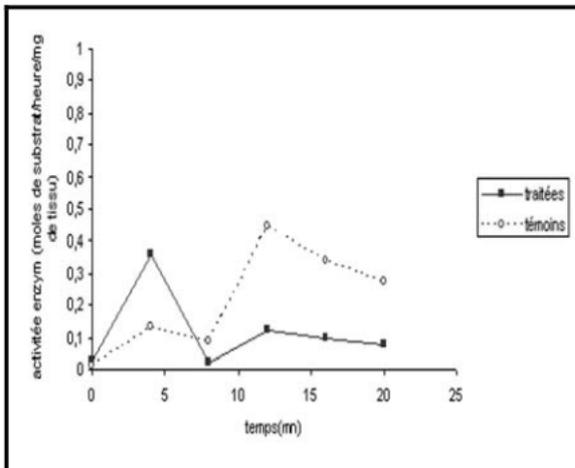


Figure 4 : Activité enzymatique tête2 (témoin et traités)

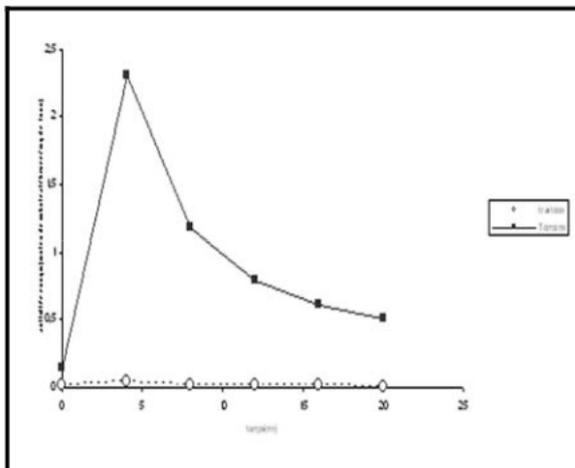


Figure 5 : Activité enzymatique tête3 (témoin et traités)

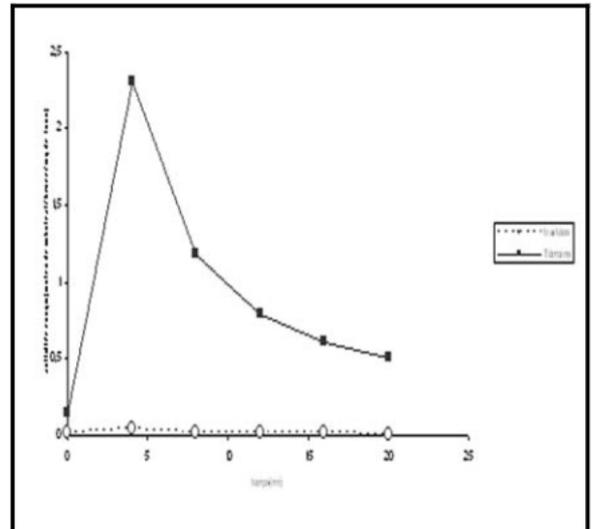


Figure 6 : Activité enzymatique tête4 (témoin et traités)

Nos résultats confirment ceux trouvés par, [2] sur l'effet toxique du poireau sur *Drosophila melanogaster*. Ainsi que ceux de [1] sur les oies. Cette influence sur le taux des protéines et sur l'activité de L'AchE pourrait être due à des composés qui se trouvent dans l'extrait de *Nerium oleander* [14]. Puisque Nombreux auteurs [8], [9] et [10] ont signalé l'effet inhibiteur des tanins sur des enzymes.

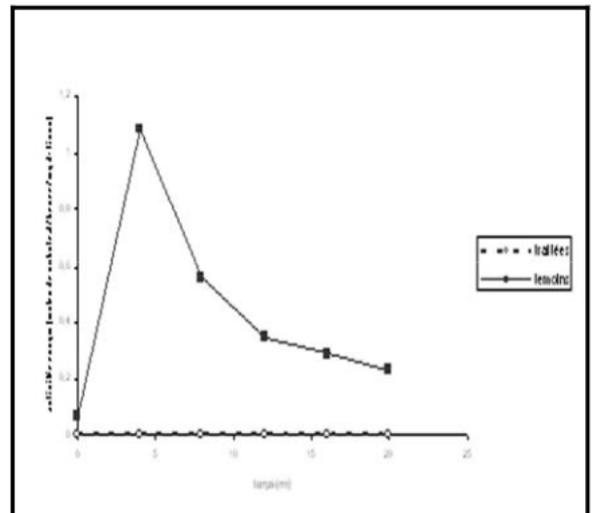


Figure 7 : Activité enzymatique tête 5 (témoin et traités)

Les boutures de *Nerium oleander* ont un effet répulsif sur les larves de Rhizotrogini. Elles sont repoussées à une profondeur de 20cm (Fig.8) par rapport au témoin qui sont à 4 cm seulement. (Fig.9). Cet effet réduit les dégâts de ces larves pour les cultures puisque ils les éloignent des racines des plantes qui sont généralement à 10 et 15 cm de la surface du sol.

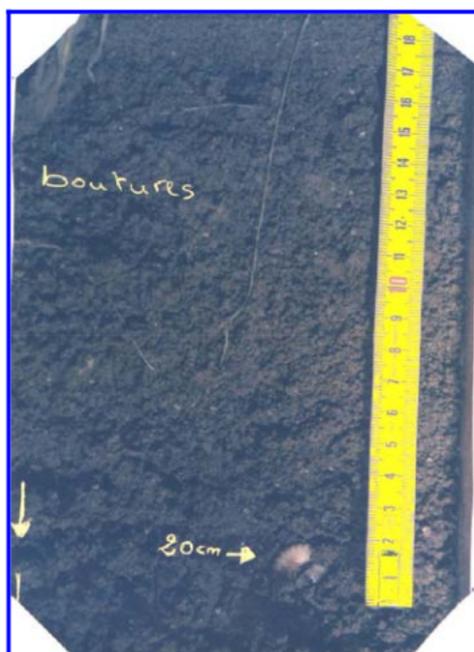


Figure 8 : effet répulsif des boutures de *Nerium oleander*



Figure 9 : Lot témoin

Les effets répulsifs ont été souvent décrits lors des études sur le comportement locomoteur de nombreux insectes. Ainsi l'odeur de l'oignon repousse la mouche du chou, *Delia radicum*. Des extraits d'*Allium* ont montré une activité répulsive pour trois espèces de Coléoptères de denrées stockées [18].

La toxicité des composés phénoliques est couramment démontrée vis-à-vis de certains micro-organismes. Ils traduisent une action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolytiques parasitaire telles que les pectinases, cellulases et protéases [8]

Le spectre des rayons UV montre que les feuilles de *Nerium oleander* contiennent des acides phénoliques, des flavonoïdes et des tanins. Le rôle des flavonoïdes est connu

comme insecticide, et antibactérien [2]. Selon le même auteur les flavonoïdes des feuilles ont un effet répulsif sur les insectes phytophages.

Conclusion

Les boutures de *Nerium oleander* (Apocynacées) ont un effet répulsif sur les larves de *Rhizotrogini*

(Coleoptera Scarabeidae). Ces dernières sont repoussées à une profondeur de 20cm dans le sol, par des substances qui sont probablement des tanins qui se trouvent dans les feuilles de *Nerium oleander*.

L'extrait hydroalcolique de *Nerium oleander* provoque une variation au niveau du taux de protéines et sur l'activité de l'Acétylcholinestérase.

REFERENCES

- [1]- Alfonso H.A –Sanchez LM, 1994. Veterinary and human toxicity. The British library.Document Supply Center p 47.
- [2]-Auger J, Cadoux F,Thibout E (1999). *Allium* ssp.thiosulfates as substitute fumigants for methyl bromide.Pestic .Sci., 55 :200-202.
- [3]-Baba Aissa Farid, 1991. Les plantes médicinales d'Algérie, ED Edman p 93.
- [4]- Balachowsky AS ,1962 Traité d'entomologie appliquée à l'agriculture TomeI 1^{ère} édition.547p
- [5]- Bradford M. M., 1976.A rapid and sensitive method for the quantification of micogramquantities of protein utilising the principe of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- [6]- Casida.JE, QuistadGB (1995) Pyrethrum Flowers : Production,chemistry, Toxicology andUses.Oxford University Press, London.
- [7]- Ellman.G.L., Courtney K.D., Andres V., & Featherstone R.M.,1961.Anew and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.Biochemical Pharmacology and Physiology,38:84-90.
- [8]- El Modafar c,Tantaoui A, El Boustani (2000). Time course accumulation and Fungitoxicity of date palm phytoalexins towards *Fusarium oxysporum* f.so.albedinis cell wall-degading enzymes.j.Phytophol., 148:405-411.
- [9]- Fernandez-Vega C.,Sancho E., Ferrando M.D and Andreu E, 2002Thiobencarb-Induced changes in Acetylcholinesterase Activity of the fish *Anguilla anguilla*. Pesticide Biochemistry and Physiology, Volume 72:55-63.

- [10]- **Harbone JB(1989)**. Higher plant-lower plant interactions: phytoalexins and phytotoxins:in Harbone JB .Introduction to Ecological Biochemistry.Academic Press,302-340.
- [11]- **Guignard J.L,L.Cosson,M.Henry 1985**:Abrégé de phytochimie Ed:Masson et Cie p 121,128-203.
- [12]- **Ketoh K(1998)**. Utilisation des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques du Togo comme biopesticides dans la gestion des stades de développement de *Callosobruchus maculatus* .Thèse de Doctorat, Université du Bénin, Lomé (Togo).
- [13]- **Maron R,Fahn A (1979)**. Ultrastructure and development of oil cells in *Laurus nobilis* L.leaves. Botanical Soc., 125:133-137.
- [14]- **Merghem.R**. Origine et biogénèse des molécules d'origine naturelle, importance pour l'industrie pharmaceutique. Proceeding du 1^{er} Séminaire national sur les substances bio actives d'origine végétale.2001.mai7et8 Jijel (Algérie) p.105-111.
- [15]- **Regnault-Roger C,Hamraoui A,Holeman M,Theron E,Pinel R (1993)** Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plant upon *acanthocelides obtectus* Say (Coleoptera:Bruchidae), a pest of kidney bean.(*Phaseolus vulgaris* L).j.che.Ecol.,19:1233-1244.
- [16]- **Zounos AK,Allen Ej,Mordue Aj (1999)** Bioactive compounds from neem tissue cultures and screening against insects.Pestic.Sci.,55:497-500.
- [17]- **Lahouel .M et al. (2004)**.The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid-peroxydation and increasing liver glutathione concentration.pathologie Biologie 52 (2004)314-322.
- [18]- **Tramaterra P Lanzotti V (1999)**.The activity of some compounds extracts by *Allium* on stored-product insects *Oryzaephilus surinmensis* (L), *Sotiphilus oryzae* (L) and *Tribolium castaneum* (Herbst). J.Pest.Science, 72:122-125.

