



## EVALUATION DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DE L'ECORCEDE FAGARA HEITZII AUBR. PEL. SUR CALLOSOBRUCHUS MACULATUS F., SITOPHILUS ZEAMAYS MOTSCH ET PERIPLANETA AMERICANA L.

L. MATOS<sup>1</sup>, B. MIKOLO<sup>1</sup>, D. MASSAMBA<sup>1</sup>, V. MAMONEKENE<sup>2</sup> ET T. MILLER<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Ecole Nationale Supérieure Polytechnique, BP 69, Brazzaville, Congo

<sup>2</sup>Institut du Développement Rural, BP 69, Brazzaville, Congo

<sup>3</sup>Université de Californie, Riverside, Californie

### RESUME

L'écorce de *Fagara heitzii* est utilisée au Congo-Brazzaville dans la prévention des chiques et la pêche, comme la rotenone. Nous avons observé que la poudre et l'extrait à l'hexane des écorces de cet arbre contiennent des composés insecticides. La DL50 de la poudre sèche appliquée sur le fond de la boîte de Pétri est de 14,5 mg/ml pour 20 adultes de charançon de maïs, *Sitophilus zeamays*, après 48 heures. La DL50 du même composé testé sur la bruche du niébé, *Callosobruchus maculatus*, est de 16,144 mg/ml après 48 heures. Ces insectes causent d'importants dommages économiques dans les stocks de maïs et de niébé au Congo-Brazzaville. Les extraits à l'hexane de l'écorce de *Fagara heitzii* sont également toxiques aux deux insectes. Les symptômes observés laissent supposer que ces extraits sont neurotoxiques et/ou inhibiteurs respiratoires. Ces extraits sont également toxiques à la blatte américaine, *Periplaneta americana*. Les blattes testées ont exprimé, en plus des symptômes observés chez les précédents insectes, un réflexe de fuite. Elles semblent détecter le composé. Des signes d'irritation ou de mobilité exagérée observés chez les trois insectes peuvent s'expliquer par un effet sur les nerfs.

**Mots clés :** *Fagara* ; *Callosobruchus* ; *Sitophilus* ; *Periplaneta* ; Toxicité

### ABSTRACT

The bark of the *Fagara heitzii* tree in the west-central Africa Republic of Congo (Congo-Brazzaville) is known anectodically to provide protection for human residents against fleas and to be of use as narcotic in fishing (similar to rotenone). We found that powder and hexane extracts from the bark of the *Fagara heitzii* tree contain insecticidal compounds. 14.5 mg per ml of the dried powder on the bottom of a Petri dish is the residue LD50 for 20 adult maize weevils, *Sitophilus zeamays* after four days. The LD50 of the same material to 20 adult cowpea weevils, *Callosobruchus maculatus* was slightly higher at 16.144 mg per ml (after 48h). These weevils cause significant economic damage to cowpea and maize in Congo-Brazzaville. Hexane extracts of the bark of *Fagara heitzii* tree were also toxic to these weevils. Symptoms of toxicity suggested the extracts were slow acting nerve poisons or respiratory inhibitors or both. The time needed to develop the full toxicity suggested a respiratory poison. The hexane extract was also toxic to the American cockroach, *Periplaneta Americana*. The symptoms in the cockroach were similar, but also exhibited apparent escape attempts suggesting the cockroach could detect the compounds. Signs of apparent irritation or exaggerated locomotion in all three insects also suggested irritation or nerve effects.

**Key words :** *Fagara* ; *Callosobruchus* ; *Sitophilus* ; *Periplaneta*; Toxicity

## INTRODUCTION

*Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae) et *Sitophilus zeamays* Motsch (Coleoptera : Curculionidae) sont des insectes principaux déprédateurs des graines sèches de nombreuses légumineuses et céréales (Adams, 1976 ; Bamaiyi, 2006). Par contre *Periplaneta americana* L. (Blattodea : Blattidae) est responsable des souillures, nuisances sonores, allergies, mordillements, phobies, destructions de paperasses et circuits électriques et de la transmission des germes pathogènes à l'homme et aux animaux domestiques (Appel et Smith, 2001 ; Dubus et al., 2001 ; Anonyme, 2002 ; Han, 2002 ; Fischer et al., 2003 ; Tatfeng et al., 2005).

Les données de la littérature révèlent que des plantes renferment des substances insecticides qui peuvent être utilisées dans l'éradication des insectes ravageurs (Bowden et Ross, 1963 ; Su et al., 1972 ; Kubo et al., 1984 ; Adesina, 1986 ; Haubruge et al., 1989 ; Blade, 1990 ; Don Pedro, 1996 ; Dales, 1996 ; Oluronke et al., 2004 ; Ouattara et al., 2004 ; Hounzage et al., 2005). Parmi ces plantes figure *Fagara heitzii* Aubr.Pel. (Rutaceae). Cette dernière est une espèce de la famille des Rutaceae que l'on rencontre principalement dans les forêts de l'Afrique centrale (Tailfer, 1989 ; Matig et al., 2006). Au Congo Brazzaville, et particulièrement dans le département de la Lékoumou, cet arbre est appelé bouboulou. Ses écorces sont utilisées dans la pêche des poissons, dans la prévention des chiques au niveau des orteils et dans la stimulation de la soif.

Le but du présent travail est de vérifier le potentiel insecticide de *Fagara heitzii* Aubr.Pel. sur *Callosobruchus maculatus* F., *Sitophilus zeamays* Motsch et *Periplaneta americana* L.

## MATERIEL ET METHODES

### 1. Les insectes

Les souches de *Callosobruchus maculatus* et de *Sitophilus zeamays* ont été capturées dans les magasins du grand marché de Nkayi dans le Sud-Ouest du Congo. Elles ont été maintenues en culture au laboratoire

pendant 3 ans sur des graines sèches des variétés sensibles de *Cajanus cajan* et de *Zea mays*.

Les blattes de l'espèce *Periplaneta americana* ont été capturées dans une habitation de Brazzaville. Elles ont été élevées dans des bocaux en plastique et transparents de 3 l contenant du papier journal et du polypropylène comme substrat de ponte. L'aération y a été assurée par 100 trous percés sur le couvercle avec une épingle ardente en laiton numéro 4. Ce couvercle a été tapissé sur la face inférieure avec de la mousseline. Ces blattes ont été gardées dans une armoire et nourries au PDA (Potato Dextrose Agar) renouvelé régulièrement.

### 2. Matériel végétal

Les écorces ont été prélevées à la base du tronc d'un pied de *Fagara heitzii* ; celui-ci se trouve dans la forêt environnante de Douakani, un village du Sud-Ouest du Congo Brazzaville. Elles ont été découpées en morceaux d'environ 2 cm avec un sécateur, puis séchées sur place, sur une claie au dessus d'un feu de ménage pendant 7 jours. Elles ont été ensuite broyées au laboratoire grâce à un broyeur à couteaux (Thermomix VORVERK 3300).

La poudre ainsi obtenue a été tamisée avec de la mousseline et conservée dans des flacons ombrés à +4°C.

### 3. Préparation des extraits

Quarante grammes (40g) de poudre dans 300 ml de n-hexane ont été soumis à l'extraction au soxhlet pendant 6 h. L'extrait ainsi obtenu a été soumis à l'évaporation du solvant à l'étuve à +60°C pendant 24 h. Un extrait huileux de couleur jaune (extrait brut) a été obtenu avec un rendement de  $2,6 \pm 5\%$ .

Pour des expériences de toxicité aiguë, des quantités variables de poudre ou d'extrait brut en mg ont été diluées dans 1 ml de n-hexane, puis les doses résultantes ont été placées dans des boîtes de Pétri en verre et étalées par agitation manuelle. Ces doses ont été préparées selon une suite géométrique

égale à  $D_0 = \frac{1}{2^n}$  avec  $n \geq 0$ ,  $D_0$  = dose maximale. La dose maximale a été calculée en multipliant la dose maximale mortelle de la poudre ou de l'extrait brut (obtenue après un essai préliminaire de toxicité aiguë) par le rendement.

Les boîtes témoins contenaient un volume approprié de n-hexane sans poudre ou extrait brut. Avant l'introduction des insectes dans les boîtes de Pétri, le solvant a été évaporé pendant 1 h.

#### 4. Test de toxicité aiguë

Chaque boîte de Pétri test ou témoin contenait en moyenne, soit 20 sujets femelles de *C. maculatus* ou de sexe confondu de *S. zeamays* émergés dans un intervalle de 24 h, soit 4 blattes adultes de sexe confondu.

Les expériences ont été réalisées à la température ambiante. Chaque essai a été effectué au moins trois fois. Le comportement des insectes a été noté lors des différents essais de toxicité en vue de déterminer les symptômes de l'intoxication.

#### 5. Traitement statistique des données

Les régressions et les calculs des doses ont été réalisés par la méthode des probits à l'aide du programme PoloPlus (Robertson et al., 2003). Les doses ont été converties en logarithmes et la méthode des probits choisie comme modèle mathématique. L'analyse statistique a été effectuée grâce au test de  $\chi^2$ .

### RESULTATS

#### 1. Symptômes de l'intoxication

Au contact de la préparation insecticide, les insectes des trois espèces ont présenté à peu près les mêmes signes

d'intoxication dans les 30 premières minutes qui ont suivi le début de l'expérience. Contrairement aux témoins ; ils ont marqué des arrêts par moment pour nettoyer leurs antennes et leurs cerques (cas des blattes). Les *C. maculatus* et *S. zeamays* ont présenté des signes de fatigue et de perte d'équilibre puis ont fini par tomber à la renverse.

En revanche, les blattes ont manifesté en plus un réflexe de fuite : elles ont couru dans tous les sens, se heurtant violemment contre la paroi latérale de la boîte de Pétri sur laquelle elles appuyaient leur tête pour tenter de s'échapper ; par la suite, elles ont fini par se renverser.

Dans tous les cas, les insectes les plus touchés ont été paralysés jusqu'à la mort.

#### 2. Toxicité des extraits

Comparativement aux lots d'insectes traités aux différents extraits, aucune mortalité n'a été observée avec des lots témoins.

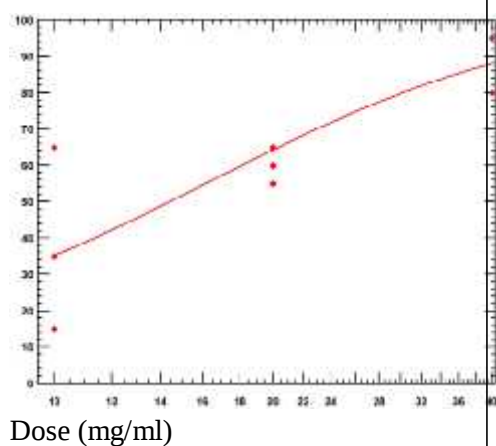
Les figures 1 à 5 indiquent la toxicité des extraits sur les insectes. Les résultats obtenus révèlent que le taux de mortalité est dose dépendante : il est autant plus élevé que la concentration de la substance active.

Les doses létales provoquant la mort de 50% (DL50) des insectes et les délais correspondants sont indiqués dans le tableau I. Une différence significative est observée entre l'action toxique induite par l'extrait brut et celle due à la poudre ( $P < 0,05$ ). En outre, la poudre de *F. heitzi* est significativement plus toxique sur *C. maculatus* que sur *S. zeamays* ( $P < 0,05$ ).

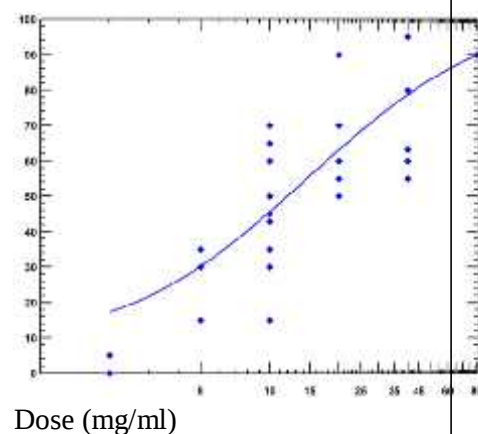
Tableau I : analyse de la mortalité des insectes testés

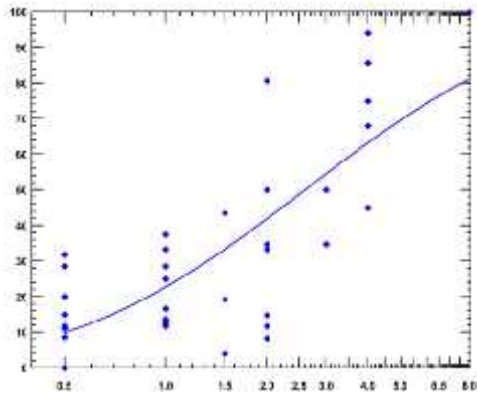
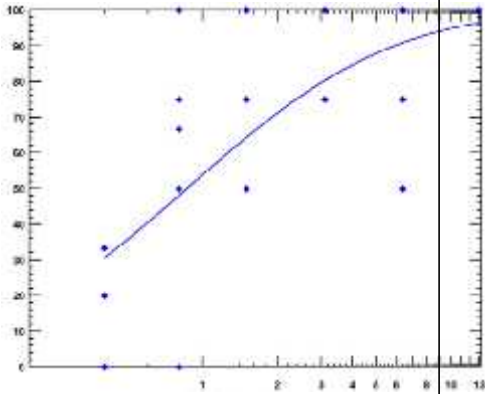
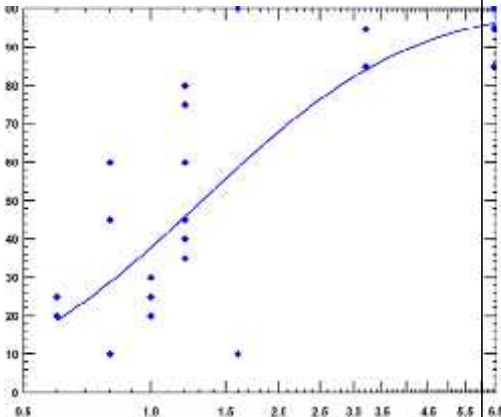
| Préparation  | Insecte testé       | Effectif | Délai d'obtention de 50% de mortalité | LD50 mg/ml | Intervalle de confiance à 95% | X <sup>2</sup> | ddl | Pente   |
|--------------|---------------------|----------|---------------------------------------|------------|-------------------------------|----------------|-----|---------|
| Poudre       | <i>S. zeamays</i>   | 640      | 96 h                                  | 14,5       | [10,4 ; 9,7]                  | 66,6           | 30  | 1,6±0,2 |
|              | <i>C. maculatus</i> | 180      | 48 h                                  | 16,1       | [5,3 ; 24,8]                  | 15,3           | 7   | 2,8±0,6 |
| Extrait brut | <i>S. zeamays</i>   | 618      | 72 h                                  | 1,3        | [1,1 ; 1,6]                   | 127,0          | 20  | 2,6±0,2 |
|              | <i>P. americana</i> | 113      | 48 h                                  | 0,8        | [0,5 ; 1,3]                   | 31,1           | 27  | 1,5±0,3 |
|              | <i>C. maculatus</i> | 775      | 24 h                                  | 2,6        | [2,0 ; 3,7]                   | 115,0          | 35  | 1,8±0,2 |

Taux de mortalité (%)

Figure 1 : effet toxique de la poudre de *Fagara heitzii* sur *C. maculatus*

Taux de mortalité (%)

Figure 2 : effet toxique de la poudre de *Fagara heitzii* sur *S. zeamays*

|                       |                                                                                                                                                                                                                 |                       |                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Taux de mortalité (%) |  <p>Dose (mg/ml)</p> <p><u>Figure 3</u> : effet toxique de l'extrait brut de <i>Fagara heitzii</i> sur <i>C. maculatus</i></p> | Taux de mortalité (%) |  <p>Dose (mg/ml)</p> <p><u>Figure 4</u> : effet toxique de l'extrait brut de <i>Fagara heitzii</i> sur <i>P. americana</i></p> |
| Taux de mortalité (%) |  <p>Dose (mg/ml)</p> <p><u>Figure 5</u> : effet toxique de l'extrait brut de <i>Fagara heitzii</i> sur <i>S. zeamays</i></p> |                       |                                                                                                                                                                                                                   |

## DISCUSSION

A la lumière des résultats obtenus, on peut retenir que l'écorce de *F. heitzii* comme celle de *Xanthoxylum xanthoxyloides* Lam. (Nuto, 1995), une espèce voisine d'Afrique de l'Ouest, renferme des composés insecticides toxiques à *C. maculatus*, *S. zeamays* et *P. americana*.

Les signes de fatigue et de perte d'équilibre présentés par les insectes suite à l'action des différents extraits de *F. heitzii* ont également été observés par (Nuto, 1995) sur *C. maculatus* traité par les extraits d'écorce de *Xanthoxyloides xanthoxiloides*. Cet auteur suggère une inhibition de l'approvisionnement des tissus en oxygène par des substances chimiques contenues dans les extraits de l'écorce. A cet effet, les travaux de Taniguichi et al. (1985) ont révélé la présence des alcaloïdes inhibiteurs de la respiration dans les extraits de *Fagara chalybea* et *F. holtziana*. On peut également signaler, d'après les travaux de Ogwal et al. (2003) que *Xanthoxylum xanthoxyloides* renferme des composés toxiques chez le rat.

La différence de toxicité observée entre la poudre et l'extrait serait due au degré de pureté présenté par ces drogues. En effet dans l'extrait brut, la substance active qui est débarrassée de certains composés chimiques, se trouve ainsi en concentration plus élevée et agit avec plus d'efficacité. En revanche, dans la poudre, la substance active, qui est en faible concentration du fait de l'existence des composés chimiques contaminants non éliminés, présente une toxicité moins importante.

Par contre, la différence significative de toxicité présentée par chacune des drogues sur les différents insectes serait vraisemblablement due au système de détoxification de chaque insecte à l'égard du xénobiotique utilisé.

## REMERCIEMENTS

Dr J. P. MAKITA (identification de la plante), Mbani Jasmin de Douakani, Fondation Internationale pour la Science (IFS), Ecole Nationale Supérieure Polytechnique (ENSP de Brazzaville).

## BIBLIOGRAPHIE

1. Adams J. M., 1976. Weight loss caused by development of *Sitophilus zeamays* Motsch in maize. J. Stored Prod. Res.; 12 (4): 269-272.
2. Adesina S.K. 1986. Further constituents of *Zanthoxylum xanthoxyloides*. Drug research and production unit. Faculty of pharmacy of Ife, Ile-Ife, Nigeria, pp. 715-716
3. Anonyme, 2002. Regional Disease Vector Ecology Profile, East Asia. Office of the Deputy, USA, 249P
4. Appel A.G. and Smith II L. M., 2002. Biology and management of the smokybrown cockroach. Annu. Rev. Entomol.; 47: 33-55
5. Bamaïyi L. J., Onu I., Amatobi C. I., and Dike M. C., 2006. Effect of *C. maculatus* infestation on nutritional loss on stored cowpea grains. Archives of Phytopathology and Plant Protection; 39(2): 119 – 127
6. Blade J. R., 1990. Some aspects of synthesis and structure-activity in insecticidal lipid amides. In recent advances in the chemistry of insect control II. L. CROMBIE. The Royal Soc. Of Chem.: 151-169
7. Bowden K. and Ross W. J., 1963. The local anaesthetic in *Fagara xanthoxyloides*. J. Chem.Soc.: 3503- 3505
8. Dales M. J. A, 1996. Review of plant materials used for controlling the pests of stored products. NRI Bulletin 65. Chatham, UK, 84P.
9. Don Pedro K. N., 1996. Fumigant toxicity of *Citrus* peel oils against adults and immature stages of storage pests. Pesticide Science; 47: 213-223
10. Dubus J. C., Guerra M. T. and Bodiou A. C., 2001. Cockroach allergy and asthma. Allergy, Munksgaard; 56 : 351-352
11. Fischer O.A., Matlova L., Dvorska L., Svastova P. and Pavlik I., 2003. Nymphs of the oriental cockroach (*Blatta orientalis*) as passive vectors of causal agents of avian tuberculosis and paratuberculosis. Medical and Veterinary Entomology; 17 : 145-150
12. Han J., 2002. Cockroaches. Minnesota Department of Agriculture Integrated Pest Management Fact Sheet Series, University of Minnesota, 2p
13. Haubruge E., Lognay G., Marlier M., Danier P., Gilson J.-C. et Gaspar C.-H., 1989. Etude de la toxicité de cinq huiles essentielles extraites de *Citrus* sp à l'égard de *Sitophilus zeamays*, *Prostephanus truncatus* et *Tribolium castaneum*. Fac. Landbouww, Rijksuniv. Gent; 54/3b: 1083-1093
14. Hounzage-Adoté M.S., Zinsou F.E., Hounpke V., Mountairou K. and Hoste H., 2005. In vivo effects of *Fagara* leaves on sheep infected with gastrointestinal nematodes. Tropical Animal Health and Production; 37: 205-214

15. Kubo I., Klocke and Matsumoto T., 1984. Insecticidal and molluscicidal activities of Isobutylamides isolated from *Fagara macrophylla* and their synthetic analogs. Am. Chem. Soc. : 163-172
16. Matig, O. E., Ndoeye O., Kengue J. et Awono A., 2006. Les fruitiers forestiers comestibles du Cameroun. IPGRI, 204p
17. Nuto Y., 1995. Synergistic action of co-occurring toxins in the root bark of *Zanthoxylum zanthoxyloides* Lam. (Rutaceae) against the cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). PhD, State University of New York. College of Environmental Science and Forestry. Syracuse, NY, 107p
18. Ogwal-Okeng J.W., Obua C. and Anokbonggo W.W., 2003. Acute toxicity effects of the methanolic extract of *Fagara zanthoxyloides* Lam. Root-bark. African Health Sciences; 3 (3): 124-126
19. Oluronke Taiwo, Hong-Xi Xu, Song F. Lee, 1999. Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. [Phytotherapy Research](#); 13 (8) : 675 – 679
20. Ouattara B., Angenot L., Guissou P., Fondou P., Dubois J., Frederich M., Jansen O., vanHeugen J.-C., Wauters J.-N., Titsa M., 2004. LC/MS/NMR analysis of isomeric divanilloylquinic acids from the root bark of *Fagara zanthoxyloides* Lam. Phytochemistry; 65: 1145–1151.
21. Robertson J., Preisler K and Russel R. M., 2003. PoloPlus, Probit and Logit Analysis. Users Guide. LeOra Software, California, 36p.
22. Su, H.C. F., Speirs R.D. and Mahany P.G., 1972. *Citrus* oils as protectants of black eyed peas against cowpea weevils. Laboratory evaluation. J.Ec. Ent.; 65 : 1433-1436
23. Tatfeng Y.M., Usuanlel M.U., Orukpe A., Digban A.K., Okodua M., Oviasogie F. & Turay A.A., 2005. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches. J Vect Borne Dis; 42 : 129–134
24. Tailfer Y., 1989. La forêt dense d'Afrique centrale. Identification des principaux arbres. Tome I. CTA, 1271p.
25. Taniguchi M. Haraguchi H., Higuchi F., Chapya A. and Kubo I., 1985. Biocidal Alkaloids from African *Fagara* Plants: Inhibition of Mitochondrial Function. Agric.Biol.Chem.; 49(10): 3051 - 3052