

# Effet pesticide et screening des extraits de *Azadirachta indica* (A.) Juss. sur le termite *Macrotermes bellicosus* Rambur

Annick TAHIRI<sup>1</sup>  
Augustin AMISSA ADIMA<sup>2</sup>  
Félix A. ADJÉ<sup>2</sup>  
Nadine AMUSANT<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Université de Cocody  
Ufr Biosciences  
Laboratoire d'endocrinologie et de biologie  
de la reproduction  
22 BP 582, Abidjan  
Côte d'Ivoire

<sup>2</sup> Institut national polytechnique Houphouët-Boigny  
Laboratoire de chimie des eaux  
BP 1313, Yamoussoukro  
Côte d'Ivoire

<sup>3</sup> Cirad  
Laboratoire de chimie du bois  
34398 Montpellier Cedex 5  
France



**Photo 1.**  
Palmier à huile attaqué par *Macrotermes bellicosus*.  
Photo A. Tahiri.

## RÉSUMÉ

### EFFET PESTICIDE ET SCREENING DES EXTRAITS DE *AZADIRACHTA INDICA* (A.) JUSS. SUR LE TERMITÉ *MACROTERMES BELLICOSUS* RAMBUR

Pour préconiser l'application en champ d'une plante naturelle à propriété insecticide comme alternative à la lutte chimique contre les termites ravageurs, d'importants prérequis s'imposent sur son efficacité. La toxicité, la dose létale, le mode d'action, la persistance d'efficacité et la composition chimique des extraits totaux aqueux, alcoolique et hexanique des feuilles et des graines du neem, *Azadirachta indica*, ont été examinés sur l'espèce de termite ravageur *Macrotermes bellicosus*. La toxicité par contact des extraits est élevée sur le termite et provoque la mortalité totale des populations testées. La persistance d'efficacité des extraits est de 2,4 à 4,2 jours. Les extraits aqueux et hexanique sont les plus toxiques (DL50 de  $0,422 \pm 0,018$  à  $4,466 \pm 0,162$  mg/l). Le contact et l'inhalation sont les deux voies essentielles à leur efficacité. L'extrait aqueux de graines, le plus actif, est de plus capable de se transmettre dans la colonie lors des tâches sociales. Mais il n'agit pas par ingestion et il semble anti-appétant vis-à-vis du termite. Il contient des composés phénoliques (tanins et flavonoïdes) et des saponines. L'extrait hexanique de graines est de type oléique, renferme 11 acides gras et contient des terpénoïdes, des flavonoïdes et des saponines.

**Mots-clés :** *Azadirachta indica*, termite, propriété pesticide, screening phytochimique.

## ABSTRACT

### PESTICIDE EFFECTS AND SCREENING OF EXTRACTS OF *AZADIRACHTA INDICA* (A.) JUSS. ON THE *MACROTERMES BELLICOSUS* RAMBUR TERMITE

To recommend applications in the field of a naturally insecticide plant substance as an alternative to chemical control against termite attacks, several important prerequisites need to be satisfied to ensure its effectiveness. The toxicity, lethal dose, mode of action, persistence of insecticide effect and chemical composition of total aqueous, alcohol and hexane extracts of the leaves and seeds of the neem tree, *Azadirachta indica*, were tested with the *Macrotermes bellicosus* termite. The extracts were found to be highly toxic to termites on contact, killing the entire population tested. The insecticide effect of the extracts persisted from 2.4 to 4.2 days. The aqueous and hexane extracts were the most toxic (LD50  $0.422 \pm 0.018$  to  $4.466 \pm 0.162$  mg/l). Contact and inhalation were both essential to their effectiveness. The aqueous extract of seeds, which is the most active, is also capable of being transferred through the colony during social tasks. However, it seems to have an anti-appetent effect on termites and does not act by ingestion. It contains phenol compounds (tannins and flavonoids) and saponins. The hexane extract of seeds is oily and contains 11 fatty acids as well as terpenoids, flavonoids and saponins.

**Keywords:** *Azadirachta indica*, termite, pesticide properties, phytochemical screening.

## RESUMEN

### EFFECTO PLAGUICIDA Y CRIBADO DE EXTRACTOS DE *AZADIRACHTA INDICA* (A.) JUSS. SOBRE LA TERMITA *MACROTERMES BELLICOSUS* RAMBUR

Antes de recomendar la aplicación en campo de una planta natural con propiedades insecticidas como alternativa al control químico contra las plagas de termitas, es necesario cumplir unos importantes requisitos previos sobre su eficacia. Se examinaron toxicidad, dosis letal, modo de acción, persistencia de la eficacia y composición química de los extractos totales acuoso, alcohólico y hexánico de hojas y semillas de nim, *Azadirachta indica*, en la especie de termita-plaga *Macrotermes bellicosus*. La toxicidad por contacto de los extractos es alta en la termita y provoca la mortalidad total de la población analizada. La persistencia en la eficacia de los extractos es de 2.4 a 4.2 días. Los extractos acuoso y hexánico son los más tóxicos (DL50 de  $0.422 \pm 0.018$  a  $4.466 \pm 0.162$  mg/l). El contacto y la inhalación son las dos vías esenciales para su eficacia. El extracto acuoso de semillas, el más activo, también es capaz de transmitirse en la colonia durante las tareas sociales. Sin embargo, no actúa por ingestión y parece no ser apetecible para la termita. Contiene compuestos fenólicos (taninos y flavonoides) y saponinas. El extracto hexánico de las semillas es de tipo oléico, contiene 11 ácidos grasos, terpenoides, flavonoides y saponinas.

**Palabras clave:** *Azadirachta indica*, termitas, propiedades plaguicidas, cribado fitoquímico.

## Introduction

L'efficacité d'un termiticide est très complexe. Préconiser l'application d'une substance naturelle termiticide demande d'importants prérequis sur son efficacité dans la protection des cultures, sur sa dose, sur sa concentration létale, sur son action réductrice sur la population du déprédateur, sur sa voie d'action, sur sa transmissibilité, sur son affectation dans la tâche de recherche de nourriture des termites et sur sa persistance d'efficacité. Notre choix s'est porté sur le neem, *Azadirachta indica* (A.) Juss. (Meliaceae). Cette espèce ligneuse introduite en Afrique de l'Ouest pour servir d'ombrage a démontré de nombreuses autres potentialités en agroforesterie, en pharmacopée, en construction et dans le domaine énergétique (BATIONO *et al.*, 2004). Le neem est traditionnellement utilisé à l'état naturel pour son pouvoir insecticide et répulsif. Il s'avère que le neem présente aussi des propriétés anti-termites (WARDELL, 1987). Les paysans appliquent les extraits aqueux des feuilles et des graines dans leurs cultures pour lutter contre les attaques par ces insectes (UMETH, 2001). Cette étude a pour but d'examiner la question de l'efficacité du neem en tant que termiticide, par une série de biotests au laboratoire.

L'hypothèse de travail est que le neem peut assurer une protection efficace contre les attaques de termites déprédateurs (photo 1).



**Photo 2.**  
Pied de neem *Azadirachta indica* (A.) Juss.  
Photo A. Tahiri.

L'objectif général de la présente étude est de proposer *A. indica* comme une alternative de lutte à l'utilisation des intrants chimiques. Plus spécifiquement, il s'agit :

- d'étudier la toxicité directe par contact des différents extraits totaux aqueux, alcoolique et hexanique des feuilles et des graines de neem *Azadirachta indica* (A.) Juss. (Meliaceae) sur les ouvriers adultes d'une espèce de termite ravageur, *Macrotermes bellicosus* Rambur ;
- de déterminer si la mortalité du termite peut résulter ou non d'une consommation de l'extrait, si l'extrait est toxique sans être en contact avec le termite (test d'inhalation), et si les ouvriers, lorsqu'ils ont le choix, sont capables de détecter le produit et de l'éviter (test de choix) ;
- d'évaluer la dose létale 50 (DL50<sup>1</sup>) en 24 heures ;
- de déterminer la persistance d'efficacité des extraits actifs de cette plante ;
- de déterminer les principales classes de métabolites secondaires contenues dans l'extrait le plus actif chez cette plante.

## Matériel et méthodes

### Site d'étude

Les travaux se sont déroulés en Côte d'Ivoire, en Afrique de l'Ouest, à l'Université de Cocody et son campus.

### Matériel végétal

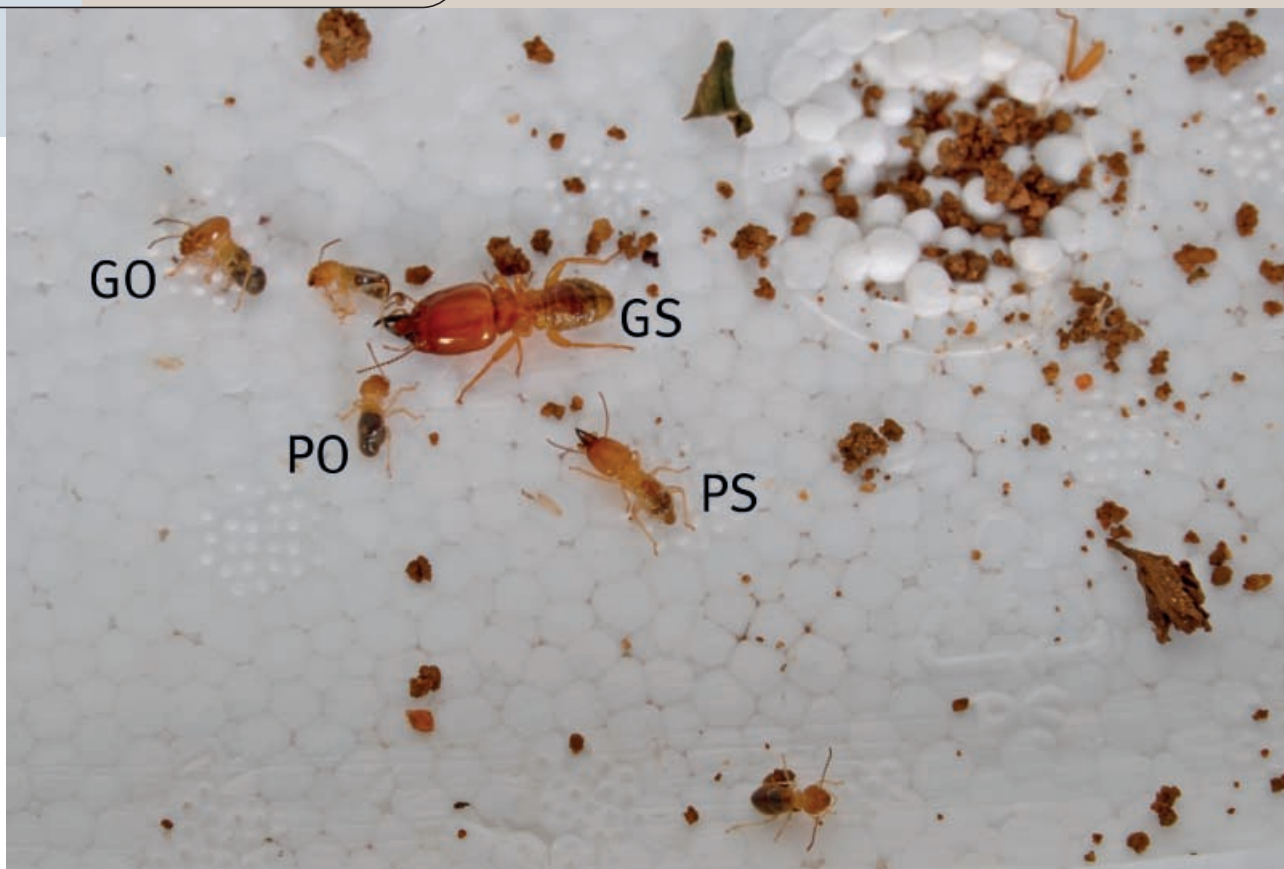
Le choix s'est porté sur le neem *Azadirachta indica* (A.) Juss. (Meliaceae) (photo 2) tant pour ses nombreuses vertus médicinales (ADJANOHOUN *et al.*, 1981 ; FORTIN *et al.*, 2000) que pour ses propriétés insecticides, fongicides, répulsives vis-à-vis de nombreux insectes, anti-appétantes, inhibitrices de la croissance et de l'ovogenèse (WARDELL, 1987 ; FORTIN *et al.*, 2000 ; SCHLENK *et al.*, 2001). Les propriétés anti-termites des feuilles et des graines du neem ont été démontrées en laboratoire et en application sur le terrain (UMETH, 2001) sur *Macrotermes bellicosus* et *Microtermes* spp.

### Matériel animal

*Macrotermes bellicosus* Rambur de la sous-famille des Macrotermitinae a été choisi pour les tests biologiques en raison de son impact sur de nombreuses cultures (RENOUX *et al.*, 1991) et de son abondance dans la zone d'étude, permettant la capture en grand nombre des ouvriers. Les ouvriers étudiés dans ces travaux (photo 3) proviennent d'une même colonie issue du même nid du campus de Cocody (photo 4). Le dimorphisme entre la taille de la tête des petits et des grands ouvriers chez cette espèce champignoniste a permis de les séparer pour les expériences.

<sup>1</sup> *Lethal Dose 50* (DL50) est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance.



**Photo 3.**

Échantillon de la population de *Macrotermes bellicosus* (Rambur) : grand ouvrier (GO) ; grand soldat (GS) ; petit ouvrier (PO) ; petit soldat (PS).

Photo A. Tahiri.

### Préparation des extraits totaux

La plante est récoltée en mai 2006. Les extraits totaux aqueux, alcoolique et hexanique des feuilles et des graines sont réalisés selon la méthode d'extraction successive classique par des solvants de différentes polarités. Ce protocole permet de faire une séparation sélective des constituants de l'organe. Les solutions recueillies sont évaporées par évaporation rotative au rotavapor, pour obtenir des extraits totaux hexanique (huileux), méthanolique et aqueux qui sont séchés sous vide (KAUSHIK, VIR, 2000).

### Calcul du taux (en %) du rendement à l'extraction

Le rendement à l'extraction de chaque fraction (R) se définit comme le rapport de la quantité de l'extrait (E) sur la quantité de matière sèche du produit (MS) :

$$R = E / MS \times 100$$

### Préparation des formulations

Une solution-mère à 10 % est préparée à partir de chaque extrait séché avec le solvant correspondant avant d'être testée sur 1 gramme (g) de poids frais des petits ouvriers (PO) adultes du termite *M. bellicosus* (soit sur 136 ouvriers) aux doses de 10, 20, 50 et 100  $\mu$ l par boîte, soit aux quatre teneurs suivantes : 1, 2, 5 et 10 mg d'extrait par litre.

### Les tests biologiques

Cinq tests biologiques sont réalisés selon les protocoles de DELGARDE et ROULAND-LEFEVRE (2002) :

1. Le test de toxicité directe permet de mesurer les réponses des termites à un sol traité avec l'insecticide.
2. Le test de toxicité par consommation permet de déterminer si la mortalité des petits ouvriers résulte ou non d'une consommation de l'insecticide et précise l'importance de la consommation du produit dans cette mortalité.
3. Le test de toxicité par inhalation sert à étudier si les émanations de l'insecticide sont toxiques.
4. Le test de toxicité par transmission est utilisé pour déterminer si des grands ouvriers qui ont été en contact avec l'insecticide pendant 1 heure et demie, puis transférés avec des petits ouvriers qui n'ont pas été en contact avec le produit, peuvent contaminer les petits ouvriers après 2 heures de présence des deux catégories d'ouvriers.
5. Le test d'évitement de l'extrait permet de déterminer si les ouvriers, lorsqu'ils ont le choix, sont capables de détecter le produit et de l'éviter.

Les tests sont réalisés à la température ambiante du laboratoire comprise entre 27 et 28 °C. Les tests de toxicité directe, par consommation et par transmission, sont réalisés dans une petite boîte rectangulaire en plexiglass® de 95 x 65 x 20 mm de hauteur contenant 7 g de terre humidifiée avec 2 ml d'eau distillée. Les tests d'inhalation et par évitement sont réalisés dans une grande boîte en plexiglass® de 180 x 120 x 70 mm de hauteur contenant 17 g de terre tamisée et humidifiée avec 5 ml d'eau distillée.

À l'aide d'une micropipette, les doses sont déposées soit sur la terre (pour les tests de toxicité directe et par transmission), soit sur des morceaux de papier Whatman® n° 1 de 4 cm<sup>2</sup> (pour les tests de consommation, d'inhalation et d'évitement). Après dépôt, les boîtes sont séchées à l'air libre durant 1 heure. Les petits ouvriers de *M. bellicosus* sont ensuite introduits dans ces dispositifs qui sont fermés et ne permettent pas de circulation d'air. Chaque solution d'extrait est testée aux quatre doses citées. Chaque dose est reprise dix fois pour l'ensemble des tests. Chaque boîte témoin est traitée avec le solvant correspondant. La mortalité des petits ouvriers a été déterminée 24 heures après les traitements. La DL50 est calculée. La surface de chaque papier Whatman® recouverte de placage de terre et celle consommée (mm<sup>2</sup>/ouvrier) sont mesurées chaque jour avec un micromètre oculaire adapté à une loupe. La quantité d'extrait ingérée par ouvrier et par jour est calculée en parties par million (ppm).

#### Persistance d'efficacité (en jours) de l'extrait le plus actif

Dans une petite boîte en plexiglass® de 95 x 65 x 20 mm de hauteur contenant 7 g de terre humidifiée avec 2 ml d'eau distillée, la terre est traitée à la dose la plus efficace de l'extrait. Les petits ouvriers sont retirés et remplacés toutes les 24 heures par des nouveaux pendant 7 jours. Les boîtes témoins sont traitées avec le solvant correspondant. Les petits ouvriers morts sont comptés jusqu'à ce que la quantité dans les boîtes essais et dans les témoins ne soit pas significativement différente. Le pourcentage de mortalité est calculé.

#### Calcul du pourcentage de mortalité

Le pourcentage de mortalité (Pc) est calculé selon le rapport du nombre d'individus morts observé sur le nombre total de termites.

$$Pc = [\text{mortalités observées} / \text{nombre total de termites}] \times 100$$

#### Tests chimiques de caractérisation des métabolites secondaires extraits de la plante

Un screening phytochimique a été réalisé sur les feuilles et graines de *A. indica* en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques. Les tests ont été effectués selon la technique de HARBORNE (1998). Il s'agit des tests chimiques de caractérisation : des alcaloïdes par révélation par le réactif de Dragendorff® ; des flavonoïdes par le test à la soude ; des saponines par l'indice de mousse ; des tanins par réaction au chlorure ferrique 1 % ; des terpénoïdes par réaction à l'anhydride acétique et acide sulfurique concentré.

#### Analyse de la composition chimique des extraits hexaniques des graines

La composition chimique de l'extrait hexanique a été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Perkin Elmer Autosystem 9 000® équipé d'une colonne capillaire DB WAX® (polyéthylène glycol, JW) en silice, de caractéristiques 60 m x 0,25 mm d.i. (diamètre intérieur), 0,25 µm (épaisseur

de film). La température du four est programmée au cours de l'analyse de la façon suivante : 13 min à 200 °C, puis on augmente de 6 °C/min jusqu'à 230 °C. L'hydrogène est le gaz vecteur (154 kPa avec un rapport de division de fuite de 70). Le débit du gaz vecteur est de 1 ml/min. Une quantité de 0,1 g d'huile dissoute dans 2 ml de n-heptane est traitée par une solution de potasse méthanolique (2 M). Le mélange réactionnel est agité au vortex pendant 2 min, puis centrifugé. La phase supérieure contenant les esters méthyliques d'acides gras est prélevée pour l'analyse.

#### Analyses statistiques

Les données recueillies lors des tests biologiques sont traitées au moyen du logiciel STATISTICA (2001). Le diagramme en boîte, l'estimation bootstrap, les tests non paramétriques de Newman-Keuls et de Kruskal-Wallis (au seuil de 5 %) et les tests de corrélation ont été ici mis en œuvre. La DL50 est calculée par l'analyse Probit sur la base des mortalités obtenues après 24 heures sur différentes doses.



**Photo 4.**  
Nid de *Macrotermes bellicosus*.  
Photo A. Tahiri.

## Résultats

### Rendement d'extractions successives des différentes parties de *Azadirachta indica*

Les quantités successives extraites par chacun des trois solvants aqueux, alcoolique et hexanique, exprimées en pourcentage de la quantité totale extraite, sont supérieures dans les graines (respectivement 18, 20 et 24 %) par rapport aux feuilles (12, 13 et 6 %).

**Tableau I.**  
Classement par ordre décroissant d'efficacité des DL50 des extraits de *Azadirachta indica* sur les petits ouvriers de *M. bellicosus*.

Extrait	DL50 (mg/L)	Groupe d'efficacité
Aqueux graine	0,422 ± 0,018 a	1
Aqueux feuille	0,664 ± 0,261 a	
Hexanique graine	3,848 ± 0,042 b	2
Hexanique feuille	4,466 ± 0,162 b	
Alcoolique feuille	9,527 ± 0,680 c	3
Alcoolique graine	13,097 ± 0,191 c	4

À l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ; Anova – *analysis of variance*). DL50 : dose létale 50, indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance.

**Tableau II.**  
Persistance d'efficacité\* (en jours) des différents extraits de *Azadirachta indica*.

Extrait	Feuille	Graine
Hexanique	3,40 ± 0,48 b	3,20 ± 0,48 b
Alcoolique	3,40 ± 0,48 b	4,20 ± 0,48 a
Aqueux	2,40 ± 0,48 c	4 ± 0,63 a

\* La persistance d'efficacité est la durée de l'activité résiduelle d'un extrait qui engendre des taux de mortalité supérieurs au témoin au seuil de 5 %. Moyenne de 10 répétitions ± écart-type (N = 60). À l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ; Anova – *analysis of variance*). Extrait hexanique (H = 5,876 ;  $p = 0,026$  ; N = 60) ; extrait alcoolique (H = 5,691 ;  $p = 0,023$  ; N = 60) ; extrait aqueux (H = 6,251 ;  $p = 0,021$  ; N = 60).

### Toxicité directe des extraits de *Azadirachta indica*

Quatre groupes d'extraits classés des plus efficaces au moins actifs selon leur toxicité (DL50) sur le termite *M. bellicosus* se distinguent (tableau I). Dans le groupe 1 et en tête de liste, se retrouvent les extraits aqueux de graines et de feuilles. Ces extraits possèdent une toxicité supérieure à l'ensemble des autres extraits de la plante et des DL50 similaires. Dans le groupe 2, se retrouvent les extraits hexaniques de graines et de feuilles. En revanche, les extraits alcooliques sont les moins toxiques (tableau I). La mortalité totale des petits ouvriers est obtenue entre 48 et 96 heures après le traitement avec les différents extraits.

### Persistance d'efficacité (en jours) des différents extraits de *Azadirachta indica*

Les extraits de graines du neem (alcoolique et aqueux) possèdent une persistance d'efficacité parmi les plus élevées (comprise entre 4 et 4,2 jours). L'extrait aqueux des feuilles détient la moins bonne (tableau II).

### Voie d'action de l'extrait aqueux des graines de *Azadirachta indica* le plus actif

#### Toxicité par consommation

Les papiers témoins et les papiers traités à l'extrait sont visités par le termite, comme le montrent les placages de terre. Par contre, le termite ne consomme pas les papiers traités. En revanche, la surface moyenne de papier consommée chez le témoin est de 59 mm<sup>2</sup>, soit 0,44 mm<sup>2</sup>/ouvrier (tableau III).

La quantité d'extrait ingérée par les ouvriers en fin d'expérience est nulle. Or, les pourcentages de mortalité obtenus chez les ouvriers traités sont significativement supérieurs à celui du témoin (H = 19,545 ;  $p = 0,000$  ; N = 50). Il n'y a donc pas de corrélation entre la mortalité des ouvriers et la consommation de l'extrait pour les doses testées à 24 heures (R = 0,428 ; N = 50 ;  $p = 0,216$ ). L'effet toxique de l'extrait aqueux de graines de *A. indica* n'est donc pas lié à son ingestion par le termite. Les autres voies d'action du produit seront précisées par les tests suivants.

#### Toxicité par inhalation

L'extrait n'agissant pas par ingestion, il est intéressant de voir s'il peut être toxique sans être en contact avec le termite. Aux doses de 1, 2 et 5 mg/l, l'inhalation de l'extrait entraîne un taux de mortalité significativement plus élevé que celui obtenu chez le témoin à 24 et à 48 heures après le traitement (H = 19,656 ;  $p = 0,000$  ; N = 50).

#### Toxicité par transmission

Aux doses de 1, 2, 5 et 10 mg/l, le taux de mortalité des petits ouvriers de *M. bellicosus* mis en contact avec les grands ouvriers traités avec l'extrait est significativement plus élevé que celui obtenu chez le témoin à 24, 48, 72 et 96 heures (H = 17,975 ;  $p = 0,000$  ; N = 50). Cet extrait est donc favorable à la transmission dans les colonies.



Tableau III.

Effet de l'extrait aqueux de graines de *Azadirachta indica* sur l'activité de récolte des ouvriers de *Macrotermes bellicosus* (test par consommation).

Dose d'extrait aqueux de graine de <i>A. indica</i> (mg/l)	Surface placage cumulée (mm <sup>2</sup> /ov)	Surface de papier consommée cumulée (mm <sup>2</sup> /ov)	Quantité d'extrait ingérée cumulée (en ppm/ov)
0	1,16 ± 1 a	0,44 ± 0 b	0 a
1	1,22 ± 0,50 a	0 a	0 a
2	1,18 ± 0,65 a	0 a	0 a
5	1 ± 0,20 a	0 a	0 a
10	0,88 ± 0,76 a	0 a	0 a

Mesures réalisées au temps correspondant à 50 % de mortalités des ouvriers. Moyenne de 10 répétitions ± écart-type (N = 50). À l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Kruskal-Wallis (p < 0,05 ; Anova – *analysis of variance*). Surface placage (H = 4,954 ; p = 0,135 ; N = 50) ; surface consommée (H = 0,612 ; p = 0,048 ; N = 50) ; quantité ingérée (H = 0 ; p = 0,000 ; N = 50). Ov = ouvrier.

Tableau IV.

Effet de l'extrait aqueux de graines de *Azadirachta indica* sur l'activité de récolte des ouvriers de *Macrotermes bellicosus* (test par évitement).

Dose d'extrait aqueux de graine de <i>A. indica</i> (mg/l)	Surface placage cumulée (mm <sup>2</sup> /ov)	Surface de papier consommée cumulée (mm <sup>2</sup> /ov)
Témoin	0,71 ± 0,56 b	0 a
1	1,15 ± 0,80 c	0 a
Témoin	0,60 ± 0,78 b	0 a
2	1,84 ± 1 c	0 a
Témoin	0,60 ± 0,37 b	0 a
5	1,38 ± 0,78 c	0 a
Témoin	0,30 ± 0,30 a	0 a
10	0,78 ± 1 b	0 a

Mesures réalisées au temps correspondant à 50 % de mortalités des ouvriers. Moyenne de 10 répétitions ± écart-type (N = 80). À l'intérieur d'une même colonne, les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Kruskal-Wallis (p < 0,05 ; Anova – *analysis of variance*). Surface placage (H = 7,961 ; p = 0,021 ; N = 80) ; surface consommée (H = 0 ; p = 0,000 ; N = 80).

### Évitement de l'extrait

Lorsque le choix se présente, les papiers témoins et les papiers traités à l'extrait sont visités par le termite, comme le montrent les placages de terre. Par contre, aucun papier, traité ou témoin disposé à proximité, n'est consommé par les ouvriers de *M. bellicosus* (tableau IV). L'inhibition de la prise alimentaire par l'extrait s'exerce aussi bien sur la consommation du papier traité que sur celle du papier non traité disposé à proximité.

### Screening phytochimique de la plante

Les graines de la Meliaceae *A. indica* possèdent tous les composés recherchés (les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes et les saponines). Les analyses précèdent que l'extrait aqueux de graines de *A. indica* est composé de flavonoïdes, de tanins et de saponines. Il ne possède pas de

terpénoïdes et d'alcaloïdes (tableau V). L'extrait hexanique de graines contient des terpénoïdes, des flavonoïdes et des saponines. Il ne possède pas d'alcaloïdes et de tanins (tableau V).

### Analyse de la composition chimique de la fraction hexanique

L'analyse chromatographique révèle que cette fraction hexanique contient également des acides gras. Le tableau VI présente l'ensemble des acides gras identifiés. Il est observable que l'huile est de type oléique et renferme 11 acides gras. Les proportions des acides gras majoritaires varient comme suit : acides oléique (43,1 %), palmitique (19,4 %), linoléique (18,3 %) et stéarique (16,4 %). Le taux d'acides gras insaturés (AGI) de cette fraction représente plus de 60 % contre 37,7 % d'acides gras saturés (AGS), justifiant ainsi un rapport AGI/AGS égal à 1,65.

**Tableau V.**  
Principales classes de métabolites secondaires rencontrés chez *Azadirachta indica*.

Extrait	Alcaloïde Dragendorff	Flavonoïde Soude	Tanin Chlorure ferrique	Terpénoïde Anhydride acétique - Acide sulfurique	Saponine Indice de mousse
Feuille					
Solvant aqueux	+	+	-	-	-
Graine					
Solvant aqueux	-	+	+	-	+
Solvant hexanique	-	+	-	+	+

**Tableau VI.**  
Analyse des acides gras de la fraction hexanique des graines de *Azadirachta indica*.

N° de composé	Acides gras	Concentration	Formules chimiques
1	Acide palmitique	19,4	C16:0
2	Acide margarique	0,2	C17:0
3	Acide stéarique	16,4	C18:0
4	Acide arachidique	1,3	C20:0
5	Acide béhénique	0,2	C22:0
6	Acide lignocérique	0,2	C24:0
7	Acide palmitoléique	0,2	C16:1
8	Acide oléique	43,1	C18:1
9	Acide gadoléique	0,1	C20:1 (n-11)
10	Acide linoléique	18,3	C18:2
11	Acide linoléique	0,6	C18:3
Total		100	

## Discussion

Les feuilles et les graines chez le neem possèdent des propriétés termiticides intéressantes. Les extraits aqueux de graines et de feuilles sont les plus toxiques sur le termite. Les extraits hexaniques (huiles) des graines et des feuilles sont moins toxiques (DL50 9 fois moins élevées).

Les constituants du neem contribuent à expliquer l'action insecticide potentielle. L'extrait aqueux de graines du neem, le plus performant, contient des composés phénoliques (flavonoïdes et tanins) et des saponines. Quant à l'extrait hexanique de graines de neem, il contient des terpénoïdes, des flavonoïdes et des saponines. Ainsi, sur les 11 acides gras décrits dans la présente étude, 9 ont déjà été identifiés par GOSSE et

al. (2005). Seuls les acides palmitoléique (0,2 %) et linoléique (0,6 %) sont identifiés pour la première fois dans les huiles de neem de Côte d'Ivoire. Les effets insecticides de ces constituants ont été mentionnés par plusieurs auteurs. Les composés phénoliques ont des propriétés à la fois pesticides et fongicides (WARDELL, 1987). Les tanins possèdent des propriétés insecticides, larvicides et répulsives (OKAMURA, 1993). Les saponines induisent des effets pesticides et inhibiteurs de la croissance et de l'ovogenèse vis-à-vis des insectes (NOZZOLILLO *et al.*, 1997 ; BOUCHELTA *et al.*, 2005). Les terpénoïdes ont des propriétés insecticides, fongicides, répulsives et anti-appétantes (WARDELL, 1987 ; FORTIN *et al.*, 2000). Des propriétés insecticides, répulsives, anti-appétantes, inhibi-



trices de la croissance et de l'ovogenèse vis-à-vis des insectes, nématicides, anti-bactériennes, fongicides et vermifuges sont attribuées au terpénoïde azadirachtine en particulier (WARDELL, 1987 ; FORTIN *et al.*, 2000). Quant aux huiles végétales riches en acides gras saturés, des propriétés bactéricides, fongicides et insecticides leur sont attribuées (BAXENDALE, JOHNSON, 1990). Plusieurs autres substances présentes dans les extraits totaux peuvent également induire un effet toxique sur le termite comme les sulfates, qui ont des propriétés antibactériennes et fongicides (WAFAA *et al.*, 2007).

L'extrait aqueux de graines de neem, le plus toxique, possède la meilleure persistance d'efficacité et un bon rendement d'extraction. Les résultats montrent également que le contact et l'inhalation sont les deux voies essentielles à l'efficacité de cet extrait sur le termite. Les substances toxiques de cet extrait peuvent donc pénétrer à travers la cuticule et les stigmates de l'insecte. Le rapport AGI/AGS égal à 1,65 montre que l'huile liquide de neem, à température ambiante, est moins liquide que celle de coton, maintenue dans les mêmes conditions (COUËT *et al.*, 2003). Cette caractéristique peut suggérer une plus lente pénétration des composés toxiques de l'extrait hexanique à travers la cuticule du termite, et expliquer sa plus faible toxicité. L'extrait aqueux n'agit pas par ingestion et il est inhibiteur de la prise alimentaire vis-à-vis du termite aux doses expérimentales utilisées. L'azadirachtine, le composé le plus actif du neem, serait anti-appétant et paralyserait les mouvements péristaltiques de l'intestin de l'insecte (FORTIN *et al.*, 2000). ODIJO *et al.* (1981) montrent que des principes amers de type terpénoïdes, comme les quassinoides et les diterpènes clérodanes chez le neem, induisent un effet anti-appétant sur les chémorécepteurs des insectes en général, et en particulier du termite *Reticulitermes speratus*. L'utilisation en appât de ces extraits contre cet insecte peut donc poser des problèmes.

L'extrait du neem est capable de se transmettre à partir d'individus traités dans la colonie, lors des tâches sociales, par contact et par léchage, ce qui est une qualité recherchée dans un termiticide. Aux doses utilisées, les extraits n'ont plus d'effet 4 jours après le traitement. À l'instar de nombreux autres insectes phytophages, le termite doit pouvoir détoxifier les composés toxiques en produisant des enzymes qui sont impliquées dans les mécanismes métaboliques de la détoxification de substances organiques polluantes (SCOTT, 1999).

## Conclusion

Le neem, *Azadirachta indica* (A.) Juss., semble prometteur dans la lutte contre les termites déprédateurs. Des techniques simples de gestion des attaques des termites en milieu de culture par des extraits aqueux de graines de neem peuvent être facilement mises en œuvre par les cultivateurs. Les doses à appliquer sont réalisables (en laboratoire, la dose expérimentale de 1,6 kg d'extrait par hectare a donné des résultats satisfaisants). L'identification des composés actifs sur le termite, des capacités de formulations et des facteurs qui peuvent compromettre l'efficacité sur le terrain du neem sont à évaluer en milieu naturel.



Photo 5.  
*Macrotermes subhyalinus* (Rambur), petit et gros soldat.  
Photo A. Zaremski.

## Références bibliographiques

- ADJANOHOUN E., AKE-ASSI L., FLORET J. J., GUINKO S., KOU-MARE M., AHYI A. M. R., RAYNAL J., 1981. Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. Rapport. Paris, Acct Éd., 45 p.
- BATIONO B. A., YELEMOU B., OUEDRAOGO S. J., 2004. Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), une espèce exotique adoptée par les paysans du centre-ouest du Burkina Faso. Bois et Forêts des Tropiques, 282 (4) : 5-10.
- BAXENDALE R. W., JOHNSON W. T., 1990. Efficacy of summer oil spray on thirteen commonly occurring insects pests. Journal of Arboriculture, 16 (4) : 89-94.
- BOUCHELTA A., BOUGHADAD A., BLENZAR A., 2005. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (*Gennadius*) (Homoptera : Aleyrodidae). Biotechnologie, Agromonie, Société et Environnement, 9 (4) : 21-30.
- CHALON S., 2001. Acides gras polyinsaturés et fonctions cognitives. OCL, 8 (4) : 317-320.
- COUËT C., KREMPF M., LAIRON D., 2003. Acides gras de la famille oméga 3 et système cardiovasculaire : intérêt nutritionnel et allégations. Paris, France, Afssa Éd., 70 p.
- DELGARDE S., ROULAND-LEFEVRE C., 2002. Evaluation of the effects of thiamethoxan on the three species of African termite (Isoptera: Termitidae) crop pests. Journal of Economic Entomology, 95 (3) : 531-536.
- FORTIN D., LO M., MAYNART G., 2000. Plantes médicinales du Sahel. Dakar, Sénégal, Éditions Enda, 277 p.
- GOSSE B., ADIMA A. A., OLLIVIER D., ADJE A. F., NIAMKE B. F., YOICHIRO I., 2005. Analysis of components of the neem (*Azadirachta indica*) oil by diverse chromatography technics. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 28: 2225-2233.
- HARBORNE J. B., 1998. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. Londres, Royaume-Uni, Chapman & Hall, 3<sup>e</sup> éd., 302 p.
- KAUSHIK N., VIR S., 2000. Variations in fatty acid and composition of neem seeds collected from the Rajasthan State of India. Biochemical Social Transactions, 28 (6) : 880-882.
- NOZZOLILLO C., ARNASON J. T., CAMPOS F., DONSKOV N., JURYSTA M., 1997. Alfalfa leaf saponins and insect resistance. Journal of Chemical Ecology, 23 (4) : 995-1002.
- ODJO A., PIART J., POLONSKY J., ROTH M., 1981. Étude de l'effet insecticide de deux quassinoides sur les larves de *Locusta migratoria* migratorioïdes R et F (Orthoptera, Acrididae). Comptes rendus de l'Académie des sciences, Paris, 239, série 3 : 241-244.
- OKAMURA H., MIMURA A., YAKOU Y., NIWANO M., TAKAHARA Y., 1993. Antioxydant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. Phytochemistry, 33: 557-561.
- RENOUX J., ROULAND C., MORA P., DIBANGOU V., 1991. Les constructions du termite *Pseudacanthotermes spiniger* dans les champs de canne à sucre. Essai de lutte spécifique. Rencontres internationales en langue française sur la canne à sucre. Actes de la première rencontre. Montpellier, France, Afcas, 1, 131-134.
- SCHLENK D., HUGGETT D. B., ALLGOOD J., BENNETT E., RIMOLDI J., BEELER A. B., BLOCK D., HOLDER A. W., HIVINGA R., BEDIENT P., 2001. Toxicity of fipronil and its degradation products to *Procambarus* sp.: Field and laboratory studies. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 41 (3) : 325-332.
- SCOTT J. C., 1999. Cytochromes and insecticide resistance. Insect Biochemical and Biology, 29: 757-777.
- STATISTICA, 2001. Kernel Version 6.0 A. Tulsa, OK, États-Unis, StatSoft Inc.
- UMETH V. C., 2001. Advances in the control of termite pest of some tropical crops using naturally occurring pesticides. Insect Science Applied, 21 (3) : 24-25.
- WAFAA A. H., HASSAN A., NEFISA H. A., 2007. Biological and anti-microbial activities of aqueous extract from neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). Journal of Applied Sciences Research, 3 (10) : 1050-1055.
- WARDELL D. A., 1987. Control of termites in nurseries and young plantations in Africa: established practices and alternative courses of action. Commonwealth Forestry Review, 66 (1) : 77-89.