

## EFFETS BIOLOGIQUES D'EXTRAITS AQUEUX DE *Peganum harmala* (L.) (ZYGOPHYLLACEAE) SUR LA MORTALITÉ ET LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE DE *Drosophila melanogaster* (DIPTERA-DROSOPHILIDAE)

HABBACHI Wafa<sup>1\*</sup>, BENHISSEN Saliha<sup>1</sup>, OUAKID Mohamed Laid<sup>1</sup>,  
FARINE Jean-Pierre<sup>2</sup>

EGIDE/CMEP Tassili 09 MDU 758

<sup>(1)</sup>Département de Biologie, Faculté des Sciences  
Université Badji Mokhtar, 23000 Annaba, Algérie

<sup>(2)</sup>CSGA, CNRS UMR6265, Faculté des Sciences  
Université de Bourgogne, 6 Bd Gabriel, 21000 Dijon, France  
E-mail: [habbachi.waffa@yahoo.fr](mailto:habbachi.waffa@yahoo.fr)

**Résumé-** *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) est une plante herbacée du pourtour méditerranéen dont les graines sont très riches en alcaloïdes indoliques qui lui confèrent un pouvoir larvicide (Biopesticide). Les effets toxiques de décoctions de graines et de feuilles sur la mortalité et le développement des larves de 3<sup>ème</sup> stade de la drosophile, *Drosophila melanogaster* sont étudiés. Un traitement par ingestion montre une bonne activité larvicide de ces extraits avec des taux de mortalité pouvant aller jusqu'à 100 % pour les doses les plus élevées des extraits de graines. Au des résultats, les composés chimiques contenus dans les extraits, agissent sur le cycle de développement de la mouche car la plupart des pupes n'atteignent pas l'âge adulte.

**Mots clés:** *Peganum harmala*, *Drosophila melanogaster*, biopesticide, toxicité, développement.

### BIOLOGICAL EFFECTS OF *Peganum harmala* (L.) AQUEOUS EXTRACTS (ZYGOPHYLLACEAE) ON MORTALITY AND DEVELOPMENT OF *Drosophila melanogaster* (DIPTERA, DROSOPHILIDAE)

**Abstract-** The seeds of the Mediterranean plant *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) are known to contain a number of indolic alkaloids. In this work, the potential toxic effects of seed and leaf decoctions have been studied on the development and the mortality of the third instar larvae of fly *Drosophila melanogaster*. Our results show that an ingestive treatment provokes an important mortality of the larvae; 100% larval mortality could be obtained using the higher concentrations of the seed extracts. Additionally, our data reveal that the various chemical components contained in the seed or the leaf extracts have an important impact at the level of the final development of the flies.

**Key words:** *Peganum harmala*, *Drosophila melanogaster*, biopesticid, toxicity, development.

## Introduction

L'utilisation d'autres moyens de lutte que les insecticides de synthèse afin de contrôler les populations d'insectes nuisibles devienne de plus en plus nécessaire afin de préserver la santé des populations non ciblées. C'est pourquoi, on se focalise de plus en plus vers les composés naturels issus des plantes pour la mise au point des nouvelles molécules bioinsecticides. *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) est une plante abondante dans les zones arides méditerranéennes (Maroc oriental, Sahara septentrional,

hauts plateaux Algériens, Tunisie, Lybie et Égypte) [1,2,3]. En médecine traditionnelle dans les pays arabes, les graines de *P. harmala* sont aussi utilisées depuis longtemps comme narcotiques, antihelminthiques, antispasmodiques, contre les rhumatismes et l'asthme [4,5].

Les Diptères regroupent un grand nombre d'insectes qui constituent un risque majeur pour la santé humaine [6]. La mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster* (M.) (Diptera, Drosophilidae), est un insecte facile à élever au laboratoire; sa reproduction est très rapide (environ 10 jours à 25°C). Dans la nature, elle vit en abondance sur les fruits mûrs ou en fermentation (orange, bananes, etc...) [7,8,9] ce qui peut lui conférer une certaine dangerosité en véhiculant divers microorganismes. Afin de cerner la toxicité de *P. harmala*, il est étudié les effets toxicologiques potentiels, directs (sur la mortalité) et différés (sur le développement) des extraits aqueux de cette plante contre les larves de la drosophile originaire de la région de Annaba (Algérie).

## 1.- Matériel et Méthodes

### 1.1.- Insectes

*D. melanogaster*, insecte cosmopolite, est une mouche responsable de la pourriture grise des fruits via les champignons qu'elle transporte. Les larves peuvent causer une irritation intestinale ou une diarrhée si on les avale en mangeant des fruits infestés [9]. Son cycle de vie, est très court (10 jours à 25°C) et comprend trois stades larvaires et un stade pupal d'où émerge un adulte qui est capable de voler et de se reproduire en moins de 24 heures. Chaque femelle adulte peut donner plus de 300 descendants [10].

### 1.2.- Élevage

Une souche sauvage récoltée sur des pommes pourries dans la région d'Annaba (Algérie), est utilisée [11]. L'élevage est réalisé dans des tubes en verre (9,5 cm de long et de 2,25 cm de diamètre) bouchés par un tampon de mousse et contenant un milieu nutritif gélosé à base de semoule de maïs et de levure de bière. L'élevage est maintenu à une température de 25±1°C, une humidité de 70 à 80% et une scotophase de 12 heures.

### 1.3.- *Peganum harmala*

Les feuilles de *P. harmala* émettent une odeur désagréable quand on les froisse. Les graines sont riches en alcaloïdes indoliques de type β-carboline dont les plus importants sont l'harmine, l'harmaline, l'harmol et l'harmalol [12], ce qui lui confèrent des propriétés hallucinogènes. La plante est toxique, mais le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine (3 à 4 %) que dans les feuilles (0,52 %) ou que dans la tige (0,36 %) [13]. La plante utilisée pour la présente étude provient des oasis de Ouled Djellal située dans la région de Biskra (Algérie).

### 1.4.- Extraction

Les extraits des graines et des feuilles, se font par décoction dans l'eau distillée pendant 1 heure et 30 minutes. Après des essais préliminaires, cinq concentrations sont étudiées. Pour l'extrait des graines, les concentrations retenues sont 50, 100 et 200 g/l et l'extrait de feuilles sèches non broyées, il est retenu 200 et 300 g/l.

## 1.5.- Traitements

L'étude de l'activité larvicide des différents extraits se fait par ingestion. L'extrait aqueux (5ml) selon les concentrations retenues, est mélangé à 40g de nourriture des larves dans trois tubes. Dans chaque tube, il est placé 10 larves néonates du troisième stade issues d'un élevage de masse. Dans un quatrième tube ne contenant pas de traitement, 10 larves sont mises, servant de témoin. Le suivi de la mortalité et du développement des larves se fait durant 15 jours (temps nécessaire pour finir le développement).

## 1.6.- Analyses statistiques

Les concentrations létales et les temps létaux (CL<sub>50</sub>, CL<sub>90</sub>, TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub>), sont calculés selon les procédés mathématiques de Finney [14]. Les données sont transformées et normalisées d'après les tables de Bliss. Les calculs sont réalisés sur XLStat 2009.

## 2.- Résultats

Les résultats du tableau I montrent que les extraits aqueux des graines agissent sur la durée de développement larvaire et sur la mortalité des larves en fonction de la concentration appliquée. Les concentrations de 50 et 100 g/l présentent une faible activité larvicide mais allonge la durée de la vie larvaire (durée du 3<sup>ème</sup> stade larvaire sans traitement d'environ 3 jours). A la concentration de 200 g/l, 80% de larves meurent après 15 jours de traitement. Il n'existe pas de différence significative entre les taux mortalité enregistrée et la concentration utilisée (p: 0,09 à 0,74) alors qu'il existe un effet temps sur la mortalité aux concentrations de 50 et 100 g/l (p: 0,02).

**Tableau I.-** Taux de mortalité (%) des larves de 3<sup>ème</sup> stade traitées par différentes concentrations d'extraits aqueux de graines de *P. harmala* en fonction du temps (\*: hautement significatif)

Concentration (g/l)	2j	5j	10j	15j	F	p
50	6,6	13,33	13,33	13,33	6,01	0,02*
100	6,67	13,33	13,33	13,33	6,01	0,02*
200	33,33	30	70	80	0,41	0,74
F	0,6	3,59	1,68	0,31		
P	0,58	0,09	0,26	0,74		

Les taux de mortalité des larves sont corrélés positivement aux concentrations ( $R^2 = 0,75$ ) (tab. II A). La concentration létale de 50% atteint 851,14 g/l à 5 jours, 162,18 g/l à 10 jours et 138,04 g/l à 15 jours. 90% des larves meurent avec des concentrations qui varient entre 346,47 et 16982,44 g/l (tab. II A).

Pour les concentrations 50 et 100 g/l, il existe une corrélation positive entre le taux de mortalité et le temps d'exposition des larves du troisième stade aux extraits ( $R^2 = 0,73$ ). Les temps létaux calculés sont de 1,4 et 1,38 jours pour les concentrations utilisées (tab. II B). A 200g/l, il existe une forte corrélation entre la mortalité et le temps d'exposition ( $R^2 = 0,99$ ) et les temps calculés varient entre 8 et 19 jours (tab. II B).

**Tableau II.-** Paramètres toxicologiques de l'effet larvicide d'extraits aqueux de graines de *P. harmala* sur les larves L<sub>3</sub> de *D. melanogaster* (A: temps d'exposition des larves, B: concentrations utilisées, y: probits des taux de mortalités, X: le logarithme décimal des concentrations et/ou des temps)

<b>A</b>			
<b>Temps (jours)</b>	<b>Droite de régression</b>	<b>CL<sub>50</sub> (g/l)</b>	<b>CL<sub>90</sub> (g/l)</b>
5	$y = 2,13 + 0,98 X$ ( $R^2 = 0,75$ )	851,14	16982,44
10	$y = -0,98 + 2,71X$ ( $R^2 = 0,75$ )	162,18	478,63
15	$y = -1,94 + 3,24X$ ( $R^2 = 0,75$ )	138,04	346,74
<b>B</b>			
<b>Concentration (g/l)</b>	<b>Droite de régression</b>	<b>TL<sub>50</sub> (j)</b>	<b>TL<sub>90</sub> (j)</b>
50	$Y = 5,62 - 4,75 X$ ( $R^2 = 0,73$ )	1,4	1,38
100	$Y = 5,62 - 4,76 X$ ( $R^2 = 0,73$ )	1,4	1,38
200	$Y = 2,25 + 3,14 X$ ( $R^2 = 0,99$ )	8	19

Les extraits aqueux foliaires de *P. harmala*, donnent un effet larvicide allant de 3,33 à 70% selon la concentration appliquée. Il est enregistré également une augmentation dans la durée de vie des larves (tab. III).

**Tableau III.-** Taux de mortalité (%) des larves du 3<sup>ème</sup> stade traitées par différentes concentrations d'extraits foliaires de *P. harmala* en fonction du temps

<b>Temps (jours)</b>	<b>200 g/l</b>	<b>300 g/l</b>
2	3,33	3,33
5	13,33	3,33
10	26,67	6,67
15	30	70
F	2,27	2,09
P	0,16	0,19

Il existe une corrélation positive entre le temps de traitement et la mortalité observée chez les larves ( $R^2 = 0,99$ ;  $R^2 = 0,55$ ) (tab. IV). Le temps léthal 50% est obtenu en 21 jours alors que 90% meurent bout de 81 jours lorsqu'on utilise 300 g/l et 110 jours si on utilise 200 g/l de l'extrait.

**Tableaux IV.-** Paramètres toxicologiques des extraits de feuilles de *P. harmala* en fonction de la concentration

<b>Concentration (g/l)</b>	<b>Droite de régression</b>	<b>TL<sub>50</sub></b>	<b>TL<sub>90</sub></b>
200	$y = 2,62 + 1,79X$ ( $R^2 = 0,99$ )	21 j	110 j
300	$y = 2,08 + 2,20 X$ ( $R^2 = 0,55$ )	21 j	81 j

L'Effet de *P. harmala* sur le développement larvaire, laisse apparaître que les larves traitées par des concentrations d'extraits de graines de 50 et 100 g/l, se développent

jusqu'au stade pupes puisqu'on enregistre de fort taux (presque 80%) de pupes issues des larves traitées. Ce taux chute fortement chez les larves traitées par la concentration de 200g/l (36,7% de pupes après 10 jours de traitement). Toutefois aucune larve n'est parvenu au stade adulte au bout de 10 jours et ce, quelle que soit la concentration utilisée. Concernant les extraits aqueux des feuilles, on retrouve les mêmes tendances à savoir un développement normal jusqu'au stade de pupes et une absence d'émergence d'adulte pour les fortes concentrations (tab. V).

**Tableau V.-** Pourcentages cumulés de pupes et d'adultes obtenus après traitement des larves par différentes concentrations d'extraits aqueux de *P. harmala*

			2j	5j	10j
Extrait aqueux des graines	Pupes	Témoin	80	100	-
		50 g/l	76,7	76,7	76,7
		100 g/l	80	80	76,7
		200 g/l	6,7	6,7	36,7
	Adultes	Témoin	0	0	100
		50 g/l	0	0	0
		100 g/l	0	0	0
		200 g/l	0	0	0
Extrait aqueux des jeunes feuilles	Pupes	Témoin	80	100	-
		200 g/l	76,7	83	86,3
		300 g/l	6,67	10	76,7
	Adultes	Témoin	0	0	100
		200 g/l	0	0	70
		300 g/l	0	0	0

### 3.- Discussion

La lutte contre les insectes nuisibles nécessite de plus en plus l'utilisation de molécules nouvelles, sélectives, non toxiques pour les organismes utiles, biodégradables et ne provoquant pas une résistance chez les espèces cibles [15].

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet toxique de *P. harmala*. Chez *Schistocerca gregaria* des tests d'alimentation de sur la plante fraîche [16] ont montrés son potentiel larvicide, puisque on enregistre une mortalité de 45% chez les stades larvaires [17,18]. L'effet des extraits de feuilles sur les femelles de *Schistocerca gregaria* entraîne également une diminution dans la prise de nourriture, une réduction de la motricité et des perturbations de la fonction de reproduction [19]. Des résultats similaires sont obtenus chez des jeunes adultes de criquets après addition des extraits alcaloïdes de *P. harmala* à leur alimentation [20].

Au des résultats de la présente étude, les extraits de *P. harmala* provoquent une mortalité chez les larves de *D. melanogaster*. Cette mortalité est fonction de la dose et du temps d'exposition. Ces extraits aqueux perturbent fortement la durée de développement des larves de *D. melanogaster* et ce qui influe sur le nombre de pupes. Il est enregistré un blocage total des mues imaginaires. Les extraits de graines et de feuilles présentent également une toxicité non négligeable pour les larves du dernier stade des Drosophiles. Des résultats similaires sont signalés chez *Culex pipiens* [21].

D'une façon générale, au moment où l'insecte entre en contact avec un insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, les protéines et les enzymes cibles du métabolisme de base [15]. Bien que chez *D. melanogaster*, l'action exacte des toxines contenues dans les graines et les feuilles de *P. harmala* reste à déterminer, deux types de modifications peuvent être observés. Une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides) et une modification de la cible de l'insecticide qui devient alors capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide [22].

### Références Bibliographiques

- [1].- Quezel P. et Santa S., 1963.- Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, vol. 2, 59 p.
- [2].- Ozenda P., 1977.- Flore du Sahara. Ed. CNRS: 312-322.
- [3].- Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., Trotin F., 1980.- Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. Maloine, Paris, 156 p.
- [4].- Siddiqui S., Khan O.Y., Faizi S., Siddiqui B. S., 1988.- Studies in the chemical constituents of the seeds of *Peganum harmala*: Isolation and structure elucidation of two  $\beta$ -carboline lactams, harmalanine and harmalacidine. *Heterocycles*, 27: 1401-1410.
- [5].- Bellakhdar J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Saint Etienne, 764 p.
- [6].- Jolivet P., 1980.- Les insectes et l'homme. Collections PUF, 128 p.
- [7].- Baudry M., 1998.- Encyclopédie des sciences. ISBN 2-253-13020-6, 1456 p.
- [8].- Tavernier R. et Lizeaux C., 2002.- Sciences Vie Terre Term S – Spec. Maisonneuve et Larose, 117 p.
- [9].- Joly D., 2006. La drosophile: Un insecte au service de la science. Banque des savoirs: Biologie et génétique, 8 p.
- [10].- Bouharmont J., Masson P. L., Van Hove C., 2007.- Biologie. Révision scientifique de Charles- Marie Evrard. Ed. De Boeck université, 386: 1250 p.
- [11].- Bensafi H., 2010.- Etude ecophysiologique, systématique et lutte intégrée contre les drosophiles, vecteurs de la pourriture grise dans les cultures. Mémoire de Magistère, Université d'Annaba, Algérie. 67 p.
- [12].- Ben-Salah N., Amamou M., Jerbi Z., Ben-Salah F., Yacoub M., 1986.- Un cas de surdosage en *Peganum harmala* L. *Journal de Toxicologie Clinique et Expérimentale*, 6: 319-322.
- [13].- Finney D. J., 1971. Probits analysis. 3rd ed., Cambridge University Press, London, 87

333 p.

- [14].- Philogène B. J. R., 1991.- L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes: problèmes et perspectives. La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 269-278.
- [15].- Idrissi Hassani L. M. et Hermas J., 2008. Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). Zool. Baetica., 19: 71-84
- [16].- Idrissi Hassani L. M., Ould Ahmedou M. L., Chihrane J. et Bouaichi A., 1998.- Effets d'une alimentation en *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur la survie et le développement ovarien du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forskål (Orthoptera, Acrididae). Ethnopharmacologia, 23: 26-41.
- [17].- Idrissi Hassani L. M., 2000. Contribution à l'étude phytochimique du harmel *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) et étude de ses effets sur la reproduction et le développement du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. Thèse Doctorat d'Etat, Université Ibn Zohr, Agadir, 214 p.
- [18].- Abbassi K., Atay-Kadiri Z., Ghaout S., 2003a.- Caractérisation des populations de *Schistocerca gregaria* (Forskål 1775) durant la recrudescence de 1995 au Sud du Maroc. Journal of Orthoptera Research, vol. 12 (2): 63-69.
- [19].- Abbassi K., Mergaoui L., Atay. Kadiri Z., Stambouli A., Ghaout S., 2003. Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forskål, 1775). Zool Baetica, vol. 13/14: 203-217.
- [20].- Paris R. et Moyse H., 1981.- Matière médicale. Ed. Masson, Paris, vol.2, 292 p.
- [21].- Dorvault F., 1982.- L'officine. Répertoire générale de pharmacie pratique, 21<sup>ème</sup> Edition, Paris, 1365 p.
- [22].- Haubruge E. et Amichot M., 1998.- Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., vol. 2 (3): 161-174.