

PROPRIÉTÉS INSECTICIDES ET RÉPULSIVES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'*OCIMUM SANCTUM* L. ENVERS *DYSDERCUS VOELKERI* SCHMIDT (HETEROPTERA; PYRRHOCORIDAE)

N. A. Nadio^{1*}, W. P. Poutouli², P. Akantetou³, B. Laba¹, P. Tozou², M. E. Bokobana¹, K. Koba¹, C. Raynaud⁴, K. Sanda¹

RESUME

Dans le but de trouver des alternatives aux insecticides chimiques de synthèse pour la lutte contre un ravageur du cotonnier, nous avons évalué le potentiel insecticide et répulsif de l'huile essentielle d'*Ocimum sanctum* par contact sur les différents stades larvaires et les adultes de *Dysdercus voelkeri*. L'huile essentielle est extraite par hydrodistillation et caractérisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

L'analyse chimique a permis d'identifier la germacrène-D (25%), le β -caryophyllène (21,28%), le méthyl-eugénol (14,25%), l'eugénol (10,78%), le β -élémane (9,78%) et l'élémol (7,64%) comme composés majoritaires.

L'étude des propriétés insecticides de l'huile essentielle a montré une efficacité sur tous les stades de l'insecte. Ainsi à la concentration de 1 $\mu\text{L.L}^{-1}$, l'huile essentielle tout comme l'Emir® (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), insecticide de synthèse recommandé en culture cotonnière et utilisé comme témoin positif, a entraîné 100% de mortalité sur tous les stades larvaires et adultes. La valeur moyenne de CL_{50} de l'huile essentielle est plus faible sur les stades larvaires III, IV et sur les adultes comparée à celle obtenue avec l'Emir®, ce qui traduit une plus grande efficacité de l'huile essentielle.

Les résultats de cette étude ont montré que cette huile essentielle possède des propriétés insecticides et répulsives intéressantes contre ce ravageur à tous ses stades de développement et pourrait servir comme alternative aux pesticides chimiques de synthèse.

Mots clés: *Ocimum sanctum*, huile essentielle, insecticide, répulsif, *Dysdercus voelkeri*

ABSTRACT

In order to find alternatives to synthetic insecticides to control *Dysdercus voelkeri* a major pest of cotton, we investigated the insecticidal and repellent effects of *Ocimum sanctum* essential oil by contact on the various larval stages and the adults of *Dysdercus voelkeri*. The essential oil was obtained by steam-distillation, and chemically analysed by GC and GC-MS.

The main components of this essential oil were respectively germacrene-D (25%), β -caryophyllene (21.28%), methyl-eugenol (14.25%), eugenol (10.78%), β -elemene (9.78%) and elemol (7.64%).

The insecticidal properties of the investigated essential oil revealed suitable insecticidal activities on all stages of the insect. The use of 1 $\mu\text{L.L}^{-1}$ of essential oil and Emir® (1 $\mu\text{g.L}^{-1}$) allowed 100% mortality on all larval stages and adults. The LC_{50} of essential oil were lower than that of Emir® on the larval stages III, IV and on the adults, revealing that essential oil was more effective than Emir®.

These findings showed that this essential oil have interesting insecticidal properties against this cotton pest and could be useful as alternative to the synthetic pesticides.

Key words: *Ocimum sanctum*, essential oil, insecticide, *Dysdercus voelkeri*

1. Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale, Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, BP. 20131, Lomé Togo

2. Laboratoire de Biologie Animale et de zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo.

3. Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA), BP 1163, Lomé, Togo.

4. Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, Arômes et Métrologie Senso-

rielle, UMR 1010, INP-ENSIACET, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, France

*Auteur correspondant, N° Tél. (00228)90891149, e-mail : nadiow@yahoo.fr

1. INTRODUCTION

Les végétaux sont en général attaqués par de très nombreux ravageurs de par le monde. Lorsque ces attaques concernent les plantes cultivées, l'agriculteur fait face à un problème autre que les facteurs édaphiques et climatiques. Celui-ci se trouve alors dans la nécessité de lutter contre ces ravageurs qui attaquent les plantes à tous les stades de leur développement, entraînant à des degrés divers, des dégâts

qui déprécient la valeur marchande des produits récoltés, des pertes de rendement et même des cas de famine dans le monde. Le cotonnier, une plante textile cultivée pour ses fibres et ses graines oléagineuses, attire beaucoup d'insectes ravageurs. Hargreaves (1948) a identifié en culture cotonnière, 482 espèces d'insectes en Afrique au sud du Sahara. Au Togo, cette culture constitue une source de croissance économique potentielle avec des répercussions positives sur les revenus des « cotonculteurs » et de l'Etat

(Gbakenou *et al.*, 2007), car c'est le principal produit agricole d'exportation pour le pays. Dans la sous-région ouest africaine, la commercialisation du coton constitue aussi la principale source de revenu monétaire, pour la plupart des cotonculteurs des zones de savanes humides ou sèches. C'est ainsi qu'au Burkina Faso, le coton est considéré comme une importante source de revenu pour 200 000 exploitants (Gnankiné *et al.*, 2007).

Parmi les facteurs entomologiques qui portent préjudice à la culture cotonnière, le genre *Dysdercus* (Hemiptera; Pyrrhocoridae) constitue, dans les régions favorables à cette culture, un facteur limitant de sa production (Pierrard, 1972). Les pertes totales attribuées aux insectes, varient de 30% dans les attaques les plus bénignes, à plus de 90% dans les conditions de parasitisme intense (Petiot, 2011).

Pour faire face à ces ravageurs, les producteurs ont recours aux insecticides chimiques de synthèse utilisés malheureusement en grande quantité et parfois même malgré leur prohibition (DDT, aldrine, endrine etc.). La Société de Fibres et Textiles du Burkina Faso (Sofitex, 2003) estimait en 2003 que 2,5 millions de litres d'insecticides étaient appliqués chaque année dans les champs de cotonniers au Burkina Faso. Au Togo, les insecticides chimiques de synthèse utilisés de nos jours pour lutter contre les ravageurs du cotonnier sont: la cyperméthrine contre les chenilles, le chlorpyrifos-éthyl contre les acariens, le chlorpyrifos-méthyl, le Deltaphos® (deltaméthrine + triazophos), l'acétamépride et l'Emir® (acétamipride + cyperméthrine) contre les piqueurs-suceurs, etc. (Akantétou *et al.*, 2012). L'Emir® est largement utilisé dans la protection du cotonnier contre divers ravageurs au Togo notamment les *Dysdercus*. Cet insecticide largement recommandé et utilisé en pulvérisation ULV (Ultra-low volume) contre les ravageurs sur tout le territoire peut se révéler très dangereux pour la santé de l'utilisateur, de l'environnement et même pour le consommateur car en Afrique, les cultures cotonnières sont souvent conduites en association avec les cultures vivrières. Comme l'ont signalé Deguine et Vaissayre (2000), les matières actives (monocrotophos, deltaméthrine, diméthoate...) utilisées contre les piqueurs suceurs ont une forte toxicité avec des risques non négligeables pour la santé humaine et pour l'environnement. En effet, suite aux cas de décès liés à l'utilisation des insecticides, les aspects toxicologiques concernant la santé humaine et l'utilisation des pesticides en Afrique Subsaharienne ont été discutés (Katary *et al.*, 2002). Selon cette étude, les taux de mortalité des personnes intoxiquées par l'endosulfan et par les organophosphorés étaient respectivement de 5,5 % et 65,22 %.

Au-delà du problème de santé publique, c'est celui de la résistance des ravageurs qui est préoccupant, obligeant les agriculteurs à augmenter progressivement les doses appliquées. Des cas d'intoxication de toutes natures sont observés chaque année dans nos pays suite à l'épandage non raisonné d'insecticides homologués ou prohibés (Bouguéra, 1988; Dümmler *et al.*, 1993). Cette situation dramatique interpelle tous les acteurs impliqués dans la protection des cultures.

Pour cela, il est urgent de rechercher et de promouvoir de

nouvelles pratiques phytosanitaires qui auraient pour effets, d'une part, l'obtention de produits agricoles de bonne valeur marchande, et d'autre part, le respect des concepts socio-écologiques de chaque écosystème en préservant ainsi à long terme notre environnement. C'est dans cette perspective que des recherches doivent être orientées vers les biopesticides comme certaines plantes aromatiques de la flore endémique possédant des propriétés insecticides et insectifuges. Ceci permettrait de valoriser celles-ci en contribuant à l'amélioration des pratiques phytosanitaires et à la réduction des risques qui leur sont associés. C'est dans cette perspective que nous avons choisi, pour le présent travail, d'évaluer les propriétés insecticides et répulsives de l'huile essentielle d'*Ocimum sanctum* L. sur *Dysdercus voelkeri*. Cette plante aromatique de la flore du Togo est traditionnellement utilisée comme insecticide, insectifuge et médicament (Chaumont *et al.*, 2001; Tchatcha, 2008).

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel végétal et extraction de l'huile essentielle

La biomasse utile est constituée de feuilles et inflorescences d'*O. sanctum* récoltées sur la parcelle expérimentale de "l'Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (URASE)" de l'Université de Lomé au Togo.

Un échantillon de 50 g de feuilles et d'inflorescences séchées sous abri à la température du laboratoire (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) a servi pour l'extraction de l'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation pendant 1 heure à l'aide d'un dispositif en verre de type Clevenger (Clevenger, 1928). L'huile essentielle brute extraite a été conservée au réfrigérateur à 4°C dans des flacons en actinite hermétiquement fermés par des bouchons en caoutchouc et recouverts par du papier aluminium afin de la protéger contre l'effet de la lumière.

2.2 Méthodes d'analyse et identification des constituants de l'huile essentielle

L'analyse et l'identification des constituants de l'huile essentielle obtenue ainsi que la détermination de sa composition centésimale relative ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée et à la spectrométrie de masse (CPG-SM).

2.2.1 L'analyse des constituants de l'huile essentielle

Les analyses par CPG-FID ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe de type Hewlett- Packard 5890 série II, équipé d'une colonne capillaire apolaire: 50 m x 0,22 mm ; épaisseur du film: 1 µm, BPX-5 (polysilphélinène-siloxane, SGE). La température du four était programmée de 50°C à 150°C (3°C/min) et de 150°C à 240°C (5°C/min) puis maintenue en isothermie (5 min). La température de l'injecteur et du détecteur étaient respectivement de 280°C et 300°C. Les échantillons d'huile ont été injectés en utilisant un mode split/splitless (10/1) et l'hélium comme gaz vecteur (débit 1ml/min). La composition centésimale est calculée à partir de l'aire de chaque pic

chromatographique.

Un volume de 0,2µL d'huile essentielle diluée dans l'hexane dans une proportion de 5µL d'huile essentielle dans 1 ml de solvant hexane soit un facteur de dilution de 5‰ a été injecté manuellement.

Les analyses en CPG-SM ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard 5890 SERIE II couplé au spectromètre de masse de type Hewlett Packard 5971 SERIES. La colonne capillaire (SGE, BPX – 5 : 50 m x 0,22 mm; épaisseur du film:1 µm) était connectée à la source du spectromètre de masse. Les spectres de masse ont été enregistrés en mode scan à 70eV (35-350 amu). La température de la source était de 230°C. La programmation du four était la même que pour les analyses CPG-FID. Les échantillons d'huile ont été injectés en utilisant un mode split/splitless (10/1) et l'hélium comme gaz vecteur (débit 1ml/min). L'injection a été effectuée dans les mêmes conditions analytiques qu'en CPG-FID à savoir 0,2 µl d'échantillon d'huile essentielle diluée dans l'hexane à 5‰.

2.2.2 L'identification des constituants de l'huile essentielle

Les composés ont été identifiés (i) par la détermination de leur indice de rétention (RI) selon la série des *n*-alcane (C5-C18) et par comparaison aux bases de données de la littérature (Kondjoyan et Berdague, 1996), (ii) par recherche de correspondance de leur spectre de masse avec ceux de la bibliothèque de spectre Wiley 275 et NIST, 2005, (iii) par comparaison de leur spectre de masse avec ceux rapportés dans la littérature (McLafferty, 1994).

2.3 Tests biologiques

2.3.1 Dispositif expérimental

Les tests ont été réalisés *in vitro* dans les conditions de laboratoire suivant un dispositif complètement aléatoire. Deux types de produits ont été utilisés : l'huile essentielle d'*O. sanctum* et le produit chimique de synthèse (témoin positif : Emir® d'origine commerciale à 1 µg.l⁻¹, composé d'acétamipride 16g/L + cyperméthrine 72g/L. Pour l'huile essentielle d'*O. sanctum*, cinq concentrations ont été préparées: 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1µl.L⁻¹. La dose zéro (0), constituée d'eau distillée, a servi de témoin absolu (contrôle). Pour chaque concentration, les tests ont été faits sur les différents stades de l'insecte placés dans des boîtes de Petri distinctes.

Les larves et adultes de *D. voelkeri* ont été capturées sur des plants de cotonniers (*Gossypium hirsutum*) dans une plantation expérimentale installée à la Station d'Expérimentation Agronomique de l'École Supérieure d'Agronomie de l'Université de Lomé. L'infestation des plants de cotonniers par *D. voelkeri* était naturelle. Une fois prélevés, les larves et les adultes sont ramenés au laboratoire et laissés pendant 30 à 45 minutes (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) pour leur acclimatation avant la réalisation des bio-essais.

Les individus de chaque stade ont été traités séparément. En effet l'unité expérimentale est constituée par une boîte de Petri de 90 mm de diamètre contenant vingt (20) sujets (de chacun des stades larvaires testés (stades II, III et IV) et 20 adultes), en présence de graines et de morceaux de feuilles de cotonniers. Chaque objet ou traitement a été répété 5 fois.

Les bio-essais au laboratoire ont été effectués selon la méthode de contact direct entre produit et insecte. Les larves de stades II, III, IV et les adultes de *D. voelkeri* ont été utilisés séparément pour les différents tests de laboratoire car c'est à partir du stade larvaire II jusqu'au stade adulte que ces insectes créent beaucoup de dégâts sur leurs plantes hôtes.

Les solutions tests sont préparées chaque jour juste avant les tests, en diluant l'huile essentielle d'*O. sanctum* dans de l'eau distillée additionnée d'une petite quantité du Tween 80 comme émulsifiant à la dose de 0,1% non toxique pour les différents stades de l'insecte. Le témoin négatif est constitué d'eau distillée additionnée du Tween 80 à 0,1%. Ainsi, après avoir placé les insectes dans les boîtes de Petri, nous avons fait une application topique à l'aide d'une seringue, 40 µl de chaque produit sur chaque larve et les adultes et leur comportement était observé après 24 heures d'exposition. Les boîtes de Petri avec leurs contenus étaient placés dans les conditions de laboratoire (t : 27+/-2°C ; HR : 80%) pour les différentes observations.

2.3.2 Détermination des taux de mortalité

Les taux de mortalité des insectes soumis aux différents produits à différentes concentrations, sont évalués 24 heures après la mise en contact. Une loupe binoculaire a été utilisée pour dénombrer les insectes morts. Un insecte est considéré comme mort quand il ne réagit plus à un contact à l'aide d'une aiguille légèrement chauffée et posée sur les parties sensibles comme les antennes. La mortalité est calculée et corrigée selon la formule d'Abbott (1925).

$$Mc = \frac{Me - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Mc = mortalité corrigée en pourcentage

Me = mortalité de l'échantillon testé

Mt = mortalité dans le témoin non traité

2.3.3 Analyse des résultats

Les résultats obtenus ont été analysés statistiquement au moyen du logiciel STATISTICA puis discriminés au test de Duncan au seuil de 5 %.

La concentration létale à 50 %, (CL₅₀) de chaque produit a été estimée, après 24 heures d'exposition des insectes aux différentes concentrations testées. Ces valeurs ont été déterminées à partir d'une courbe étalon donnant les variations de la mortalité en fonction des concentrations croissantes des produits.

2.3.4 Effet répulsif de l'huile essentielle sur papier filtre

L'effet répulsif de l'huile essentielle à l'égard des larves de stades II, III et IV et les adultes *D. voelkeri* a été évalué en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald *et al.* (1970). Ainsi, les disques de papier filtre Wattman n°2 de 9 cm de diamètre utilisés à cet effet ont été coupés en deux parties égales. Cinq concentrations d'huile essentielle ont été préparées (0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1 µl.L⁻¹) par dilution dans l'acétone. Ensuite, 0,5 ml de chacune des solutions ainsi préparées a été répandue uniformément sur une moitié du disque tandis que l'autre moitié a reçu uniquement 0,5 ml d'acétone.

Après quinze minutes, temps nécessaire pour l'évaporation complète du solvant de dilution, les deux moitiés des disques ont été ressoudées au moyen d'une bande adhésive. Le disque de papier filtre ainsi reconstitué a été placé dans une boîte de Petri et un lot de 20 insectes a été introduit au centre de chaque disque. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque concentration.

Au bout de deux heures, le nombre d'insectes présents sur la partie de papier filtre traitée à l'huile essentielle (Nt) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement à l'acétone (Nc) ont été relevés. Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante de McDonald *et al.* (1970):

$$PR = \frac{Nc - Nt}{Nc + Nt} \times 100$$

Le pourcentage moyen de répulsion pour l'huile essentielle a été calculé et attribué selon le classement de McDonald *et al.* (1970) à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Analyse de l'huile essentielle

L'huile essentielle d'*O. sanctum* utilisée est incolore, obtenue à partir de la biomasse sèche des feuilles et des inflorescences avec un rendement de 1,8 % en masse. Les vingt-cinq composés identifiés représentent 98,32% des composés détectés. Le germacrène-D (25%), le β-caryophyllène (21,28%), le méthyl-eugénol (14,25%), l'eugénol (10,78%), le β-élémane (9,78%) et l'élémol (7,64%) sont les composés majoritaires (Tableau I).

L'huile essentielle d'*O. sanctum* analysée au cours de ce travail est constituée accessoirement d'hydrocarbures monoterpéniques (1,11%) avec quatre composés identifiés. Elle contient aussi trois monoterpènes oxygénés (1,19%). La composition chimique de cet échantillon d'huile essentielle est différente de celles précédemment décrites par Chaumont *et al.* en 2001 au Togo avec le méthyl-eugénol (74,5%), l'estragole (7,4%), le 1,8-cinéole (6,2%) et l'α-farnésène comme composés majoritaires. Elle est également différente de celle décrite par Vioch *et al.* (2006) en Thaïlande avec l'eugénol (41,5%), le γ-caryophyllène (23,7%) et le méthyl-eugénol (11,8%) comme composés

majoritaires. Enfin, la composition chimique de l'huile essentielle d'*O. sanctum* diffère aussi de celle analysée par Khan *et al.* en 2010 en Inde avec comme composés majoritaires le méthyl-chavicol (44,6%) et le linalol (21,8%). L'essence décrite dans ce travail présente aussi une grande différence avec celle décrite en Inde par Rao *et al.* (2011) avec le méthyl-eugénol (72,5%) comme seul composé majoritaire et diffère de celle décrite par Padalia et Verna en 2011, en Inde, dans laquelle les principaux composés sont l'eugénol (67,4%), le β-élémane (11,0%), le β-caryophyllène (7,3%) et le germacrène-D (2,4%).

De telles différences de composition de l'huile essentielle d'*O. sanctum* du Togo par rapport à celles décrites dans la littérature pourraient s'expliquer par les conditions de culture de la plante, la période de récolte, les conditions climatiques, édaphiques, les techniques d'extraction et de conservation de l'huile essentielle avant son analyse chromatographique (Dabire *et al.*, 2011 ; Yayi-Ladekan *et al.*, 2011). Les chimiotypes sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles. Pour une espèce végétale donnée, la proportion des différents constituants peut varier de façon importante au cours du cycle végétatif de la plante. L'impact des facteurs de l'environnement (température, humidité relative, durée d'insolation, etc.) et les techniques culturales (apport d'engrais) pour les espèces cultivées peuvent également intervenir dans la composition chimique des huiles essentielles ; leurs composants chimiques peuvent varier même si elles appartiennent à la même zone géographique. Les plantes utilisées par Chaumont *et al.* (2001) proviennent de la Région des Plateaux tandis que celles que nous avons utilisées pour l'extraction sont cultivées dans la station expérimentale agronomique de l'Université de Lomé (Région maritime).

La prise en compte des conditions de cultures, de récolte, de traitement de la biomasse avant l'extraction de l'huile essentielle et celles de sa conservation avant les analyses pourraient garantir la stabilité de sa composition chimique.

3.2- Tests biologiques

3.2.1- Sensibilité des larves et adultes de *D. voelkeri* à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Les résultats sur l'évolution des taux de mortalité cumulés et corrigés des larves et adultes de *D. voelkeri* en fonction de la dose des produits testés ont été consignés dans le Tableau II. Les taux de mortalité de chaque stade augmentent avec la concentration d'huile essentielle dans la solution test.

- Sensibilité des larves de stade II et III à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Au contact d'une goutte (40 µl) d'huile essentielle de 1 µl.L⁻¹ ou d'une goutte d'Emir® (1 µg.L⁻¹), les larves des stades II et III se sont immobilisées immédiatement et dans la plupart des cas, la mort s'en est suivie aussitôt. Dans de rares cas cependant, des larves ont continué d'agiter leurs antennes et pattes avant la survenue définitive de la mort. Les doses de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8 µl.L⁻¹ ont induit respectivement des taux de mortalité de 16,61 ; 33,34 ; 53,32 ; 68,31% pour les larves de stade II et 16,60 ; 31,64 ;

Tableau I: Composition chimique de l'huile essentielle d'*O. sanctum* acclimaté au Togo

Composés identifiés	Indices de rétention calculés	Indices de rétention selon Adams, 2001	Aires des pics [%]	Identification
Monoterpènes			1,11	
α -thujène	935	930	0,12	SM ^a , IR ^b
α -pinène	990	979	0,15	SM, IR
α -phellandrène	1033	1010	0,27	SM, IR
α -terpinène	1019	1017	0,57	SM, IR
Monoterpènes oxygénés			1,19	
terpinéol-4	1180	1071	0,40	SM, IR
pipéritone	1253	1260	0,53	SM, IR
thymol	1290	1307	0,26	SM, IR
Phenylpropanoïdes			25,03	
eugénol	1359	1353	10,78	SM, IR
methyl-eugénol	1408	1404	14,25	SM, IR
Sesquiterpènes			60,91	
β -élémane	1391	1387	9,78	SM, IR
β -caryophyllène	1425	1420	21,28	SM, IR
germacrène D	1487	1485	25,00	SM, IR
β -selinène	1493	1490	1,44	SM, IR
δ -cadinène	1645	1623	1,54	SM, IR
α -cubébène	1351	1355	0,25	SM, IR
β -cubébène	1388	1386	0,55	SM, IR
β -bisabolène	1506	1503	0,79	SM, IR
(E)- γ -bisabolène	1515	1510	0,28	
Sesquiterpènes oxygénés			10,08	
élémol	1550	1518	7,64	SM, IR
Endo-1-banbonalol	1561	1563	0,28	SM, IR
Carryophyllène oxyde	1583	1579	0,31	SM, IR
γ -eudesmol	1638	1632	0,26	SM, IR
β -eudesmol	1651	1658	0,43	SM, IR
α -eudesmol	1654	1643	0,37	SM, IR
Acide benzène-1,2-dicarboxylique	1828	1823	0,79	SM, IR
Total identifié (%)			98,32	

^a: identification basée sur l'indice de rétention,

^b: identification basée sur la comparaison des spectres de masse

46,62 ; 65,03 % pour les larves de stade III.

L'huile essentielle d'*O. sanctum* et l'Emir® ont occasionné respectivement à 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ et 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 100% de mortalité des larves.

- Sensibilité des larves de stade IV à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Les larves de ce stade ont été moins sensibles à l'huile essentielle aux concentrations de 0,2 et 0,4 $\mu\text{l.L}^{-1}$, montrant des mortalités respectives de 13,35% et 28,37%. Aux

concentrations plus élevées (0,6 et 0,8 $\mu\text{l.L}^{-1}$) les taux de mortalité ont atteint 43,3% et 60 %. La mortalité totale a été également obtenue pour l'huile essentielle d'*O. sanctum* et l'Emir® respectivement à 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ et 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$

- Sensibilité des adultes de *D. voelkeri* à l'huile essentielle d'*O. sanctum*

Le contact d'une goutte (40 μl) d'huile essentielle de 1 $\mu\text{l.L}^{-1}$ sur les adultes a provoqué certes, leur immobilisation avant la mort mais cela n'a pas été instantané. Par rapport aux larves, les taux de mortalité ont été faibles. Nous avons obtenu pour les

concentrations de 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8 μL^{-1} respectivement des taux de mortalité de 11,68 ; 26,61 ; 38,39 et 51,46 %.

(0,536 μL^{-1}) et le stade adulte le moins sensible avec une moyenne de CL_{50} très élevée (0,627 μL^{-1}).

Tableau II: Activité insecticide de l'huile essentielle d'*O. sanctum* sur les différents stades de développement de *D. voelkeri* après 24 heures

Stades de l'insecte	Taux de mortalité après 24 h (%)					
	Concentrations (μL^{-1})					
	0,2	0,4	0,6	0,8	1	Emir*
II	16,61±2,3	33,34±2,3	53,32±2,3	68,31± 2,3	100 ±0,0	100 ±0,0
III	16,60±2,3	31,64±2,3	46,62±2,3	65,03±2,3	100 ±0,0	100 ±0,0
IV	13,35±2,3	28,37±2,3	43,33±2,3	60,20±4,1	100 ±0,0	100 ±0,0
Adulte	11,68±2,3	26,61±2,3	38,39±2,3	51,46±2,3	100 ±0,0	100 ±0,0

* Emir® (1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

3.2.2- Les concentrations létales à 50% (CL_{50}) des deux produits sur les différents stades de l'insecte

Les CL_{50} de l'huile essentielle ont été plus faibles sur les trois derniers stades des insectes par rapport à celles de l'Emir®; donc l'huile essentielle a été plus efficace. Par contre, sur les larves de stade II, la moyenne des CL_{50} de l'huile essentielle a été plus élevée (0,536 μL^{-1}) que celle de l'Emir® (0,520 μL^{-1}) (Tableau III).

Dans l'ensemble, nous pouvons conclure que l'action insecticide de l'huile essentielle d'*O. sanctum* à faible dose a été moindre sur les insectes adultes que sur les larves. Les individus adultes sont plus résistants que les différents stades larvaires.

L'huile essentielle d'*O. sanctum* possède des propriétés insecticides sur tous les stades larvaires et sur les adultes de *D. voelkeri*. Cependant, cette action a varié en fonction de la concentration. Ceci pourrait s'expliquer par la présence dans cette huile essentielle, de composés alcooliques et cétoniques qui ont la propriété de dissoudre les téguments protecteurs des insectes (Agossou, 2001; Sanda *et al.*, 2006). L'action de cette huile essentielle serait due à ses propriétés dissolvantes qui pourraient être attribuées à ses composés majoritaires que sont le Germacrène-D (25,00%) et le β -Caryophyllène (21,28%). L'huile essentielle d'*O. sanctum* a été potentiellement insecticide comme l'Emir®. Les deux constituants majoritaires dans l'huile essentielle d'*O. sanctum* sont des molécules actives et volatiles qui agiraient par contact sur les téguments des insectes. Cependant, nous n'excluons pas l'effet synergiste éventuel des autres constituants minoritaires de cette huile essentielle car les effets toxiques de l'eugénol (10,78%), du β -élémane (9,78%), du méthyle eugénol (14,25%) et de l'élémol (7,6%) sur les insectes méritent d'être recherchés pour déterminer leur effet respectif sur les différents stades du ravageur.

L'analyse de la variance et la discrimination des résultats au test de Duncan au seuil de 5 % ont montré qu'il y a eu des différences significatives entre la sensibilité des différents stades de l'insecte face aux différents produits testés.

La sensibilité de *D. voelkeri* à l'huile essentielle a été fonction de l'âge de l'insecte c'est-à-dire de son stade, le stade II ayant été le plus sensible avec une moyenne des CL_{50} très faible

La plus grande sensibilité de la larve de stade II s'expliquerait par sa fragilité du point de vue constitution tégumentaire, les adultes ayant un tégument plus coriace.

Tableau III: Moyennes des CL_{50} des différentes substances testées sur les différents stades de développement de *D. voelkeri*

Stades de développement de l'insecte	CL_{50} des différentes substances testées (μL^{-1})	
	HE <i>O. sanctum</i>	Emir®
II	0,536a	0,520a
III	0,568b	0,570b
IV	0,590c	0,604c
Adulte	0,627d	0,631d

A l'intérieur d'une même colonne, les moyennes affectées d'une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre elles (test de Duncan, $p \leq 0,05$)

3.2.3 Effet répulsif de l'huile essentielle

Les résultats du tableau IV montrent que l'huile essentielle a un effet répulsif modéré sur les larves de stade II avec un pourcentage moyen de répulsion de 45% correspondant à la classe III selon McDonald *et al.* (1970). Ce tableau indique un effet répulsif sur les larves des stades III et IV avec respectivement des pourcentages de répulsion de 69,6 et 79% qui correspondent à la classe IV. Enfin l'huile essentielle a un effet très répulsif sur les individus adultes avec un pourcentage moyen de répulsion de 84,6% ce qui permet de la ranger dans la classe V. D'une manière générale, cette huile essentielle a des propriétés répulsives sur les individus des différents stades de développement de *D. voelkeri* et cet effet est plus marqué sur les stades âgés. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les larves de stades II étant encore plus jeunes, tous leurs organes sensoriels ne sont pas encore complètement développés par rapport aux adultes. Des études réalisées sur d'autres ravageurs de cultures ont démontré les propriétés répulsives de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* notamment sur les pucerons *Aphis gossypii* et les charançons du maïs *Sitophilus zeamais* (Bokobana *et al.*, 2014; Laba *et al.*, 2015). Bowers *et al.*, (1993) ont identifié la pipéritone comme constituant majoritaire de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* et que ce constituant a une activité répulsive sur les fourmis du genre *Crematogaster* (Hymenoptera). D'autres huiles essentielles se sont révélées répulsives comme les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*, d'*O. canum*, du *Thuya*

Tableau IV:

Stades de développement de l'insecte	Pourcentage de répulsion après 2 h d'exposition (%)					Répulsivité moyenne (%°)	Classe	Effet de la substance testée
	Concentrations ($\mu\text{L.L}^{-1}$)							
	0,2	0,4	0,6	0,8	1			
II	35	40	45	50	55	45	III	Modérément répulsif
III	60	65	70	75	78	69,6	IV	répulsif
IV	70	78	80	82	85	79	IV	répulsif
Adulte	80	82	85	87	89	84,6	V	Très répulsif

plicata contre les termites (Grace *et al.*, 1994 ; Songai 2008) et celle de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les *Acanthoscelides obtectus* (Ndomo *et al.*, 2009).

4. CONCLUSION

La présente étude a permis d'évaluer les activités insecticide et répulsive de l'huile essentielle d'*O. sanctum* sur différents stades de développement de *D. voelkeri*. Elle a révélé que l'huile essentielle possède des propriétés insecticides intéressantes en laboratoire sur les différents stades du ravageur tout comme l'Emir®. Nos investigations ont aussi mis en évidence un effet répulsif plus marqué sur les adultes que sur les trois stades larvaires testés. Ces résultats pourraient trouver leur application dans la lutte contre *Dysdercus* spp au Togo et dans la sous région ouest africaine où sévit le ravageur. Mais d'autres études plus poussées méritent d'être entreprises pour déterminer la nature de l'activité des différents composés de cette huile essentielle car leur proportion dans l'huile essentielle entière est non négligeable et la détermination de conditions optimales d'utilisation à grande échelle.

5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**, 265-267.
- Adams R.P., 2001. Identification of essential oil components by gaz chromatography /quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, Illinois, Allured Publishing Corporation. p 2-8.
- Agossou A.B., 2001. Evaluation comparatives des effets pesticides de plantes locales: *Cymbopogon schoenanthus* L., *Jatropha curcas* L et *Ocimum gratissimum* L. sur des ravageurs du chou: *Plutella Xylostella* (Lepidoptera; Yponomeutidae) et *Aphis Spiraecola* (Homoptera; Aphididae). Mémoire de fin d'études agronomiques. ESA-UL. Lomé, 52p.
- Akantetou P.K., Koba K., Poutouli W.P., Laba B., Ayéva B., Bonfoh B. et Sanda K., 2012. Niveau d'infestation des populations d'*Aphis gossypii* Glover (Homoptera; Aphididae) en culture cotonnière au Togo. *Cam. Jor. Biol. Bioch. Sc.*, **20**, 30-41.
- Bouguera M. L., 1988. Chimie et développement ACCT Paris, 307p.
- Bokobana M., Koba K., Poutouli W. P., Akantetou P. K., Nadio N. A., Laba B., Tozoo P., Raynauld C., Sanda K., 2014. Evaluation du potentiel insecticide et répulsif de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. sur *Aphis gossypii* Glover (Homoptera :Aphididae), ravageur du cotonnier au Togo. *Revue Cames*. **02** (02) :48-55
- Bowers W. S., Ortego F., You X., Evan P. H., 1993. Insect repellents from in Chinese pinkly ash *Zanthoxylum bungeanum*. *Journal of National products* (6): 935-938.
- Chaumont J.P., Mandin D., Sanda K. , Koba K. et de Souza C. A., 2001. Activités antimicrobiennes in vitro de cinq huiles essentielles de Lamiacées togolaises vis-à-vis des germes représentatifs de la microfaune cutanée. *Acta. Bot. Gallica.*, **148**(2), 93-101.
- Clevenger J.F., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **17**, 336-341.
- Dabire C, Nebie R.H.C., Belanger A., Nacro M., et Sib F.S., 2011. Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **5**(3): 1082-1095.
- Deguine J-P, Vaissayre M., 2000. Proposition pour une gestion durable des populations de puceron, d'aleurodes chez les petits producteurs de coton africain. Acte de la Réunion Phytosanitaire Coraf – Réseau Coton. 22-25 Février 2000 Lomé (Togo) 209-218.
- Dümmler C., Schwab A., Jäger-Mischke I., Thiam A., Stoll G., Görden R. et Prexler-Schwab S., 1993. Pesticides et agriculture tropicale. Dangers et alternatives. Edition PAN/CTA. Weikersheim, 281p.
- Gbakenou K.I., Akantetou K.P., Tokoro A., Bolowa A., Tchagodomou O., Toky P., Ayéva B., Djagni K.K., 2007. Situation sur les principales cultures de rente du Togo: coton, café, cacao et noix de coco. *Rapport Annuel ITRA*, 9-33.

- Gnankiné O., Traoré D., Sanon A. Traoré N. S. et Ouedraogo A. P.**, 2007. Traitements insecticides et dynamique des populations de *Bemisia tabaci* Gennadius en culture cotonnière du Burkina Faso. *Cahiers d'Agricultures*. **16** (2), 101-109.
- Grace J. K. and Yamamoto R. T.**, 1994. Natural resistance of Alaska-cedar, redwood, and teak to Formosan subterranean termites. *Forest Prod. J.* **44**(3): 41-45.
- Hargreaves E.**, 1948. List of Recorded Cotton insects of the world. *Ed. Commonwealth Institute of Entomology*. London. 50p.
- Katary A., Prudent P. & Djihinto C. A.**, 2002. La gestion de la résistance de *H. armigera* au pyrèthrinoides au Bénin et les programmes de protection du cotonnier dans ce pays, résultats de la campagne 2001/2002 et bilan de la stratégie actuelle. Acte de la quatrième réunion-bilan du PR-PRAO, 9 au 12 /04/ 2002, Cotonou (Bénin). pp 42-72
- Khan A., Ahmad A., Akhtar F., Yousuf S., Xess I., Khan L.A. and Manzoor N.**, 2010. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res. Microbiol.*, **161**(10), 816-23.
- Kondjoyan N. and Berdagne J.L.**, 1996. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Edition Laboratoire Flaveur, Station de Recherche sur la viande, INRA de Theix, St Genes Champanelle, France. 234 p.
- Laba B., Koba K., Poutouli W., Akantetou P., Bokobana M. E., Tozou P., Nadio N. A., Raynaud C., Sanda K.**, 2015. Evaluation des propriétés insecticides et insectifuges de l'huile essentielle des feuilles de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (Poaceae) contre les adultes de *Sitophilus zeamais* (Mostch) (Coleoptera: Curculionidae). (*Sous presse Cameroon Journal of Biological and Biochemical Sciences*).
- Lagière R.**, 1966. Le cotonnier: Techniques Agricoles et Protections Tropicales. Maisonneuve et Larose 11 PARIS, 305 p.
- McLaferty F.W.**, 1994. The Wiley Registry of Mass Spectral Data; 6th ed. Spectrometry Library Search System Bench-Top/PBM, version 3.10., Newfield.
- McDonald L.L., Guy R.H. & Speirs R.D.**, 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. *Marketing. Res. Rep.* n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric., 183 p.
- National Institute of Standards and Technology**, 2005. PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH, Mass Spectra Library. Perkin-Elmer Corp: Norwalk, CT.
- Ndomo A.F., Tapondjou A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F. M.**, 2009, Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*. **27** (3): 137-143
- Padalia R.C., Verma R.S.**, 2011. Comparative volatile oil composition of four *Ocimum* species from northern India. *Nat. Prod. Res.*, **25**(6), 569-75.
- Petiot E.**, 2011. Soigner les plantes par les huiles essentielles, végétales et minérales. Edition de Terran. France. 135 p
- Pierrard G.**, 1972. Le contrôle de *Dysdercus volkeri* Schmidt défini par l'acquisition de connaissances de la biologie de l'insecte et de ses dégâts. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat de Gembloux, Belgique, 135 p.
- Rao B.R., Kotharia S.K., Rajput D.K., Patel R.P. and Darokar M.P.**, 2011. Chemical and biological diversity in fourteen selections of four *Ocimum* species. *Nat. Prod. Commun.*, **6**(11), 1705-10.
- Sanda K., Koba K., Poutouli W., Idrissou N. and Agossou A.B.**, 2006. Pesticidal properties of *Cymbopogon schoenanthus* against the Diamondback Moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera; Hyponomeutidae). *Discov. Innov.*, **18**(3), 212-217.
- Sofitex**, 2003. Rapports techniques sur la campagne agricole cotonnière mars-avril 2003, Bobo-Dioulasso. Burkina-Faso.
- Songaï M. S.**, 2008. Etude du potentiel insecticide des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* L. et d'*Ocimum canum* Sims sur *Trinervitermes germinatus* Wasmann et *Macrotermes subhyalinus* Rambur (Isoptère:Termitidae). *Memoire d'Ingénieur Agronome*, Université de Lomé, p. 50.
- Tchatcha K.**, 2008. Propriétés insecticides des huiles essentielles d'*Acrocalymma pubescens* Benth, *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng, *Ocimum sanctum* L. sur *Dysdercus . volkeri* Schmidt. *Mémoire de DEA/ESA/UL*, 55p
- Viyoch J., Pisutthanan N., Faikreua A., Nupangta K., Wangtorpol K. and Ngokkuen J.**, 2006. Evaluation of in vitro antimicrobial activity of Thai basil oils and their micro-emulsion formulas against *Propionibacterium acnes*. *Int. J. Cosmet. Sci.*, **28**(2), 125-33.
- Yayi-Ladekan E., Kpoviessi D.S.S., Gbaguidi F., Kpadonou-Kpoviessi B. G. H., Gbenou J., Jolival C., Moudachirou M., Accrombessi C.G., Quetin-Leclercq J.**, 2011. Variation diurne de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims cultivé au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **5**(4), 1462-1475.

