



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Effet aphicide de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* L. et de son composé majoritaire sur le puceron du cotonnier *Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) au Togo

Pikassalé K. AKANTETOU^{1*}, Nafadjara A. NADIO², Magnim E. BOKOBANA²,
Panawé TOZOU³, Pali KILIMOU¹, Koffi KOKOBA², Wiyao POUTOULI³,
Christine RAYNAUD⁴ et Komla SANDA²

¹ Institut Togolais de Recherche Agronomique (ITRA), BP 1163, Lomé, Togo.

² Laboratoire de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (LARASE), Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, BP. 20131, Lomé Togo.

³ Laboratoire de Biologie Animale et de zoologie, Faculté des Sciences, Université de Lomé, B.P. 1515 Lomé, Togo.

⁴ Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, Arômes et Métrologie Sensorielle, UMR 1010, INP-ENSIACET, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, France.

* Auteur correspondant ; E-mail : pakantetou@yahoo.fr; Tel : +228 90 33 75 92

RESUME

L'utilisation abusive des produits chimiques de synthèse pose un problème de santé publique. Afin de contribuer à la protection écologique durable des cultures, les effets aphicides *in vitro* de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum* L. une plante de la flore togolaise et son composé majoritaire, l'estragole, ont été évalués sur les adultes du puceron *Aphis gossypii*. Les tests biologiques ont été effectués en laboratoire selon la méthode recommandée par Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) N° 1 Version 2. Les résultats obtenus ont révélé que l'huile essentielle de *O. basilicum* et l'estragole ont montré une activité insecticide intéressante sur les pucerons. La concentration minimale pour obtenir 100% de mortalité a été de 3 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle et de 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'estragole. Les DL_{50} obtenues sont de 1400 ppm pour l'huile essentielle et de 700 ppm pour l'estragole. L'huile essentielle et son composé majoritaire se sont révélés efficaces *in vitro* avec un effet de toxicité plus élevée de l'estragole sur *A. gossypii*. Les tests en milieu réel et l'évaluation de leur innocuité sur les organismes non cibles seront nécessaires pour confirmer l'intérêt de ces résultats dans l'élaboration d'une stratégie de gestion intégrée à l'aide de ces pesticides naturels contre ce ravageur redoutable.

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Cotonnier, *Aphis gossypii*, *Ocimum basilicum*, huile essentielle, estragole.

Aphicide effect of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its majority compound on cotton aphid *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) in Togo

ABSTRACT

The excessive use of synthetic chemicals is a public health issue. In order to contribute to sustainable ecological crop protection, *in vitro* aphicide effects of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. a plant of Togolese flora and its majority compound, estragole, were evaluated on the adults of the aphid *Aphis gossypii*.

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

8363-IJBSC

DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i1.8>

Laboratory biological tests were conducted using the method recommended by the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) 1 Version 2. Results showed that essential oil of *O. basilicum* and estragole had interesting insecticidal activity on aphids. The minimum concentration to achieve 100% mortality was 3 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for the essential oil and 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ for the estragole. Lethal Dose (LD50) values were 1400 ppm for the essential oil and 700 ppm for the estragole. The essential oil and its majority compound were effective *in vitro* with a higher toxicity effect of estragole on *A. gossypii*. Field tests and the evaluation of their safety on non-target organisms will be necessary to confirm the relevance of these results for an integrated management strategy development, using natural pesticides against this devastating pest.

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: cotton plant, Aphis gossypii, *Ocimum basilicum*, essential oil, estragole.

INTRODUCTION

L'utilisation des pesticides chimiques de synthèse a été longtemps considérée comme le moyen le plus efficace et économique pour la protection des cultures contre les ravageurs. Cependant, l'utilisation régulière et intensive de ces pesticides a provoqué une sélection sur les populations des ravageurs, favorisant ainsi le développement de divers mécanismes de résistance aux molécules actives. L'apparition d'individus résistants chez les insectes cibles a donc renforcé progressivement l'intérêt pour des méthodes alternatives de protection des cultures. En effet, le développement de résistances par les populations d'insectes, le changement de statut des ravageurs secondaires en ravageurs principaux, les effets sur les organismes non cibles et une pollution générale de l'environnement avec les résidus persistants causés par les insecticides chimiques de synthèse, ont entraîné un changement drastique de la philosophie du contrôle de ravageurs (Brévault et al., 2002; Traoré et al., 2008).

Au Togo, tout comme dans la plupart des autres pays africains producteurs de coton, la lutte contre les ravageurs en général et le puceron en particulier se fait essentiellement avec les produits chimiques de synthèse (Akantetou et al., 2012; Mokho et al., 2016). Cependant, les insectes piqueurs-suceurs qui autrefois considérés comme ravageurs secondaires par rapport aux chenilles, deviennent de nos jours des ravageurs principaux à cause de leurs dégâts de plus en plus importants sur les cultures cotonnières (Akantetou et al., 2012; Tozouu et al., 2014 ;

Tozouu et al., 2015a et 2015b). Les récentes pullulations de ces insectes piqueurs-suceurs sont la conséquence d'une rupture de l'équilibre établi auparavant entre eux, leur environnement et leur cortège d'ennemis naturels (Deguine et Ferron, 2004). La perte de sensibilité des ravageurs vis-à-vis de plusieurs matières actives de synthèse a été également mise en évidence dans plusieurs pays (Brévault, 2004 ; Owusu et Yeboa, 2007). A cet effet, l'utilisation d'insecticides biologiques ou semi-biologiques contre les pucerons et les Aleurodes représente une alternative envisageable, dans un concept de protection intégrée (Deguine et Vaissayre, 2000). A ce titre, l'étude de l'utilisation d'huiles essentielles (insecticides semi-biologiques) serait une contribution très importante.

Pendant ces dernières années, de nombreux travaux ont permis de tester les potentiels antimicrobiens, insecticides, insectifuges et acaricides des huiles essentielles de quelques plantes (Tedonkeng et al., 2004 ; Sanda et al., 2006 ; Koba et al., 2007 ; Songai, 2008 ; Akantetou et al., 2011 ; Ouedraogo et al., 2016). Certains ont été réalisés avec succès sur quelques pathogènes et ravageurs. Ainsi, dans l'objectif de contribuer à une protection intégrée des cultures en général et du cotonnier en particulier, nous avons évalué *in vitro*, le potentiel insecticide de l'huile essentielle de *O. basilicum* L. (Lamiacée) et son constituant majoritaire, l'estragole, sur *A. gossypii* Glover, un important ravageur de type piqueur suceur du cotonnier.

MATERIEL ET METHODES

Matériel animal

Les pucerons adultes non ailés utilisés pour les tests en laboratoire ont été capturés sur des plants de cotonniers (*Gossypium hirsutum* L.) de la variété STAM129A. Une parcelle expérimentale a été mise en place à cet effet à la Station d'Expérimentation Agronomique (SEA) de l'Ecole Supérieure d'Agronomie (ESA) de l'Université de Lomé (UL). L'infestation des plants de cotonniers par les pucerons a été faite naturellement. Une fois prélevés sur les plants de cotonniers, les pucerons ont été ramenés au laboratoire et laissés dans la boîte de collecte ouverte pendant 5 à 10 minutes avant la réalisation des bioessais.

Produits chimiques

Les feuilles et les inflorescences de *O. basilicum* ont été récoltées entre les mois de juillet et septembre 2008 sur la SEA de l'ESA à l'UL pour l'extraction de leur huile essentielle. L'extraction a été faite au Laboratoire de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (LARASE) de l'ESA à l'UL. L'huile essentielle de *O. basilicum* obtenue a été analysée au Laboratoire de Chimie Agroindustrielle de l'INPT en France. Le composé majoritaire, l'estragole, utilisé est d'origine commerciale (Sigma Aldrich). L'acétamipride à 8 g.ha⁻¹ a servi de témoin positif. C'est un produit de synthèse de la famille chimique des Chloronicotiniles (néonicotinoïdes) efficace contre les insectes piqueurs-suceurs dont *A. gossypii* (Farooq et Tasawar, 2009).

Extraction de l'huile essentielle d'*O. basilicum*

Un échantillon de 50 g de matériel végétal séché à l'abri de la lumière solaire et à la température du laboratoire (28 °C) a été extrait par la méthode d'hydrodistillation pendant deux (2) heures à l'aide d'un dispositif en verre de type Clevenger modifié (Craveiro et al., 1976). L'huile essentielle brute extraite a été conservée 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, puis stockée au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son usage.

Analyse de l'huile essentielle de *O. basilicum*

L'huile essentielle obtenue a été analysée par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) munie du Détecteur par Ionisation de Flamme (FID) et aussi par Chromatographie en Phase Gazeuse, couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM) au Laboratoire de Chimie Agroindustrielle de l'INPT en France.

Analyse par CPG

L'analyse a été effectuée à l'aide d'un Chromatographe de type Varian 3300 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'une colonne apolaire DB-5 (30 m x 0,25 mm de diamètre intérieur ; épaisseur du film 0,25 µm) et d'une colonne polaire Supelcowax 10 ayant les mêmes caractéristiques que la précédente. La programmation de température pour cette analyse a été la suivante:

- Colonne DB-5: 50 °C (5 min), de 50 °C à 250 °C avec un gradient de 2 °C/min
- Supelcowax 10, à 50 °C (5 min), de 50 °C à 200 °C avec un gradient de température de 2 °C.min⁻¹.

L'injecteur et le détecteur étaient respectivement maintenus aux températures de 250 °C et 300 °C. Le gaz vecteur était l'hélium dont le débit a été fixé à 1,50 mL.mn⁻¹. Un volume de 0,2 µL d'échantillon d'huile essentielle non diluée a été manuellement injecté.

Analyse par CPG/SM

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été faite sur un chromatographe de type Hewlett Packard 5890 SERIES II, couplé à un détecteur de masse de type Hewlett Packard 5971 SERIES à impact d'électrons opérant en mode 70 eV. La colonne capillaire était de type DB5-MS (30 m x 0,25 mm de diamètre intérieur ; l'épaisseur du film 0,25

μm). La quantité d'échantillon injectée et les configurations du CPG/SM sont les mêmes que précédemment.

Identification des composés de l'huile essentielle

Chaque constituant de l'huile essentielle a été identifié par son indice de rétention calculé à partir de son temps de rétention sur l'une des deux colonnes et ceux des deux alcanes d'étalons internes de n-alcanes C5- C18 encadrant ce dernier sur la même colonne.

L'indice de rétention a été ensuite comparé avec ceux des composés existant de la banque de données. La confirmation a été faite par la comparaison de son spectre de masse (Mc Laferty, 1994) avec ceux des échantillons bien connus ou avec des composés déjà décrits dans la littérature (Adams, 2001).

Le pourcentage des constituants identifiés a été estimé à partir des aires des pics correspondant à chaque composé sans aucune correction.

Dispositif expérimental pour les tests en laboratoire

Les tests aphicides ont été réalisés *in vitro* dans les conditions de laboratoire suivant un dispositif complètement aléatoire. Deux types de produits dont l'huile essentielle de *O. basilicum* et son constituant majoritaire (estragole) ont été testés. L'acétamipride ($8 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$), produit chimique de synthèse a servi de témoin positif. Pour chaque produits, cinq concentrations ont été préparées: 1; 2; 3; 4 et $5 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1}$. La dose zéro, constituée de l'eau distillée a servi de témoin absolu (contrôle).

L'unité expérimentale était constituée par une boîte de Pétri contenant vingt pucerons adultes libérés sur une feuille de cotonnier traitée avec les produits à tester. Chaque objet ou traitement a été répété cinq fois.

Préparation des différentes solutions pour les tests biologiques

Les différentes doses de chaque produit ont été préparées en diluant des quantités

requis dans de l'eau distillée additionnée d'une petite quantité d'un tensioactif naturel (Tween 20).

Tests biologiques

Les tests de sensibilité *in vitro* ont été effectués selon la méthode IRAC (2009). Les feuilles infestées de pucerons ont été collectées de la parcelle expérimentale et acheminées au laboratoire peu avant les tests. Seuls les adultes aptères ont été utilisés pour ces tests. Les feuilles saines de cotonniers collectées sur la même parcelle, soigneusement nettoyées avec une brosse fine et trempées pendant 5 secondes dans les différentes solutions de produits à tester ont servi de support aux pucerons.

Les solutions tests appropriées ont été préparées chaque jour peu avant les tests. Les feuilles trempées dans les différentes solutions ont été séchées à l'air libre 5 à 10 minutes afin de faire évaporer l'eau et ensuite vingt (20) pucerons adultes ont été transférés, à l'aide d'une brosse fine (Pinceau ponnet), sur la face inférieure de chaque feuille ainsi traitée. Chaque feuille portant 20 pucerons a été placée dans une boîte de Pétri (9 cm de diamètre). Du coton hydrophile mouillé a été placé à la base des pétioles pour maintenir les feuilles fraîches au cours de l'expérience, pendant 24 heures au moins. Les boîtes de Pétri avec leurs contenus ont été placées dans les conditions de laboratoire (Température ambiante : 28°C ; humidité relative 80%) pour les différentes observations.

Détermination des taux de mortalité

Afin de suivre l'évolution chronologique de la mortalité des pucerons soumis aux effets des différents produits à différentes concentrations, des observations ont été réalisées successivement 1 heure, 3 heures, 5 heures et 24 heures après la mise en contact des pucerons avec les feuilles traitées. Une loupe binoculaire a été utilisée pour dénombrer les pucerons morts. La mortalité, exprimée en pourcentage a été calculée selon la formule d'Abbott (1925).

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

Mc = mortalité corrigée en pourcentage ; Me = mortalité de l'échantillon testé ; Mt = mortalité dans le témoin non traité.

Analyses statistiques

L'analyse de variance a été faite au moyen du logiciel XL STAT 7.5.2. Le test de Newman-Keuls a été utilisé pour la comparaison des mortalités moyennes obtenues avec les différents traitements (au seuil de 5%). La dose létale à 50% (DL₅₀) de chaque produit a été estimée, après 24 heures d'exposition des pucerons aux différentes doses testées. Ces valeurs ont été déterminées à partir d'une courbe expérimentale donnant les variations de la mortalité en fonction des doses croissantes des produits.

RESULTATS

Composition chimique de l'huile essentielle testée

Huile essentielle de *O. basilicum*

L'huile essentielle de *O. basilicum* a été obtenue à partir de la biomasse sèche avec un rendement de 1,8%. Elle est incolore et contient 24 composés représentant 98,83% des composés identifiés. Cette huile essentielle contient principalement l'estragole (85,50%) avec un peu de 1,8-cinéole (2,25%). Les constituants identifiés de l'essence et leur pourcentage relatif sont consignés dans le Tableau 1. Cet échantillon est constitué essentiellement de monoterpènes oxygénés (91,55%) représentés par 9 composés dominés par l'estragole qui fait à lui seul 85,50%. On y retrouve accessoirement les monoterpènes (3,03%) représentés par 7 composés, les hydrocarbures sesquiterpéniques (3,72%) aussi représentés par 7 composés et la classe de sesquiterpènes oxygénés (0,53%) représentée par un seul constituant).

Effets de l'huile essentielle d'*O. basilicum* sur *A. gossypii*

Les résultats de l'effet toxique des différentes doses de l'huile essentielle de *O. basilicum* testées sur les pucerons adultes sont

présentés dans le Tableau 2. Ces résultats montrent une augmentation du taux de mortalité des pucerons avec des fortes doses de l'huile essentielle. Ce qui signifie que la toxicité des solutions préparées augmente avec la dose. Ainsi la dose de 1 µL.mL⁻¹ a donné un effet très faible sur les pucerons, soit un taux de mortalité moyenne de 1% après 5 heures d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées et de 23% après 24 heures d'exposition. Le taux de mortalité moyen des pucerons soumis à la dose de 2 µL.mL⁻¹ de l'huile essentielle de *O. basilicum* a augmenté de façon croissante suivant les périodes d'observation. Elles ont été de 56%, 68%, 76%, 89% respectivement pour 1, 3, 5 et 24 heures d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées. Dans nos conditions expérimentales, les doses de 3; 4 et 5 µL.mL⁻¹ ont donné un effet biocide très élevé. En effet, elles ont induit des taux de mortalité totale des pucerons (100%) après une heure d'exposition. Ainsi, l'analyse de la variance au seuil de $p < 0,0001$ a confirmé l'augmentation des taux de mortalité moyens des pucerons avec l'augmentation de la dose de l'huile essentielle de *O. basilicum*. La discrimination des taux moyens de mortalité avec le test de Newman-Keuls a montré trois classes homogènes. Les doses de 3; 4 et 5 µL.mL⁻¹ ont tué tous les pucerons correspondant à des taux de mortalité statistiquement équivalents (100%) après seulement une heure d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées. Tandis que celle de 2 µL.mL⁻¹ a induit des taux de mortalité légèrement au-dessus de 50% après une heure d'exposition, soit 56%, alors que la dose de 1 µL.mL⁻¹ a induit un effet très faible et équivalent statistiquement ($p < 0,0001$) au témoin négatif après les 5 premières heures de mise en contact des pucerons avec les feuilles traitées. Mais, après 24 heures d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées, cette dose de 1 µL.mL⁻¹ a induit un taux de mortalité faible, soit 23% et crée une différence statistique avec le taux de mortalité (0%) du témoin négatif. Ces résultats montrent globalement que la toxicité de

l'huile essentielle sur les pucerons diminue avec les doses inférieures ou égales à 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

Effets de l'estragole sur *A. gossypii*

Les tests avec l'estragole, composé majoritaire de l'huile essentielle de *O. basilicum*, ont donné des résultats consignés dans le Tableau 3. Ces résultats montrent que les taux de mortalité des pucerons observés ont augmenté avec les concentrations appliquées et avec la durée d'exposition. Ils sont fortement confirmés par l'analyse de variance au seuil de $p < 0,0001$. Le test de Newman-Keuls à $p < 0,0001$ a révélé qu'après 1 heure d'exposition, les taux de mortalité induits par les doses 3 ; 4 et 5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ont été de 100%, alors que ceux de la dose de 1 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ et de 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ont été respectivement de 13% et de 88% avec une bonne corrélation entre les doses appliquées et les taux de mortalité ($r = 0,98$; $R^2 = 0,96$). La dose de 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, après 5 heures d'exposition des pucerons, a causé un taux de mortalité de 100% équivalent à ceux obtenus après une heure d'exposition avec les doses de 3; 4 et 5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Toutes les doses ont induit des effets statistiquement différents par rapport à celui du témoin négatif non traité. Tout en restant statistiquement inférieur aux taux de mortalité des doses plus élevées, la dose de 1 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ a provoqué des taux de mortalité élevés (93%) après 24 heures d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées.

Les effets à faibles doses, soit 1 et 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, montrent que l'estragole s'est révélé plus actif dans le temps que l'huile essentielle de *O. basilicum*. En effet, ces doses ont entraîné respectivement des taux de mortalité supérieurs à 50% au bout de 5 heures d'exposition, soit 62% pour 1 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ et 100 % pour celle supérieure ou égale à 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. Contrairement à l'huile essentielle, toutes les concentrations de l'estragole testées se sont révélées relativement

Efficacités comparées de l'huile essentielle de *O. basilicum*, de l'estragole et du témoin positif acétamipride sur *A. gossypii*

Dans le Tableau 4 sont consignés les taux de mortalité des pucerons adultes calculés après 24 heures d'exposition sur les feuilles traitées avec les différentes doses des solutions. Aux doses de 1 et 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, l'effet du constituant majoritaire (estragole) a été meilleur en occasionnant des taux de mortalité supérieurs à ceux des autres produits (l'huile essentielle et acétamipride). Ainsi les doses de 1 et 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ont donné respectivement 93 et 100% de mortalité avec l'estragole, 23 et 89% avec l'huile essentielle et 68 et 74% avec acétamipride après 24 heures d'exposition des pucerons. Les résultats obtenus avec les concentrations de 3 et 4 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ ont montré que le témoin positif a donné des taux de mortalité statistiquement inférieurs (88%) à ceux induits par les biopesticides (100%) pour $p < 0,0001$. A la dose de 5 $\mu\text{L.mL}^{-1}$, les biopesticides ont induit des taux de mortalité statistiquement équivalents au témoin positif acétamipride (100%). Au regard de tous ces résultats, les biopesticides testés apparaissent plus toxiques que l'acétamipride pour les doses supérieures à 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$. La dose minimale qui a entraîné 100% de mortalité, dans les conditions de cette étude, est de 3 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'essence de *O. basilicum* et de 2 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'estragole montrant que l'estragole est plus actif que l'huile essentielle de *O. basilicum*.

Détermination de la DL₅₀ des différentes substances testées sur *A. gossypii*

Les doses létales à 50% (DL₅₀) de l'huile essentielle de *O. basilicum*, de l'estragole et de l'acétamipride obtenues sont présentées dans le Tableau 5. La DL₅₀ de chaque produit corrobore avec la toxicité observée au niveau des tests. En effet, les DL₅₀ obtenues ont montré que l'estragole a donné la dose létale la plus faible (700 ppm) montrant qu'il est plus toxique que l'huile essentielle de *O. basilicum* et l'acétamipride dont les DL₅₀ ont été de 1400 ppm et 1200 ppm respectivement.

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle de *O. basilicum* testée.

Composés identifiés*	IR**	Pourcentage des aires des pics (%)
		HE ***
		<i>O. basilicum</i>
Hydrocarbures monoterpéniques		
α-pinène	941	0,16
Sabinène	976	0,31
Myrcène	993	0,28
Limonène	1033	0,15
Cis ocimène	1058	1,77
γ-terpinène	1068	0,20
Terpinéolène	1100	0,16
		3,03
Monoterpènes oxygénés et dérivés		
1,8 cinéole	1023	2,25
Linalol	1113	1,71
Estragole	1198	85,50
Méthyleugénole	1293	0,35
Trans pinane-2-ol	xxxx	0,19
Camphre	1149	0,25
Terpinéol-4	1179	0,55
Acétate de bornyle	1289	0,22
Formiate de géranyle	1381	0,53
		91,55
Hydrocarbures sesquiterpéniques		
Tr- β-élémane	1383	0,43
β -caryophyllène	1420	0,40
Tr- α-bergamotène	1440	1,63
Germacrène D	1487	0,29
Bicyclgermacrène	1502	0,11
α-murolène	1509	0,28
Germacrène A	1513	0,58
		3,72
Sesquiterpènes oxygénés		
T-cadinol	1619	0,53
TOTAL		98,83

* Identification faite par CPG FID(RI) et CPG-SM

** IR, Indices de Rétention expérimentalement déterminés sur la colonne apolaire DB-5

***HE : Huile essentielle.

Tableau 2 : Taux moyen de mortalité (%) des adultes de *A. gossypii* soumis aux différentes doses de l'huile essentielle de *O. basilicum*.

Dose <i>O.basilicum</i> ¹⁾	HE de ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	Taux moyen de mortalité			
		Temps d'exposition (h)			
		1	3	5	24
1		0 \pm 0,0 c	0 \pm 0,0 c	1 \pm 2,2 c	23 \pm 11,5 c
2		56 \pm 36,5 b	68 \pm 36,3 b	76 \pm 33,6 b	89 \pm 12,4 b
3		100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
4		100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
5		100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
N. T. (contrôle)		0 \pm 0,0 c	0 \pm 0,0 c	0 \pm 0,0 c	0 \pm 0,0 d
Prob.		< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Signification		H.S.	H.S.	H.S.	H.S.

A l'intérieur d'une même colonne, les moyennes affectées d'une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre elles (test de Newman-Keuls, $p \leq 0,05$) ; HE : Huile essentielle ; HS : Hautement Significatif.

Tableau 3: Taux moyen de mortalité des pucerons adultes soumis aux différentes doses d'estragole en fonction du temps.

Dose d'estragole ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	Taux moyen de mortalité			
	Temps d'exposition (h)			
	1	3	5	24
1	13 \pm 2,8 c	41 \pm 4,2 c	62 \pm 2,7 b	93 \pm 2,7 b
2	88 \pm 13,1 b	96 \pm 5,5 b	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
3	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
4	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
5	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a
N. T. (contrôle)	0 \pm 0,0 d	0 \pm 0,0 d	0 \pm 0,0 c	0 \pm 0,0 c
Prob.	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Signification	H.S.	H.S.	H.S.	H.S.

A l'intérieur d'une même colonne, les moyennes affectées d'une même lettre ne diffèrent pas statistiquement entre elles (test de Newman-Keuls, $p \leq 0,05$) ; HE : Hautement Significatif.

Tableau 4 : Taux moyen de mortalité corrigée des adultes de *A. gossypii* (%) en fonction des doses des différentes substances testées.

Dose ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	Taux moyen de mortalité (%) après 24 h			
	Différentes substances			
	<i>O. basilicum</i>	Estragole	Acétamipride	Témoin non traité (contrôle)
1	23 \pm 11,6 c	93 \pm 2,7 a	68 \pm 9,1 b	0 \pm 0,0 d
2	89 \pm 12,5 b	100 \pm 0,0 a	74 \pm 7,5 c	0 \pm 0,0 d
3	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	88 \pm 5,8 b	0 \pm 0,0 c
4	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	88 \pm 11,0 b	0 \pm 0,0 c
5	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	100 \pm 0,0 a	0 \pm 0,0 b

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

Tableau 5 : DL₅₀ et coefficient de détermination des différentes substances testées sur *A. gossypii*.

Substances testées	DL ₅₀ (ppm)	Equation de régression	Coefficient de détermination (R ²)
H.E. de <i>O. basilicum</i>	1400	y = 366x - 1,9	R ² = 0,928
Estragole	700	y = 500x + 14,33	R ² = 0,802
Acétamipride	1200	y = 159,7x + 29,57	R ² = 0,694

DISCUSSION

Cette étude, réalisée dans les conditions de laboratoire a révélé que l'huile essentielle de *O. basilicum* et son constituant majoritaire, l'estragole, sont toxiques pour les adultes de *A. gossypii*. Il existe une corrélation directe entre les taux de mortalité des pucerons et la concentration en produits d'une part, et entre les taux de mortalités des pucerons et la durée d'exposition d'autre part (conformément à la relation classique dose-effet).

. Les résultats de la composition chimique ont révélé que l'essence de *O. basilicum* est plus riche en estragole (85,5%) et a été très efficace sur le ravageur (DL₅₀ = 1400 ppm). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Mousavi et Valizadegan (2013) qui ont testé, par méthode de fumigation sur *A. gossypii*, l'activité biologique de l'huile essentielle de *Artemisia dracunculus* contenant 71,53% d'estragole. En effet, leurs résultats ont montré que la concentration létale (LC₅₀) entraînant 50% de mortalité de pucerons adultes testés est de 18,63 µL.L⁻¹ d'air. La mortalité la plus élevée (82,02%) a été obtenue avec une concentration de 36,07 µL.L⁻¹ d'air. Les tests réalisés par fumigation et par contact sur *A. gossypii* par Ebrahimi et al. (2013a, 2013b), avec les huiles essentielles de trois plantes, *Azadirachta indica*, *Eucalyptus camaldulensis* et *Laurus nobilis* ont révélé des effets de toxicité par fumigation sur le puceron *A. gossypii*. Cependant, ces auteurs ont remarqué que les effets variaient suivant la nature des huiles essentielles. La toxicité suivant la

concentration létale à 50% est, dans l'ordre décroissant : *A. indica* > *E. camaldulensis* > *L. nobilis* après 24 heures de test. Les LC₅₀ ont été de 1,96 µL.L⁻¹ d'air pour l'huile essentielle de *A. indica*, 2,28 µL.L⁻¹ pour *E. camaldulensis* et 3,16 µL.L⁻¹ pour *L. nobilis*. Dans les deux études par fumigation, les auteurs ont estimé que la dose et le temps d'exposition de l'insecte au produit sont déterminants pour l'obtention de bons taux de mortalité. Ils ont suggéré que ces huiles essentielles pourraient être utilisées, dans les programmes de gestion intégrée pour le contrôle des pucerons en culture de serre. L'effet très toxique de l'huile essentielle de *O. basilicum* pourrait trouver son explication dans l'hypothèse émise par Chiasson et Beloin (2007) selon laquelle les huiles essentielles agiraient directement sur la cuticule des insectes et acariens, surtout ceux à corps mou dont les pucerons. Par exemple, il a été révélé que FACIN, un produit à base d'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides*, a donné un effet biologique satisfaisant sur les thrips, les pucerons, les aleurodes et certains acariens et qu'il s'est révélé moins efficace sur des insectes à cuticule dure, tels que les coléoptères et les hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs (Chiasson et Beloin, 2007). Cela pourrait expliquer également les taux de mortalité très élevés enregistrés au cours de cette étude avec l'huile essentielle de *O. basilicum*. Govindarajan et al. (2013) ont aussi obtenu une activité larvicide significative de l'essence de *O. basilicum* (L.) sur *Culex tritaeniorhynchus*,

Aedes albopictus et *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae).

L'estragole a été plus toxique aux pucerons ($DL_{50} = 700$ ppm) que l'huile essentielle de *O. basilicum*. En effet, la faible dose testée ($1 \mu\text{L.mL}^{-1}$) a induit des taux moyens de mortalité de 13% après 1 heure d'exposition et 93% après 24 heures contre 0% et 23%, respectivement après 1 heure et 24 heures pour l'huile essentielle de *O. basilicum*. Ce taux de mortalité après 24 heures est numériquement supérieur à celui occasionné par l'huile essentielle à la dose de $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ (89%). Un taux moyen de mortalité de 100% a été observé après 1 heure d'exposition aux doses de 3 ; 4 et $5 \mu\text{L.mL}^{-1}$. Dans la gamme des cinq doses testées, seules les doses de 1 et $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ ont induit des taux moyens de mortalité linéairement croissants dans le temps. Par contre, les doses de 3 ; 4 et $5 \mu\text{L.mL}^{-1}$ de l'estragole ont montré que le temps mis pour obtenir 100% de mortalité de pucerons a été très court (1 heure de contact avec les feuilles traitées). Ces résultats confirment l'hypothèse de Chiasson et Beloin (2007). Mais il faut aussi noter que les ravageurs sont différemment sensibles aux différents constituants des huiles essentielles. Les tests biologiques effectués sur les adultes de *Anopheles funestus* par Akono et al. (2012) ont révélé également que les huiles essentielles de *O. canum* et de *O. basilicum* possèdent de remarquables propriétés insecticides. Des études réalisées par Songai (2008) sur les termites ont révélé l'activité insecticide et insectifuge des huiles essentielles de *O. basilicum* et de *O. canum* acclimatées au Togo. L'auteur a montré que l'essence de *O. canum* donnait un effet biologique très efficace sur les termites.

L'estragole a eu un effet toxique plus rapide occasionnant des taux de mortalités plus élevés que l'huile essentielle de *O. basilicum* avec les doses de 1 et $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$. Par contre le témoin de référence a donné des taux de mortalité inférieurs à ceux des biopesticides aux doses de 1, 2; 3 et $4 \mu\text{L.mL}^{-1}$. D'une manière générale, les résultats

obtenus montrent que l'huile essentielle de *O. basilicum* et l'estragole peuvent réduire de façon significative, les populations de *A. gossypii* à la dose minimale de $3 \mu\text{L.mL}^{-1}$ et $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ respectivement.

D'après cette étude, l'estragole et l'huile essentielle totale de *O. basilicum* pourraient donc être utilisés comme matières actives dans la formulation de biopesticides destinés à lutter contre *A. gossypii*. Cependant, l'étude de leur effet sur les organismes non cibles doit être menée afin de définir les types de formulations utiles à intégrer dans les programmes de protection phytosanitaire.

Conclusion

Les résultats de cette étude *in vitro* de l'huile essentielle de *O. basilicum* et son composé majoritaire, l'estragole, ont donné un effet aphicide sur les pucerons adultes. Les doses minimales pour obtenir 100% de mortalité ont été de $3 \mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'huile essentielle et de $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ pour l'estragole. Les DL_{50} calculées ont été de 1400 ppm et de 700 ppm respectivement pour l'huile essentielle et l'estragole. L'estragole a été plus actif avec les doses de 1 et $2 \mu\text{L.mL}^{-1}$ que l'huile essentielle de *O. basilicum*. L'huile essentielle de *O. basilicum* et l'estragole ont induit des taux moyens de mortalité nettement supérieurs à ceux du produit témoin de référence (acétamipride) pour des concentrations de 1 à $4 \mu\text{L.mL}^{-1}$. L'huile essentielle de *O. basilicum* et son constituant majoritaire, l'estragole, peuvent être testés en milieu réel pour confirmer leur potentielle activité aphicide et vérifier leur innocuité sur les organismes non cibles. Ils pourront ainsi servir d'alternatives aux produits chimiques de synthèse dans le cadre de la gestion intégrée de *A. gossypii* en cultures cotonnière et maraîchère.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas de conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Chacun des auteurs a participé à la conception, à l'élaboration des protocoles. Les cinq premiers ont participé aux tests au laboratoire, aux analyses et interprétation des données et à la préparation du manuscrit. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale du manuscrit.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les responsables du Laboratoire de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (LARASE) de l'ESA à l'UL et du Laboratoire de Chimie Agroindustrielle de l'INPT en France pour la mise à disposition des laboratoires qui ont permis la réalisation des différents travaux dans le cadre de cette étude.

REFERENCES

- Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Adams RP. 2017. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/quadrupole Mass Spectroscopy* (4th edn). Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois ; 809 p.
- Akantetou KP, Koffi K, Nenonene YA, Poutouli WP, Raynaud C, Sanda K. 2011. Evaluation du potentiel insecticide de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims sur *Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) au Togo. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(4) : 1491-1500. DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v5i4.15>
- Akantetou KP, Koba K, Poutouli WP, Ayevea B, Bonfoh B, Sanda K. 2012. Niveau d'infestation des populations d'*Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) en culture cotonnière au Togo. *Cam. Jour. Biol. Bioch. Sc.*, **20** : 30-41.
- Akon NP, Belong P, Tchoumboungang F, Bakwo Fils EM, Fankem F. 2012. Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches de *Ocimum canum* Sims et de *Ocimum basilicum* L. sur les adultes de *Anopheles funestus*, vecteur du paludisme au Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*, **59**: 4340-4348.
- Brévault T, Beyo J, Nibouche S, Vaissayre M. 2002. La résistance des insectes aux insecticides : Problématique et enjeux en Afrique centrale. Actes du colloque Savanes africaines : des espaces en mutation, des acteurs face à de nouveaux défis. CIRAD/PRASAC Garoua, Cameroun, 27 au 31 mai 2002. Calliope.
2014. Cyperméthrine / Profénofos. Fiche technique, Paris, 1p.
- Brévault T. 2004. Surveillance de la sensibilité aux insecticides chez les piqueurs suceurs *Aphis gossypii* et *Bemisia tabaci*. Atelier Projets GeRiCo et CFC/ICAC/ 14, 06-10 Décembre 2004 Ouagadougou (Burkina Faso). 1 disque optique (DVD).
- Chiasson H, Beloin N. 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides « nouveaux ». Revue de littérature. Bulletin de la société d'entomologie du Québec. *Antennae* 2007, **14**(1) : 3-6.
- Craveiro FJ, Matos, Alencar JW. 1976. A simple and inexpensive steam generator for essential oils extraction. *J. Chem. Ed.*, **53**: 652.
- 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.
- Deguine J-P, Ferron P. 2004. Protection des cultures et développement durable bilan et perspectives. Courrier de l'environnement de l'INRA n°52, septembre 2004. CIRAD, Montpellier, France.
- Ebrahimi M, Safaralizade MH, Valizadegan

- O, Amin BHH 2013a. Efficacy of three plant essential oils, *Azadirachta indica* (Adr. Juss.), *Eucalyptus camaldulensis* (dohn.) and *Laurus nobilis* (L.) on mortality cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hem: Aphididae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **46**(9): 1093 – 1101. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2012.758347>.
- Ebrahimi M, Safaralizade MH, Valizadegan O, Amin BHH. 2013b. Contact toxicity of *Azadirachta indica* (Adr. Juss.), *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn.) and *Laurus nobilis* (L.) essential oils on mortality cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hem.: Aphididae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **46**(18): 2153–2162. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2013.774526>.
- Farooq A, Tasawar Z. 2009. Comparative Efficacy of Five Different Insecticides against *Brevicoryne brassicae* (Linn.) (Homoptera: Aphididae), a Pest on Canola in Southern Punjab, Pakistan. *Pakistan J. Zool.*, **41**(1): 75-77.
- Govindarajan M, Sivakumar R, Rajeswary M, Yogalakshmi K. 2013. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Exp. Parasitol.*, **134**(1): 7-11. DOI: [10.1016/j.exppara.2013.01.018](http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2013.01.018).
- IRAC. 2009. All Methods_2. Susceptibility test methods series. Version 2. Method N° 1. Site Web <http://www.irac-online.org> (consulté le 13/03/ 2009).
- Koba K, Poutouli PW, Nenonene YA, Songai MS, Raynaud C, Sanda K. 2007. Chemical composition and anti-termite activity of three tropical essential oils against termite species *Trinervitermes geminatus* (wassmann). *J. Sci. Technol.*, **5**(2): 39-46.
- Sarr M, Badiane D, Sane B. 2016. Evaluation de l'efficacité de nouveaux programmes de protection phytosanitaire contre les principaux ravageurs du cotonnier *Gossypium hirsutum* L. au Sénégal. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(5): 2163-2174. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i5.18>
- Mousavi M, Valizadegan, O. 2013. Insecticidal effects of *Artemisia dracunculus* L. (Asteraceae) essential oil on adult of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **47**(14): 1737-1745. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2013.856098>.
- Ouédraogo I, Sawadogo A, Nebie R CH, Dakouo D. 2016. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles de *Cymbopogon nardus* (L) et *Ocimum gratissimum* (L) contre *Sitophilus zeamais* Motsch et *Rhyzopertha dominica* F, les principaux insectes nuisibles au maïs en stockage au Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **10**(2): 695-705, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i2.20>
- Owusu EO, Yeboah PM. 2007. Status of cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), resistance to insecticides in southern Ghana. *Ghana J. Sci.*, **47**: 107-115. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/gjs.v47i1.15930>
- Sanda K, Koba K, Poutouli W, Idrissou N, Agossou AB. 2006. Pesticidal properties of *Cymbopogon schoenanthus* against the Diamond Back Moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Hyponomeutidae). *Sciences Technologies. Disco. Innov.*, **18** (3): 212-217. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/dai.v18i3.15748>
- Songai MS. 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, 50 p.
- Tedonkeng PE, Amvam Zollo PH, Tedonkeng F, Kana JR, Fongang MD, Tapondjou LA. 2004. Compostion chimique et effet acaricide des huiles essentielles des feuilles de *Chromolaena odorata* (L.) King and Robins, et d'*Eucalyptus saligna* Smith. sur les tiques (*Rhipicephalus lunulatus* Neumann) de la chèvre naine de Guinée dans l'Ouest-Caméroun. *Livestock Research for Rural Development*, **16** (9): 1-9.
- Tozouou P, Poutouli W, Akantetou KP, Ayeve B, Nadio AN, Bokobana EM, Bonfoh B, Koba K, Sanda K. 2014. Evaluation des dégâts des Punaises (Heteroptera) sur les capsules vertes de cotonnier en fonction des traitements chimiques au Togo. *Science de la Vie, de la Terre et Agronomie, REV. CAMES*, **2** (2) : 28-34.
- Tozouou P, Koba K, Poutouli W, Nadio NA, Bokobana ME, Mélila M, Akantetou P, Ayeve B, Bonfoh B, Nenonene A. 2015a. Nature des dommages causés par les piqûres alimentaires des punaises (Heteroptera) sur les boutons floraux et les capsules du cotonnier au Togo. *Int. J. Biol. Chem. Sc.*, **9**(1), 409 – 418. DOI: 10.4314/ijbcs.v9i1.34
- Tozouou P, Poutouli W, Akantetou KP, Ayeve B, Nadio AN, Bokobana EM, Bonfoh B, Koba K, Sanda K. 2015b. Importance of damage caused by bugs and caterpillars on flowers and other cotton fructiferous organs in a three level program of phytosanitary protection in Togo. *African Journal of Food Science and Technology*, **7**(5): 100-106. DOI: <http://dx.doi.org/10.14303/ajfst.2016.040>
- Traoré O. 2008. Les succès de la lutte intégrée contre les ravageurs du cotonnier en Afrique de l'Ouest. 67^{ème} réunion plénière de l'ICAC. INERA, Burkina Faso, 17 p.