



Evaluation du potentiel insecticide de l'huile essentielle de *Ocimum canum* Sims sur *Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) au Togo

Pikassalé K. AKANTETOU¹, Koffi Koba^{2*}, Amen Y. NENONENE²,
Wiyao P. POUTOULI³, Christine RAYNAUD⁴ et Komla SANDA²

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

² Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale, 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, UMR 1010, INRA/INP-ENSIACET, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse cedex, France.

*Auteur correspondant, E-mail: danielkkoba@yahoo.fr, Tel. +228 240 69 50; Fax +228 221 85 95

RESUME

Afin de contribuer à l'élaboration d'une stratégie de gestion intégrée des ravageurs associés à la culture cotonnière, le potentiel insecticide de l'huile essentielle de *Ocimum canum* et de son composé majoritaire le terpinéol-4 a été évalué sur les adultes d'*Aphis gossypii*, puceron du cotonnier. Les tests biologiques ont été effectués en laboratoire selon la méthodologie Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) N° 1 Version 2. Les résultats de ces tests ont révélé que l'huile essentielle de *O. canum* et le terpinéol-4 possèdent de remarquables propriétés aphicides. Ils ont induit 100% de mortalité des pucerons adultes à la concentration minimale de 4 µl.ml⁻¹. Les DL₅₀ mesurées ont indiqué les valeurs de 1,49 µl.ml⁻¹ et 2,06 µl.ml⁻¹ respectivement pour l'huile essentielle et le terpinéol-4. Les essais au champ seront nécessaires pour confirmer l'intérêt pratique de ces résultats dans l'élaboration d'un pesticide naturel contre ce puceron.

© 2011 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Cotonnier, terpinéol-4, puceron du cotonnier, bio pesticides, propriétés aphicides.

INTRODUCTION

Le puceron du cotonnier, *Aphis gossypii*, a pris une importance économique en culture cotonnière ces dernières années en Afrique de l'Ouest et du Centre. En effet il cause des dégâts qui sont soit directement liés aux piqûres alimentaires, soit liés à la transmission des maladies virales, soit enfin liés à la production du miellat par l'insecte qui souille le coton graine en fin de campagne. Il provoque également le phénomène du «coton

collant » (Deguine et Ferron, 2004 ; Cauquil, 1993 ; Eastop, 1981).

Le coton collant est déprécié à la vente et ce phénomène perturbe sérieusement le marché international et inquiète tous les acteurs de la filière cotonnière, du producteur au filateur (Frydrych et Hequet, 1997). Au Togo, le taux de coton collant a progressé de 11% en 1997 à 31% en 2003 (ITMF, 2003).

A l'instar des autres pays africains producteurs de coton, la lutte contre ce

puceron au Togo se fait essentiellement avec les produits chimiques de synthèse. Ce sont des pratiques néfastes sur l'environnement, à la sauvegarde de la biodiversité et à la santé publique. En effet, Deguine et Ferron (2004) ont signalé que 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. Sigrist et al. (1994) avaient signalé que les pesticides de synthèse utilisés entraînent une réduction des populations de l'entomofaune utile du cotonnier de 25 à 80%. Par ailleurs, les aphicides de synthèse ont une toxicité très élevée variable de 50 à 75% sur l'entomofaune utile. L'utilisation des produits chimiques de synthèse contre les pucerons est donc néfaste sur l'activité des ennemis naturels des ravageurs. La perte de sensibilité vis-à-vis de plusieurs matières actives de synthèse a été également mise en évidence dans plusieurs pays (Vanlerberghe-Masutti, 2004 ; Brévault, 2004 ; Owusu et Yeboa, 2007).

Il est donc urgent de trouver des alternatives pour rétablir, cet équilibre en vue d'une gestion durable et écologique des ravageurs de cultures dont le puceron du cotonnier *A. gossypii*. Selon Deguine et Vaissayre (2000), l'utilisation d'insecticides biologiques (extraits végétaux, kairomones, régulateurs de croissance) ou semi-biologiques (huiles, détergents) contre les pucerons et les Aleurodes représente une méthode envisageable, dans un concept de protection intégrée.

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 ; Koba et al., 2007 ; Songai, 2008). Certains ont été réalisés avec succès sur quelques pathogènes et ravageurs.

Ainsi, dans ce travail, nous avons évalué *in vitro*, le potentiel insecticide de l'huile essentielle de *O. canum* Sims (Lamiacée) et le terpinéol-4, son composé

majoritaire, sur *A. gossypii* Glover, un important ravageur de type piqueur suceur du cotonnier au Togo.

MATERIEL ET METHODES

Matériel biologique

Matériel animal :

Les pucerons adultes sont prélevés des plants de cotonniers (*Gossypium hirsutum* L.) de la variété STAM279A sur une parcelle expérimentale mise en place à cet effet à la Station d'Expérimentation Agronomique de l'Ecole Supérieure d'Agronomie de l'Université de Lomé, d'octobre 2008 à mai 2009. L'infestation des plants de cotonniers par les pucerons a été naturelle. Une fois prélevés, les pucerons sont ramenés au laboratoire et laissés pendant 5 à 10 minutes avant la réalisation des bioessais.

Matériel végétal :

Les feuilles et inflorescences de *O. canum* ont été récoltées au stade floraison entre juillet et septembre 2008 sur la parcelle expérimentale de "l'Unité de Recherche sur les Agroressources et la Santé Environnementale (URASE)" de l'Université de Lomé au Togo.

Produits chimiques

L'huile essentielle de *O. canum* utilisée a été extraite et analysée à l'URASE de l'Ecole Supérieure d'Agronomie de l'Université de Lomé. Le terpinéol-4, composé majoritaire, est d'origine commerciale (Sigma Aldrich).

Le produit MOSPILAN 200 SL (acétamiprid 8 g/ha) de la firme Arysta LifeScience a servi de témoin de référence. C'est un produit de synthèse de la famille chimique des Chloronicotiniles (néonicotinoïdes) efficace contre les insectes piqueurs suceurs dont *A. gossypii* (Ali et al., 2005 ; Farooq et Tasawar, 2009).

Méthodes

Extraction de l'huile essentielle

Un échantillon de 50 g du matériel végétal séché sous abris 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 et est ainsi conservée au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à son usage.

Analyse de l'huile essentielle

L'huile essentielle obtenue a été analysée par Chromatographie en phase gazeuse (CPG) seule et par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).

Analyse CPG

L'analyse en phase gazeuse a été effectuée par 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 avec les mêmes caractéristiques comme la précédente.

La programmation de température est la suivante :

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

L'injecteur et le détecteur étaient respectivement à 250 °C et 300 °C. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1,50 ml/min. Un volume de 0,2 µl d'échantillon d'huile essentielle non dilué a été manuellement injecté.

Analyse CPG/SM

L'analyse en 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

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 qui encadrent ce dernier sur la même colonne.

L'indice de rétention est ensuite comparé avec ceux des composés existant de la banque de données. La confirmation est faite par la comparaison de son spectre de masse (McLaferty, 1994) avec ceux des échantillons bien connus ou avec des composés déjà décrits dans la littérature (Adams, 2001 ; Kondjoyan et Berdague, 1976).

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

Dispositif expérimental

Les tests sont réalisés *in vitro* dans les conditions de laboratoire suivant un dispositif complètement aléatoire. Trois types de produits : huile essentielle de *O. canum*, le terpinéol-4 et le produit chimique de synthèse (témoin MOSPILAN 200 SL (acétamiprid 8g/ha) ont été utilisés. Et pour chaque type de produits, six concentrations ont été préparées : 1; 2; 3; 4; 5 et 10 µl.ml⁻¹. La dose zéro, constituée de l'eau distillée a servi de témoin absolu (contrôle).

L'unité expérimentale est constituée par une boîte de Pétri contenant vingt pucerons adultes libérés sur une feuille de cotonnier traitée. 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 connues dans de l'eau distillée additionnée d'une petite quantité d'un tensioactif naturel.

Tests biologiques

Les bio essais au laboratoire ont été effectués selon la méthode IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) N° 1 Version 2 (IRAC, 2009).

Les feuilles infestées de pucerons sont 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 de la même parcelle, soigneusement nettoyées avec une brosse fine et trempées pendant 5 secondes dans les différentes solutions ont servi de support des pucerons.

Les solutions tests appropriées sont préparées avec de l'eau distillée chaque jour peu avant les tests. Les feuilles trempées dans les différentes solutions ont été séchées à l'air libre afin de faire évaporer l'eau de leurs surfaces et ensuite vingt pucerons adultes sont transférés sur chaque feuille ainsi traitée à l'aide d'une brosse fine. Chaque feuille portant 20 pucerons est placée dans une boîte de Pétri. Du coton hydrophile mouillé est placé à la base des pétioles pour maintenir les feuilles fraîches pendant 24 heures. Les boîtes de Pétri avec leurs contenus sont 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 différents produits à différentes concentrations, les observations sont 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 est exprimée en pourcentage calculée 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

Analyses des données

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

RESULTATS

Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *O. canum* obtenue à partir de la biomasse sèche avec un rendement de 3,5%, est incolore, elle contient vingt composés représentant 98,60% des composés identifiés : γ -terpinène (7,70%) Tr- α -bergamotène (6,20%), le Terpinéol-4 (36,40%), le linalol (19,80%) et β -caryophyllène (5,30%) sont les composés majoritaires (Tableau 1).

Cet échantillon d'huile essentielle de *O. canum* est constitué principalement d'hydrocarbures monoterpéniques (19,20%), de monoterpènes oxygénés (62,60%) et d'hydrocarbures sesquiterpéniques (16,80%). La composition chimique de cet échantillon d'huile essentielle est proche de celle précédemment décrite par Sanda et al. (1998) au Togo et par Yayi et al. (2001) au Bénin.

Effets de l'huile essentielle de *O. canum* et du terpinéol-4 sur *A. gossypii*

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

Le taux de mortalité des pucerons soumis aux différentes concentrations de l'huile essentielle de *O. canum* a augmenté numériquement de façon linéaire suivant les périodes d'observation (1 ; 3 ; 5 et 24 heures) sur les feuilles traitées après leur libération sur les dites feuilles (Tableau 2). Les taux de mortalité observés après 5 heures n'ont pas varié après 24 heures d'exposition. Dans les présentes conditions expérimentales, les doses de 3 ; 4 ; 5 et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ ont donné un effet

insecticide élevé. En effet elles ont induit des taux de mortalité supérieurs à 50% après 24 heures d'exposition (de 65 à 100%). Ainsi, l'analyse de la variance au seuil de $p < 0,0001$ a confirmé l'évolution positive bien marquée des taux de mortalité moyens avec l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle de *O. canum* et quelle que soit la durée d'exposition des pucerons à l'huile essentielle. Le test de Newman et Keuls à $p < 0,0001$ a montré qu'après 1 heure d'exposition, les concentrations de 4, 5 et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ ont occasionné les plus forts taux de mortalité (87 à 93%). Ces concentrations ont induit des taux de mortalité statistiquement équivalents. Cette tendance a été maintenue après 3 et 5 heures d'exposition des pucerons sur les feuilles traitées. Après 24 heures d'exposition, la concentration de 1 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ qui a causé seulement (6%) de mortalité a été la moins efficace. Ces résultats ont montré que la toxicité de l'huile essentielle sur les pucerons diminue au fur et à mesure que sa concentration diminue. Toutefois, toutes les doses testées se sont révélées relativement toxiques aux pucerons par rapport au témoin de contrôle traité à l'eau distillée qui a induit une mortalité de 0%.

Effets du terpinéol-4 sur *A. gossypii*

Comme dans le cas de l'huile essentielle, la mortalité des pucerons induite par le terpinéol-4 a varié avec les concentrations appliquées et avec la durée d'exposition (Tableau 3). Cette tendance des résultats est fortement confirmée par l'analyse de variance au seuil de $p < 0,0001$. Le test de Newman et Keuls à $p < 0,0001$ a révélé qu'après 1 heure d'exposition, les taux de mortalité induits par les concentrations 4, 5 et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ se sont démarqués positivement (> 88%) de ceux des doses inférieures ($\leq 25\%$) avec une corrélation parfaite entre les concentrations appliquées et les taux de mortalité ($r = 0,98$; $R^2 = 0,96$). La concentration de 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ a causé des taux de mortalité supérieurs à ceux obtenus avec les concentrations de 1 et 2 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ qui sont restés statistiquement identiques au témoin non traité dont les taux de mortalité ont été nuls. Cette différence de taux de mortalité induits par les différentes concentrations a été maintenue au-

delà, après 3, 5 et 24 heures d'exposition des pucerons au terpinéol-4. Après une exposition de 24 heures sur les feuilles traitées, seules les concentrations supérieures à 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ ont donné des taux moyens de mortalité importants dont le plus faible a été de 94% (induit par la concentration de 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$). Tout en se démarquant chacune du témoin, les concentrations de 2 et 1 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ ont provoqué des taux faibles de mortalité respectives de 19 et 7% après 24 heures d'exposition.

En considérant les effets des concentrations 4, 5 et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$, nous pouvons affirmer que ce composé se montre plus actif dans le temps que l'huile essentielle. En effet, ces concentrations ont entraîné la mortalité totale des insectes au bout de 5 heures d'exposition. Par contre, la baisse de l'effet de ce composé a été sensible pour des concentrations inférieures 2 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ (19% de mortalité). Comme pour l'huile essentielle, toutes les concentrations de terpinéol-4 testées se sont révélées relativement toxiques aux pucerons par rapport au témoin traité à l'eau distillée.

Analyse comparative des effets de l'huile essentielle de *O. canum*, de Terpinéol-4 et du témoin de référence Mospilan 200 SL (acétamiprid) sur *A. gossypii*

Au vue des résultats du Tableau 4, tous les trois produits testés ont montré une efficacité identique et maximale sur *A. gossypii* après 24 heures d'exposition aux concentrations de 5 et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. Les résultats obtenus avec la concentration de 5 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ ont montré que le témoin de référence a donné des taux de mortalité équivalents à ceux induits par les biopesticides pour $p < 0,0001$. Le terpinéol-4, après 3 heures d'exposition, s'était révélé le plus toxique en occasionnant 100% de mortalité de pucerons aux doses de 5, et 10 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. A la concentration de 4 $\mu\text{l.ml}^{-1}$, l'huile essentielle et le terpinéol-4 ont été plus toxiques (100% de mortalité) que l'acétamiprid (86,80% de mortalité). Pour 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ et après 24 heures d'exposition, le taux de mortalité causé par le terpinéol-4 a été statistiquement équivalent à celui du témoin

acétamiprid. A la concentration de 1 $\mu\text{l.ml}^{-1}$, seul l'acétamiprid s'est révélé toxique avec un taux de mortalité moyen de 67,20% après 24 heures d'exposition en comparaison avec l'huile essentielle (6,25%) et le terpinéol-4 (7%). Au regard de tous ces résultats, les biopesticides testés apparaissent plus toxiques pour les concentrations supérieures à 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. La concentration minimale qui a entraîné 100% de mortalité, dans les conditions de cette étude, est de 4 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ pour les deux biopesticides testés.

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

Les doses létales à 50% (DL₅₀) de l'huile essentielle de *O. canum*, du terpinéol-4 et de l'acétamiprid, sont consignées dans le Tableau 5. La DL₅₀ de chaque produit confirme les résultats obtenus au niveau des tests. En effet, les DL₅₀ obtenues ont montré que l'acétamiprid a donné la dose létale la plus faible (1,27 $\mu\text{l.ml}^{-1}$) donc plus toxique que les biopesticides dont les DL₅₀ sont de 1,49 et 2,08 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ respectivement pour l'huile essentielle et pour le terpinéol-4.

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

Composés identifiés*	IR**	Pourcentage des aires des pics (%)
Hydrocarbures monoterpéniques		19,20
α -thujène	935	1,00
α -pinène	941	2,30
Myrcène	993	2,20
α -phellandrène	1002	1,80
Limonène+1,8 cinéole	1033	2,80
γ -terpinène	1068	7,70
Terpineolène	1100	1,40
Monoterpènes oxygénés et dérivés		62,60
Cis-hydrate sabinène	1077	4,20
Trans hydrate sabinène	1109	1,20
Linalol	1113	19,80
Camphre	1149	0,70
Terpinéol-4	1179	36,40
α -terpinéol	1190	0,30
Hydrocarbures sesquiterpéniques		16,80
β -caryophyllène	1420	5,30
Tr- α -bergamotène	1440	6,20
α -caryophyllène	1452	0,30
Germacrène D	1487	0,50
β -sélinène	1493	0,40
Bicyclogermacrène	1502	3,60
γ -cadinène	1945	0,50
TOTAL		98,60

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

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

Tableau 2 : Mortalité moyenne des adultes de *A. gossypii* par concentrations après contact avec les feuilles traitées à l'huile essentielle de *O. canum*.

Concentration de l'huile essentielle ($\mu\text{l.ml}^{-1}$)	Mortalité moyenne (%)			
	1h	3h	5h	24h
10	90,00 a	97,50 a	98,75 a	98,75 a
5	93,00 a	97,00 a	98,00 a	98,00 a
4	87,00 a	98,00 a	100,00 a	100,00 a
3	35,00 b	54,00 b	65,00 b	65,00 b
2	29,00 b	32,00 c	48,00 b	48,00 b
1	1,00 c	4,00d	6,00 c	6,00 c
N.T. (contrôle)	0,00 c	0,00d	0,00 c	0,00 c
Moyenne	46,62	53,34	58,24	58,24
Ecart-type	41,72	42,53	43,22	43,22
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, $p \leq 0,05$).

Tableau 3 : Mortalité moyenne des adultes de *A. gossypii* par concentration après traitement avec le terpinéol-4.

Concentration de terpinéol-4 ($\mu\text{l.ml}^{-1}$)	Mortalité moyenne (%)			
	1h	3h	5h	24h
10	100,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
5	99,00 a	100,00 a	100,00 a	100,00 a
4	88,00 a	99,00 a	99,00 a	100,00 a
3	25,00 b	35,00 b	47,00 b	94,00 a
2	0,00 c	3,00 c	6,00 c	19,00 b
1	0,00 c	1,00 c	3,00 c	7,00 c
N.T. (contrôle)	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
Moyenne	42,94	46,77	49,27	58,82
Ecart-type	46,40	47,10	46,26	45,99
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, $p \leq 0,05$). H.S. = Hautement significatif.

Tableau 4 : Mortalité moyenne corrigée des adultes de *A. gossypii* par concentrations après traitement avec l'huile essentielle de *O. canum*, le terpinéol-4 et avec l'acétamiprid.

Concentration ($\mu\text{l.ml}^{-1}$)	Mortalité moyenne corrigée (%)			
	Huile essentielle	Terpinéol-4	Acétamiprid	N.T. (contrôle)
10	100,00 a	100,00 a	98,75 a	0,00 b
5	97,50 a	100,00 a	100,00 a	0,00 b
4	100,00 a	100,00 a	86,80 b	4,00 c
3	52,50 b	94,00 a	81,40 a	4,00 c
2	41,25 b	19,00 bc	75,00 a	4,00 c
1	6,25 b	7,00 b	67,20 a	5,00 b

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

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

Substances testées	DL ₅₀ (µl.ml ⁻¹)	Equation de régression	Coefficient de détermination
Huile essentielle	1,49	Y = 25,969x + 11,35	R ² = 0,8698
Terpinéol-4	2,08	Y = 27,393x - 6,976	R ² = 0,9144
Mospilan 200 SL (acétamiprid)	1,27	Y = 14,482x + 31,638	R ² = 0,8124

DISCUSSION

Dans les conditions de cette étude, l'huile essentielle de *O. canum* et son composé majoritaire le terpinéol-4 ont eu un effet sur la survie des adultes de *A. gossypii*. Les résultats obtenus après les tests biologiques réalisés avec les deux biopesticides ont montré une relation directe entre les taux de mortalité des pucerons d'une part et la concentration en produits et la durée d'exposition d'autre part.

L'huile essentielle de *O. canum* a été très efficace (DL₅₀ = 1,49 µl.ml⁻¹) car sur six différentes doses testées, seule la dose de 1 µl.ml⁻¹ a donné un faible taux de mortalité (6%) 24 heures après la libération des insectes sur les feuilles de cotonnier traitées. Chiasson et Beloin (2007) ont, dans une étude, émis l'hypothèse selon laquelle les huiles essentielles agiraient directement sur la cuticule des insectes et acariens surtout ceux à corps mou dont les pucerons. C'est le cas du FACIN, qui est un produit à base d'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides*, un insecticide/acaricide qui a exercé une pression satisfaisante sur les thrips, les pucerons, les aleurodes et certains acariens et qui s'est avéré moins efficace avec des insectes à carapace dure tels que les coléoptères et les hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs. Cela pourrait expliquer également les taux de mortalité très élevés enregistrés au cours de cette étude avec l'huile essentielle de *O. canum*.

Le terpinéol-4 a été également toxique aux pucerons (DL₅₀ = 2,08 µl.ml⁻¹) et déjà, après 5 heures d'exposition, nous avons enregistré un taux de mortalité de 99 à 100% des pucerons testés avec les concentrations de

4, 5 et 10 µl.ml⁻¹. Dans la gamme des six concentrations testées, seules 3, 4, 5 et 10 µl ml⁻¹ ont induit une forte toxicité sur les pucerons après 24 heures de contact avec les feuilles traitées.

Les résultats obtenus semblent montrer donc que le terpinéol-4 dont la concentration est la plus élevée (36,40%) serait la matière active qui joue un rôle déterminant dans l'activité biocide de l'huile essentielle de *O. canum*. En effet, les travaux de Tchoumboungang et al. (2009) ont montré que les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, *O. canum* Sims, *O. gratissimum* L. var *gratissimum* L. et *Thymus vulgaris* L., cultivés au Cameroun, induisent la mortalité des larves de stade 4 de *Anopheles gambiae*. Cependant, selon ces auteurs, l'huile essentielle de *O. canum*, plus riche en linalol (56,30%) que les autres composés, est l'échantillon le moins actif. Ce faible potentiel insecticide du linalol a été aussi confirmé par les études réalisées par Songai (2008) au Togo sur les termites. En effet, l'efficacité de l'huile essentielle de *O. canum* récolté au Togo serait due à sa forte concentration, en terpinéol-4 (36,40%) qu'en linalol (Koba et al., 2007). Cette différence de concentration en terpinéol-4 entre *O. canum* du Togo et celle du Cameroun pourrait s'expliquer par les conditions de culture, la période de récolte, les conditions climatiques et édaphiques. Toutefois, l'effet additif synergique des différents composés (minoritaires par rapport au terpinéol-4) peut être aussi un facteur expliquant l'activité remarquable révélée par cet échantillon d'huile essentielle de *O. canum*. Ce qui expliquerait la toxicité élevée induite par la faible concentration (2 µl.ml⁻¹)

de l'huile essentielle de *O. canum* par rapport à ce qui est obtenu avec le composé majoritaire. Dans le cas de la présente étude, les pucerons ont été très sensibles aux tests biologiques mais de façon régressive au fur et à mesure que les concentrations de l'huile essentielle de *O. canum* ou de son composé majoritaire baissent. Le terpinéol-4 a eu un effet plus rapide que l'huile essentielle mais avec une baisse sensible de son effet toxique à partir de la concentration de 2 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. Par contre le témoin de référence a occasionné des taux de mortalité supérieurs à 50% avec la concentration de 1 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ (67,20%) expliquant ainsi sa faible DL_{50} (1,27 $\mu\text{l.ml}^{-1}$) par rapport à celle de l'autre biopesticide testé. D'une manière générale, les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de *O. canum* et le terpinéol-4 sont toxiques sur *A. gossypii* et peuvent réduire, de façon importante, ses populations à la concentration minimale de 4 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. Les deux biopesticides apparaissent donc comme potentiellement utilisables pour une gestion intégrée des pucerons après des tests au champ.

Conclusion

L'huile essentielle de *O. canum* et son composé majoritaire, le terpinéol-4, ont montré une activité biocide intéressante sur les pucerons adultes. La concentration minimale pour obtenir 100% de mortalité a été évaluée à 4 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. La DL_{50} a été de 1,49 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ pour l'huile essentielle et 2,08 $\mu\text{l.ml}^{-1}$ pour le constituant majoritaire, le terpinéol-4. Le terpinéol-4 a été plus actif dans le temps que l'huile essentielle mais l'action de ce dernier a été plus lente et plus toxique avec la durée d'exposition pour les faibles concentrations. L'huile essentielle de *O. canum* et le terpinéol-4 ont induit des taux de mortalité identiques à ceux du produit témoin de référence (acétamiprid) pour des concentrations supérieurs à 3 $\mu\text{l.ml}^{-1}$. Ils peuvent être testés en milieu réel pour confirmer leur activité aphicide. Ils pourront ainsi servir d'alternative au produit chimique de synthèse dans le cadre de la gestion intégrée de *A. gossypii* en cultures cotonnière et maraîchère. Cette plante

aromatique étant très couramment rencontrée au Togo autour des habitations et dans d'autres pays du continent africain où elle est utilisée en médecine traditionnelle, ce résultat pourrait ouvrir des perspectives intéressantes pour son utilisation dans la production des biopesticides.

REFERENCES

- Abbott WS. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265-267.
- Adams RP. 2001. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/quadrupole Mass Spectroscopy*. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois; 9-24.
- Ali MA, Rehman R, Tatla YH, Ali Z. 2005. Evaluation of different insecticides for the control of whitefly on cotton crop in Karor district Layyah. *Pak. Entomol.*, **27**(1): 5-8.
- Brévault T. 2004. Surveillance de la sensibilité aux insecticides chez les piqueurs suceurs *Aphis gossypii* et *Bemisia tabaci*. Atelier Projets GeRiCo et CFC / ICAC / 014, 06 – 10 Décembre 2004 Ouagadougou (Burkina Faso). 1 disque optique (DVD).
- Cauquil J. 1993. *Maladies et Ravageurs du Cotonnier en Afrique au sud du Sahara* (Deuxième édition). CIRAD-CA/CFDT : Paris ; p.92.
- Chiasson H, Beloin N. 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides nouveaux». Revue de littérature. Bulletin de la société d'entomologie du Québec. *Antennae*, **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, 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.
- 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.
- Eastop VF. 1981. *Aphis gossypii* Glov. (Planche 25 d). In *Maladies, Ravageurs et Mauvaises Herbes des Cultures Tropicales*, Paul Parey (ed). Berlin et Hambourg ; 354-356.
- 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.
- Frydrych R, Hequet E. 1997. Les cotons collants, Fascicule de formation, CIRAD, p 98. IRAC. 2009. All Methods_2. Susceptibility test methods series. Version 2. Method N° 1. Site Web <http://www.ircac-online.org> (consulté le 13/03/2009).
- ITMF. 2003. Cotton contamination surveys 1999 - 2001 -2003, p 21.
- 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* (wasmann). *J. Sci. Technol.*, **5**(2): 39-46.
- Kondjoyan N, Berdague JL. 1996. A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds: Ed. Laboratoire Flaveur, INRA de Theix, France.
- McLafferty FW. 1994. *The Wiley Registry of Mass Spectral Data* (6th edition). John Wiley and Sons: New York.
- 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.
- Sanda K, Koba K, Baba G, Amouzouvi KA, Tchala W, Akpagana K, Vilarem G, Gaset A. 1998. *Ocimum canum* Sims- A lesser known source of volatile oil with terpineol-4 as the major constituent. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, **12**(2): 173-176.
- Sigrist JC, Martin T, Renou A. 1994. Effet non intentionnels des pesticides sur l'entomofaune utile des cotonniers. Acte de la réunion phytosanitaire de coordination Cultures Annuelles-Afrique Centrale, 26-29 janvier 1994, Maroua, Cameroun, 154-175.
- Songaï 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, p. 50.
- Tchoumboungang F, Dongmo PMJ, Sameza ML, Mbanjo EGN, Fotso G BT, Zollo PH A, Menut C. 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **13**(1): 77-84.
- 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.
- Vanlerberghe-Masutti F. 2004. Les mécanismes de résistance aux insecticides chez le puceron *Aphis gossypii*. Atelier Projets GeRiCo et CFC / ICAC / 014, 06-10.
- Yayi E, Moudachirou M, Chalchat JC. 2001. Chemotyping of three *Ocimum* species from Benin : *O. basilicum*, *O. canum* and *O. gratissimum* . *J. Essent. Oil Res.*, **13**: 13-17.