

ACTIVITE INSECTICIDE COMPAREE DES HUILES
ESSENTIELLES DE TROIS ESPECES DU GENRE
CYBOPOGON (POACEAE)

Guillaume Koffivi KETOH^{*}, Isabelle Adolé GLITHO
et Honoré Kossi KOUMAGLO

Faculté des Sciences, Université de Lomé B. P. 1515 Lomé-Togo

(Reçu le 22-09-2003 – Accepté le 06-06-2004)

*Summary: Essential oils were extracted from three species of Cymbopogon genus by steam distillation. The essential oils were characterised by a main compound with constant content. Investigations realised with these oils on adults and immature stages of *Callosobruchus maculatus* developing inside the seed shown a variable toxicity. The essential oil of *C. schoenanthus* was the most toxic to adults at low concentration (6.7 µl/l). This oil was also the most toxic to immature stages developing inside the seed. The other oils showed a comparable activity against adults from 16.7 µl/l.*

*Keywords: Essential oils *Cymbopogon*, *Callosobruchus maculatus**

I – INTRODUCTION

L'augmentation de la production agricole et la difficulté à maîtriser le développement des insectes ravageurs dans les systèmes agricoles poussent le paysan à rechercher des moyens de traitement plus efficaces. C'est le cas des fumigants classiques qui agissent sur tous les stades de développement des insectes dans les grains stockés. Mais la recommandation de l'OMS (1995) en faveur de l'élimination des fumigants classiques d'ici 2005 dans les pays développés et en 2015 au plus tard dans les pays en voie de développement ouvre la voie à la

^{*} E-mail : Adresse de correspondance, E_gketho@ub.tg / gketho@ig.refer.org

recherche de nouveaux produits à faible répercussion écologique. Les recherches à l'heure actuelle s'orientent vers les plantes aromatiques contenant des huiles essentielles qui agissent comme les fumigants naturels^[1]

Les huiles essentielles possèdent des propriétés insecticides certaines^[2] Elles sont toxiques aux adultes^[3], aux larves^[4] et aux œufs^[5,6]. Au Togo, trois Graminées (Poaceae) *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. largement répandues sont utilisées comme insectifuge contre les moustiques, les mallophages et les termites.

Dans le présent travail, nous avons étudié l'activité insecticide des huiles essentielles extraites des ces trois plantes sur les adultes et sur les formes internes de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera : Bruchidae) un ravageur très redouté dans les stocks de niébé [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

II - MATERIEL ET METHODES

2.1. La bruche du niébé : *Callosobruchus maculatus* F.

Les adultes de *C. maculatus* utilisés dans le cadre de ce travail sont de la forme non voilière et élevés selon la méthode préconisée par Dick et Credland^[7].

2.2. - Les plantes

Les plantes aromatiques récoltées ont une distribution variable. *Cymbopogon nardus* L. Rendle est essentiellement cultivée au sud du pays tandis que *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng., une plante subspontanée, est exclusivement observée au nord dans les Régions de la Kara et Centrale. *Cymbopogon citratus* L. (DC) Stapf. est cultivée

partout dans le pays. Le matériel végétal récolté a été séché sous abri pendant 72 heures.

2.3 - Extraction et analyse chimique des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau. L'huile essentielle brute obtenue a été reprise au besoin à l'éther, lavée à l'eau avec une solution de NaCl 5 %. La phase organique a été séchée sur du Sulfate de Sodium (Na_2SO_4) anhydre puis évaporée sous vide partiel au Rotavapor BÜCHI R-114. Les échantillons d'huiles essentielles ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée au besoin avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) au Laboratoire d'Analyse et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE) à Chicoutimi au Canada. La CPG/MS a été réalisée à l'aide d'un chromatographe Hewlett-Packard 5890 type VARIAN 3300 équipé d'une colonne apolaire DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) et d'une colonne polaire Supelcowax-10 de mêmes dimensions couplée avec un spectromètre de masse Hewlett-Packard MSD5972.

2.4 - Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été testées par fumigation dans des bocaux à canette hermétique de 3 l. La charge d'huile a été déposée sur un disque de papier filtre Whatman N° 1 pour favoriser son évaporation et sa diffusion dans les essais. Les gammes de concentrations d'huiles essentielles testées varient suivant les expériences. Ces concentrations définies par rapport au volume des bocaux ont été utilisées en application unique.

2.4.1.- Effets sur les adultes

Les huiles essentielles ont été testées aux concentrations suivantes: 6,7; 10; 16,7 et 33,3 $\mu\text{l/l}$. Cinquante couples d'adultes et 100 graines

servant de support de ponte aux femelles, ont été introduits dans chaque bocal et traités. Nous avons noté tous les jours, le nombre d'adultes qui meurent.

2.4.2 - Sur les stades pré-imaginaux

L'expérience a été menée sur des individus immatures de différents stades définis par l'âge. Les individus utilisés sont âgés de 1 jour (œufs frais), 3 jours (larve néonates), 5 jours (Larves LI et LII), 10 jours (Larves LIII) et 15 jours (Larves LIV et Nymphes) à compter du premier jour de ponte. L'identification des stades de développement à l'intérieur de la graine a été faite en dénombrant les exuvies (capsules céphaliques) présentes dans la loge de la larve.

Le test a été réalisé avec 100 individus pré-imaginaux de chaque stade. Ils ont été répartis à raison d'un individu par graine pour avoir également le même nombre de graines par bocal comme précédemment. La concentration retenue pour ce test est 33,3 µl/l. Le test a été suivi jusqu'à la fin de l'émergence dans le témoin.

2.5 - Analyse statistique

Chaque test a été répété trois fois et les résultats ont été exprimés sous formes de $8 \pm SD$ (Moyenne \pm Déviation standard). Le taux de mortalité observé a été corrigé au besoin par la formule d'Abbott,

$$Pc = \frac{Po - Pt}{100 - Pt}$$

avec Pc : mortalité corrigée en %,

Pt : mortalité observée dans le témoin

Po : mortalité observée dans l'essai.

Les résultats ont été soumis à une Analyse de la Variance (ANOVA) à $p < 0,05$. La comparaison des effets des huiles essentielles entre elles à

différentes concentrations a été faite avec le test multivariable de Newman et Keuls ($p < 0,05$). La CL_{50} a été déterminée par le Probit ^[8].

III – RESULTATS

3.1 - Analyse de la composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites par entraînement à la vapeur sont analysées par CPG et CPG/SM. Le rendement à l'extraction par rapport à la matière fraîche est variable pour les trois huiles : *C. citratus* (0,5 à 2 %), *C. nardus* (1,5 à 2,5 %) et *C. schoenanthus* (2,5 à 3 %). L'analyse de la composition chimique de ces différentes huiles essentielles montre que l'essence produite avec *C. citratus* contient 74,51% de citral. Les composés carbonyles exprimés en citral sont le néral ou le citral A (31,36 %) et le géraniol ou le citral B (43,15 %). Cette huile contient également 8,84 % de myrcène et 5,88 % de géraniol (Tableau 1). L'huile est essentiellement constituée de monoterpènes (93 %) dont 83 % de monoterpènes oxygénés (Tableau 4). Avec l'huile de *C. nardus*, les constituants majeurs identifiés sont le citronellal (30,58 %) et le géraniol (23,93%) (Tableau 2). Les autres constituants sont l'éléamol (12,04%) et l'acétate de géranyle (8,68%). Les monoterpènes représentent 77 % et les sesquiterpènes 18 %. Tous les composants ont été identifiés dans l'huile de *C. schoenanthus*. Les constituants les plus importants sont la pipéritone (69,01%), le carène-2 (16,90%) et l'éléamol (5,76%) (Tableau 3). Quatre-vingt onze pourcent des constituants sont des monoterpènes.

TABLEAU 1 : *Composition chimique de l'huile essentielle de C. citratus*

Identification	%
5-mehept-2-èn-6-one	0,43
myrcène	10,22
linalol	0,85
cis sabinène hydrate	0,27
citronellol	0,27
néral	31,36
géraniol	5,47
géranial	43,15
thymol	0,33
acétate de géranyle	1,22
Total	93,57

TABLEAU 2 : *Composition chimique de l'huile essentielle de C. nardus*

Identification	%
Limonène	1,39
Linalol	0,27
Tr-verbénol	0,35
Citronellal	30,58
Citronellool	7,65
Néral	0,42
Géraniol	23,93
Geraniol	0,74
Acétate de géranyle	8,68
Acétate de thymyle	3,48
β -élémyène	2,09
germacrène D	1,28
bicyclogermacrène	0,19
α -farnésène	0,17
tr, β -farnésène	0,33
σ -cadinène	1,18
élémol	12,04
γ -eudesmol + β -eudesmol	0,26
β -eudesmol	0,15
tiglate de citryle	1,12
Total	96,30

TABLEAU 3 : *Composition chimique de l'huile essentielle de C. schoenanthus*

Identification	%
carène-2	16,90
limonène	2,15
cis pinène hydrate	0,53
tr pinène hydrate	0,28
α , β -terpinéol	0,56
estragole	0,14
pipéritone	69,01
β -élémente	0,82
β -caryophyllène	1,10
α -farnésène	0,09
tr, β -farnésène	0,20
σ -cadinène	0,18
élémol	5,76
γ -eudesmol + α -eudesmol	0,33
ox. de caryophyllène	0,20
β -eudesmol	0,79
tiglate de citryle	0,96
Total	100

TABLEAU 4 : *Composition en monoterpènes et sesquiterpènes des huiles essentielles*

Huiles essentielles extraites de	Hydrocarbures non terpéniques	Hydrocarbures non terpéniques oxygénés	Mono- terpènes	Mono- terpènes oxygénés	Sesquiterp- ènes	Sesqui- terpènes oxygénés
<i>C. citratus</i>	0	0,43	10,22	82,92	0	0
<i>C. nardus</i>	0	0	1,39	76,10	5,24	12,45
<i>C. schoenanthus</i>	0	0	19,05	71,48	2,39	7,08

3.2 - Activité insecticide

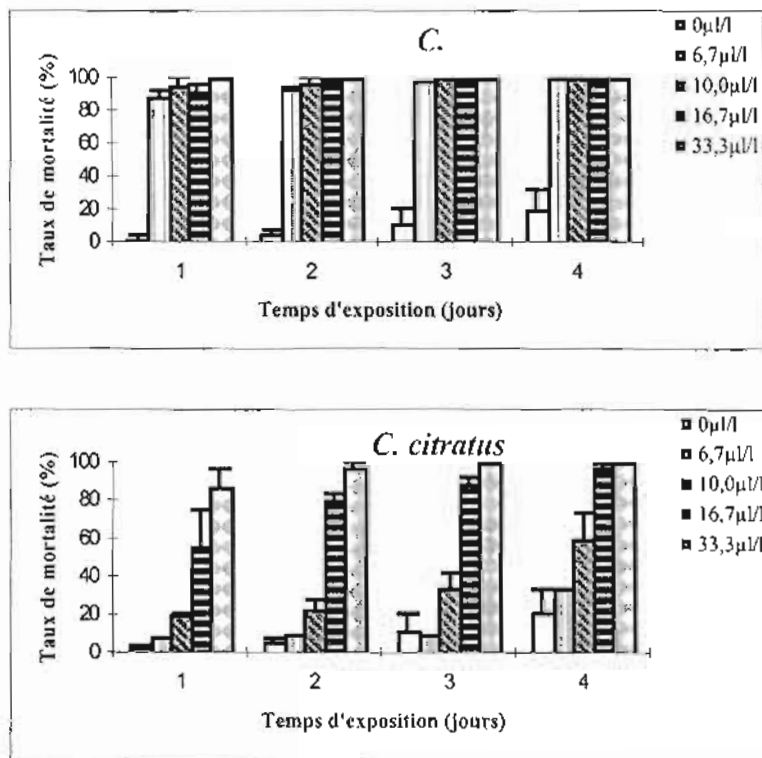
3.2.1 - Sur les adultes

L'activité insecticide des huiles évaluée sur les adultes de *C. maculatus* montre que l'huile de *C. schoenanthus* est la plus toxique. Elle provoque la mort de 90 % des adultes traités en 24 heures à la plus faible concentration testée (6,7 µl/l) (Figure 1). Tous les adultes meurent au bout de 4 jours. A 33,3 µl/l, la plus forte concentration testée, tous les adultes meurent en 24 heures. La CL₅₀ est de 2,3 µl/l ($Y = 8,2X + 2$).

A 6,7 µl/l, 11 % d'adultes meurent au premier jour de l'essai réalisé avec l'huile de *C. citratus*. En 4 jours, le taux de mortalité reste faible (33 %) à la même concentration (Figure 1). Les écarts par rapport aux moyennes sont élevés dans les essais réalisés avec 6,7 et 10 µl/l. A la plus forte concentration testée, on note un taux de mortalité de 95 %. La CL₅₀ calculée est de 14,3 µl/l ($Y = 0,4X + 4,0$).

L'huile essentielle de *C. nardus* élimine 8 % des adultes traités en 24 heures à 6,7 µl/l (Figure 1). En 4 jours ce taux est de 35 %. A 33,3 µl/l, environ 90 % des adultes traités meurent en 24 heures. La CL₅₀ de cette huile est de 16 µl/l ($Y = 0,5X + 3,7$).

FIGURE 1. Evolution du taux de mortalité cumulé des adultes de *C. maculatus* en présence des différentes huiles essentielles testées et en fonction du temps d'exposition

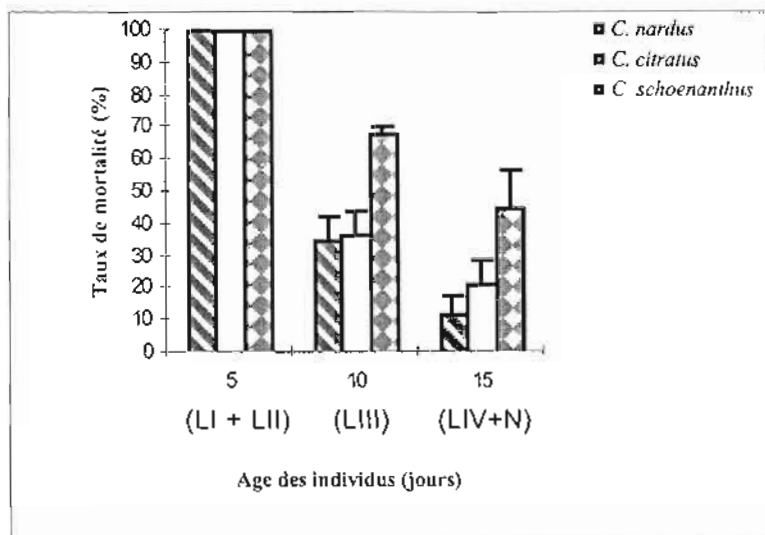


3.2.2 - Sur les stades pré-imaginaux

Le test réalisé avec les différentes huiles essentielles à la plus forte concentration sur les différents stades pré-imaginaux révèle qu'elles sont toxiques aux individus âgés de 5 jours (Figure 2). Sur les individus de 10 jours, seule l'huile de *C. schoenanthus* élimine 70 % des larve de troisième stade. Elle empêche également 50 % des

individus de 15 jours (larves LIV et des nymphes) d'accomplir leur développement. Dans les mêmes conditions, toutes les huiles essentielles inhibent le développement de tous les individus de 1 jours (œufs frais) et de 3 jours (larves néonates).

FIGURE 2 : Effets des différentes huiles essentielles sur le développement intragranulaire de *C. maculatus* en fonction de l'âge des individus



IV - DISCUSSION

Les plantes utilisées présentent un polymorphisme chimique constant. La teneur élevée des composants majoritaires varie très peu. Les chémotypes identifiés chez *C. citratus* (citrail) et chez *C. nardus* (citronellal) sont très répandus ^[9]. Mais le chémotype à pipéritone n'est pas signalé chez *C. schoenanthus* à notre connaissance. Dawidar

et al^[10] ont rapporté la présence de pipéritone dans l'huile essentielle de *C. schoenanthus* mais à l'état de trace. Selon Shahi et Sen^[11] et Shahi et Tava^[12], l'huile de cette espèce contient plutôt le limonène et le 2-undécanone et un fort taux de sesquiterpènes. Au Togo, l'analyse de cette huile révèle qu'elle contient essentiellement des monoterpènes. Les trois huiles essentielles extraites présentent des intérêts dans beaucoup de domaines tels que la pharmacie, les cosmétiques, l'agro-alimentaire, etc. L'huile de *C. citratus* contient 80 % de citral. Ce taux est supérieur à celui des normes AFNOR sur le plan commercial.

L'étude de l'activité insecticide montre que ces huiles peuvent être utilisées contre les adultes de *C. maculatus*. Certaines huiles présentent une forte activité adulticide à faible concentration. Ceci permet de distinguer les huiles toxiques à l'espèce et les huiles non toxiques. Les produits toxiques aux adultes d'insectes sont ceux qui provoquent une forte mortalité dans la population à faible concentration^[13]. Il s'agit dans nos conditions de l'huile de *C. schoenanthus*. L'activité adulticide de cette huile est due à la présence de la pipéritone. Ce composant isolé et purifié^[2] a montré une activité insecticide très élevée sur les formes externes de l'espèce. Ce composant est également responsable de l'activité répulsive et antiappétante de l'huile essentielle de *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. (Rutaceae) vis-à-vis des fourmis du genre *Crematogaster*^[14].

Les huiles non toxiques à faible concentration, présentent une activité adulticide élevée à forte concentration. L'activité de ces huiles est donc influencée par la concentration.

Sur les formes pré-imaginales, l'activité des trois huiles utilisées à la plus forte concentration est fortement influencée par l'âge des individus. Elles empêchent le développement des jeunes larves et des œufs. Sur les individus plus âgés, les huiles de *C. citratus* et de *C. nardus* sont les moins efficaces

L'étude de l'activité insecticide des huiles essentielles a montré qu'elles peuvent être utilisées comme biopesticides phytochimiques ^[15]. L'activité adulticide élevée des huiles entraîne une réduction de la durée de vie des adultes de *C. maculatus*. Glitho et al.^[16] signalent que cette réduction s'accompagne d'une diminution du nombre d'œufs pondus par femelle et que ceci en est une conséquence directe. L'activité nympholarvicide est également intéressante car ce sont les larves qui sont responsables des dégâts occasionnés au cours du stockage. L'effet des huiles observé sur le développement intragranaire doit donc être renforcé.

En conclusion, l'utilisation des huiles essentielles peut suppléer à celle des fumigants classiques car elles sont toxiques à tous les stades de développement de la bruche.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] - R. C. FRENCH, *Ann Rev. Phytopathol.* (1995) ; 23 ; 173.
- [2] - M. B. ISMAN, *Crop. Prot.* (2000) ; 19 ; 603.
- [3] - G. K. KETOH, I. A. GLITHO, H. K. KOUMAGLO, F-X. GARNEAU, *Ins. Sci. Appl.* (2000) ; 20 ; 45.
- [4] - G. K. KETOH, I. A. GLITHO, J. HUGNARD, *Journ. Econ. Ent.* (2002) ; 95 ; 174.
- [5] - I. TUNÇ, B. M. BERGER, F. ERLER, F. DAGLI, *J. Stored Prod. Res.* (2000) ; 36 ; 161.
- [6] - G. K. KETOH, I. A. GLITHO, Y. NUTO, H. K. KOUMAGLO, *Sci. Méd.* (1998) ; 00 ; 16.
- [7] - K. M. DICK, P. F. CREDLAND, *J. Stored Prod. Res.* (1984) ; 20 ; 221.
- [8] - D. F. FINNEY, *Probit Analysis*. 3rd Ed. University Press, Cambridge, 1971.
- [9] - M. H. BOELENS, *Perfumer & Flavorist* (1994) ; 29 ; 29.
- [10] - A. M. DAWIDAR, S. T. ESMIRLY, M. ABDEL-MOGIB, *Pharmazie* (1990) ; 45 ; 296.
- [11] - A. K. SHAHI, D. N. SEN, *Agri. & E. Intl.* (1993) ; 45 ; 5 & 6 ; 62.
- [12] - A. K. SHAHI, A. TAVA, *J. Essent. Oil Res.*, (1993) ; 5 ; 639.
- [13] - C. K. EWETE, J. T. ARNASON, J. LARSON, B. J. R. PHILOGENE, *Entom. Exp. Appl.* (1996) ; 80 ; 531.
- [14] - W. S. BOWERS, F. ORTEGO, X. YOU, P. H. EVANS, *J. Nat. Prod.* (1993) ; 56 ; 935.
- [15] - C. REGNAULT-ROGER, *Int. Pest Manag. Rev.* (1997) ; 2 ; 25.
- [16] - I.A. GLITHO G.K. KETOH, K.H. KOUMAGLO. *Ann. Univ. Ouagadougou* (1997) ; 5 ; 174.