

**L'EFFET INSECTICIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE DU THYMUS
PALLESCENS ENDEMIQUE SUR *L'APHIS FABAE* SCOPOLI (HEMIPTERA :
APHIDIDAE)**

**THE INSECTICIDAL EFFECT OF ESSENTIAL OIL OF THYMUS PALLESCENS ENDEMIC
ON *APHIS FABAE* SCOPOLI (HEMIPTERA: APHIDIDAE)**

RAYANE SAIFI, MOHAMMED BELHAMRA

Laboratoire diversité des écosystèmes et dynamiques des systèmes de production agricoles en zones arides, Département des sciences agronomiques, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Université Mohamed Khider, BISKRA

rayanesaifi2015@gmail.com ; segmadz@yahoo.fr

RESUME

Le but de cette étude était d'évaluer la composition chimique et l'activité bio-insecticide de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique *Thymus pallescens*, sur un des pucerons les plus préjudiciables sur légumineuses sèches, à savoir *Aphis fabae* Scopoli (Hémiptera: Aphididae). Le choix de cette plante est basé essentiellement sur ces usages ethnobotaniques. Différentes concentrations d'huile essentielle (0,5, 1, 2, 4, 8 et 12 µl/ml) ont été testées in-vitro pour tester leur activité insecticide contre l'*A.fabae* avec quatre répétitions pour chaque concentration. Les résultats obtenus montrent que cette huile essentielle est efficace, sa Concentration Létale 50 (CL50) est relativement faible et l'analyse de variance a donné un résultat hautement significatif. En revanche l'huile essentielle semble être responsable de certaines perturbations morphologiques observées sur les feuilles de la fève (*Vicia faba L.*). Cette huile essentielle peut être considérée comme une source de composés bioactifs efficaces contre les pucerons et éventuellement un biopesticide après caractérisation chimique de ses molécules actives et des tests à conduire in-situ.

MOTS CLES : *Aphis fabae*, Huile essentielle, Biopesticide, *Thymus pallescens*, Biskra.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the chemical composition as well as the insecticidal activity of essential oil extracted from the *Thymus pallescens* plant, against one of the most encountered pests of dry legumes; *Aphis fabae Scopoli* (Hémiptera: Aphididae). This plant was selected based on its ethnobotanical use. Various essential oil concentrations (5, 10, 20, 40, 80 and 120 µl) were tested in-vitro for their insecticidal activity against *A.fabae* with four replicates for each dose. The results obtained show that this oil is effective, their CL50 is relatively low and the analysis of variance gave a highly significant result. However, the essential oil seems to be responsible for some morphological disturbances observed on the leaves of the broad bean (*Vicia faba L.*). This essential oil can be considered as a source of effective bioactive compounds against crops pests and a biopesticide eventually ; after having done a chemical characterization of its actives molecules as well as conducting tests in-situ.

KEYWORDS : *Aphis fabae*, Essential oil, Biopesticide, *Thymus pallescens*, Biskra.

1 INTRODUCTION

En Algérie, la fève est parmi les cultures vivrières les plus importantes, couvrant une surface de 37499 hectares avec une production totale de 41,389tonnes en 2014[10]. Elle occupe une place importante en raison de sa valeur nutritionnelle et de ses divers usages. Cette culture est confrontée à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Parmi ces agents biotiques figurent les pucerons qui ont une place très particulière, d'un point de vue déprédation, le puceron provoque des pertes directes de rendements et la dépréciation de la qualité du légume[18]. En raison des nombreux désordres écologiques, l'une des alternatives prometteuses au recours massive à l'utilisation de produits phytosanitaires de synthèse est la lutte à base de biopesticides d'origine végétale.

Les plantes spontanées et aromatiques grâce à leurs molécules bioactives peuvent être des moyens de choix dans les programmes de la lutte intègres pour minimiser l'usage des produits phytosanitaires et la protection de l'environnement aussi pour la gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides par leurs utilisations en alternance avec les pesticides synthétiques pour la prolongation de leurs vie [9].

C'est dans ce cadre que l'huile essentielle de la plante *Thymus palleescens*, endémique à la région aride de Biskra a été mis en évidence dans ce travail ; à travers des expériences in-vitro afin d'évaluer sa composition chimique et son activité insecticide à différentes concentrations sur le puceron noir de la fève *Aphis fabae Scopoli*, 1763.

2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Plante utilisée

La plante utilisée dans notre essai est une plante arbuste *T. palleescens* de la famille Limiaceae avec des fleurs blanches et des feuilles plus longues que large et lancéolées entières et glabres [16], elle a été récoltée à partir du fin janvier 2016 durant la période de végétation de la plante, dans la région du M'Chouneche à la wilaya de Biskra –Algérie-.

La matière végétale récoltée est étalée en couches fines et retournée fréquemment à une température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière pendant 12jours jusqu'à l'obtention d'une matière végétale sèche avec masse constante. Elle est ensuite stockée dans un flacon en verre enroulé de papier aluminium à 4°C dans un réfrigérateur jusqu'à l'utilisation.

2.2 Souche de l'*Aphis fabae*

Les individus proviennent d'une souche isolée à partir des gousses et des feuilles de fève infestées par l'*A. fabae*. Ces parties ont été prélevées chez un agriculteur dans la localité de Sidi Okba (Wilaya de Biskra). Pour éviter l'apparition des individus ailés qu'ils assurent la dispersion des colonies au fait de groupe et le manque des conditions favorables. Cette souche est mise en élevage de masse sur des plantes de fève, après avoir semé les graines de la variété Luz de

otono dans des pots au niveau de Institut de Protection des Végétaux à la wilaya de Biskra (INPV), dans un milieu bien aéré et permettant à la lumière de pénétrer [21]. Afin de créer un milieu favorable aux pucerons et maintenue leurs densités à un niveau plus ou moins faible aussi pour éviter le déplacement au champ à chaque fois on est besoins aux pucerons pour nos tests expérimentaux. Après la vérification que les espèces apporter sont *A.fabae* par la loupe binoculaire, à l'aide d'un pinceau les pucerons noirs de la fève sont mis avec soin sur les jeunes plantes de fève en stade de floraison (fig.1).



Figure 01: Les feuilles de fève infestées par l'*A.fabae*.

2.3 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle à partir de 200g de la partie aérienne de la plante *T.palleescens* préalablement séchée a été réalisée par hydrodistillation en utilisant le Clevenger avec cinq répétitions (fig.2). L'huile essentielle est séparée de l'hydrolat par décantation puis ajout de Sulfate de Magnésium ($MgSO_4$) pour éliminer les traces d'eau[7]. À la fin on a stockée l'huile essentielle dans un flacon enroulé de papier aluminium en attente de son utilisation. Le rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage [8] est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{P_2}{P_1} \times 100$$


Figure 02: Huile essentielle de *T.palleescens*

2.4 Analyse chimique par CPG-SM

Une quantité de 0,2 µl d'huile essentielle est injectée en CPG-SM. La température de la colonne varie de 50 à 250 ° C à 5 ° C / min. L'injection a été réalisée à 250 ° C et l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur (1 ml / min). Les composants de l'huile ont été identifiés sur la base de leurs temps de rétention et de leur spectre de masse par rapport à la base de données du CPG-SM.

2.5 Test de l'activité bio insecticide

Des concentrations de 0,5, 1, 2, 4, 8 et 12 µl/ml d'huile de *T.pallescens* (diluée dans 10ml de solvant éthanol 1%) et un produit chimique systémique contenant 20% d'Acétamipride (le plus utilisé contre les attaques des pucerons par les agriculteurs dans la région de Biskra (cas de la culture fève), seulement à une dose homologuée de 0,001g/ml), avec un témoin d'eau distillée ont été testées par pulvérisation directe sur 40 pucerons adultes de l'*A.fabae*; dans des boîtes de Pétri garnie d'une voile de 0,42 mm x 0,75 mm afin de permettre l'aération des pucerons. Pour chaque concentration on a fait quatre répétitions. Le nombre d'insectes morts ou vivants a été dénombré après 3, 6, 12 et 24 heures de traitement. Le puceron est considéré comme mort lorsqu'il ne réagit pas au toucher de pinceau.

2.6 Analyse des données

Selon [19], la mortalité moyenne des pucerons pour chaque concentration est exprimée en mortalité corrigée par rapport à la mortalité observée chez le témoin pour déterminer la mortalité due à l'exposition aux différents traitements et le temps d'exposition ; par la formule Schneider-Orelli's :

$$MC\% = \frac{M2 - M1}{100 - M1}$$

MC :% Mortalité corrigée

M1 : Mortalité chez les insectes de témoin

M2 : Mortalité chez les insectes traités

Une analyse de variance par le test ANOVA a été réalisée par XLSTAT version 2009 pour comparer les effets de l'huile essentielle testée sur la modalité mesurée. La concentration létale de 50% (CL50) a été calculée à partir de la droite de régression établie par la transformation des mortalités corrigées en probit et des concentrations utilisées en logarithmes décimaux [22 ; 14].

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Le rendement moyen et la composition chimique de l'huile essentielle

Le rendement moyen d'huile essentielle obtenu de cette espèce a été de 2,76%. Il est différent de celui obtenu par [3; 12; 13] qui ont trouvé des différences de rendement pour la même espèce variante entre 1-4,6%. La composition chimique de notre huile essentielle comprend 57 composants dont huit prédominent et qui sont le Carvacrol (46,25%), l'O-Cymène (17,61%), le γ-Terpinène (4,86%), le Linalool (4,85%), le B-Caryophyllène (4,73%), le Thymol (2,91%), l'Oxyde de caryophyllène (2,31%) et l'Acétate de thymol (1,31%) (fig.3). Ces résultats sont en accord avec des données précédemment publiées concernant la même espèce, le rendement et les compositions d'huile variaient selon la durée d'extraction, l'année de récolte, la température d'extraction et les parties de la plante extraites. Dans plusieurs cas d'études, l'O-Cymène, le γ-Terpinène, le thymol et le Carvacrol étaient

les constituants principaux d'huile. Le Carvacrol, l'ingrédient principal, il a la quantité maximale à chaque fois [11 ; 12]. Ce qui est nouveau dans cette étude est la présence de molécule d'O-Cymène avec un taux de 17,61% qui le place en deuxième position après le Carvacrol. Ces différences de rendement et de compositions sont attribuées aux conditions climatiques et édaphiques, le stade de développement de la plante, la saison de récolte et la méthode d'extraction [17].

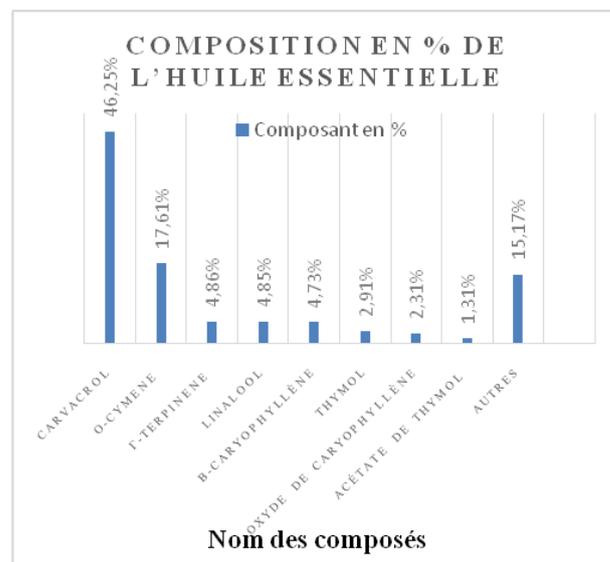


Figure 03: La composition chimique de l'huile essentielle *T.pallescens*.

3.2 Effet de l'huile de *T.pallescens* sur l'*A.fabae*

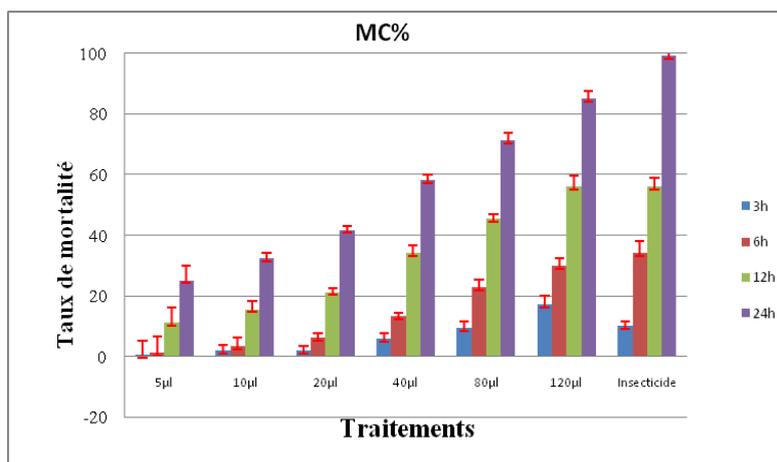
L'huile essentielle de *T.pallescens* affecte significativement la survie du ravageur *A.fabae*. Dans les lots traités par cette huile, la survie des pucerons diminue au fur et à mesure que la dose d'huile essentielle et la durée d'exposition augmente (tab.1), ce qui donne une grande efficacité à cette huile à l'égard de ce ravageur et ce résultat correspond à celui obtenu par [6], qui ont trouvé que l'extrait aqueux de la plante *Mentha piperita* (menthe poivrée) causé la mortalité d'*A.fabae*, et plus la concentration de l'extrait est élevée, plus le taux de mortalité augmente.

Le pourcentage de mortalité corrigée enregistré pour la dose maximum de 12µl/ml au bout de 24H est de 84,89% ce qui montre l'efficacité de cette huile essentielle (fig.4).

D'après les résultats obtenus dans des études antérieures sur l'effet de quelques extraits aqueux des plantes sur ce ravageur, [15] ont trouvé les mortalités suivantes après 72H de traitement : 50,85%, 29,53% et 28,97% pour *Rosmarinus officinalis*, *Peganum harmala* et *Melia azedarachet* respectivement par voie foliaire. [5] ont trouvé 73,8% de mortalité avec l'extrait *Urticadioica* et 75,1% avec l'extrait de *Dryopteris filix-mas*. La comparaison de ces résultats avec les résultats obtenus pour huile essentielle de *T.pallescens* utilisée dans notre expérimentation montre que cette huile est la plus efficace sur le plan de toxicité à l'égard de l'*A.fabae* par rapport la concentration et la durée d'exposition.

Tableau 01 : Toxicité de l'huile essentielle de *T.pallescens* sur *A.fabae* (moyenne \pm écart-type)

Traitement ($\mu\text{L/mL}$)	Temps d'exposition (h)				Mortalité moyenne (traitements) \pm SE
	3h	6h	12h	24h	
Témoin (0)	2.5 \pm 1.29	4 \pm 1.41	4.75 \pm 1.25	5.25 \pm 1.5	4,12\pm1,29^a
0.5	3 \pm 0.95	4.5 \pm 1.91	8.75 \pm 1.7	14 \pm 1.63	7,5\pm1,13^b
1	3.25 \pm 0.95	5.25 \pm 1.95	10.25 \pm 0.95	16.5 \pm 0.57	8,81\pm0,68^c
2	3.25 \pm 0.5	6.25 \pm 0.5	12.25 \pm 0.5	19.75 \pm 0.5	10,37\pm0,14^d
4	4.75 \pm 0.5	8.75 \pm 0.5	16.75 \pm 0.95	25.5 \pm 0.57	13,93\pm0,55^e
8	6 \pm 0.81	11.25 \pm 0.95	20.75 \pm 0.5	30 \pm 0.81	17\pm0,70^f
12	9 \pm 0.81	14.75 \pm 0.95	24.5 \pm 1.29	34.75 \pm 0.95	20,75\pm0,73^g
Produit chimique (20% Acétamipride)	6.25 \pm 0.95	16.25 \pm 1.5	24.5 \pm 1	39.7 \pm 50.5	21,68\pm0,42^k
Mortalité moyenne (temps d'exposition) \pmSE	4,71\pm0,32^a	8,87\pm0,51^b	15,31\pm0,29^c	23,18\pm 0,41^d	

Figure 04: Taux de mortalité corrigés moyen et cumulé, enregistrés suite au traitement par l'huile essentielle de *T.pallescens*

Les paramètres toxicologiques de l'huile essentielle ont été regroupés dans la (fig.5) ; Après 24h de traitement, la valeur de CL₅₀ est de 23,40 μl avec un intervalle de confiance de [16.98 μl ; 32.35 μl]. [1] a constaté que les extraits de *Mentha microphylla*, *Majorana hortensis* et de l'huile essentielle de *M. hortensis* ont une puissante toxicité contre l'*A.fabae*. Les CL₅₀ de ces extraits ainsi que l'huile essentielle après 24heures de traitement sont respectivement de 2,25 g/L ; 2,21 g/L ; 1,86 g/L. Tandis que la CL₅₀ de l'huile essentielle de *T.pallescens* étudiée était de 23,40 μl alors que [4] ont trouvé que la CL₅₀ de cette huile à l'égard de l'insecte ravageur commun connu pour attaquer et

infester les denrées alimentaires stockées, *Tribolium confusum*, est de 55.2 μl ce qui montre que l'*A.fabae* a été plus sensible à notre huile.

Nos résultats sont proches de ceux enregistrés pour le produit chimique systémique contenant 20% d'Acétamipride et aussi efficace que d'autres insecticides déjà étudiés sur l'*A. fabaetel* que Thiaclopride (néonicotinoïdes) et Fenvalérate (pyréthrinoides de synthèse) qu'ont donné les taux de mortalités de 89,21 \pm 3,6% et 81,14 \pm 4.2% au bout de 4-5 jours et sur 10 pucerons avec trois répétitions [20].

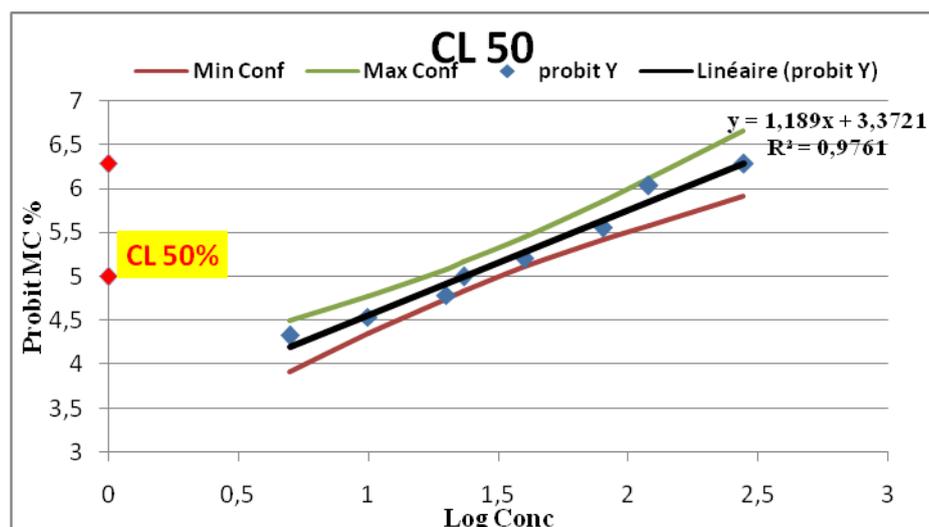


Figure 05 : La CL50 après 24h de traitement

L'analyse de la variance de nos données à un intervalle de confiance de 95% a montré que les différences dues aux différentes concentrations de l'huile essentielle *T.pallescens* appliquées dans notre essai comparé au témoin et un produit chimique systémique contenant 20% d'Acétamipride sont hautement significatives de 0,001 et toutes les moyennes de traitements sont regroupées en plusieurs catégories homogènes. La concentration 12µl/ml vient en deuxième position après le produit chimique et manifeste une grande efficacité par rapport aux autres concentrations, ce qui nous amène à dire que la toxicité de notre huile essentielle dépend de la concentration et de la durée d'exposition [17 ; 2]. Aussi, nous avons remarqué que notre huile essentielle a eu des effets secondaires sur la morphologie des feuilles par la modification de leurs couleurs, formes et flétrissements des parties pulvérisées par l'huile quel que soit la dose administrée (fig. 6).

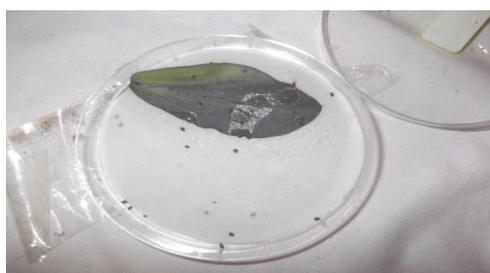


Figure 06 : L'influence de l'huile essentielle de *T.pallescens* sur la morphologie des feuilles

4 CONCLUSION

À la lumière de ces résultats, on conclut que l'huile essentielle de la plante *T.pallescens* est toxique pour le ravageur *A.fabae*, et la lutte par cette huile peut être un moyen alternatif possible pour le développement des biopesticides, et minimiser l'effet néfaste de certains pesticides par des tests moléculaires plus profonds et l'évaluation de son efficacité en milieu naturel pour

envisager leur exploitation.

REFERENCES

- [1] Abdelgaleil, S. A. M., Abbassy, M.A., Rabie, R.Y.A. (2010). Insecticidal properties of plant extracts and monoterpenes towards the fourth instars of *Spodopteralittoralis* Bois (Lepidoptera: Noctuidae) and adults of *Aphis fabae* L. (Hemiptera: Aphididae). *J. Pest Cont. & Environ. Sci.* 18 (1), 119-133.
- [2] Abdoul Habou, Z., Haougui, A., Mergeai, G., Haubruge, E., Toudou, A., & Verheggen, F. (2011). Insecticidal effect of *Jatropha curcas* oil on the aphid *Aphis fabae* (Hemiptera: Aphididae) and on the main insect pests associated with cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Niger. *Tropicultura*, 29(4), 225-229.
- [3] Alloun, K., Benchabane, O., Hazzit, M., Mouhouche, F., Baaliouamer, A., Chikhoun, A., & Benchabane, A. (2017). Effect of gamma ray irradiation on chemical composition, antioxidant, antimicrobial, and insecticidal activities of *Thymus pallescens* essential oil. *Acta Chromatographica*, 1-6.
- [4] Benchabane et al, 2015 Benchabane, O., Hazzit, M., Mouhouche, F., & Baaliouamer, A. (2015). Influence of Extraction Duration on the Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil of *Thymus pallescens* de Noé. *Arabian Journal for Science & Engineering* (Springer Science & Business Media BV), 40(7).
- [5] Benoufella-Kitous, K., Doumandji, S., Fellag, H., & Hance, T. (2014). Bio-insecticide effect of the extracts of *Urtica dioica* and *Dryopteris filix-mas* on *Aphis fabae* (Homoptera: Aphididae). *Int. J. Biol. Technology*, 5(2), 14-20.
- [6] Biniás, B., Gospodarek, J., & Rusin, M. (2017). Effect of water extract from mint on selected crop pests feeding and survival. *Journal of Ecological Engineering*, 18(2), 119-128.
- [7] Boukhatem, M. N., Hamaidi, M. S., Saidi, F., &

- Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nat Technol*, 3, 37-45.
- [8] Carré, P. (1953). Précis de technologie et de chimie industrielle... Baillière & Fils.
- [9] Chiasson, H., & Beloin, N. (2007). Les huiles essentielles, des biopesticides" Nouveau genre. *Bulletin de la Société d'Entomologie du Québec*, 14(1), 3-6.
- [10] FAO. (2017). FAOSTAT database. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; [accessed 2017 26 October]. <http://www.fao.org/faostat/fr/>.
- [11] Hazzit, M., & Baaliouamer, A. (2009). Variation of essential oil yield and composition of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 21(2), 162-165.
- [12] Hazzit, M., & Baaliouamer, A. (2009). Composition of the essential oils of the leaves and flowers of *Thymus pallescens* de Noé and *Origanum floribundum* Munby from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 21(3), 267-270.
- [13] Hazzit, M., Baaliouamer, A., & Douar-Latreche, S. (2013). Effect of heat treatment on the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of essential oil research*, 25(4), 308-314.
- [14] Heinrichs, E. A. (1981). Manual for testing insecticides on rice. *Int. Rice Res. Inst.*.
- [15] Khalfi-Habes, O. Sellami, S. and Guerrida, S. 2011. Effet bio-insecticide des extraits de *Peganum harmala*, *Melia azedarach* et *Rosmarinus officinalis* sur *Aphis fabae* Scop. 1763, (Homoptera, Aphididae). Congrès international, Ecole. nati. sup. agro., El Harrach.
- [16] KERBOUCHE, L. (2010). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de labiacées et de cupressacées (Doctoral dissertation, INA).
- [17] Merghache, S., Hamza, M., & Tabti, B. (2009). Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Rutachalepensis* L. De Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5(1).
- [18] Mostafa, E., Elhourri, M., Amechrouq, A., & Boughdad, A. (2014). Étude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) sur *Sitophilusoryzae* (Coleoptera: Curculionidae) [Study of the insecticidal activity of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) on *Sitophilusoryzae* (Coleoptera: Curculionidae)]. *J. Mater. Environ. Sci*, 5 (4), 989-994.
- [19] Püntener W., (1981). Manual for field trials in plant protection second edition. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited.
- [20] Purhematy, A., Ahmadi, K., & Moshrefi, M. (2013). Toxicity of Thiacloprid and Fenvalerate on the black bean aphid, *Aphis fabae*, and biosafety against its parasitoid, *Lysiphlebus fabarum*. *Journal of Biopesticides*, 6(2), 207.
- [21] Sharp, J. C., & Andrade, M. (1994). An investigation of the behavior of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Association for Biology Laboratory Education (ABLE). Burnaby: Available from: <http://www.zoo.utoronto.ca/able>.
- [22] Vincent, K. (2008). Probit analysis. San Francisco: San Francisco State University.