

L'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* L. contre les larves de *Tuta absoluta*

[The study of the insecticide effect of the essential oil of *Syzygium aromaticum* L. against larvae of *Tuta absoluta*]

Adil BENCHOUIKH, Tarik ALLAM, Abderahim KRIBI, and Khadija OUNINE

Laboratoire de Biologie et Santé, Equipe de Microbiologie Appliquée, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofail, B.P. 242. Kénitra, Maroc

Copyright © 2016 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick), is a major pest of tomatoes in Morocco. Since its spread in the 1970s, chemical control was the main method of control. However, reduced effectiveness of some of the recommended insecticides has been observed since the 1980s. This study aims to propose alternative solutions based on the use of natural products "bioinsecticide" to fight against the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick), which is considered a serious threat to tomato production in Morocco and worldwide.

To achieve this objective, we evaluated the toxicity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* L. buds against larvae of *Tuta absoluta*. Bioassays were performed in the laboratory in petri dishes 9 cm in diameter, at an average temperature of 26 ± 2 °C and a relative humidity of 60 to 70%. The determination the lethal dose 50 (LD50) of this essential oil has been made via an analysis by probit method using the software BioStat Pro 5.9.8. The values of LD50 and LD100 are respectively 0.0047 and 0,0111 μ l/cm² calculated after fourths hours of exposure confirms the high degree of toxicity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* L. buds on filter paper against the larvae of *Tuta absoluta*.

KEYWORDS: *Syzygium aromaticum* L., *Tuta absoluta*, Bioinsecticide, insect repellent activity.

RESUME: La mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), est l'un des principaux ravageurs de la tomate au Maroc. Depuis sa dispersion dans les années 1970, la lutte chimique a été la principale méthode de contrôle. Cependant, l'efficacité réduite de certains des insecticides recommandés a été observé depuis les années 1980. La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels «bioinsecticide», afin de lutter contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) qui est considérée comme une menace sérieuse pour la production de la tomate au Maroc et au monde entier.

Pour répondre à cet objectif, nous avons évalué la toxicité de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. sur des larves de *Tuta absoluta*. Les bio-essais ont été effectués au laboratoire dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, à une température moyenne de 26 ± 2 °C et une humidité relative de 60 à 70%. La détermination de la dose létale 50 (DL₅₀) de cette huile essentielle a été faite via une analyse par la méthode de probits à l'aide du logiciel BioStat Pro 5.9.8. La plus forte dose de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. occasionne une mortalité totale (100%) des larves est de 0.0111 μ l/cm². La DL₅₀ est de 0,0047 μ l/cm² calculée après quartes heures d'exposition confirme le degré élevé de toxicité de cette huile essentielle sur papier filtre vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta*.

MOTS-CLEFS: *Syzygium aromaticum* L., *Tuta absoluta*, Bioinsecticide, activité insectifuge.

1 INTRODUCTION

La tomate *Lycopersicon esculentum* Miller 1754, est originaire d'Amérique du Sud. Actuellement, elle est cultivée partout dans le monde sous serre ou en plein champ [1]. La culture de tomate, a une grande importance dans le monde entier. Elle représente une production annuelle de 107 millions de tonnes [2]. Elle a un rôle socio-économique important dans l'économie marocaine tant par les devises qu'elle génère que par l'opportunité d'emploi qu'elle procure. Elle vient en tête des cultures maraîchères en occupant une superficie globale de 18 642 ha, assurant une production totale d'environ 1 312 305 tonnes [3]. dont plus de la moitié est exportée principalement vers les pays de l'Union européenne [4].

Au Maroc et depuis 2008, cette culture est attaquée par un nouveau ravageur *Tuta absoluta* [5], qui est un micro lépidoptère de 6 à 7 mm de long et de 8 à 10 mm d'envergure [6]. C'est le ravageur clé de la tomate dans son aire d'origine en Amérique latine [7]. La propagation de ce ravageur à d'autres régions de production de la tomate s'est produite par la commercialisation des fruits et des plants. De nouvelles aires sont aussi colonisées par l'insecte grâce au vol actif ou passif dus aux vents. Le ravageur nouvellement introduit trouve les côtes méditerranéennes comme un nouvel habitat favorable à sa multiplication [8]. Il a été découvert pour la première fois dans la province de Castellon en Espagne en 2006. Rapidement, ce ravageur a pu s'installer dans tous les pays méditerranéens et européens [9].

Tuta absoluta se caractérise par un potentiel de reproduction élevé et en plus de son hôte principal, il s'attaque aussi aux autres cultures de Solanacées. Les plantes de tomates peuvent être contaminées de l'état de plantule à celui de plante mature. La larve est le stade nuisible de la mineuse de la tomate. Elle peut attaquer tous les organes de la plante. Après éclosion, Les jeunes larves sont capables de pénétrer dans les différentes parties de la plante de tomate occasionnant des dégâts très importants. En effet, les larves ont été rencontrées sur et dans les feuilles, dans les fruits et dans les tiges de tomate (Figure 1) sur lesquelles ils se nourrissent et se développent en créant des mines et des galeries [10]. Ce ravageur est considéré comme un grand obstacle à la production de tomates, dû à son cycle de vie calqué sur le cycle de la culture de tomates et aux pertes occasionnées qui peuvent atteindre 100% [11].

Cependant, la lutte chimique reste, pour des raisons économiques et de facilité de mise en œuvre, la méthode la plus utilisée. Néanmoins, l'application abusive et non raisonnée des produits conventionnels a fait apparaître une pollution de l'environnement et aussi un phénomène de résistance [12].

Les pesticides naturels constituent une alternative intéressante face aux insecticides conventionnels. Le choix de ces molécules, relativement récentes, permet de répondre non seulement aux problèmes liés à la résistance vis-à-vis des insecticides classiques, mais s'accorde aussi aux principes de développement durable, du fait de leur faible impact écotoxicologique [13].

La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels «bioinsecticide», afin de lutter contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) qui est considérée comme une menace sérieuse pour la production de la tomate au Maroc et au monde entier.

Pour répondre à cet objectif, nous avons évalué la toxicité de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. à l'égard des larves de *T. absoluta*.



Fig. 1. Symptômes et dégâts de *Tuta absoluta* sur fruits et feuilles de tomates en plein champ dans la région du M'nasra (Juin 2015)

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

Les clous de *Syzygium aromaticum* L. ont été broyées puis distillées à la vapeur pendant 3 heures dans un appareil de type Clevenger. [14],[15].

Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenue dans chaque extraction a été mesuré et conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés avec des couvercles en caoutchouc, recouverts de papier d'aluminium pour protéger le contenu de la lumière et conservés au réfrigérateur à moins de 8°C jusqu'à leur utilisation [16].

2.2 MATÉRIEL ANIMAL

Dans le souci d'obtenir une population homogène et suffisante des larves de *Tuta absoluta* pour les différents tests biologiques, Les larves utilisées dans notre étude a été collectés à partir de trois parcelles touchées par le ravageur *Tuta absoluta* dans la zone du M'nasra de la région du « Gharb-Chrarda-Beni hsen ».

2.3 ESSAIS BIOLOGIQUES

Les bio-essais ont été effectués au laboratoire dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre, à une température moyenne de 26 ± 2 °C et une humidité relative de 60 à 70%.

2.3.1 TOXICITÉ PAR CONTACT DE L'HUILE ESSENTIELLE SUR PAPIER FILTRE

Plusieurs tests préliminaires ont été effectués afin de choisir les doses à utiliser. Ainsi, les différentes doses de chaque huiles essentielles ont été préparées en diluant dans 5 ml d'acétone le volume de 10 μ l d'huile essentielle à tester, puis on diluant 1ml de solution préparée dans 1ml d'acétone et ensuite, une dilution en cascade à base de $\frac{1}{2}$ est effectuée dans des flacons contenant chacun 1 ml d'acétone, de manière à obtenir une gamme de doses comprise entre 1 μ l/ml et 0.125 μ l/ml. Chacune des solutions ainsi préparées a été répandue uniformément sur une rondelle de papier filtre (Whatman n° 1) de 9 cm de diamètre (soit 63,62 cm² de surface) posée dans une boîte de Pétri [17],[18] en verre de même diamètre. Cette rondelle a été laissée à la température ambiante pendant 15 minutes pour permettre l'évaporation complète du solvant de

dilution. Ainsi, si l'on veut exprimer les différentes quantités d'huile essentielle (1, 0.5, 0.25 et 0.125 μ l) par unité de surface de papier filtre (63,62 cm²) ceci correspond aux doses 0,0019; 0,0039; 0,0079 et 0,0157 μ l/cm² respectivement. Pour la cinquième dose ou témoin, la rondelle était traitée uniquement à l'acétone.

Un lot de 20 larves de *Tuta absoluta* fraîchement prélevés de leurs feuilles d'origine a été introduit dans chaque boîte de Pétri contenant une rondelle traitée; puis les boîtes ont été immédiatement refermées. Quatre répétitions ont été effectuées pour chaque dose et les larves morts ont été comptés (et maintenus dans les boîtes) toutes les heures pendant quatre heures.

Les mortalités dans les boîtes traitées (Mo) ont été exprimées selon la formule d'Abbott [19] en mortalités corrigées (Mc), tenant compte des mortalités naturelles observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante:

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

La méthode de Finney basée sur la régression des probits des mortalités en fonction des logarithmes des doses d'huile essentielle a permis de déterminer la DL₅₀ [20]. Ceci a été faite à l'aide du logiciel BioStat Pro 5.9.8.

2.3.2 EFFET REPULSIF DE L'HUILE ESSENTIELLE SUR PAPIER FILTRE

L'effet répulsif de l'huile essentielle à l'égard des larves de *Tuta absoluta* a été évalué en utilisant la méthode de la zone préférentielle sur papier filtre décrite par McDonald et al. en 1970 [21]. Ainsi, les disques de papier filtre de 9 cm de diamètre utilisés à cet effet ont été coupés en deux parties égales ayant chacune 31,80 cm² de surface. Quatre doses d'huile ont été préparées (1, 0.5, 0.25 et 0.125 μ l) par dilution dans 1ml d'acétone. Ensuite, 0,5 ml de chacune des solutions ainsi préparées a été répandue uniformément sur une moitié du disque correspondant donc respectivement aux doses de 0,0019; 0,0039; 0,0079 et 0,0157 μ l/cm² tandis que l'autre moitié a reçu uniquement 0,5 ml d'acétone.

Après quinze minutes, temps nécessaire pour l'évaporation complète du solvant de dilution, les deux moitiés des disques ont été ressoudées au moyen d'une bande adhésive. Le disque de papier filtre ainsi reconstitué a été placé dans une boîte de Pétri et un lot de 20 Larves, fraîchement prélevés de leurs feuilles d'origine a été placé au centre de chaque disque. Quatre répétitions ont été effectuées pour chaque dose.

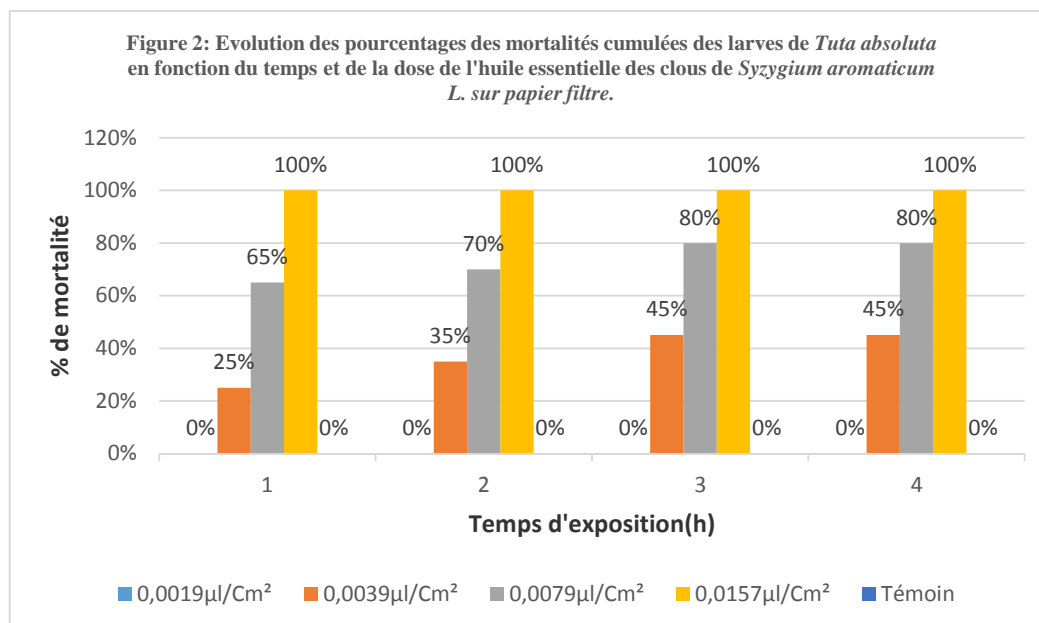
Au bout de deux heures, le nombre des larves présents sur la partie de papier filtre traitée à l'huile essentielle (Nt) et le nombre de ceux présents sur la partie traitée uniquement à l'acétone (Nc) ont été relevés. Le pourcentage de répulsion (PR) a été calculé en utilisant la formule suivante:

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

Le pourcentage moyen de répulsion pour l'huile essentielle a été calculé et attribué selon le classement de McDonald et al. en 1970 [21] à l'une des différentes classes répulsives variant de 0 à V: classe 0 (PR < 0,1%), classe I (PR = 0,1 – 20%), classe II (PR = 20,1 – 40%), classe III (PR = 40,1 – 60%), classe IV (PR = 60,1 – 80%) et classe V (PR = 80,1 – 100%).

3 RÉSULTATS ET DISCUSSION

La figure 2 illustre l'évolution des pourcentages des mortalités cumulées et corrigées par rapport au témoin des larves de *Tuta absoluta* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum*. On observe une variation du taux de mortalité avec la dose d'huile essentielle testée et le temps. La dose de 0.0111 μ l/cm² occasionne une mortalité totale des larves à la quatrième heure d'exposition. La valeur de la DL₅₀ est de 0,0047 μ l/cm² calculée après quatre heures d'exposition confirme le degré élevé de toxicité de cette huile essentielle sur papier filtre vis-à-vis des *Tuta absoluta*.



Les pourcentages de répulsion des différentes doses de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. sont récapitulés dans le tableau 1. Il en ressort qu'après deux heures d'exposition, les différentes doses de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. (0,0019; 0,0039; 0,0079; et 0,0157 µl/cm²) ont occasionné respectivement 55; 75; 85 et 98,75% de répulsion vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta*. Ceci montre clairement que le pourcentage de répulsion augmente en fonction de la dose. A la lumière de ces résultats, on peut noter que l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. a également une forte activité insectifuge à l'égard des larves de *Tuta absoluta* et appartiendrait selon le classement de McDonald et al. [21] à la classe répulsive IV avec un taux de répulsion moyen de 77,19%.

Tableau 1 : Pourcentages de répulsion sur papier filtre de l'huile essentielle des clous de *Syzygium aromaticum* L. vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta*

Doses (µl/cm ²)	Taux de répulsion en %
0,0019	55 ± 7,07
0,0039	75 ± 4,08
0,0079	85 ± 4,08
0,0157	98,75 ± 2,5
Moyenne	77,19 ± 4,43
Classe répulsive	IV

La nature volatile des constituants des huiles essentielles; nous amène à penser que le principe actif serait probablement un ou des constituants volatils contenus dans l'huile essentielle. Les effets toxiques et répulsifs de cette huile essentielle pourraient dépendre de sa composition chimique et du niveau de sensibilité des insectes [22]. Les huiles essentielles contiennent par définition des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages [23]. En effet, des chercheurs scientifiques ont mise en évidence trente et un composants dans l'huile essentielle des clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) [24], dont les principaux étant eugénol (72,40%), β-caryophyllène (12,61%) et l'acétate d'eugénol (9,59%) [25]. Les propriétés insecticides de l'eugénol ont déjà été démontrées vis-à-vis *Tribolium castaneum* et *Sitophilus zeamais* Motsch [26]. Cependant, il serait difficile de penser que l'activité insecticide de cette huile se limite uniquement à certains de ses constituants majoritaires; elle pourrait aussi être due à certains constituants minoritaires ou à un effet synergique de plusieurs constituants [27].

4 CONCLUSION

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a montré une activité insectifuge ainsi qu'une forte activité insecticide vis-à-vis des larves de *Tuta absoluta* in vitro. Leur intégration en gestion de *Tuta absoluta* au niveau des parcelles touchées peut

être envisagée. Ces résultats nous encouragent à poursuivre nos recherches scientifiques sur l'activité insecticide des constituants de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* à l'égard des larves de *Tuta absoluta* in vivo.

RÉFÉRENCES

- [1] Lange W.H. & Bronson L. (1981). Insect Pests of Tomatoes. Annual Review of Entomology 26, p. 345-371.
- [2] Sabbour M. M., Singer, S. M., 2014, Evaluations of Two *Metarhizium* varieties against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. International Journal of Science and Research (IJSR). September 2014. V. 3 Issue 9, p. 1983-1987.
- [3] Anonyme, 2015. Gestion phytosanitaire de la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* Myrick, 13p, URL/http://onssa.gov.ma/onssa/fr/doc_pdf/guide_pratique_gestion_de_la_tomate.pdf / page consultée le 30 juillet 2015.
- [4] Hormatallah, A., M. El Morsli, A. Dermouni, R. Salghi and L. Bazzi, 2010. Gestion des pesticides et contrôle de leurs résidus en culture de tomate sous serre dans quelques exploitations de la région du Souss-Massa. Proceedings du Septième Congrès de L'Association Marocaine de Protection de Plantes, Mai 2010, Rabat, Maroc, pp. 271-279.
- [5] Guenaoui Y. (2008). Nouveau ravageur de la tomate en Algérie: Première observation de *Tuta absoluta*, mineuse de la tomate invasive, dans la région de Mostaganem, au printemps 2008. Phytoma-La Défense des Végétaux 617, p. 18-19.
- [6] Lebdi Grissa Kaouther, Skander Manel, Mhafdhi Mouna et BelHadj Ridha, 2011, Lutte intégrée contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) en Tunisie. Entomol. faun. 2011(2010) 63 (3), 125-132.
- [7] Siqueira H.A.A, Guedes R.N., & Picanço M.C., 2000. Cartap resistance and synergism in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Appl. Ent. 124: 233- 238.
- [8] Desneux N., Wajnberg E., Wyckhuys K. A. G., Burgio G., Arpaia S. C. A., Narváez-Vasquez, González-Cabrera J., Ruescas D. C., Tabone E., Frandon J., Pizzol J., Poncet C., 2010, Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta* : ecology, geographic expansion and prospects for biological control. Journal of Pest Science. August, V : 83, Issue 3, pp : 197-215.
- [9] Harizanova V., Stoeva A., Mohamedova M., 2009, Tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Povolny) (Lepidoptera: gelechiidae) – first record in Bulgaria. Agricultural Science and Technology, Vol. 1, No 3, pp 95 - 98.
- [10] Khaled A., 2015, Etude de l'évaluation des dégâts provoqués par *Tuta Absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelichidae) sur tomate en plein champ au Maroc. IJETST- Vol.02, Issue.03, Pages 2046-2053.
- [11] Allache Farid, Houhou Mohamed Amine, Osmane Ismail, Naili Lamari & Demnati Fatma. 2012, Suivi de l'évolution de la population de *Tuta absoluta* Meyrick (Gelichiidae), un nouveau ravageur de la tomate sous serre à Biskra (sud-est d'Algérie). Faunistic Entomology 2012 (65), 149-155.
- [12] Yang, M.L., Zhang, J.Z., Zhu, K.Y., Xuan, T., Liu, X.J., Guo, Y.P. & Ma, E.B. (2009).- Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). Arch. Insect Biochem. Physiol., 71(1), 3-15.
- [13] Chaabane M., Benchaabane S., Kilani-Morakchi S. et Aribi N., 2012, Physiotoxicité du spinosad, évaluée sur deux générations, chez une espèce invasive, *Tuta absoluta* (Lepidoptera), et chez un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera). Bull. Soc. zool. Fr., 2012, 137(1-4) : 61-72.
- [14] Kouamé R. O. et al. (2004). Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. C. R. Chimie 7 : 1081–1086.
- [15] Dossou Sika S. K. et al. (2011). Chemical composition and seasonal variation of essential oil of *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst subsp birrea leaves from Benin. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(18), pp. 4640-4646.
- [16] Botelho M.A. et al. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. Brazilian Journal of Medical and Biological Research 40: 349-356.
- [17] Obeng-Ofori D., Reichmuth C.H., Bekele J. & Hassanali A., 1997, Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. Journal of Applied Entomology, 121, 237-243.
- [18] Tapondjou L.A., Alder C., Fontem D.A., Bouda H. & Reichmuth C., 2005, Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. Journal of Stored Products Research, 41, 91-102.
- [19] Abbott W.S., 1925, A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- [20] Finney D.J., 1971, Statistical Methods in Biological Assay, 2nd edition. London: Griffin, 333 p.
- [21] McDonald L.L., Guy R.H. & Speirs R.D., 1970, Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Res. Rep. n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric., 183 p.

- [22] Casida J.H., 1990, Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets. *In*: Casida J.E. (ed.). Pesticides and alternatives. Innovative chemical and Biological Approaches to Pest Control. Amsterdam: Elsevier, pp. 11-22.
- [23] Cseke, L.J. et P.B. Kaufman. 1999. How and why these compounds are synthesized by plants. Pages 37-90 in P.B. Kaufman, L.J. Cseke, S. Warber, J.A. Duke et H.L. Brielmann (eds.), Natural Products from Plants. CRC Press, Boca Raton, FL.
- [24] Gaylor Razafimamonjison, Michel Jahiel, Panja Ramanoelina¹, Fanja Fawbush¹, Pascal Danthu, 2013, Effects of phenological stages on yield and composition of essential oil of *Syzygium aromaticum* buds from Madagascar. International Journal of Basic and Applied Sciences, 2 (4) (2013) 312-318.
- [25] Iwan Safrudin, Askal Maimulyanti, Anton Restu Prihadi, 2015. Effect of crushing of clove bud (*Syzygium aromaticum*) and distillation rate on main constituents of the essential oil. American Journal of Essential Oils and Natural Products 2015; 2 (3): 12-15.
- [26] Yan Huang, Shuit-Hung Ho, Hsien-Chieh Lee, Yen-Ling Yap, 2002, Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Stored Products Research Volume 38, Issue 5, 2002, Pages 403-412.
- [27] Agnès F. N., Taponjou¹ A.L., Tendonkeng F., Tchouanguép F. M., 2009, Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). TROPICULTURA, 2009, 27, 3, 137-143.