

EFFET DES EXTRAITS AQUEUX DE DEUX ESPECES D'ARMOISE ALGERIENNE (*ARTEMISIA HERBA ALBA* ET *ARTEMESIA JUDAICA*) IN VITRO SUR LES LARVES (L2) DE *MELOIDOGYNE*

Dhaouya NEBIH HADJ-
SADOK, Nawel KHEIR et
Hadjira BELKAHLA¹

(1) Université de Blida1,
Faculté des Science de la
Nature et de la Vie,
Département des
Biotechnologies, BP.270
route Soumaa, Blida, Algérie.
Email :
nebihdhaouia@yahoo.fr

RÉSUMÉ

Deux espèces d'armoise ont été récoltées séparément : *Artemisia herba alba* provenant de la région aride « M'sila » et *Artemisia judaica* provenant de la région saharienne « Tamanrasset ». Les extraits aqueux des parties aériennes des deux espèces d'armoise ont été testés in vitro sur des larves (L2) de *Meloidogyne*. Les résultats ont révélé un pouvoir nématocide vis à vis des juvéniles des nématodes à galles. Toutefois, la toxicité d'*Artemisia herba alba* s'avère plus importante que celle d'*Artemisia judaica*. Par ailleurs, l'efficacité des armoises testées varie significativement en fonction des concentrations de l'extrait et de la durée d'exposition au traitement.

Mots-clés : *Activité nématocide, Artemisia spp., Extrait aqueux, Meloidogyne*

EFFECT OF AQUEOUS EXTRACTS OF TWO SPECIES OF ALGERIAN ARMOISE (*ARTEMISIA HERBA ALBA* AND *A. JUDAICA*) IN VITRO ON THE LARVAE (L2) OF *MELOIDOGYNE*

ABSTRACT

Two *Artemisia* species were separately collected, *Artemisia herba alba* coming from the arid area "M'sila" and *A. judaica* from the Saharan area "Tamanrasset". The aqueous extracts of the Green parts of the two plant species were tested in vitro on *Meloidogyne* larvae (L2). The results revealed a nematocidal activity against those root knot nematodes. However, the *A. herba alba* toxicity appeared more important than *A. judaica*. In addition, the effectiveness of the *Artemisia* tested varies significantly according to the concentrations of the plant extract and the exposure time to the treatment.

Key words: *Artemisia spp, Aqueous extract, Meloidogyne, Nematicidal activity*

1. INTRODUCTION

Les cultures maraîchères apparaissent comme l'un des secteurs les plus prometteurs de l'agriculture Algérienne. Les superficies destinées aux cultures maraîchères sous abris froids sont en perpétuelle évolution. Elles sont passées de 199 ha en 1981, à 5000 ha en 1995 [1]. Actuellement, les superficies sont estimées à 7794,72 ha [2]. Les nématodes du genre *Meloidogyne* représentent un problème phytosanitaire majeur pour ces cultures. L'évaluation des dégâts occasionnés par ces nématodes reste difficile à établir. Néanmoins, les nombreuses prospections réalisées aussi bien en plein champs que sous abri plastique ont montré que ces nématodes constituent une menace très sérieuse et sont à l'origine des faibles rendements enregistrés sur ces cultures.

En Algérie, ces nématodes sont connus depuis longtemps [3]. Les agriculteurs algériens connaissent bien ce type de nématodes à cause des déformations provoquées sur le système racinaire. Ils les désignent sous le nom de «maladie de la patate». Plusieurs travaux ont montré l'importance des infestations des cultures maraîchères par le genre *Meloidogyne*. Aussi bien dans zones du littoral, avec des pourcentages d'infestations allant de 49 à 100 % [4 ; 5 ; 6] que dans les zones sahariennes [7 ; 8].

La lutte chimique est le moyen le plus usité, mais n'est pas en mesure de résoudre durablement le problème de ces nématodes parasites. Face aux normes environnementales imposées par la communauté internationale, l'agriculture raisonnée représente

aujourd'hui un enjeu important pour la gestion durable des parasites et ravageurs des cultures. De ce fait, la mise au point de stratégies de lutte biologique contre les nématodes associés aux cultures maraîchères s'avère indispensable.

L'objectif de notre étude est d'évaluer les potentialités nématicides in vitro de deux espèces d'armoise « *Artemisia herba alba* » et « *A. judaïca* » sur les nématodes à galles *Meloidogyne spp.* Cette approche novatrice devrait conduire à l'élaboration d'une stratégie de lutte mieux adaptée à la gestion durable de ce genre de nématode en particulier sur cultures maraîchères et à la préservation des agro-écosystème.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Préparation des extraits aqueux

Les parties aériennes des deux espèces d'armoise sont cueillies au mois d'Août 2010 dans deux régions différentes. *Artemisia herba alba* provient de la région de M'sila (zone aride) et *A. judaïca* de la région de Djanet (zone saharienne). Les plantes récoltées ont été étalées et séchées à l'ombre pendant 1 mois puis rangées dans un sac jusqu'au moment de leur utilisation.

Les plantes sont ensuite broyées et tamisées. La poudre obtenue est utilisée pour la préparation de l'extrait qui sera testé dans notre étude.

Le procédé d'extraction utilisé dans notre expérimentation est la macération aqueuse qui consiste à maintenir la poudre de la plante en contact avec l'eau à une température ambiante afin de libérer les molécules actives existantes dans la plante.

La méthode de préparation de

l'extrait aqueux est celle décrite par Djellout [9]. Pour cela 20 g de la poudre végétale est mise en suspension avec 250 ml d'eau distillée stérile dans un flacon hermétiquement fermé et parfaitement enveloppé par du papier aluminium. Il est ensuite placé sous agitateur horizontal pendant 72 h. Après 72 h, le mélange est filtré dans une bouteille en verre stérile, entièrement couverte par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière. L'extrait pur obtenu est conservé ainsi au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment de son utilisation.

2.2. Préparation de la gamme des solutions

A partir de l'extrait aqueux pur (P) de la plante obtenue après filtration, nous avons préparé séparément les différentes dilutions (P/2 et P/4) dans des bouteilles stériles protégées par du papier aluminium et conservées à 4°C.

Le pH des extraits aqueux pur et dilué au (1/2) et au (1/4) est mesuré. Ensuite des solutions aux mêmes pH que les extraits sont préparés et conservés à 4°C.

Pour comparer l'effet de nos extraits de plante, nous avons préparé un témoin positif au produit chimique dont la matière active est l'Oxamyl à la concentration de 1,5 ml/l. Cette concentration a été diluée à l'eau distillée au (1/2) et au (1/4) puis conservée dans des bouteilles stériles au réfrigérateur jusqu'au moment des essais.

2.3. Préparation des larves (L₂) de *Meloidogyne spp.*

Les échantillons de racines de la courge infestées par les nématodes à galles *Meloidogyne spp.* ont été collectés en fin de culture dans la zone de Fouka puis ramenés au laboratoire.

Les racines sont lavées à l'eau courante puis à l'eau distillée et sont mises dans une boîte de Pétri en verre pour extraire les masses d'œufs. Cette opération s'est déroulée sous une loupe binoculaire au grossissement (x10) ou (x25), par la méthode de forceps en utilisant deux aiguilles entomologiques.

Les masses d'œufs isolées des femelles de *Meloidogyne* (15 à 30 masses) sont déposées dans de petits tamis en plastiques de 2 à 4 cm de diamètre. Ces derniers sont placés dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée puis sont mises à l'étuve à 25°C en vue d'éclosion massive. Après éclosion, les larves (L₂) libérées progressivement dans l'eau sont récupérées et comptées quotidiennement.

Pour nos essais, nous avons compté et réparti les larves de *Meloidogyne* en des lots de 20 larves (L₂) dans des salières contenant 0,5 ml d'eau. Un total d'environ 600 larves a été compté.

2.3. Dispositif expérimental des essais

Les tests sont effectués dans une série de salières, chaque salière contient 0.5 ml d'eau distillée additionnée de 20 larves de deuxième stade préalablement comptées. Les traitements (extrait aqueux des deux armoises et Oxamyl) et leurs dilutions (1/2 et 1/4) sont alors ajoutés à la suspension de larves à raison de 1 ml chacun. Pour comparer l'efficacité des traitements, nous avons préparé deux témoins ; un à l'eau distillée stérile et l'autre au pH des extraits aqueux des plantes « *Artemisia herba alba et A.judaïca* ». L'effet toxique des différents traitements est évalué après un temps d'immersion de 24, 48 et 72 heures. Chaque traitement est répété trois fois.

L'évaluation de l'effet irréversible d'extrait de « *Artemisia herba alba et Artemisia judaïca* » et de l'Oxamyl est accompli après 72 h. Les juvéniles sont lavées trois à

quatre fois à l'eau distillée dans les salières pour éliminer le traitement et remis à l'étuve à 25 °C pendant 24 h en vue de la revitalisation. Le pourcentage de larves mortes dans chaque boîte est estimé après 24 h, 48 h et 72 h d'incubation.

Toutes les données recueillies ont subi une analyse de la variance (ANOVA) en utilisant le Modèle Linéaire Global (GLM) (SYSTAT VERS. 12, SPSS 2009).

3. RESULTATS

3.1. la toxicité des extraits aqueux des deux armoises

Le tableau (1) révèle des différences très hautement significatives entre les traitements et leurs concentrations avec une probabilité de 5 % (P=0.000 ; p < 0.05). L'effet toxique des traitements présente une variation très significative dans le temps (P=0.001 ; p < 0.05).

Tableau.1 : variation de la toxicité des traitements dans le temps en fonction des concentrations

Source	Somme des carrés	df	Moyenne carré	F ratio	P
Traitements	205940.269	5	41188.054	268.817	0.000
Temps	2220.130	2	1110.065	7.245	0.001
Concentrations	7769.531	2	3884.765	25.354	0.000
Erreur	19612.107	128	153.220		

L'analyse de la figure (1) confirme que l'extrait d'*A. herba alba* est plus toxique que celui de *A. judaïca*. L'efficacité d'*A. herba alba* est presque comparable à celle du produit chimique de référence. Elle

agit rapidement et entraîne une forte mortalité des larves de *Meloidogyne* dès les premiers 24 h d'exposition notamment pour les extraits purs et dilué au 1/2.

En ce qui concerne l'efficacité des

traitements, l'analyse révèle qu'elle varie en fonction des dilutions et du temps. Elle est plus élevée dans les extraits purs et après 72 h d'exposition.

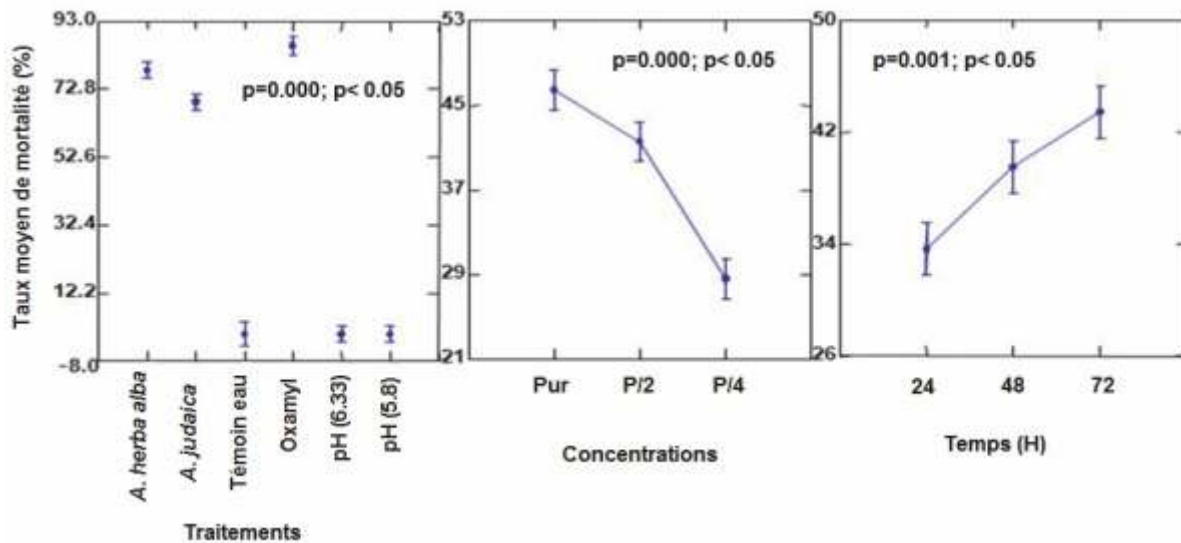


Figure 1 : Effet toxique des traitements en fonction des concentrations et du temps

3.2 Evaluation de l'effet irréversible des extraits aqueux

Afin d'évaluer l'effet irréversible des espèces d'armoise utilisées, nous avons étudié le taux de revitalisation des larves après 72 h

de traitement. Les résultats (fig.2) révèlent que la toxicité de l'extrait aqueux de *A. herba alba* est irréversible notamment dans l'extrait pur alors que dans l'extrait dilué au 1/2, très peu de larves restent actives (10.55%). En ce qui

concerne l'extrait de l'armoise *A. judaica*, nous observons des taux de revitalisation plus importants que pour ceux du produit chimique de référence quelque soit la concentration.

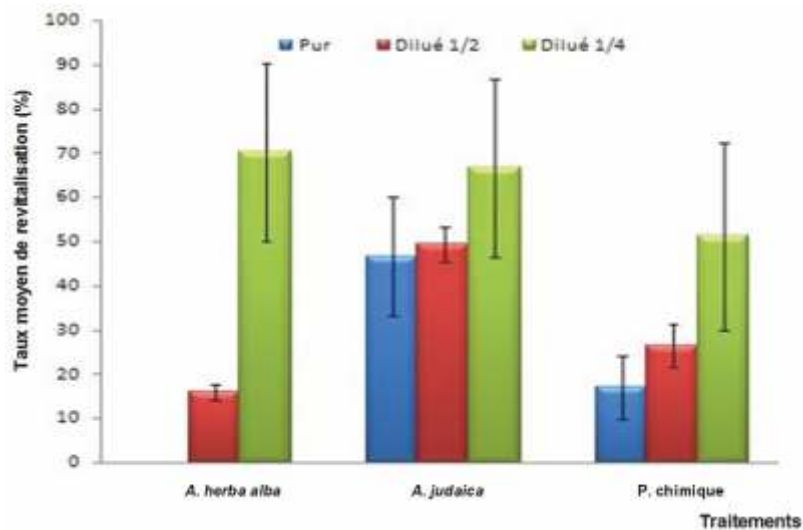


Figure 2 : Evaluation des taux de revitalisation des *Meloidogyne*

Le modèle G.L.M. appliqué à l'évaluation de la revitalisation en fonction des traitements effectués et des concentrations (table. 2), montre des variations significatives des taux de revitalisation des larves des *Meloidogyne* en fonction des doses testées ($p=0,006$; $p<0,05$) et des traitements ($p=0,000$; $p<0,05$).

Tableau 2 : l'évaluation de la revitalisation en fonction des traitements

Source	Somme des carrés	df	Moyenne carré	F ratio	P
Traitements	3390.025	2	1695.013	6.839	0.006
Concentrations	7906.150	2	3953.075	15.951	0.000
Erreur	4708.815	19	247.832		

La figure (3) témoigne de la toxicité élevée d'*A. herba alba* vis-à-vis des larves de *Meloidogyne* comparé à

celles d'*A. judaica* et du produit chimique de référence. En effet, *A. herba alba* présente une action

irréversible notamment pour l'extrait pur.

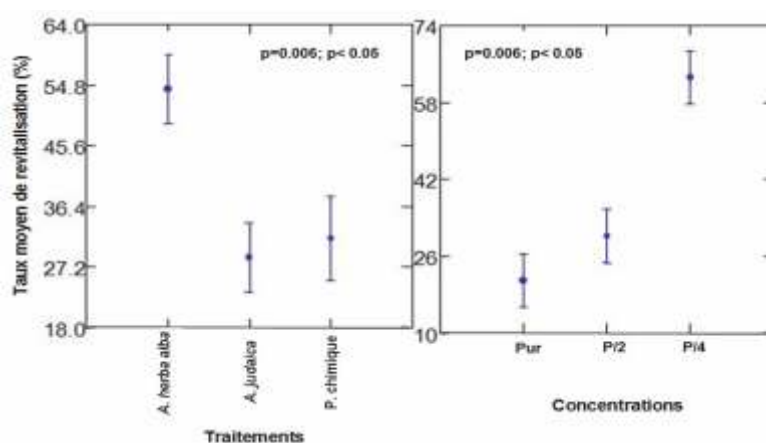


Figure 3 : la revitalisation en fonction des traitements et des concentrations

4. DISCUSSION

Les produits naturels semblent fournir une solution viable aux problèmes provoqués par les nématodes. Plusieurs composés nématocides ont été isolés des plantes d'*Asteraceae*. Les plus étudiés sont les Polythienyls, particulièrement α -terthienyl extraits des espèces de *Tagetes* et d'autres *Asteraceae* [10]. D'après Munakata [11], la plupart des substances naturelles nématocides sont décomposables et non polluantes et peuvent avoir une activité systémique (véhiculées par la sève de la plante).

Les extraits aqueux de deux espèces d'armoise « *A. herba alba* et *A. judaica* » ont montré une activité toxique vis-à-vis des larves (L_2) de

Meloidogyne. Divers auteurs signalent l'efficacité de plusieurs espèces d'*Asteraceae* sur les espèces de nématodes à galles. Dias *et al.* [12] citent *Artemisia verlotorum* et *A. absinth* ; Ahmed *et al.* [13] évoquent *Calendula officinalis* et Bar-eyal *et al.* [14] *Chrysanthemum coronarium*.

Les taux de mortalité produits varient en fonction de l'espèce végétale, de la concentration de l'extrait et du temps d'exposition. La toxicité des extraits d'*A. herba alba* est plus élevée que celle d'*A. judaica*. Nos résultats sont conformes à ceux d'El badri [15] qui a enregistré une différence d'action entre les 27 extraits de plantes testées contre les juveniles (J_2) de *M. incognita*.

La toxicité d'*A. herba alba* est nettement visible dès les premiers 24 h d'exposition dans l'extrait pur où la totalité des larves de *Meloidogyne* meurt (100 % d'efficacité). L'action de cette espèce d'armoise est similaire à celle du produit chimique de référence testé. La toxicité des extraits aqueux des deux armoises vis à vis des larves de *Meloidogyne* est probablement due à la présence de principes actifs toxiques. Chitwood [16] signale plusieurs composés à activité nématocides dans les plantes. Parmi eux les alcaloïdes, les diterpènes, les acides gras, les glucosinolates, les isothiocyanates, les phénols, les polyacétylènes, les sesquiterpènes et les thienyls.

L'étude de l'ANOVA modèle (GLM) montre des variations significative des taux de revitalisation des larves des *Meloidogyne* en fonction des doses testées ($p=0,006$; $p<0,05$) et des traitements ($p=0,000$; $p<0,05$). En effet, *A. herba alba* présente une action irréversible plus élevée qu'*A. judaica*, notamment pour l'extrait pur. Par ailleurs, l'effet réversible des plantes testées est inversement proportionnel aux concentrations utilisées. Selon Khan [17], les extraits de plantes possèdent des propriétés anesthésiques nématostatique qui agissent différemment sur les larves. Cette propriété reflète des différences dans la nature des métabolites chimiques et dans le type du principe actif toxique des espèces végétales. Jourand *et al.* [18] signalent que l'extrait aqueux des feuilles de *Crotalaria grantiana* (légumineuse) présente un effet nématostatique vis-à-vis des (L_2) de *M. incognita* et non nématocide. Les juvéniles ne sont pas tués par l'extrait mais seulement paralysés.

5. CONCLUSION

Cette étude a démontré l'efficacité in vitro des deux espèces d'armoise dans le contrôle des *Meloidogyne*. Ainsi, ces plantes peuvent contribuer à réduire l'utilisation des nématocides de synthèse potentiellement plus toxiques. Des recherches restent à développer, principalement sur des formulations, des méthodes d'application et sur la stabilité de ces composés dans le sol, pour développer des bio-nématocides conformes aux attentes des producteurs.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Anonyme, 1996 - Statistique agricole superficie et production. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, série "B", Alger, 11 p.
- [2] Anonyme, 2009 - Statistique agricole superficie et production. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, série "A", Alger, 11 p.
- [3] Lamberti F., Greco N. And Vovlas N., 1977- Patogenicita di due specie di *Meloidogyne* nei confronti di quattro varietà di Palma da dattero. *Nematol. Medit.*, 5, pp. 159-172.
- [4] Mokabli A., 1988- Principaux facteurs qui déterminent l'importance et l'agressivité des *Meloidogyne* sous abris serres en Algérie. Thèse Magister. Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 69 p.
- [5] Sellami S., Lounici M., Eddoud A. et Benseghir H., 1999 - Distribution et plantes hôtes associées aux *Meloidogyne* sous abris plastiques en Algérie. *Nematol. Medit.*, 27, pp. 295-301.
- [6] Nebih Hadj-Sadok., 2000- Etude de la biologie des *Meloidogyne spp.* (*Nematoda-Meloidogynidae*) dans quelques régions du littoral algérien. Thèse Magister. Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 176p.
- [7] Ighilli H., 1986- Inventaire des nématodes phytophages sur cultures maraîchères et sur palmier dattier dans la région de Ouargla. Thèse Ing. Agro., I.N.A. El-Harrach, 52p.
- [8] Nadji A., 1988- Inventaire de la nématofaune sur culture maraîchères et contribution à l'étude de quelques aspects biologique des *Meloidogyne*. Thèse Ing. Agro., I.N.A. EL-Harrach, 52p.
- [9] Djellout H., 2009- Evaluation de pouvoir antibactérien de quatre plantes spontanées. Thèse. Ing. Phytopathol. Univ. Blida, 60p.
- [10] Gommers et Bakker F.J., 1988 - Physiological diseases induced by plant response or products. In: G.O. Poinar and H.-B. Jansson, Editors, *Diseases of Nematodes* vol. 1, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 3–22.
- [11] Munakata K., 1979- Nematocidal Natural Products. In D.L. Whitehead et W.S. Bowers: Natural product for innovative pest management. Pergamon press Oxford.
- [12] Dias C.R., Schwan A.V., Ezequiel D.P., Sarmiento M.C. et Ferraz S., 2000- Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*, *Nematol. Bras.*, 24, pp 203–210
- [13] Ahmed AA, Jakupovic J, Mabry TJ., 1993- Sesquiterpene glycosides from *Calendula arvensis*. *J Nat Prod*, 56, pp 1821-4.
- [14] Bar-Eyal M., Sharon E et Spiegel Y., 2006 -Nematicidal activity of *Chrysanthemum coronarium* L., *Eur. J. Plant Pathol.*, 114, pp 427–433
- [15] El badri G.A., Lee D. W., Park J.C., Yu H. B. et Choo H.Y., 2008- Evaluation of various plant extracts for their nematocidal efficacies against juveniles of *Meloidogyne incognita* *Journal of Asia-Pacific Entomology* 11, pp 99–102
- [16] Chitwood D.J., 2002 - Phytochemical based strategies for nematode control, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 40, pp 221–249.
- [17] Khan S.A., 2009 - Screening of tomato cultivars against root knot nematodes and their biological management. Thèse Doc. Univ of Agriculture, Faisalabad, Pakistan. 152p.
- [18] Jourand P., S. Rapior , M . Fargette and T. Matteille., 2004 - Nematostatic activity of aqueous extracts of West African *Crotalaria* species. *Nemat.*, 6 (5) pp 765-771.