

EFFICACITE DE LUTTE BIOLOGIQUE PAR UTILISATION DES EXTRAITS TOTAUX DE PLANTES ADVENTICES

Lamia TAFIFET,
Zoulikha KRIMI &
Dhaouia NEBIH

Laboratoire de
phytobactériologie,
Département des
Biotechnologies, Faculté
des Sciences de la Nature
et de la Vie, Université
de Blida 1. BP 270, route
de Soumaa, Blida Algérie.
E-mail :
lamia.tafifet@hotmail.fr

Résumé

L'efficacité bactéricide, fongicide et nématocide *in vitro* de quatre espèces végétales adventices ; *Euphorbia helioscopia*, *Plantago lanceolata*, *Calendula arvensis* et *Urtica dioica* a été testée dans la présente étude.

Les résultats de l'effet antibactérien des extraits ont montré une très grande efficacité de *Plantago lanceolata*, d'*Euphorbia helioscopia* et de *Calendula arvensis* sur les souches bactériennes phytopathogènes, telles que ; *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Erwinia amylovora*, *Agrobacterium vitis* et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Les tests antifongiques des extraits bruts ont montré une efficacité très significative des différentes espèces spontanées en particulier, *Calendula arvensis* avec des pourcentages d'inhibition qui dépassent 55%. L'espèce *Urtica dioica* s'avère la plus toxique sur les nématodes à galles comparée aux autres espèces avec 100% de mortalité après 72h d'exposition au traitement.

Mots clés : plantes spontanées, extrait aqueux, activité biopesticide, toxicité.

BIOLOGICAL CONTROL USING TOTAL EXTRACTS FROM SPONTANEOUS PLANTS

ABSTRACT

This present study aims to evaluate the bactericidal, fungicidal and nematocidal effects *in vitro* of four spontaneous plant species: *Euphorbia helioscopia*, *Plantago lanceolata*, *Urtica dioica* and *Calendula arvensis*. The results of the antibacterial effect of the extracts showed a very high efficiency of *Plantago lanceolata*, *Euphorbia helioscopia* and *Calendula arvensis* on bacterial strains studied specifically; *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Erwinia amylovora*, *Agrobacterium vitis* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. The antifungal tests of crude extracts showed a very significant efficacy of the plant, *Calendula arvensis* with inhibition percentages exceeding 55%. Indeed, *Urtica dioica* is most toxic to root-knot nematodes compared to other species with 100% mortality after 72 hours of exposure to the treatment.

Key words: spontaneous plants, aqueous extract, biopesticide activity, toxicity.

1. INTRODUCTION

Les plantes sont attaquées par divers types de micro-organismes pathogènes, des nématodes phytoparasites et des insectes. Les méthodes de lutte chimiques sont efficaces contre les champignons par l'utilisation de fongicides alors que les maladies virales et bactériennes sont incurables et nécessitent des moyens de lutte préventifs.

Toutefois, les interventions phytosanitaires présentent des effets néfastes sur l'environnement entraînant des désordres écologiques [1].

Il était urgent de développer des méthodes de contrôle et de protection plus écologiques tout comme les approches alternatives complémentaires et innovantes. Cette démarche s'inscrit dans le cadre du développement d'une protection intégrée, raisonnée ou biologique telle que l'utilisation de biopesticides [2]. Les biopesticides d'origine végétale peuvent constituer une solution alternative au «tout chimique» au cours de ces dernières décennies. A cet effet, de nombreuses espèces végétales ont été répertoriées comme présentant une activité biopesticide sur une large gamme d'insectes phytophages, de bactéries, de champignons et de nématodes phytoparasites [3].

Dans ce contexte, nous avons proposé d'évaluer l'efficacité biopesticide *in vitro* de quelques

plantes sur les bactéries et champignons phytopathogènes et des nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Des extraits aqueux de quatre espèces de plantes spontanées sont étudiées: *Urtica dioica*, *Euphorbia helioscopia*, *Calendula arvensis* et *Plantago lanceolata*.

Ces plantes sont collectées, séchées puis réduites en poudre.

Le procédé d'extraction utilisé au cours de cette expérimentation est la macération aqueuse qui consiste à mettre en solution 20 g de matériel végétal sec dans 250 ml d'eau distillée stérile. Le mélange pour chaque espèce végétale est mis dans des flacons hermétiques, sous agitation horizontale pendant 72h à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur papier Whattman, les flacons des différents extraits sont conservés à 4°C à l'obscurité pour une utilisation ultérieure.

2.2. Tests biologiques

Les extraits aqueux obtenus sont testés *in vitro* à l'égard d'une gamme des pathogènes étudiés : sept bactéries phytopathogènes (*Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium vitis*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *citri* et *Ralstonia*

solanacearum). Dix espèces de champignons dont 9 phytopathogènes (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*, *Alternaria chlamydosporia*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Aspergillus fumigatus*, *Phomopsis vaccinii*, *Paecilomyces* sp. et *Pochonia chlamydosporia*) ont été testés. Des larves juvéniles de *Meloidogyne* spp. ont également subi les tests d'efficacité avec les extraits aqueux des plantes spontanées.

L'évaluation de l'efficacité biopesticide des extraits aqueux est révélée par la mesure des zones d'inhibition de la croissance bactérienne, la croissance mycélienne et le comptage de larves (L2) mortes pour l'activité nématicide.

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des extraits vis-à-vis des souches bactériennes, des isolats fongiques, et des nématodes à galles testés et la comparaison entre les extraits aqueux, des analyses ont été faites en utilisant le modèle linéaire global (G.L.M.) (SYSTAT vers. 12, SPSS 2009).

3. RESULTATS

3.1. Action antibactérienne

Les extraits totaux utilisés se sont révélés qualitativement et quantitativement actifs sur les souches bactériennes testées se traduisant par la formation de zones d'inhibition claires, comparées au témoin (figure1).

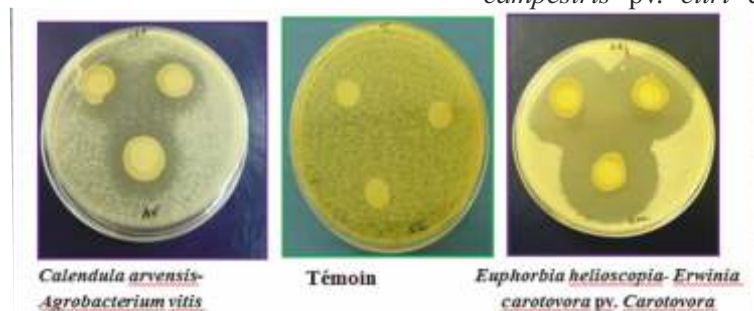


Figure 1. Pouvoir antibactérien des extraits aqueux représentés par des zones d'inhibition

L'application du modèle G.L.M (figure 2), a permis de déduire que les effets antibactériens des extraits sont hautement significatifs selon l'espèce spontanée ($P=0.000$) ($p < 5\%$).

Les extraits des trois plantes *Euphorbia helioscopia*, *Plantago lanceolata* et *Calendula arvensis* se sont révélés très toxiques sur toutes les souches bactériennes en particulier *Xanthomonas campestris* pv. *Citri*, *Erwinia*

carotovora pv. *carotovora* et *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis* avec des taux d'inhibition dépassant 61%.

Par ailleurs, les extraits de l'espèce *Plantago lanceolata* montrent une activité antibactérienne très élevée sur les souches *Erwinia amylovora* ($D=31.5$ mm), *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, *Agrobacterium vitis* et *Agrobacterium tumefaciens* ($D \geq 25$ mm). D'autre part, *Calendula arvensis* a montré un

effet élevé sur les souches d'*Agrobacterium vitis*, *Erwinia amylovora* et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ($D>30$ mm).

L'extrait d'*Urtica dioica* a montré un effet significatif sur *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ($D>30$ mm), *Agrobacterium vitis* et *Agrobacterium tumefaciens* ($D \geq 20$ mm).

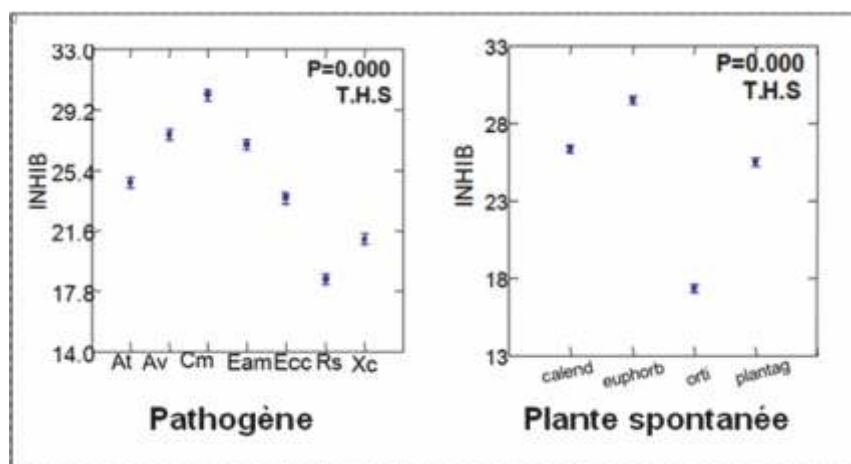


Figure 2. Effet des extraits des plantes spontanées sur les sept souches bactériennes

(At: *Agrobacterium tumefaciens* ; Av: *Agrobacterium vitis* ; Rs: *Ralstonia solanacearum*, Xc: *Xanthomonas campestris* pv. *citri*, et Cm : *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ; Eam : *Erwinia amylovora*, Ecc : *Erwinia carotocora* pv. *carotovora*).

3.2. Action antifongique

Les extraits des plantes étudiées, sont efficaces sur tous les isolats

fongiques étudiés se traduisant par une inhibition de la croissance mycélienne des champignons

phytopathogènes qui varie d'une espèce fongique à une autre (figure 3).

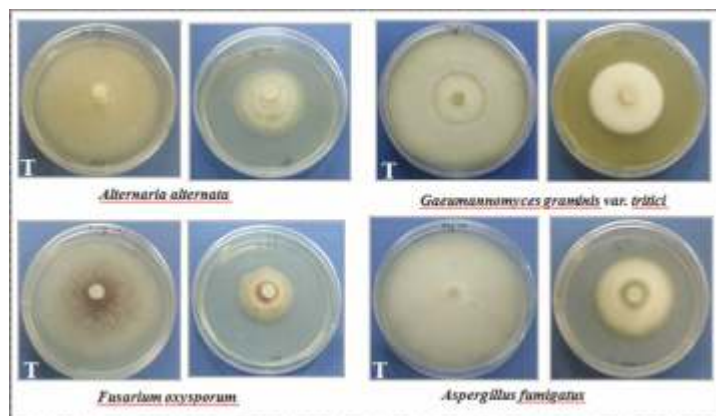


Figure 3. Pouvoir antifongique des extraits bruts testés représentés par l'inhibition de la croissance mycélienne. (T : témoin)

Les effets antifongiques des extraits sont hautement significatifs selon l'espèce spontanée, et la souche testée ($P=0.000$) ($p < 5\%$).

Parmi les espèces étudiées, *Calendula arvensis* présente des effets antifongiques très élevés dont les pourcentages d'inhibition dépassent les 75% pour les isolats *Alternaria chlamydosporia*, *Aspergillus fumigatus* et *Phomopsis vaccinii*.

Les espèces *Fusarium oxysporum*,

Fusarium solani, *Aspergillus fumigatus*, *Phomopsis vaccinii* et *Pochonia chlamydosporia* présentent une sensibilité importante vis-à-vis des espèces spontanées, se traduisant par un pourcentage d'inhibition supérieur ou égal à 50% (figure 4).

Les extraits aqueux issus de *Calendula arvensis* et *Raphanus raphanistrum* présentent des effets antifongiques très importants sur *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium*

solani et *Fusarium oxysporum* en montrant une inhibition significative. L'activité inhibitrice de ces deux espèces est puissante, les pourcentages d'inhibition varient pour *Calendula arvensis* entre 27,68% dans le cas d'*Alternaria alternata* et 55,33% dans le cas de *Fusarium solani*. l'espèce *Rhizoctonia solani* se révèle la plus résistante avec un pourcentage d'inhibition d'environ 20%.

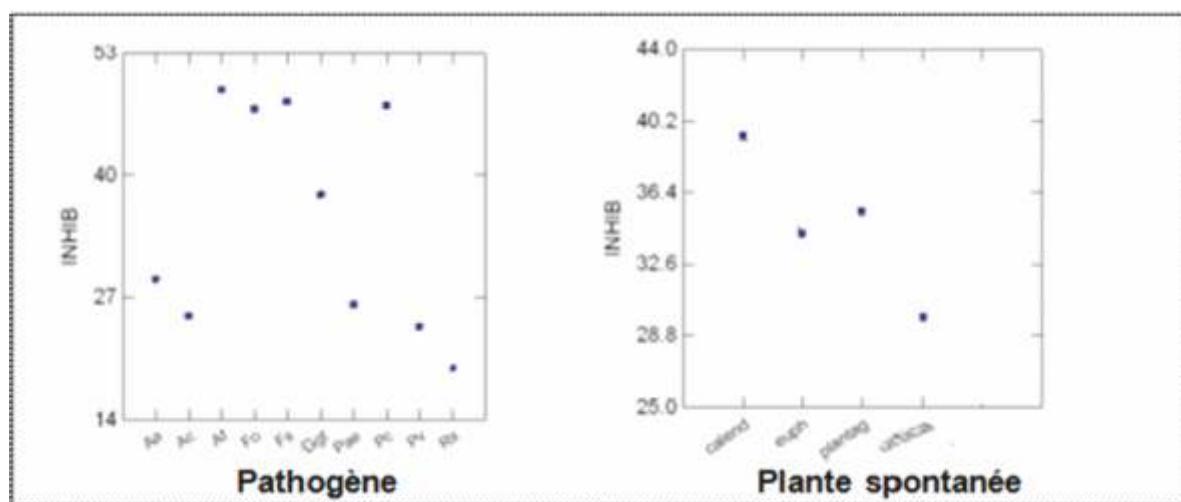


Figure 4: Effet des extraits des plantes spontanées sur les isolats fongiques.

(*Fusarium oxysporum* (Fo), *Fusarium solani* (Fs), *Alternaria alternata* (Aa), *Alternaria chlamydosporia* (Ac), *Rhizoctonia solani* (Rs), *Gaeumannomyces graminis var tritici* (Ggt), *Aspergillus fumigatus* (Af), *Phomopsis vaccinii* (Pv)).

3.3. Action nématicide

Les espèces végétales testées ont des effets très hautement significatifs sur la mortalité des larves du deuxième stade L2 ($P=0.000$) ($p < 5\%$).

Les extraits végétaux se sont révélés qualitativement et quantitativement actifs sur les nématodes à galles se traduisant par une augmentation de la mortalité des larves du deuxième

stade en fonction de l'augmentation de la période d'exposition au traitement avec un effet choc élevé (figure 5).

L'extrait d'*Urtica dioica* est caractérisé par une très forte activité nématicide représentée par des pourcentages les plus élevés allant jusqu'à 100% de mortalité après 72h de traitement.

L'activité nématicide des extraits

des deux espèces *Plantago lanceolata* et *Euphorbia helioscopia* augmente en fonction du temps d'exposition, et présente un pourcentage de mortalité allant jusqu'à 55% après 72h.

L'espèce *Calendula arvensis* présente une toxicité plus faible par rapport aux autres espèces végétales (30% de mortalité).

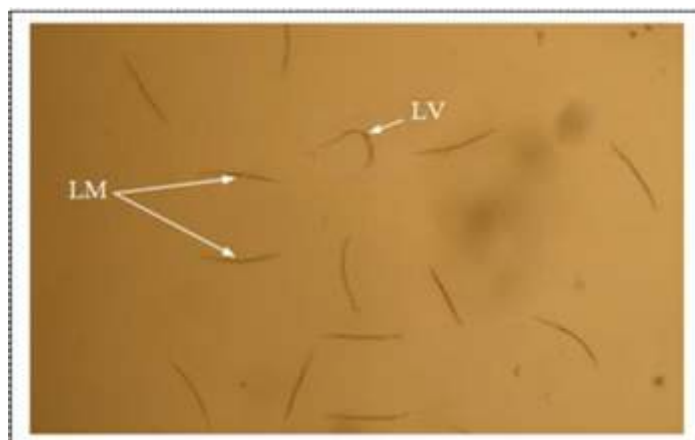


Figure 5. Activité nématicide des extraits aqueux sur le comportement des larves de *Meloidogyne* spp. (LV : Larve Vivante; LM : Larves Mortes)

4. DISCUSSION

Actuellement, les extraits bruts des plantes commencent à avoir un intérêt très prometteur comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Les extraits végétaux font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématicides et fongicides.

Concernant les effets biocides des extraits aqueux sur les bactéries phytopathogènes testées, de nombreux travaux ont mis en évidence le pouvoir antibactérien élevé des composés phénoliques, des tanins et des alcaloïdes [4] et qui peuvent être en partie responsables de l'activité antibactérienne obtenue et concordants avec les résultats de notre expérimentation.

La bibliographie rapporte de nombreux mécanismes antimicrobiens très complexes des extraits végétaux à base de flavonoïdes.

Les composés secondaires des plantes, en autres, les huiles essentielles, possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases : l'attaque de la paroi bactérienne par l'extrait

végétal, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieur de la cellule bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants structuraux et enfin, la destruction du matériel génétique conduisant à la mort de la bactérie [5].

Les résultats de l'activité antifongique peuvent être expliqués par le fait que les composants des extraits agissent sur les hyphes du mycélium, provoquant la désintégration et la mort du mycélium avec à la fois une action fongistatique et fongicide [6].

Selon des études menées par Ehwae et ses collaborateurs [7], l'inoculation de plantes d'*Urtica dioica* par des larves et des masses d'œufs des espèces de *Meloidogyne*, n'a montré aucune formation de galles sur les racines de l'ortie confirmant ainsi nos résultats. La sensibilité et la mortalité des larves de *Meloidogyne* par nos extraits aqueux peuvent être expliquées par le fait que les récepteurs sensoriels des nématodes (amphides) sont riches en acétylcholinestérase. Celles-ci sont facilement accessibles et inhibées par les métabolites nématicides [8]. En

effet, Les métabolites chimiques renfermés dans les extraits de plantes ont la capacité d'inhiber la synthèse de l'acétylcholinestérase, le cholinestérase et d'autres estérases. Ces molécules affectent le système nerveux des nématodes en inhibant l'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase [9].

5. CONCLUSION

Les résultats des tests du pouvoir bactéricide, fongicide sont intéressants du fait qu'ils constituent une première initiative de recherche sur des plantes spontanées d'intérêt agronomique. Ces résultats ont montré une efficacité élevée entre les différents extraits en relation avec l'origine de l'extrait (partie aérienne ou partie souterraine) et sa concentration.

Ces résultats préliminaires expliquent et confirment que les plantes étudiées possèdent des propriétés biocides appréciées. Enfin, cette recherche mérite d'être approfondie afin d'exploiter le potentiel de ces extraits comme biopesticide pour remplacer les pesticides classiques. Nous suggérons de rechercher les molécules actives présentes chez les extraits végétaux étudiés.

REFERENCES

- [1] Aubertot J.N., Barbier J.M., Carpentier A., Gril J.J., Guichard L., Lucas P., Savary S., Voltz M., Savini I., 2005 - Pesticides, agriculture et environnement .Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. Expertise scientifique collective INRA – Cemagref, 64p.
- [2] Regnault-Roger C., 2002- De nouveaux phytoinsecticides pour le troisième millénaire ? In : Biopesticides d'origine végétales, Ed. Tec & doc. Londres-Paris-New York . p. 19-39.
- [3] Philogène B.J-R., Fabres G ., Regnault-Roger C., 2005- Protection des cultures, environnement et développement durable :Enjeux pour le XXI^e siècle. In Regnault-Roger, C, Fabres G. Philogène , B J.R .Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Ed. Lavoisier Tec & Doc, Paris,p 1-14.
- [4] Muster D., Lotfi BS ., 2004 - Thérapeutique médicale bucco-dentaire: moyens et méthodes Ed. Elsevier Masson, 2004 ISBN 2842995651, 9782842995652, 290 pages.
- [5] Oussalah M., Caillet S., Saucier L. and Lacroix M., 2007- Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control. 18 (5), 414-420.
- [6] Tripathi A., Sharma N., 2006 - Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus cinensis* on post-harvest pathogens. World J. Microbiol. Biotechnol. 22: 587-593.
- [7] Ehwaee A. Keleş, A. Imali, E. Ogun, A. Kaya ., 1999- Antimicrobial activity of *Urtica dioica* L. and *Rheum ribes* L. *Bio-Science Research Bulletin*, 18: 43-50.
- [8] Cuany, A., Berge, J-B, Bride, J-M & Hamadene-Sellami S., 1984 - Inhibition et réactivation des acétylcholinestérases amphidiales de *Meloidogyne javanica* par l'éthoprophos et l'aldicarbe: tentative de corrélation avec une réaction comportementale. *Revue Nématol.* (2): 173-176.
- [9] Khan S.A ., 2009- Screening of tomato cultivars against root knot nematodes and their biological management. Thes Doc.Univ of Agriculture, Faisalabad, Pakistan. 152P.