

TOXICITÉ DES EXTRAITS DE PLANTES SUR LES LARVES (L2) DU NÉMATODE Á KYSTES DE LA POMME TERRE *GLOBODERA SPP.* (NEMATODA, HETERODERIDAE)

NEBIH HADJ-SADOK Dhaouya^{1*} et CHARIF Faiza¹

¹ Université Blida1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département des Biotechnologies, B.P. 270, route de soumaa, Blida, Algérie

Reçu le 16/04/2019, Révisé le 03/06/2019, Accepté le 08/06/2019

Résumé

Description du sujet : Les nématodes à kystes du genre *Globodera* sont inféodés aux solanacées et en particulier la pomme de terre, sont inscrits sur la liste des maladies de quarantaine. La lutte chimique est la méthode la plus utilisée contre ces parasites. Le développement de biopesticides, notamment d'origine végétale peuvent être des alternatives aux moyens chimiques très onéreux et qui pollue l'environnement.

Objectifs : Cette étude vise à évaluer la toxicité in vitro des extraits aqueux des feuilles de quatre plantes "*Artemisia herba-alba*, *Artemisia absinthium*, *Lantana camara* et *Urginia maritima*" sur les larves (L2) de *Globodera spp.*

Méthodes : Les larves des nématodes ont été exposées pendant 24, 48 et 72 heures à trois doses (10, 20 et 30 g de matière sèche / 250 ml) de chaque extrait aqueux des plantes testées.

Résultats : Les résultats ont montré que les traitements testés sont actifs sur les larves de *Globodera spp.* L'effet biocide des extraits est proportionnel au temps d'exposition des larves (L2). Les taux de mortalité les plus élevés sont enregistrés pour l'extrait aqueux des deux espèces de (*A. herba-alba* et *A. absinthium*) leur action est comparable (95%). L'effet toxique des extraits de *L. camara* occupe la troisième position, suivi de ceux du bulbe d'*U. maritima*, tandis que l'hydrolat d'*A. herba-alba* a dévoilé une faible toxicité (45%).

Conclusion : Ces résultats semblent très prometteurs. Ils ont démontré l'efficacité des extraits aqueux des espèces végétales testées.

Mots clés: Activité nématocide, extraits aqueux, *Globodera spp.*, in vitro, plantes médicinales

TOXICITY OF PLANT EXTRACTS ON LARVAE (L2) OF POTATO CYST NEMATODE *GLOBODERA SPP.* (NEMATODA, HETERODERIDAE)

Abstract

Description of the subject: Cyst nematodes of the genus *Globodera* develop on Solanaceae, especially potato. They are on the list of quarantine diseases. Chemical control is the most used method against these pests. The development of biopesticides, especially of plant origin, can be an alternative to the very expensive chemical means that pollutes the environment.

Objectives: This study aims to evaluate the in vitro toxicity of aqueous leaf extracts of four plants "*Artemisia herba-alba*, *Artemisia absinthium*, *Lantana camara* and *Urginia maritima*" on larvae (L2) of *Globodera spp.*

Methods: The larvae of the nematodes were exposed for 24, 48 and 72 hours at three doses (10, 20 and 30 g dry matter / 250 ml) of each aqueous extract of the plants tested.

Results: The results indicated that the treatments tested are active on *Globodera* larvae. The biocidal effect of the extracts is proportional to the time of exposure of the larvae (L2). The most important mortality rates are recorded for the aqueous extract of the two species of (*A. herba-alba* and *A. absinthium*) their action is almost similar (95%). In addition, *A. herba-alba*'s biocidal activity appears on the larvae of *Globodera* (100%) in the early hours (24 hours). The toxic effect of the extracts of *L. camara* is in third position followed by those of the bulb of *U. maritima*, while hydrolate of *A. herba-alba* revealed low toxicity (45%).

Conclusion: These results seem very promising. They demonstrated the efficacy of aqueous extracts of plant species tested.

Key words: Nematicide activity, Aqueous extracts, *Globodera spp.*, in vitro, Medicinal plants

*Auteur correspondant: NEBIH HADJ-SADOK Dhaouya, E-mail: nebihdhaouia@gmail.com

INTRODUCTION

La culture de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) originaire d'Amérique du Sud, est cultivée depuis plus de 2000 ans. C'est une spéculation stratégique à travers le monde. Elle occupe le quatrième rang en importance, après le maïs, le blé et le riz [1]. En Algérie, la pomme de terre est devenue une des principales cultures, en 2017 la production a atteint le chiffre record de 46 millions de quintaux [2]. La culture de la pomme de terre est sujette à de nombreux pathogènes et ravageurs, notamment les insectes, les acariens, les champignons, les bactéries, les virus et les nématodes [3]. Parmi ces bioagresseurs, les nématodes à kystes de la pomme de terre (NKPT) sont des endoparasites obligatoires pour ces cultures. Ils causent d'importantes pertes économiques sur les productions [4]. Selon le niveau d'infestation, les nématodes à kystes peuvent réduire les rendements de pomme de terre jusqu'à 100 % [5]. Ces parasites sont considérés comme des organismes de quarantaine, ils sont régis par des réglementations strictes au niveau international [6].

Jusqu'à présent, les nématicides synthétiques ont été la principale méthode de lutte contre les nématodes à kystes. La proscription des pesticides chimiques les plus dangereux comme le fumigant «Bromure de Méthyle» a mis l'accent sur la nécessité d'étudier d'autres méthodes de lutte contre les organismes nuisibles et respectueuse de l'environnement [7]. Les composés végétaux sont devenus de plus en plus l'objet de ces stratégies alternatives de lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes, soit par l'utilisation d'extraits végétaux et de formulations phytochimiques, soit comme amendements organiques au sol [8]. Dans ce contexte, nous avons établi ce travail préliminaire qui vise à faire valoir in vitro les potentialités nématicides de quatre plantes médicinales *Artemisia absinthium*, *Artemisia herba-alba*, *Lantana camara*, *Urginea maritima* vis-à-vis des larves (L2) de *Globodera spp.*

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Préparation des extraits aqueux

Les plantes d'*Urginea maritima* et d'*Artemisia absinthium* et *Lantana camara* ont été collectées de la région subhumide de Blida. Alors qu'*Artemisia herba-alba* provient

de la région saharienne d'El Oued. Pour la réalisation de ce travail, nous avons utilisé les feuilles de *Lantana camara*, *A. absinthium* et *A. herba alba* et le bulbe d'*U. maritima*. Les plantes sont nettoyées puis séchées à l'ombre pendant 2 mois. Les parties sont ensuite broyées séparément puis tamisées. La poudre des feuilles de chaque plante et du bulbe est utilisée pour la préparation des extraits aqueux. Le procédé d'extraction utilisé est la macération aqueuse qui consiste à maintenir la poudre des organes des plantes en contact avec l'eau à une température ambiante pendant un laps de temps afin de libérer les molécules actives existantes dans la plante [9]. Pour cela, trois quantités (10, 20, 30g) de poudre des différentes plantes ont été préparées et sont mises séparément en suspension avec 250ml d'eau distillée dans des flacons hermétiquement fermés et parfaitement enveloppés par du papier aluminium. Ces derniers sont ensuite placés dans un agitateur vertical pendant 72h. Après ce temps, les extraits sont filtrés dans des bouteilles en verre marron stériles de 250ml, afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière. Ces derniers sont ensuite conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation.

En ce qui concerne l'armoise blanche *A. herba alba*, deux types de solution ont été testés, à savoir l'extrait aqueux et l'hydrolat obtenu après extraction des huiles essentielles de cette plante.

2. Test in vitro de l'efficacité des traitements

Les kystes de *Globodera spp.* ont été extraits du sol par le dispositif de Fenwick [10]. Ces derniers sont ensuite déposés dans de petits tamis en plastiques de 2 à 4 cm de diamètre (15 à 30 kystes). Ils sont placés dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée puis sont mises à l'étuve à 25°C. Les larves (L2) de *Globodera spp.* libérées progressivement dans l'eau sont récupérées et comptées quotidiennement. Un nombre de 20 juvéniles de *Globodera spp.* sont comptés puis aspirés à l'aide d'une seringue stérile et mises en solution dans 50 µl d'eau distillée stérile. Cette suspension de larves est déposée dans un puits de microplaques de culture cellulaire (Costar, cell culture cluster dish) renfermant 12 puits. Les traitements sont alors additionnés à la suspension de larves à raison de 1 ml chacun [11]. 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. Pour comparer l'efficacité des traitements, nous avons préparé des témoins à l'eau distillée stérile.

3. Analyse des données

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

RÉSULTATS

1. Toxicité comparée des traitements à base d'armoise

Les résultats obtenus dans la figure (1) révèlent que les traitements utilisés à base des espèces d'armoise se sont montrés toxiques vis à vis des larves (L2) de *Globodera spp.* en comparaison avec le témoin eau distillée. Toutefois le degré de toxicité varie selon le type de solution, la concentration de l'extrait et la durée d'immersion.

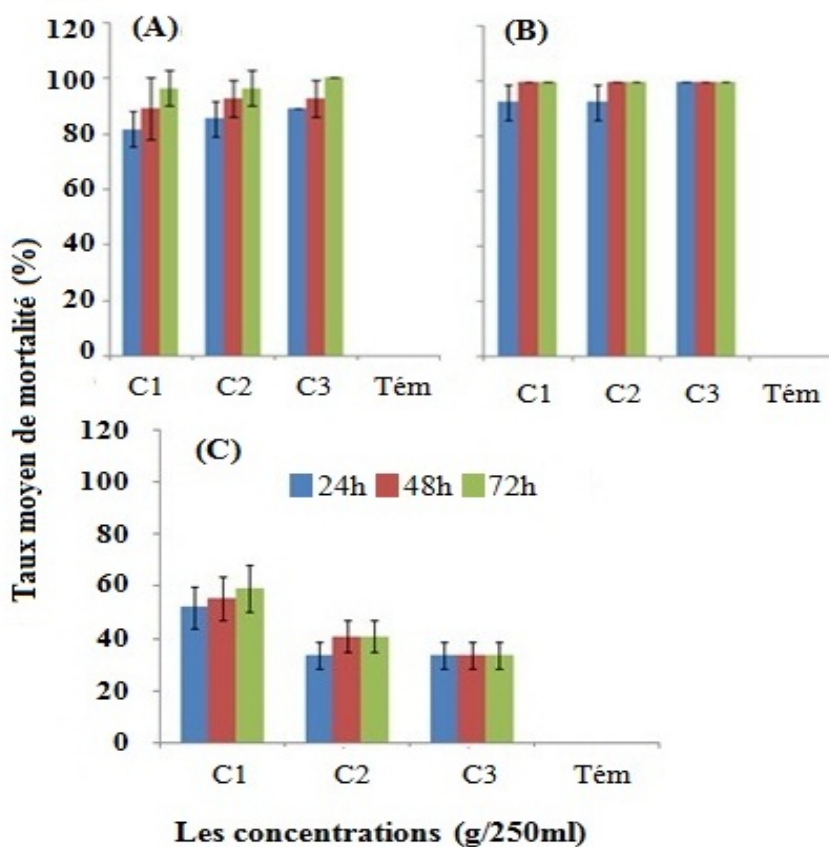


Figure 1 : La toxicité des traitements à base d'armoises
(A) *Artemisia absinthium*, (B) *Artemisia herba alba*, (C) hydrolat d'*A. herba alba*
C1: 10g; C2: 20g ; C3: 30g/250ml ; Tém: Témoin

L'effet biocide s'avère plus important dans les extraits aqueux des deux espèces d'armoises par rapport à l'hydrolat d'*A. herba alba*. Pour ce type de traitement «Hydrolat *A. herba alba*» (Fig. 1C), les taux moyens de mortalité de *Globodera spp.* enregistrés sont inversement proportionnels aux concentrations testées. Il s'avère que la dose C1 (10g) est plus toxique. Elle a occasionné plus de (50%) de mortalité dès les premières 24h. Ces taux ont augmenté sensiblement pour atteindre 55,56% et 59,26% respectivement après 48 et 72h. Alors que pour

les concentrations élevées C2 et C3 (20 et 30g) la mortalité est faible quel que soit le temps d'immersion elle ne dépasse pas les 40%. En ce qui concerne la toxicité des extraits aqueux des deux espèces d'armoises, nous avons enregistré un effet biocide plus élevé pour *A. herba alba* (Fig. 1B) par rapport à *A. absinthium* (Fig. 1A). En effet, pour l'armoise blanche nous avons constaté 100% de mortalité des (L2) de *Globodera spp.* après 24 et 48h d'immersion pour toutes les concentrations testées (C1, C2 et C3).

L'effet toxique est très rapide dès les premières heures d'exposition (24h) pour les extraits à faible dose (10 et 20 g). Les taux de mortalité sont de 92,59%.

Quant à l'armoise absinthe (Fig. 1A), sa toxicité est aussi importante que l'espèce suscitée. Néanmoins, le nombre de survivant a été signalé dans toutes les concentrations quel que soit le temps d'exposition à l'exception pour la dose C3 (30g) après 72 heures avec 100% mortalité.

2. Analyse comparative des traitements à base d'armoise

L'analyse de la variance modèle G.L.M. (tableau 1) a montré que la toxicité des traitements à base d'armoise varie d'une manière très significative dans le temps ($p=0,022$; $p<0,05$) et selon le type de traitement ($p=0,000$; $p <0,05$). Alors que la différence est non significative en fonction des doses testées ($p=0,141$; $p>0,05$).

Tableau 1 : Model G.L.M. appliqué au pouvoir nématicide des traitements à base d'armoises

Source	Sommes des carrés	d.I .I	Carrés moyens	F. ratio	P (valeur)
Traitements	50.458.296	2	25.229.148	241,623	0,000* **
Doses	420.667	2	210.333	2,014	0,141 ^N _s
Temps	838.296	2	419.148	4,014	0,022*
Erreur	7.726.741	74	104.415		

N.S. : Non significative, * : Significative à 5%, ** : Significative à 1%, *** : Significative à 0,1%

L'examen de la figure (2), confirme l'effet biocide des extraits aqueux des feuilles des deux armoises notamment ceux d'*A. Herba alba* sur les juvéniles de *Globodera spp.* en comparaison avec l'hydrolat de la même espèce «*A. herba alba*».

Ces traitements agissent graduellement dans le temps. La plus forte mortalité est obtenue après 72h d'exposition des nématodes.

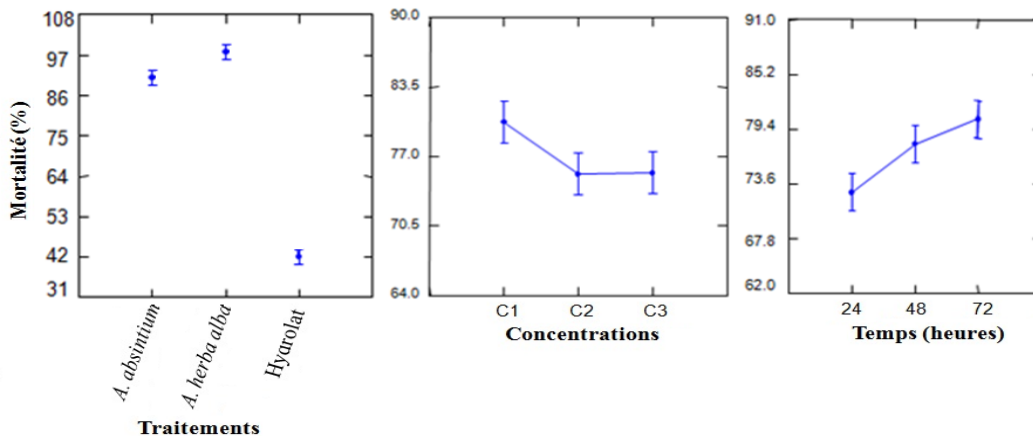


Figure 2 :Variation de la toxicité des extraits aqueux des deux armoises
C1: 10g; C2: 20g ; C3: 30g/250ml

3. Toxicité des extraits aqueux du bulbe d'*Urginea maritima*

Comparé au témoin ou la mortalité est nulle, les extraits aqueux d'*U. maritima* (Fig. 3) ont dévoilé un effet toxique inversement proportionnel aux doses testées. Il s'avère que la faible dose C1 a présenté un effet biocide plus important dès les 24h d'exposition des larves (L2) de *Globodera spp.*. Nous avons enregistré une mortalité de 70%, ce taux a accéleré les 78% après 72h. Cependant, pour les doses élevées la toxicité diminue sensiblement particulièrement pour la C3 (30 g). Après 24h, la létalité des larves est inférieure à 50%, elle augmenté après 72h pour atteindre 63%.

4. Toxicité des extraits aqueux des feuilles de *Lantana camara*

Les résultats consignés dans la figure 4 dévoilent que les extraits de *L. camara* quel que soit la concentration testées après 72h d'exposition ont présenté un effet toxique élevé sur les larves L2. Les taux de mortalité oscillent entre 81 et 92,59%. Par ailleurs nous notons que l'activité biocide de ces extraits est importante même à faible dose (C1) dès les 1^{ères} heures d'immersion (24h). Le taux de mortalité obtenu dépasse les 50%.

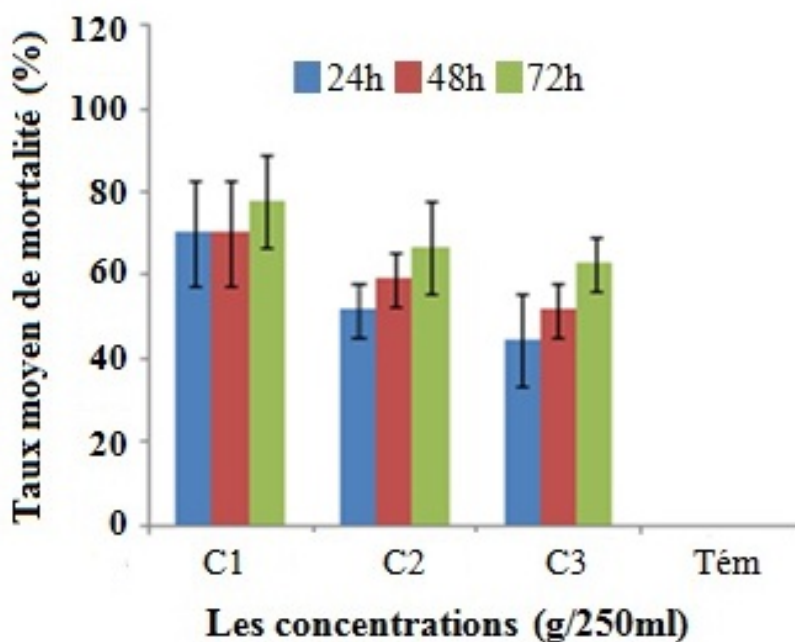


Figure 3 : Variation de la toxicité des extraits du bulbe d'*Urginea maritima*
C1: 10g; C2: 20g ; C3: 30g/250ml ; Tém: Témoin

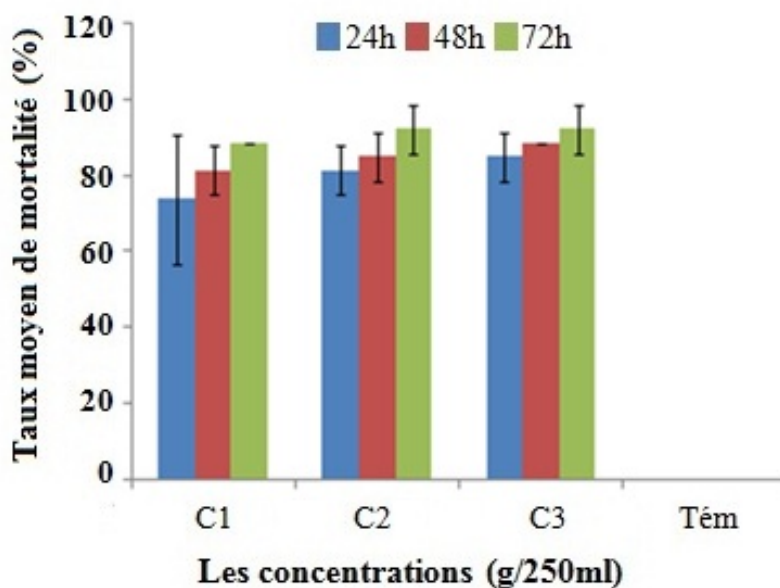


Figure 4 : Variation de la toxicité des extraits de *Lantana camara*
C1: 10g; C2: 20g ; C3: 30g/250ml ; Tém: Témoin

5. Analyse comparative de l'activité biocide des traitements testés

L'analyse de la variance G.L.M (tableau 2) a révélé que la toxicité varie d'une manière très hautement significative selon le type de traitement ($p=0,000$; $p < 0,05$) et le temps ($p=0,000$; $p < 0,05$). Alors que pour les doses testées la différence est significative ($p=0,049$; $p < 0,05$).

La figure 5, relative aux différents traitements a dévoilé l'effet toxique des traitements sur les larves de *Globodera*. L'activité biocide des extraits aqueux des quatre plantes s'avère plus importante que l'hydrolat. Les extraits aqueux des deux espèces d'armoise ont dévoilé une toxicité presque comparable, néanmoins *A. herba alba* a exposé un effet nocif plus élevé. L'effet toxique des extraits de *L. camara* est aussi important par rapport à ceux du bulbe d'*U. maritima*.

Tableau 2: Analyse de variance model G.L.M. appliqué au pouvoir nématocide des différents traitements.

Source	somme des carrés	d,I,I	Carré moyens	F-ratio	P (valeur)
Traitement	257.122.626	8	32.140.328	474,567	0,000***
Doses	414.848	2	207.424	3,063	0,049*
Temps	2.446.033	2	1.223.016	18,058	0,000***
Erreur	15.576.897	230	67.726		

N.S. : Non significative, * : Significative à 5%, ** : Significative à 1%, *** : Significative à 0,1%

En ce qui concerne les concentrations, l'analyse révèle que la toxicité des traitements est proportionnelle aux doses testées. Par ailleurs, la toxicité augmente dans le temps d'exposition. Elle est plus élevée après 72h d'exposition.

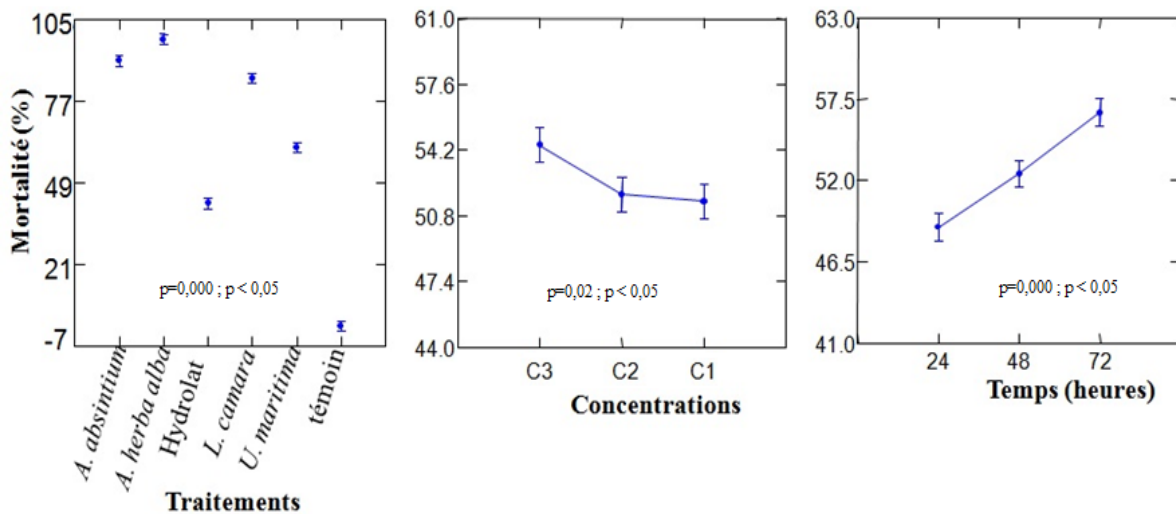


Figure 5: Toxicité comparée des traitements testés
C1: 10g; C2: 20g ; C3: 30g/250ml

DISCUSSION

Les plantes et leurs métabolites secondaires sont une source importante de molécules pour le développement de nouveaux biopesticides. Présentement, les extraits des plantes commencent à avoir un intérêt très promoteur comme une source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils ont fait l'objet de plusieurs études pour leur éventuelle utilisation comme alternative aux traitements chimiques (insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides) [12]. Plusieurs auteurs ont mis en évidence la présence de molécules actives telles que les composés phénoliques efficace dans la lutte contre les nématodes [13 et 14]. Les résultats obtenus ont montré que les extraits aqueux de quatre espèces végétales présentent une activité nématocide. Effet biocide *in vitro* des extraits de plantes sur *Globodera spp.* a été rapporté par les travaux de Maistrello *et al.* [15] et de Renco *et al.* [16].

L'activité des extraits aqueux des plantes dépend d'une manière significative des concentrations testées et du temps d'exposition des larves (12) de *Globodera spp.*. Ce résultat rejoint les travaux de Nebih-Hadj- Sadok *et al.* [17], El Badri *et al.* [18] et Ploeg [19]. La toxicité comparée des traitements a révélé pour ceux à base d'armoise (extraits aqueux des feuilles d'*A. herba alba* et *A. absinthium* et l'hydrolat d'*A. herba alba*) une activité biocide plus importante des extraits d'*A. herba alba* et d'*A. absinthium* par rapport à l'hydrolat d'*A. herba alba*. L'effet toxique des extraits de *L. camara* se classe en troisième position suivi par ceux du bulbe d'*U. maritima*. Selon D'Addabbo *et al.* [20], les larves de *G. rostochiensis* sont fortement affectées par les plus faibles concentrations de l'artémisinine et de deux composés phénoliques (acide caféique, l'acide chlorogénique) extraites de l'*Artemisia annua*.

L'activité nématocide de *Lantana camara* est due à ces composés chimiques, notamment le Pomolique, le lantanolique, et les acides lantoliques. Ces composés ont montré une mortalité de 100% sur les larves de *M. incognita* après 24 h [21 et 22]. Par ailleurs, la nocuité d'*U. maritima* et de l'hydrolat d'*A. herba-alba* est inversement proportionnelle aux concentrations testées.

La réponse toxicologique des larves (L2) de *Globodera spp.* aux différents traitements peut être attribuée d'une part à ces caractéristiques morpho-anatomique en relation avec la perméabilité de la cuticule [23 et 24] et d'autre part aux différentes propriétés chimiques des composés des plantes [20].

CONCLUSION

Ces résultats semblent très prometteurs. Ils ont démontré l'efficacité *in vitro* des espèces végétales testées. Il est à noter que la toxicité d'*A. herba alba*, *A. absinthium* et *L. camara* est plus importante. Ainsi, ces plantes ouvrent la voie à la possibilité de leur utilisation dans le cadre d'un programme de lutte intégrée. Des recherches restent à développer, principalement sur les formulations, les modes d'application et sur la stabilité de ces composés dans le sol, afin de développer des bio-nématocides conformes aux attentes des producteurs.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]. **Anonyme (2005).** Agriculture et Agroalimentaire Canada. Profil de la culture de la pomme de terre au Canada. Ottawa, Ontario, Programme de réduction des risques lié aux pesticides, Centre pour la lutte antiparasitaire.

[2]. **Anonyme (2017).** La production de la pomme de terre en Algérie. <http://www.aps.dz/economie/75803> (consulté le 04/06/2019).

[3]. **Bradshaw J. (2007).** *Breeding Potato as a Major Staple Crop*. In, M. Kang, P. Priyadarshan, *Breeding Major Food Staples*, 1^{ère} Éd., Blackwell Publishing, Iowa, pp. 277-332.

[4]. **Turner S.J. (1996).** Population decline of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) in field soils in Northern Ireland. *Ann Appl Biol.* 129:315–322

[5]. **Brodie B.B. and Mai W.F. (1989).** Control of the golden nematode in the United States. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 27: 443-461.

[6]. **Boucher A.C. (2013).** Caractérisation de La structure génétique des populations québécoises du nématode doré (*Globodera rostochiensis*) et développement d'exsudats racinaires de pomme de terre. Mém. en M. Sc., Univ. de Sherbrooke, 72p.

[7]. **Chitwood D.J. (2002).** Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 221-249.

[8]. **Ntalli N.G. and Caboni P. (2012).** Botanical nematocides: A review. *J. Agric. Food Chem.*, 60:9929-9940.

[9]. **Djellout H. (2009).** Evaluation de pouvoir antibactérien de quatre plantes spontanées. Thèse. Ing. Phytopathol. Univ. Blida, 60p.

[10]. **Fenwick D.W. (1940).** Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *J Helminthol.*, 18:155–172

[11]. **Agbenin N.O., Emechebe A.M., Marley P.S. and Akpa A.D. (2005).** Evaluation of nematocidal action of some botanicals on *Meloidogyne incognita* in vivo and in vitro. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics*, 106: 29–39.

[12]. **Yakhlef G. (2010).** Etude de l'activité biologiques de feuilles de *Thymus vulgaris* et *Laurus nobilis*. Thès. Mag. Univ. Batna. 110p.

[13]. **Siddiqui M.A. et Alam M.M. (1988).** Control of parasite nematode by *Taget tenuifolia*. *Rev Nematology*, 11(3):12-19.

[14]. **Faouzi A. (2002).** Etude sur l'utilisation des nématocides et la persistance du fenamiphoros sur la culture de tomate sous serre dans la région de Souss Massa. Mémoire de fin d'étude IAVH. Agadir, 55 p.

[15]. **Maistrello L., Vaccari G. and Sasanelli N. (2013).** Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the carrot cyst nematode *Heterodera carotae* Jones. Future IPM in Europe. 19-21 March, Book of Abstracts. 166.

[16]. **Renčo M., Sasanelli N., Papajova I. and Maistrello L. (2012).** Nematicidal effect of chestnut tannin solutions on the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.). *Behrens. Helminthologia*, 49: 108-114.

[17]. **Nebih-Hadj- Sadok D., Hadroug S. et Taoussi F. (2014).** Activite nématocide *in vitro* des extraits aqueux des plantes médicinales « *Artemisia campestris*, *Ziziphus lotus*, *Datura stramonium* et *Urginea maritima* » sur des larves de *Meloidogyne*, AFPP – dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture Montpellier, France

- [18]. El Badri G.A., Lee D.W., Park J.C., Yu H. B. and Choo H.Y. (2008). Evaluation of various plant extracts for their nematocidal efficacies against juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11: 99–102.
- [19]. Ploeg A.T. (2000). Effect of amending soil with *Tagete patula* cv. Single Gold on *Meoidogyne incognita* infestation of tomato. *Nematology*, 2(5): 489-493.
- [20]. D'Addabbo T., Carbonara T., Argentieri M.P., Radicci V., Leonetti P., Villanova L. and Avato P. (2013). Nematicidal potencial of *Artemisia annua* and its main metabolites. *Eur J Plant Pathol* 137: 295-304.
- [21]. Siddiqi B.S., Begum S., Zehra S. Q., Fayyaz S. and Ramzan M. (2008). Pentacyclic triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara* and their nematocidal activity. *Chem. Biodiversity*, 5:1856–1866.
- [22]. Srivastava M., Kapoor A., Sharma S., Siddiqi N.U. and Aslam M. (2006). Microbial active triterpene from *Lantana camara*. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 3: 505–507.
- [23]. Davies K.G., and Curtis R.H.C. (2011). Cuticle surface coat of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 49: 135–156.
- [24]. Yeats G.W., Bongers T., De Goede R.G.M., Freckman D.W. and Georgieva S.S. (1993). Feeding habits in soil nematode families and genera for soil ecologists. *Journal of Nematology*, 25:315–331.