



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRE ET BIOLOGIQUE**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II en science De  
la nature et de la vie  
Spécialité : Phytopharmacie appliquée

**Thème :**  
**Etude de l'effet toxique des extraits aqueux des résidus de**  
**cultures de deux variétés de *Brassicaceae* vis-à-vis des larves de**  
**nématode du *Citrus* « *Tylenchulus semipenetrans* » (*Nematoda-***  
***Tylenchiludae*)**

Présenté par : Sid Ibtissem

Soutenu le : Octobre 2013  
Devant le jury composé de :

- |                              |            |         |                    |
|------------------------------|------------|---------|--------------------|
| • M <sup>me</sup> Djennas.K. | M.A.A      | U.S.D.B | Présidente du jury |
| • M <sup>me</sup> Nebih.D.   | M.C.B      | U.S.D.B | Promotrice         |
| • M <sup>me</sup> Sabri.K.   | M.A.B      | U.S.D.B | Examinatrice       |
| • M <sup>me</sup> Baba Aissa | Doctorante | U.S.D.B | Examinatrice       |

**Année universitaire : 2012-2013**

## *Remerciements*

*Je tiens à remercier le dieu de m'avoir donné la force et le courage nécessaire pour réaliser ce travail.*

*Toute ma gratitude à Mme Nabih Dhaouia pour son encadrement, ses nombreux conseils, et son soutien constant tout au long de la réalisation de mon travail.*

*Nos sincères remerciements et gratitudes s'adressent à Mme Djanas.K, d'avoir faite l'honneur de présider la séance de ma soutenance.*

*Nous tenons à remercier l'examinatrices Mme Sabri.K, et Mme Baba Aissa, qui ont aimablement acceptés de faire partie de notre jury de thèse. Sincères remerciements.*

*Nous exprimons également nos remerciements à tous les enseignants de département de l'agronomie, et toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*A tous mes camarades de la promotion*

# *Dédicace*

*Je dédie ce Modest travail à mes parents : Mustapha et Fatima, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long mes études.*

*A mon professeur de primaire Ait bouabdellah Hassen.*

*A mes Frères : Mohamed et Abed el Waheb.*

*A mes sœur : Fatiha et Habiba.*

*A ma belle sœur Zohra.*

*A ma beau-frère Sid Ali.*

*A le marie de ma tante monsieur Sid Bachir*

*A ma tante paternelle Aicha et ses filles*

*Khadîdja, Hajira, lila et soumiya*

*que je considère comme mes sœurs.*

*A ma grand mère maternelle : Rokaia.*

*A mes neveux : Ramzi, Youcef, Yacine.*

*A ma nièce : Nihale zoulikha.*

*A ma grande mère paternelle*

*A tous ma famille sans exception, mes collègues et amies*

*Ibtissem.....*

# **Etude de l'effet toxique des extraits aqueux des résidus de cultures de deux variétés de *Brassicaceae* vis-à-vis des larves de nématode du *Citrus* « *Tylenchulus semipenetrans* » (*Nematoda-Tylenchiludae*)**

## **Résumé**

Dans un but d'amélioration agronomique, environnementale et économique nous avons entrepris la présente étude. Elle a pour objectif d'évaluer les potentialités biocides des extraits aqueux préparés à base de deux variétés de brassicées, le chou fleur (*B.oleraceae var botrytis*) et le chou vert (*B.oleraceae L.*) sur les nematodes des *Citrus T. semipenetrans*.

Les résultats ont montré d'une part une activité nématocides des extraits aqueux formulés des deux variétés de *Brassicaceae* et d'autre part une toxicité différente entre les bioproduits formulés.

L'effet biocide de toutes les formulations est proportionnel aux concentrations testées et au temps d'exposition des larves de *T. semipenetrans*.

Les extraits aqueux formulés à partir des feuilles des deux variétés présentent une toxicité plus élevée que celle préparés à partir des racines. Quand aux formulations mélanges des extraits des deux organes (racine et feuille) aussi bien pour le chou que le chou- fleur, ne présentent pas un effet synergique avéré.

Mots clés: Activité nematicide, *Brassica oleracea var botrytis*, *Brassica oleracea L.*  
Extrait aqueux, *Tylenchulus. semipenetrans*,

# Study of toxic effect of aqueous extracts of crop residues of two varieties of Brassica vis-à-vis the nematode larvae Citrus "Tylenchulus semipenetrans" (Nematoda-Tylenchiludae)

## Absract

In order to improve agricultural , environmental and economic we undertook this study. It aims to evaluate the biocidal potential of aqueous extracts formulated with two varieties of brassica , cauliflower ( *B.oleraceae var botrytis*) and cabbage ( *B.oleraceae L.*) on nematodes Citrus *T. semipenetrans*.

The results showed firstly a nematicidal activity of aqueous extracts made from two varieties of *Brassicaceae* and secondly a different toxicity between bioproducts made .

The biocidal effect of all formulations is proportional to the concentrations tested and the time of exposure of larvae of *T. semipenetrans*.

The aqueous extracts made from the leaves of both varieties are higher than that prepared from the roots toxicity. When the formulations blends excerpts from two organs (root and leaf) as well as for cabbage cauliflower , do not have a proven synergistic effect.

Keywords: Aqueous extract , *Brassica oleracea var botrytis* , *Brassica oleracea L* , nematicide activity , *Tylenchulus semipenetrans*.

دراسة تأثير مستخلص بقايا نباتي الكرنب *Brassica oleraceae var botrytis* و الملفوف الأخضر

*Brassica oleraceae L* على تطور ديدان الحوامض *Tylenchulus semipenetrans*

(Nematoda-Tylenchiludae)

### الملخص

يهدف التحسين الزراعي، البيئي و الاقتصادي، هذا العمل الباحث يهدف إلى دراسة تقييميه لتأثير مستخلص بقايا نباتي الكرنب و الملفوف الأخضر على تطور الديدان الخيطية الخاصة بالحوامض. أظهرت نتائج الاختبار أن مستخلص النباتين لهما تأثير على الديدان هذا من جهة ومن جهة أخرى يختلف التأثير من مستخلص إلى آخر. تأثير المستخلصات نسبي على حسب التركيز ووقت تعرض الديدان لهذا الأخير. المحلول المستخلص من أوراق النباتين اظهر تأثير اكبر من تأثير المحلول المستخلص من الجذور، بينما المحلول المستخلص من مزيج الأوراق و الجذور اظهر تأثير أحسن عند الملفوف الأخضر بالمقارنة مع الكرنب. كلمات البحث .

*T. semipenetrans*, Activité nematicide, Extrait aqueux, *Brassica oleracea var botrytis*, *Brassica oleracea L*.

## SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....

DEDICACES.....

RESUME.....

ABSTRACT.....

ملخص.....	
SOMMAIRE.....	
LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS.....	
LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX.....	
INTRODUCTION.....	1

## CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.

### I.1. PRÉSENTATION DU NEMATODE PHYTOPARASITE « *TYLENCHULUS SEMIPENETRANS* ».

I.1.1. Généralités.....	3
I.1.2. Position systématique.....	4
I.1.3. Description morphologique et anatomique .....	5
I.1.4. Cycle de développement .....	7
I.1.5. Influence des facteurs de l'environnement sur <i>T. semipenetrans</i> ....	9
I.1.6. Spectres d'hôtes et nuisibilité du <i>T. semipenetrans</i> .....	12
I.1.7. Méthodes de lutte contre <i>T. semipenetrans</i> .....	13

### I.2. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES BRASSICACÉES.

I.2.1. Généralité.....	18
I.2.2. Description morphologique .....	18
I.2.3. Systématique .....	21
I.2.4. Importance des brassicacées .....	21
I.2.5 Composition phytochimique des brassicacées .....	24

## CHAPITRE II: PARTIE EXPERIMENTALE

### 1. MATERIELS ET METHODES

II.1.1. Objectif .....	25
II.1.2. Matériels utilisés .....	25
II.1.3. Les essais in vitro des différents traitements sur les larves .....	30
II.1.4. Analyse des données.....	32
II.1.5. Estimation des populations résiduelles.....	32

### 2. RESULTATS

II.2.1. Efficacité des extraits aqueux des deux plantes « <i>Brassica oleracea var botrytis</i> » et « <i>Brassica oleracea L.</i> » sur les nématodes de citrus <i>Tylenchulus semipenetrans</i> .....	33
II.2.2. Évolution temporelle des populations résiduelles du <i>T. semipenetrans</i> sous l'effet des différentes doses des extraits aqueux de deux plantes testées <i>B.oleraceae var botrytis</i> et <i>B.oleraceae L.</i> .....	43

3. Discussion générale.....	45
-----------------------------	----

CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	50
--------------------------------	----

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	
---------------------------------	--

ANNEXE.....	
-------------	--

TABLE DES MATIERES.....	
-------------------------	--

### LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

E.AQ : Extrait aqueuse.

TE : Témoin.

**D : Dose.**

**D1= 20 g/L.**

**D2= 40 g/L.**

**D3= 60 g/L.**

**D4= 80 g/L.**

**D5= 100 g/L.**

**D6= 120 g/L.**

**R : Répétition.**

**GLM : Model linéaire global.**

**G/L : Gramme par litre.**

**H : Heur.**

**TRT : Traitement.**

**Ch f F : Feuille de choux fleur.**

**Ch f R : Racine de choux fleur.**

**Ch f MG : Mélange (racines+feuilles) de choux fleur.**

**Ch F : Feuille de chou.**

**Ch R : Racine de chou.**

**Ch MG : Mélange (racines+feuilles) de chou.**

## **LISTE DES ILLUSTRATIONS ET GRAPHIQUES**

Figure I.1.1 : Partie postérieure d'une jeune femelle de <i>T. semipenetrans</i> .....	5
Figure I.1.2 : Morphologie de femelle mature.....	5
Figure I.1.3 : Morphologie de male entier et de la partie postérieure.....	6
Figure I.1.4 : Larve de deuxième stade sous microscope photonique G 40....	7
Figure I.1.5 : Larve de deuxième stade sous loupe binoculaire G 40.....	7
Figure I.1.6 : Différents stades du cycle de vie de <i>T. semipenetrans</i> .....	8
Figure.I.1.7 : Symptômes de <i>T. semipenetrans</i> sur citrus.....	13
Figure.I.1.8 : Dégât colonie de femelles matures de <i>T. semipenetrans</i> sur les racines de citrus.....	13
Figure I.2.9 : Chou vert.....	20
Figure I.2.10 : Choux fleur.....	21
Figure I.2.11 : Les principaux produits de la dégradation des glucosinolates.....	23
Figure II.1.12 : Matériel de laboratoire.....	25
Figure II.1.13 : Préparation des extraits aqueux.....	27
Figure II.1.14 : Préparation des pH.....	27
Figure II.1.15 : Méthode de Cobb.....	28
Figure II.1.16 : Méthode de Baermann modifiée.....	29
Figure II.1.17 : Larves avant traitement.....	31
Figure II.1.18 : Les essais in vitro des différents traitements sur les larves .....	31
Figure II.2.19 : Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des racines du <i>B.oleracea var botrytis</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i> .....	34

<b>Figure II.2.20 : Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des feuilles du <i>Brassica oleracea var botrytis</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i>...</b>	<b>35</b>
<b>Figure II.2.21 : Evaluation de la toxicité du mélange des extraits aqueux les racines et les feuilles du <i>Brassica oleracea var botrytis</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>36</b>
<b>Figure II.2.22 : Variation de la toxicité des extraits du <i>B. oleracea var botrytis</i> vis à vis des larves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>37</b>
<b>Figure II.2.23 : Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des racines de <i>B. oleracea L</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>38</b>
<b>Figure II.2.24 : Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des feuilles du <i>Brassica oleracea L</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>39</b>
<b>Figure II.2.25: Evaluation de la toxicité du mélange des extraits aqueux les racines et les feuilles du <i>Brassica oleracea L</i> sur les laves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>Figure II.2.26 : Variation de la toxicité des extraits du <i>B. oleracea L.</i> vis à vis des larves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>Figure. II.2.27 Variation de la toxicité des différents traitements formulés vis à vis des larves de <i>T. semipenetrans</i>.....</b>	<b>42</b>
<b>Figure II.2.28. Évolution temporelle des populations résiduelles du <i>T. semipenetrans</i> sous l'effet des doses et traitements.....</b>	<b>44</b>

## Liste des tableaux

**Tableau 1 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématocide des extraits du *B. oleracea var botrytis* utilisé en fonction du temps d'exposition et des doses utilisées.....36**

**Tableau 2 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématocide des extraits du *B. oleracea L.* utilisés en fonction du temps d'exposition et des doses utilisées.....40**

**Tableau 3 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématocide des différents traitements utilisés en fonction du temps d'exposition et des doses utilisées .....42**

## Introduction

L'agrumiculture fait partie intégrante de la vie économique et sociale de l'Algérie. Elle occupe la première place dans l'arboriculture fruitière, du point de vue superficie, production et variétés existantes d'où la production nationale d'agrumes est passée de 1 million de quintaux en 1962 à plus de 11 millions de quintaux en 2012 (Anonyme, 2012)

Après avoir connu un développement qui s'est traduit par l'exportation des agrumes vers les pays d'Europe, les vergers agrumicole Algérien ont subit depuis quelques années un déclin en superficie et en production. Cette situation s'explique en partie par le vieillissement des vergers, leur entretien, l'arrachage sans réimplantation de nouveaux vergers, mais aussi par l'effet des déprédateurs qui constituent des facteurs limitant. Bien que beaucoup d'entre eux soient sans importance économique, le nombre de déprédateurs réels reste néanmoins très élevé et cause de ce fait beaucoup de dommage a l'agrumiculture mondiale (Thomas, in Praloran, 1971).

Parmi les phytoparasites associés a la rhizosphère des agrumes, les nématodes, ennemie invisibles, qui par leurs dégâts ont attiré l'attention des chercheurs depuis que la première espèce qui fut découverte en 1713 par Neegdham.

Deux des espèces de nématodes inféodés aux agrumes sont considérées comme dangereuses. La première, *Radophulus similis* qui a causé la perte totale de 6000 hectares en Floride et la seconde *Tylenchulus semipenitrans* qui est associée directement au dépérissement des agrumes en Californie la ou elle a été

découverte (Praloran, 1971). Chandel et Sharma (1989), estiment qu'à l'échelle mondiale, les pertes causées par ce phytoparasite sont de l'ordre de 10 à 15 pour-cent de rendement mais peuvent atteindre 40 pour-cent si l'on tient compte de la réduction du calibre des fruits et de leur teneur en sucre.

En Algérie très peu de travaux ont concerné ce nématode, la première signalisation d'après Piguët (1960) revient à Trabut en 1915 qui a identifié sur agrumes *Tylenchulus semipenetrans* dans la région de Mostaganem. Par la suite une étude sur les porte-greffes a été établie par Scotto la Massèse et *al.*, (1974). Récemment le travail réalisé par Triki (2011) sur la nématofaune associée à l'agrumiculture dans la Mitidja a révélé que parmi, les phytophages *T. semipenetrans* s'avère très abondants sur les agrumes.

Le contrôle de ce bio agresseur devient difficile et le choix est limité. La plupart des agriculteurs recourent de façon systématique aux nématicides chimiques. Ces derniers posent de sérieux problèmes phytosanitaires en polluant les nappes phréatiques et en laissant des résidus toxiques au niveau des productions et par conséquent pour les consommateurs (Cayrol *et al.*, 1992).

Actuellement, les recherches s'orientent à développer des méthodes alternatives (Isman, 2001), parmi lesquelles ; la protection biologique favorisant la gestion de ces bio agresseurs par les variétés résistantes, les bio pesticides, les amendements du sol et la bio fumigation. Cette dernière appliquée avec les espèces appartenant aux brassicacées est actuellement très développée (Djian-Caporalino *et al.*, 2009). En effet, les glucosinolates sont les principaux métabolites secondaires recherchés que l'on retrouve chez les espèces de cette famille. Ces glucosinolates sous l'action d'une enzyme la myrosinase sont transformés en isothiocyanates qui sont exploités dans la lutte biologique contre ces nématodes et d'autres ennemis de cultures (Vandermeiren et de-Temerrman, 2009).

Dans ce contexte nous avons essayé de répondre à certaines questions d'hypothèses : Quel est l'impact des extraits aqueux formulés à partir des Deux variétés de *Brassicaceae* sur les larves de *T. semipenetrans* ? Les formulations de chou vert (*Brassica oleracea L*) et de chou fleur (*Brassica oleracea var botrytis*)

présentent elles le même effet toxique ? Les formulations adoptées ont-elles la même action ? Varient-elles dans le temps ?

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### 1. Présentation du nématode phytoparasite « *Tylenchulus semipenetrans* ».

#### I.1.1. Généralités

Le nématode de citrus a été découvert pour la première fois en Californie en 1912 par Hodges ; une année après Cobb (1913) étudie ce nématode et l'a placé, dans la systématique, comme nouveau genre et le nomma *Tylenchulus semipenetrans* en se basant sur la position de la femelle dans les racines. En 1914, ce même auteur décrit la morphologie de ce nématode ainsi son cycle de développement. Impressionné par le nombre d'individus, il lui prédit un rôle économique important dans la production agrumicole mondiale. Presque deux ans après sa découverte, il a été mis en évidence dans toutes les régions agrumicole. (Van Gundy , 1958).

Depuis la découverte de la première espèce de nématode phytoparasite et de son incidence sur les cultures, les recherches se sont considérablement développées sur ces parasites. Ainsi cent quatre vingt neuf (189) espèces ont été signalées dans la rhizosphère des agrumes dont onze (11) seulement d'entre elles le parasitisme a été prouvé parmi celle-ci, six (6) sont réellement pathogènes, desquelles, deux (2) ont une importance économique ; ce sont *Tylenchulus semipenetrans* et *Rodophulus similus*. La première reste toutefois la plus connue et la plus redoutée (Praloran, 1971).

En Algérie le mérite revient à Trabut, en 1915, qui signale pour la première fois cette espèce dans la région de Mostaganem sur les agrumes (Piguet, 1960).

#### I.1.2. Position systématique

La systématique des nématodes est très complexe en 1972 Ritter annonce que cette dernière n'été pas encore définitive puisqu'on ne connaissait pas toutes les espèces, les genres et même les familles des nématodes existants.

En 1983, De Guiran, estimait le nombre de nématodes phytoparasite à environ 3000 espèces réparties dans deux ordres qui sont *Dorylaimida* et surtout *Tylenchida*.

La classification de Reddy (1983) pour *Tylenchulus semipenetrans* est la suivante.

Embranchement : *Nemathelmintha*

Classe : *Nematoda*

Ordre : *Tylenchida*

Famille : *Tylenchulidae*

Genre : *Tylenchulus*

Espèces : *T. semipenetrans*

Nom commun : nématode du citrus

Siddiqui (1974) note que Taylor et Geraert (1972) considèrent que cette espèce appartient à la famille des *Criconematidae* du fait de la présence des stries sur leur corps.

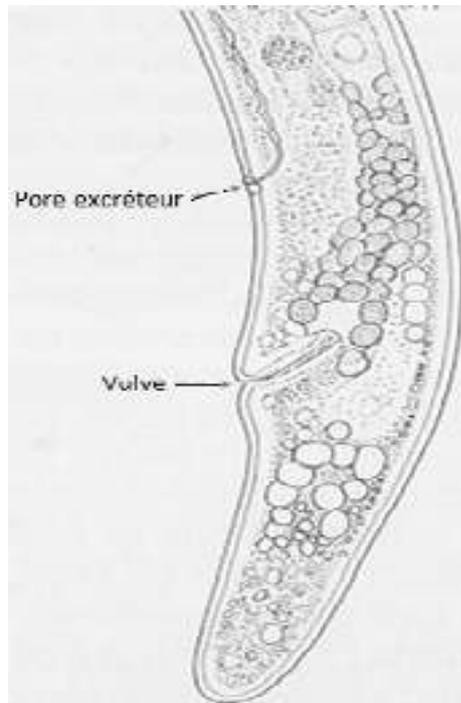
### **I.1.3. Description morphologique et anatomique**

Siddiqui en 1974, nous donne les descriptions suivantes.

#### **I.1.3.1. Morphologie de la femelle immature**

Elle présente un corps vermiforme avec des stries transversales distinctes, taille 0,25 à 0,6 mm, région antérieur conique ou sphérique, disque labial absent, lèvres à ossature légèrement sclérosée. Stylet long de 13 microns avec les renflements basaux ronds. L'orifice de la glande œsophagienne dorsale se situe à 4 microns de la fin du stylet, bulbe musculaire médian ovale, avec une large cuticule épaisse au centre. Le bulbe basale contient trois glandes œsophagienne avec une jonction oesophago-intestinale mince et criblant la face ventrale. Le rectum et anus atrophies et non fonctionnels. La vulve proéminente dans la région postérieure, pore excréteur typiquement situe dans une protubérance en avant de

la vulve, un seul ovaire antérieurement étendu immature avec quelques oocytes, queue arrondie à l'extrémité.



**Figure I.1.1. Partie postérieure d'une jeune femelle de *Tylenchulus semipenetrans* (Anonyme, 2007)**

### **I.1.3.2. Morphologie de la femelle mature**

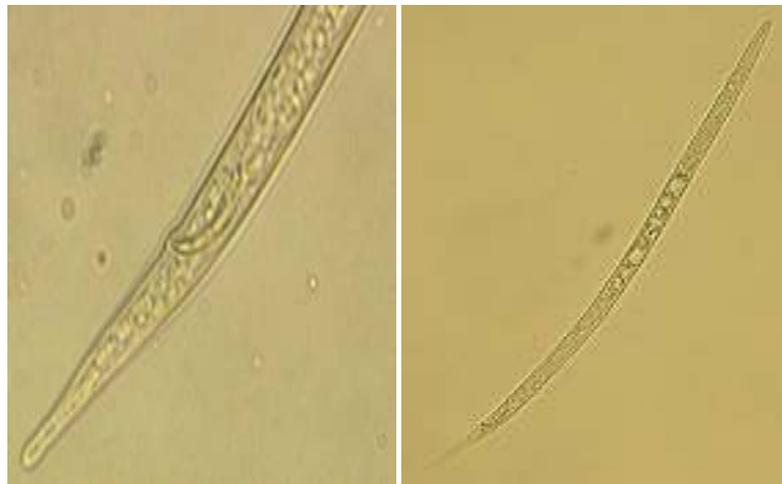
Cette dernière ayant pénétrée à moitié dans les racines. Elle est de forme obèse dans sa partie postérieure et plutôt allongée au niveau de cou. Sa taille varie de 0,349 à 0,406 mm. A ce moment l'ovaire commence à s'enrouler, le spermathèque présente du sperme, l'utérus se remplit d'œufs. Le rectum et l'anus disparaissent. Le pore excréteur s'ouvre en avant de la vulve et par lequel est secrète la masse gélatineuse qui enveloppe les œufs.



**Figure I.1.2. Morphologie de femelle mature de *Tylenchulus semipenetrans* (Anonyme, 2007)**

### **I.1.3.3. Morphologie du male**

Il présente un corps mince, souvent droit avec la queue légèrement recourbée vers l'intérieur au repos. Le stylet et l'œsophage ayant dégénéré, bulbe médian sous forme de croissant musculaire. Le bulbe basal décollé par rapport à l'intestin. Pore excréteur au milieu du corps, un seul testicule allongé. La bursa caudale est absente, les spicules minces arrondis long de 14 à 18 microns.



**Figure I.1.3. Morphologie de male entier et de la partie postérieure**

**De *Tylenchulus semipenetrans* (Anonyme, 2007)**

### **I.1.3.4. Morphologie de la larve du second stade**

Le corps est allongé à légèrement arqué. Le stylet et l'œsophage du même type que la femelle immature. L'orifice de la glande œsophagienne se situe à 4 microns derrière le stylet. Le bulbe médian fusiforme avec une cuticule épaisse au centre. La jonction entre œsophage et l'intestin est poussée à l'intérieur du bulbe basal, ce qui fait apparaître les glandes recouvertes par cet organe. Le pore excréteur situé au milieu du corps. La glande génitale avec deux à quatre cellules se trouvant après du pore excréteur. Le rectum et anus fonctionnels.



**Figure I.1.4. Larve de deuxième stade sous microscope photonique G 40 de *Tylenchulus semipenetrans* (Originale, 2013)**



**Figure I.1.5. Larve de deuxième stade sous loupe binoculaire G 40 de *Tylenchulus semipenetrans* (Originale, 2013)**

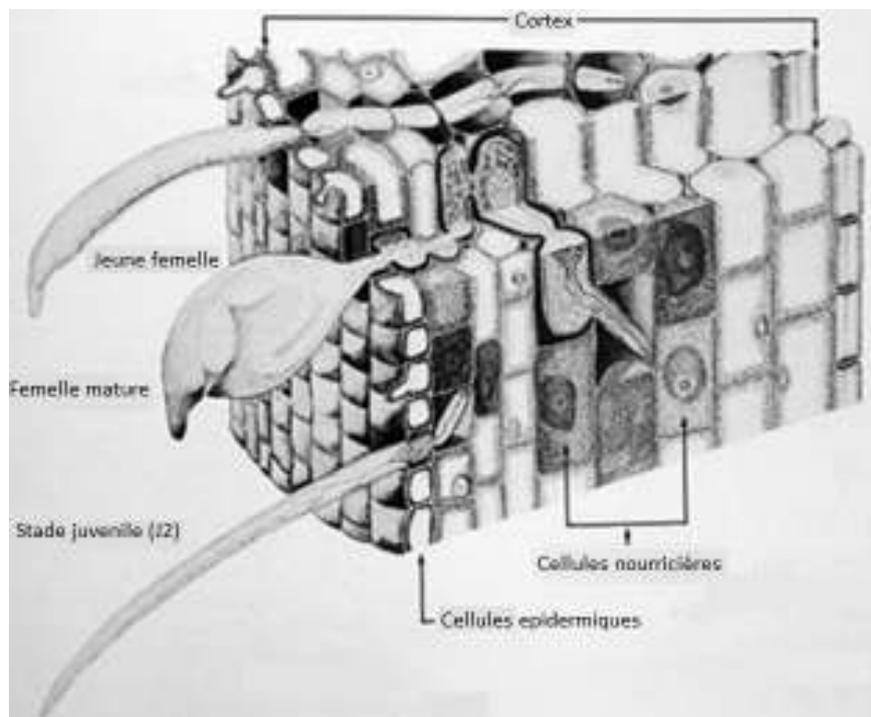
#### **I.1.4. Cycle de développement**

Comme toutes les autres espèces de nématodes phytophages, *Tylenchulus semipenetrans* passe par quatre stades larvaires séparés par quatre mues pour atteindre le stade adulte. La femelle adulte pond 70 à 100 œufs dans une masse gélatineuse secrétée à travers le pore excréteur. La maturité des œufs est échelonnée dans le temps (Van Gundy, 1958).

L'éclosion des œufs a lieu 12 à 14 jours après la ponte à une température de 23 à 25°C. La première mue s'effectue à l'intérieur de l'œuf (O'Bannon et Esser, 1985). Dès le deuxième [stade](#) larvaire, on peut distinguer les larves mâles et des larves femelles, ces larves restent dans ce stade 48 à 72 heures. Le troisième stade est atteint 108 à 144 heures après éclosion. Dans ce stade les larves femelles commencent à s'alimenter puis rentrent dans le quatrième stade (Baines *et al.*, 1962).

Les jeunes femelles présentent une vulve bien développée avec un ovaire immature, une longueur de 0,29 mm, donc moins longue que les autres stades mais plus large. Elles restent à la surface des racines environ une semaine avant de pénétrer dans le péricycle. Elles commencent à pondre cinq semaines après éclosion (Galeano *et al.* , 2003).

La reproduction est parthénogénétique. Le cycle dure six à huit semaines à une température variant entre 20° et 25° C (Inserra *et al.* , 1988).



**Figure I.1.6. Différents stades du cycle de vie de *T. semipenetrans* (Van Gundy et Kirkpatrick, 1964)**

### **I.1.5. Influence des facteurs de l'environnement sur *T.semipenetrans***

Tout organisme vivant sur terre est soumis dans le milieu où il vit aux actions simultanées d'agents climatiques, édaphiques, chimiques et biologiques très variées. Ainsi, la présence d'une espèce dans un milieu donné suppose que celui-ci satisfasse en totalité ou en partie ses exigences pour son maintien et son développement. Dans les sols agricoles, l'abondance des nématodes dépend surtout des teneurs en matière organique, de l'humidité présente et de la culture en place. D'après de nombreux travaux, la texture du sol joue aussi une grande importance dans le développement des nématodes phytoparasites. Il en est de même pour la température, la salinité, le taux d'oxygène et de gaz carbonique (Bachelier, 1978).

#### **I.1.5.1. Facteurs liés à la plante**

##### **I.1.5.1.1. La vigueur de la plante**

Nombreuses études et recherches entreprises, aux États-Unis d'Amérique et en Inde (Scotto Lamassese, 1982 ; Wallace, 1982 ; Sharma, 1989), ont montré que le choix des arbres de citrus conditionne le résultat des examens nématologiques. Ces auteurs ont constaté que sur les sujets très affectés par le parasitisme les effectifs trouvés sont réduits par suite de la dégradation d'une partie importante du système racinaire. En effet, l'hôte n'arrive plus à entretenir son parasite, par contre l'effectif est très élevé sur les arbres de vigueur intermédiaire.

Gobell (1985) explique ce constat par le fait que la source d'énergie primaire pour l'écosystème du sol est formée par les racines, ainsi, la distribution des nématodes dans le sol se trouve affectée par la distribution de celles-ci.

##### **I.1.5.1.2. La matière organique**

L'abondance de la matière organique dans le sol permet une réduction des nématodes phytophages. Lors de sa décomposition, il y a libération de certains produits toxiques tels que l'acide butyrique (Sayer, 1971). Al Hazmi et al. (1988), constatent que la matière organique permet une réduction notable de *Tylenchulus semipenetrans*.

## **I.1.5.2. Facteur abiotique**

### **I.1.5.2.1. Effet de la température**

Le cycle évolutif des nématodes est sous l'influence de la température et le nombre de générations peut augmenter avec les hautes températures alors que le froid détermine une anabiose prolongée (Poignant, 1949).

Ceci a été confirmé par Roberts et Van Gundy (1981), qui notent que la reproduction des nématodes est directement proportionnelle à la température du sol. Pour Siddiqui (1974), *Tylenchulus semipenetrans* se développe et se reproduit très bien à une température de 25° C.

### **I.1.5.2.2. Humidité du sol**

Sans un film ou pellicule d'eau, toute migration que ce soit horizontale ou verticale des nématodes ne peut se faire d'où leur caractère hydrophile, c'est ce qu'a affirmé Bachelier en 1978. Par conséquent tout dessèchement du sol entraîne la dissection des nématodes, ce qui explique leur rareté pendant l'été dans les premières couches du sol.

Pour *Tylenchulus semipenetrans*, Soroka et Szczygiel, (1983) et Abo El Ghar et Sweelam (1988) situent l'intervalle du taux d'humidité favorable à la reproduction, au développement et à la pullulation entre 10 et 20 pour-cent. Au delà de cet intervalle, ces auteurs ont constaté une régression due probablement à une mauvaise oxygénation et une accumulation du gaz carbonique.

### **I.1.5.2.3. Structure du sol**

La relation entre la distribution des nématodes et la structure du sol est bien marquée. En effet, les dimensions des particules jouent un rôle dans la fluctuation de la population de nématodes. La taille des pores peut jouer sur la direction que peuvent prendre les nématodes lors de leur déplacement (Ritter, 1965).

Brun et *al.*, (1973), ont montré que l'instabilité structurale peut devenir un facteur limitant dans la distribution des nématodes en déterminant une trop forte compacité des sols et un manque d'aération.

#### **I.1.5.2.4. Texture du sol**

Les travaux d'Al Hazmi et *al .*, (1988 ), en Arabie saoudite, ont montré que le développement des larves de *Tylenchulus semipenetrans* et leur migration vers les racines nourricières des citrus sont entravés dans les vergers ayant une texture fine avec un taux d'argile élevée. Selon ces mêmes auteurs les sols légers à texture sableuse semblent plus favorables à la pullulation des nématodes du fait que les taux d'infestation les plus élevés sont enregistrés dans ces types de sol. La texture du sol conditionne les mouvements des nématodes, leur migration vers les racines ainsi que leur reproduction.

#### **I.1.5.2.5. Propriétés chimique du sol**

Les sécrétions racinaires ont un rôle important dans le comportement des nématodes phytophage. En effet, ces produits peuvent être soit des nutriments ou des stimulants (Walace, 1971), soit comme des toxines ou inhibiteurs (Ritter, 1965).

Les éléments minéraux du sol présentent eux aussi une influence sur la dynamique des nématodes. Ainsi, Al Hazmi et *al .*, (1991), ont pu observé l'influence de l'accumulation de ces éléments, entre-autres, le Calcium, le Magnésium et le Potassium sur la stimulation rapide du développement de *Tylenchulus semipenetrans*.

Le pH du sol est un facteur abiotique à l'influence moyenne sur l'écologie des nématodes, son importance est limitée aux deux extrémités, fortement basique ou fortement acide (Walace, 1971). D'après Ritter (1972), le pH à une influence sur l'émergence des larves et le comportement des adultes. Siddiqui (1974) a rapporté que lorsque le pH est inférieur à 4,9 ; la population de *T. semipenetrans* diminue. Un pH qui varie entre 5,6 et 7,6 est plus favorable.

#### **I.1.5.2.6. Effet de la salinité**

Dugan et *al .*, (1992), ont constaté, en étudiant l'influence de la salinité sur la dynamique de population de *T. semipenetrans*, que la densité la plus importante de cette espèce se trouvait dans les vergers qui présentent une forte concentration en sel.

### **I.1.6. Spectres d'hôtes et nuisibilité du *T.semipenetrans***

*Tylenchulus semipenetrans* est caractérisée par une spécificité accusée qui limite en pratique ces hôtes aux citrus, leurs hybrides ainsi qu'à d'autres Rutacées (Scotto La Masses, 1982).

Toutefois, Vilardebo (1982), affirme que d'autres plantes ont été signalées comme étant des hôtes favorables, c'est le cas du néflier du Japon en Inde, le poirier, le lilas et l'olivier au Japon. Ces derniers permettent l'accomplissement du cycle, la ponte des œufs viables, mais aucun d'eux ne permet un taux élève de multiplication.

Considérées comme des races biologique responsables de graves dégâts, elles font l'objet de mesures énergique d'éradication en Afrique du Sud, en Inde, et aux Etats Unies d'Amérique (Brown, 1986 ; Agawal et Parvatha Reddy, 1989 ; Robinson et Haelde, 1989).

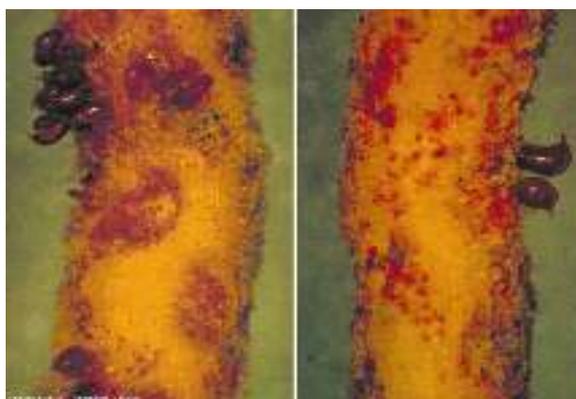
Les arbres attaques par ce nématode ne présentent pas de symptômes spécifiques. Leur aspect est celui de plants affaiblis comme le seraient ceux croissant avec une déficience alimentaire ou manque d'eau (Anwar et al ., 1991).

Les symptômes qui se traduisent par une perte de vigueur, de productivité et de rusticité ne sont pas permanents donnant l'impression d'un dépérissement momentané suivi d'une reprise de végétation, ce qui a poussé les anglo-saxons à parler de Slow Déclin (Chendel et Sharma, 1989).

Concernant les racines attaquées, leurs cellules dites nourricières subissent des profonds changements. En effet, on constate la formation de cellules géantes caractérisées par l'augmentation du volume du cytoplasme et le nombre d'organites, ce qui induit une intense activité synthétique (Subbotin, 1990).



**Figure.I.1.7. Symptômes de *Tylenchulus semipenetrans* sur citrus (Anonyme, 1993)**



**Figure.I.1.8. Dégât colonie de femelles matures de *Tylenchulus semipenetrans* sur les racines de citrus (Anonyme, 1993)**

### **I.1.7. Méthodes de lutte contre *T. semipenetrans***

D'après Foury (1995), les moyens de lutte ont pour objectif soit d'agir directement sur les parasites et les ennemis présents dans le sol, soit de ralentir la l'infestation, ou d'intervenir sur la plante hôte. Les méthodes proposées doivent être capable de:

- Détruire les ennemis au moins sur une profondeur de sol allant au-delà de la plus forte densité racinaire (profondeur variable avec l'espèce cultivée et le sol.
- Retarder l'infestation.
- D'être Inoffensives vis à vis des organismes utiles.
- Ne pas présente d'effets résiduels nocifs à la culture.
- Etre fiable, facile d'application et de coût modéré.

Les moyens de lutte contre le *T. semipenetrans* sont limités les plus employés sont en général d'ordre chimique (avant et après plantation) et cultural comme l'utilisation de porte greffe résistant.

#### **I.1.7.1. Lutte chimique**

La lutte chimique reste la méthode la plus employée et la plus appréciée par les agriculteurs pour augmenter le rendement du *Citrus* mais la plus coûteuse (Baines, 1964; Yokoo, 1964; Cohn et *al.*, 1965; Oteifa et *al.*, 1965; Philis, 1969; O'Bannon et Tarjan, 1973; Vilardebo, et *al.*, 1975; Davide et Dela Rose, 1976; Milne et Willers, 1979; Timmer et Davis, 1982; Childers et *al.*, 1987; Duncan, 1989; Le Roux et *al.*, 1991, 1998; Mc Clure et Schmitt, 1996; Sing, 2004). Elle consiste, soit à désinfecter le sol avant plantation avec des produits fumigants (ou précurseurs fumigants), soit à traiter la culture en place par les produits systémiques véhiculés par la sève tel que les organophosphoré et les carbamates (David, 1984).

Les premiers (Dibromoéthane, Dichloropropène, Dazomet, Métam sodium, etc..) tuent les nématodes en se volatilisant dans le sol. Très coûteux et d'un emploi avant culture difficile. Les seconds (Alidicarbe, Carbofuran, Oxamyl, etc..) moins coûteux et plus faciles d'emploi, inhibent la pénétration des nématodes dans les plantes hôtes (Duncan et Eissenstat, 1993). L'action des produits chimiques utilisés contre les nématodes est indéniable. Cependant, ces produits sont très onéreux et ne sont rentables que sur les cultures à haut revenu (Dalmaso et Macon, 1972).

Ces traitements chimiques doivent respecter la dose utilisé pour éviter les risques de, phytotoxicité, (B'chir, 1988). Selon Missonnier (1985), les possibilités d'emploi de ces nématicides sont assez limitées et risquent de le devenir plus pour des raisons de pollution et de toxicité. Vu ces inconvénients, l'interdiction de certains nématicides fumigants comme le Bromure de Methyl est définitivement prononcée dans certains pays tels que la Suisse, l'Allemagne et les Etats-Unis.

### I.1.7.2. L'utilisation des variétés résistantes

Parmi les moyens de lutte dirigés contre les nématodes du citrus, l'utilisation de plants résistant ouvre des perspectives intéressantes. En agrumiculture *Poncirus trifoliata* et les Citranges peuvent donner de bons résultats et sont des porte-greffes résistants à ce nématode. Le mécanisme de la résistance est dû à une hypersensibilité des cellules corticales au nématode dont la mort empêche l'évolution en larves infestantes (Scotto la massèse *et al.* , 1975).

D'après l'étude réalisée par Scotto la massèse *et al.* , (1975) en Algérie. Ils affirment que les porte-greffes Bigaradier (*Citrus aurantium*) et le Mandarinier

Cléopâtre (*Citrus reticulata*) sont sévèrement infestés alors que *Poncirus trifoliata* limite considérablement les populations de *T. semipenetrans*. En Algérie le plus utilisé dans la presque totalité des plantations agrumicoles est le Bigaradier qui est résistant aux maladies cryptogamiques et à la tristiza. Par contre il s'avère très sensible aux attaques de *Tylenchulus semipenetrans* .

Le porte-greffe résistant Swingle citrumelo (*Poncirus trifoliata* x *Citrus paradisi*) est largement plantée en Floride et il est combiné avec la certification des plants de pépinière. Ce dernier a sensiblement réduit les populations de *T. semipenetrans* (Lehman, 1996). Gestion de la résistance est importante afin de réduire la probabilité de sélection de biotype sur *Poncirus* dans les régions où est généralisée l'utilisation de porte greffe *P. trifoliata* ( Baines *et al.* , 1969 ; Duncan *et al.* , 1994 ; Miller *et al.* , 1996 ; . Murguia *et al.*, 2005 ; Kwaye *et al.* , 2008).

La replantation des vergers entièrement avec des porte-greffes résistants peuvent créer races biologique de *T. semipenetrans* capable de briser la résistance. En revanche, la replantation d'un arbre résistant à côté d'un arbre infecté sensibles constitue un défi permanent pour gérer les gènes de résistance (Duncan *et al.*, 1994 ; Verdejo-Lucas *et al.*, 2003).

### **I.1.7.3. Lutte biologique**

La lutte biologique contre les nématodes consiste à limiter le taux d'infestation au dessous du niveau dommageable aux plantes (seuil de nuisibilité). Elle ne permettra pas une éradication du parasite ( Djian-Caporalino et *al.*, 2009).

#### **I.1.7.3.1. L'utilisation des microorganismes (champignons et Bactéries)**

Un large nombre de champignons piègent les nématodes. Ils sont constamment associés à la rhizosphère du sol. Les plus importants sont inclus dans les genres *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Hirsutella*, *Nematophthora*, *Arthrobotrys*, *Drechmeria*, *Fusarium* et *Monacrosporium* (Siddiqui et Mohamed, 1996).

Plusieurs champignons parasites et prédateurs sont associés au nématodes du citrus (Stirling et Mankau,1977, Walter et Kaplan, 1990; Gené et *al.*, 2005).

Les *Myzocytiium*, *Rhizophidium*, *Meria coniospora* (Stirling et Mankau, 1977), *Haptoglossa heterospora*, *Catenaria anguillulae* sont les principaux champignons parasites des larves de *T. semipenetrans*. Par contre, *Paecilomyces lilacinus*, *P. marquandii* et *Pochonia clamydosporia* sont liés aux œufs du nématode (Walter et Kaplan, 1990; Gené et *al.*, 2005). Les champignons prédateurs de *T. semipenetrans* les plus fréquents, appartiennent aux genres *Arthrobotrys* (*A. conoides*, *A. dactyloides*, *A. oligospora*, *A. arthrobotryoides*, *A. javanica*, *A. superba* et *A. musiformis*), *Monacrosporium* (*M. gephyropagum*) et *Dactylaria* (Stirling et Mankau, 1977; Walter et Kaplan, 1990; Gené et *al.*, 2005).

D'après Kellal et Labiagh (2010) les champignons prédateurs lorsqu'ils sont actifs paraissent les plus intéressants pour diminuer l'inoculum du nématode dans le sol. Puisque après l'éclosion, la juvénile (J2) de *T. semipenetrans* peut rester plus de 2 semaines dans le sol avant d'infester les racines nourricières. Les travaux de ces même auteurs ont identifiées plusieurs souches de champignons prédateurs (*Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. musiformis*, *A. dactyloides*, *Monacrosporium cionopagum Meristacrum* et *Monacrosporium rutgeriensis*) isolés à partir de la rhizosphère des arbres des Citrus infestés par *Tylenchulus semipenetrans*. En outre, *M. cionopagum*, a montré le meilleur

pourcentage de capture à 25 °C. Il a pu capturer plus de 80% de larves de *T. semipenetrans* en 72 heures.

A coté des champignons certains auteurs ont signalés l'importance de la bactérie hyperparasite *Pasteuria penetrans* dans l'infection des larves de *T. semipenetrans* (Fattah et al., 1989; Walter et Kaplan, 1990; Elekçioğlu, 1995; Sorribas et al., 2000; Gené et al., 2005).

#### **I.1.7.3.2. L'utilisation des plantes nématicides**

La production de substances nématicides par les végétaux supérieures est connue depuis très longtemps. Les données acquises sur le terrain, démontrent l'efficacité de certains végétaux introduits traditionnellement dans les assolements, en culture intercalaire ou sous forme broyats pour lutter contre les nématodes phytoparasites. Plus de deux cents espèces de plantes appartenant à 80 familles différentes, sont étudiés pour leurs propriétés nématicides (Roger, 2005). Nombreuses espèces peuvent être utilisé tel que (*Tagetes spp*, *Crotalaria spectabilis*, *Chrysanthemums spp*, *Allium sativum*, *Cinnamomum verum* « Cannelle » et *Azardirecta indica* « Neem ») (Duke, 1990 ; Kong et al ., 2007 ; Lee et al.,2001 ; Park et al., 2005 ; Satti et Naser ,2006 ; Satti et al. , 2003).

Par ailleurs, l'utilisation d'amendement organique de *Brassicacea* contre le nématode du *Cirtus* a dévoilé des résultats intéressants. En effet, les travaux de Zasada et al ., (2003) ont rapporté une réduction de *T. semipenetrans* de 100 et de 60% respectivement avec les amendements de brocoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) à 8,4 tonnes de matière sèche / ha et de raifort (*Armoracia lapathifolia*) à 4 tonnes de matière sèche / ha.

## **2. Etude bibliographique sur les *Brassicacées***

### **I.2.1. Généralités**

La famille des brassicacées anciennement nommée crucifères est une importante famille des plantes dicotylédones. Elle regroupe environ 390 genres et 3000 espèces. Elle est distribuée un peu partout dans le monde mais plus particulièrement dans le bassin méditerranéen, le sud-ouest et le centre de l'Asie où sont cultivés les deux tiers des espèces (Al-Shehbaz et al., 2006).

Les Crucifères peuplent la presque totalité des habitats et des milieux de vie possibles : sables et rochers maritimes, bords de ruisseaux, talus calcaires, pelouses humides ou sèches, cultures et jardins, bords de chemins, cailloutis et prairies de montagne... Les moutardes, choux, radis et quelques plantes

ornementales (aubriétias, ibéris, giroflées) comptent parmi les Crucifères. (Anonyme, 2009).

La famille des crucifères comprend une grande variété des plantes alimentaires. Les représentants les plus connus de la famille sont les choux -tous des variétés du chou sauvage, originaire des côtes européennes - le chou vert, le chou-fleur, le chou brocoli, le chou romanesco, le chou cavalier, le chou de Bruxelles, le chou chinois, le chou-rave, le chou de Milan...colza et la moutarde, Le navet, le radis, le cresson. Cette famille contribue de façon importante à la production d'huiles végétales, après les légumineuses (soja, arachide), les malvacées (graines de coton) et les composées (tournesol) (Anonyme, 2009).

L'importance économique des brassicacées a offert à l'homme une très grande diversité d'espèces cultivées pour les usages les plus divers ; dans l'alimentation, comme huile, fourrage et condiment et comme espèces ornementales (Al-Shehbaz et al ., 2006).

## **1.2.2. Description morphologique**

La majorité des brassicacées sont des herbacées annuelles, bisannuelles ou rarement vivaces ; il existe aussi quelques arbustes et des plantes grimpantes. Les fleurs ont quatre pétales opposés et disposés en croix. Les six étamines sont distribuées par paires. Celles de la paire extérieure sont courtes, alors que celles des deux paires internes sont longues. Le fruit, ou silique, est une capsule caractéristique comportant deux chambres divisées par un faux septum (cloison). À maturité, le fruit s'ouvre en deux par le fond. De nombreuses variantes de ce type de fruit existent dans la famille, et les caractéristiques des fruits sont très précieuses pour distinguer et classier les différents membres (Anonyme, 2009).

### **1.2.2.1. Le chou vert (*Brassica oleracea* L.)**

La culture de chou représente une spéculation avantageuse en raison de la rusticité propre à cette espèce. Il convient cependant de dire que les rendements se révèlent plus élevés dans les régions à climat frais, doux et humides (Laumonier, 1963). Le chou (*Brassica oleracea*) est une plante comestible originaire de sud -ouest de l'Europe. Il s'agit d'une crucifère bisannuelle dont les

feuilles forment une tête compacte ou « pomme ». Leur culture en tant que légume remonte à la plus haute antiquité à partir des formes sauvages originaires d'Europe de l'Ouest ou méridionale. En ce qui concerne les exigences thermiques de la plante. Elle a besoin de température douce et régulière (15 à 18 C°) ; la raison pour laquelle le chou fait l'objet d'une culture automnale ou hivernale dans le nord de l'Algérie (Mazoyer et al . , 2002).

Le chou présente la particularité de réussir dans tous les terrains. Cependant, dans l'ensemble, ce sont les terres argileuses qui sont considérées comme les plus favorables. Il redoute les sols acides, qui sont à l'origine de baisses dans les rendements. La neutralité est donc indispensable, c'est-à-dire que le pH du terrain considéré doit être voisin de 7 (Laumonier, 1963). Il se révèle extrêmement exigeant pour les apports des fumures, notamment de l'azote et de la potasse.

La multiplication se fait par graine : un porte-graine fournit de 30000 à 40000 graines. La production de plants a lieu en pépinière suivant différents semis et différentes techniques. Les semis du chou se préparent au printemps (fin mai début juin), la mise en place des plants se fait début août et sa récolte entre mars et mai, avec une récolte possible en automne si les semis se font fin mai dans une pépinière ombragée (Mazoyer et al., 2002).



**Figure I.2.9. Chou vert (originale, 2013)**

#### **I.2.2.2. Choux fleur (*Brassica Oleracea var botrytis*)**

Le chou-fleur, est l'une de la douzaine de variétés ou sous-espèces de chou. C'est une plante herbacée bisannuelle qui produit une boule

blanche tendre et compacte. Cette boule est un méristème, un organe pré-floral qui, si on le laisse évoluer continue sa croissance en tiges florales qui porteront des fleurs jaunes ou blanches, typiques du genre *Brassica*. Puis donnent les graines. Le méristème est récolté avant que le chou ne passe au stade de la floraison, sans quoi il devient impropre à la consommation (Anonyme, 1999).

Les feuilles à côtes développées enveloppent étroitement cette inflorescence. Le nom courant de chou-fleur porte à confusion, car la partie que l'on consomme n'est pas une fleur, contrairement au brocoli, une autre variété de *Brassica oleracea*, dont les parties consommées sont effectivement des boutons floraux. Les choux-fleur traditionnel est blanc mais depuis quelques temps, apparaissent sur les marchés des choux-fleurs verts, jaunes ou violets. Ces couleurs sont naturelles (chlorophylle, carotène ou anthocyanes) (Anonyme, 1999).



**Figure I.2.10. Choux fleur (originale, 2013)**

**I.2.3. Position systématique : D'après ( Cronquist., 1981)**

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Dilleniidae*

Ordre : *Caprales*

Famille : *Brassicaceae*

Genre : *Brassica*

**I.2.4. Importance des brassicacées**

Les espèces de brassicacées sont utilisées comme engrais vert, en rotation avec d'autres cultures, ou en bio fumigation pour lutter contre les différentes maladies et ravageurs des plantes. Elles présentent l'avantage de croître rapidement, d'utiliser les réserves minérales du sol et de croître dans des sols déficients en humus, ou les légumes ne peuvent pas pousser facilement (Regnault- Roger et al ., 2005). Ces plantes peuvent exsuder et produire, lors de leur dégradation, des composés allélochimiques ayant des propriétés biocides. Selon Curto et al ., (2005), toutes les brassicacées peuvent être utilisées comme moyen de lutte.

Les composés secondaires de ces plantes sont réputés depuis l'antiquité pour leurs propriétés pharmacologiques. Depuis quelques décades, la recherche s'intéresse également à leurs autres activités biologiques (Auger et al ., 2002). Ces composés produits par la plante sont considérés comme un moyen de défense contre divers organismes pathogènes et ravageurs (Fraenkel, 1959 in ; Auger et al ., 2002). Ils sont très nombreux, certains sont largement distribués dans la plante, comme les alcaloïdes, les terpènes et les tanins (Auger et al., 2002) les phénols, les flavonoïdes, et les stéroïdes (Benayad, 2008). Tandis que d'autres ont une répartition plus restreinte comme les composés soufrés (Auger et al ., 2002).

Les glucosinolates sont des métabolites secondaires des plantes de l'ordre des Capparales, notamment, les *Brassicaceae* (*Brassica napus* var. *oleifera*, *B. rapa*, *B. juncea*, *B. carinata*, *Raphanus sativus* var. *Sinapis alba* et *Crambe abyssinica*) (Avato et al., 2008 ; Bellostas et al., 2008).

Selon Kirkegaard et al ., (1993) les Isothiocyanates produit dérivé des glucosinolates sont des composés toxiques volatils et sont utilisés en biofumigation dans la protection des cultures contre les maladies telluriques. Les Isothiocyanates sont connus par leur large spectre d'activité pesticide contre des mauvaises herbes, bactéries et les nématodes (Matthiessen et Kirkegaard, 2006).

#### **1.2.5 .Composition phytochimique des brassicacées**

Vandermeiren et De- Temerrman en 2009 ont déduit que Les glucosinolates sont les principaux métabolites secondaires contenant du soufre que l'on retrouve dans les plantes de la famille des brassicacées. La molécule de glucosinolate se

compose d'une unité de bêta-thiogluucose, d'une unité d'oxime sulfonée et d'une chaîne latérale variable, dérivée d'un acide aminé.

Des glucosinolates présentent plus de 120 structures de chaînes latérales variables différentes qui ont été décrites, bien que 16 d'entre elles soient couramment présentes dans les plantes cultivées, (Fahey et *al.*, 2001).

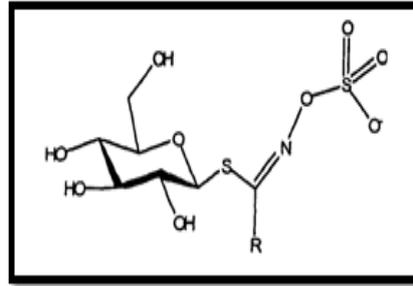
Selon Alexander, (2007) les glucosinolates sont présents dans toutes les parties des plantes, les concentrations les plus élevées se retrouvent dans les semences. Selon ce même auteur, les myrosinases ( $\beta$ -thioglucohydrolases) sont enfermées dans des vacuoles aqueuses. Lors de la dégradation de la plante, les myrosinases sont libérées puis entraînées en présence d'eau à la conversion des glucosinolates en divers produits de dégradation, dont des isothiocyanates, des oxazolidinéthions (5-vinyl-2-oxazolidinéthions et 5-vinyl-1,3-oxazolidine-2-thione) des thiocyanates, des nitriles, des épithionitriles et d'autres dérivés d'indol-3-ylméthyle, des thiocyanates, des nitriles, des épithionitriles (Alexander, 2007).

L'activité du système glucosinolate- myrosinase est beaucoup plus forte dans les tissus jeunes des brassicacées que dans les âgés, elle est aussi faible dans les tiges par rapport aux feuilles (Martin et Muller., 2007).

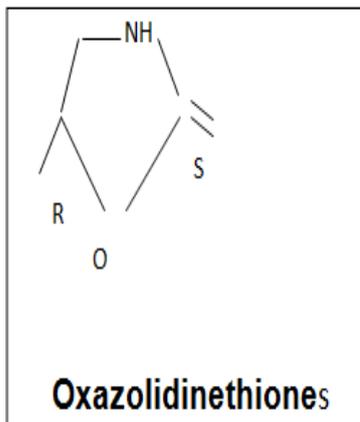
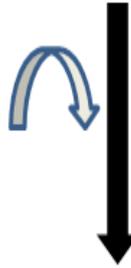
Lazzeri et *al.* (2004) ont déduit que, Les glucosinolates doivent être hydrolysés par les myrosinases afin de produire les isothiocyanates qui seront actifs contre les ennemis des cultures et sont mises en jeu dans les mécanismes de l'allélopathie ou bio fumigation chez les brassicacées. Les glucosinolates et les isothiocyanates peuvent migrer dans les différents horizons des sols et peuvent persister pendant plusieurs jours (Gimsing et Kirkegaard, 2009).



## Structure des Glucosinolates



Myrosinase



$\text{SO}_4^{2-}$   
Ion sulfate

$\text{R-N=C=S}$   
Isothiocyanates

$\text{R-S-C=N}$   
Thiocyanate

$\text{R-C}\equiv\text{N}$   
Nitrile

$\text{SCN}$  Ion thiocyanate

D-Glucose

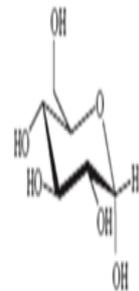


Figure I.2.11. Les principaux produits de la dégradation des glucosinolates (Vandermeiren et De-Temerman, 2009)

## 2. Résultats

### II.2.1. Efficacité des extraits aqueux des deux plantes «*Brassica oleracea var botrytis*» et «*Brassica oleracea L.* » sur les nématodes de citrus *Tylenchulus semipenetrans*.

Les extraits aqueux de différentes parties des deux plantes ont été préparés et testés sur les larves de *T. semipenetrans* dans les conditions de laboratoire. Pour estimer l'efficacité des extraits aqueux nous les avons comparés à deux témoins « témoin neutre (eau distillée). Le tableau (A). (Annexe), résume les différents résultats.

#### II.2.1.1. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux de *B.oleracea var botrytis* sur les larves de *T. semipenetrans*.

##### II.2.1.1.1. Toxicité des extraits aqueux des racines

Les résultats (Figure II.19) et le tableau 1 (Annexe) montrent en comparaison avec le témoin (eau distillée) que l'effet toxique varie dans le temps en fonction des concentrations. En effet, nous remarquons que la toxicité des extraits aqueux des racines apparaît nettement pour les doses D5 à D6. Les taux de mortalité des larves de *T. semipenetrans* enregistrées pour ces doses varient entre (40 et 70%). Toutefois, le traitement formulé à partir des racines s'est montré plus actif à la plus forte concentration (D6). Sa toxicité apparaît dès les premières heures d'exposition (24h). Un taux de létalité de plus (50%) des larves est enregistré. Ce dernier augmente sensiblement pour atteindre 70% de mortalité après 72h. Par contre, pour la dose (D5) la moitié des larves de *T. semipenetrans* meurent qu'après 72h d'immersion dans l'extrait aqueux.

En ce qui concerne les de D1 à D4 la toxicité est faible. Elle ne dépasse pas les 40% mortalité quelque soit le temps d'exposition des larves.

Quand à l'effet du pH, il apparaît que le pH basique (9.68) présente une très faible toxicité qui est comparable à celle du témoin.

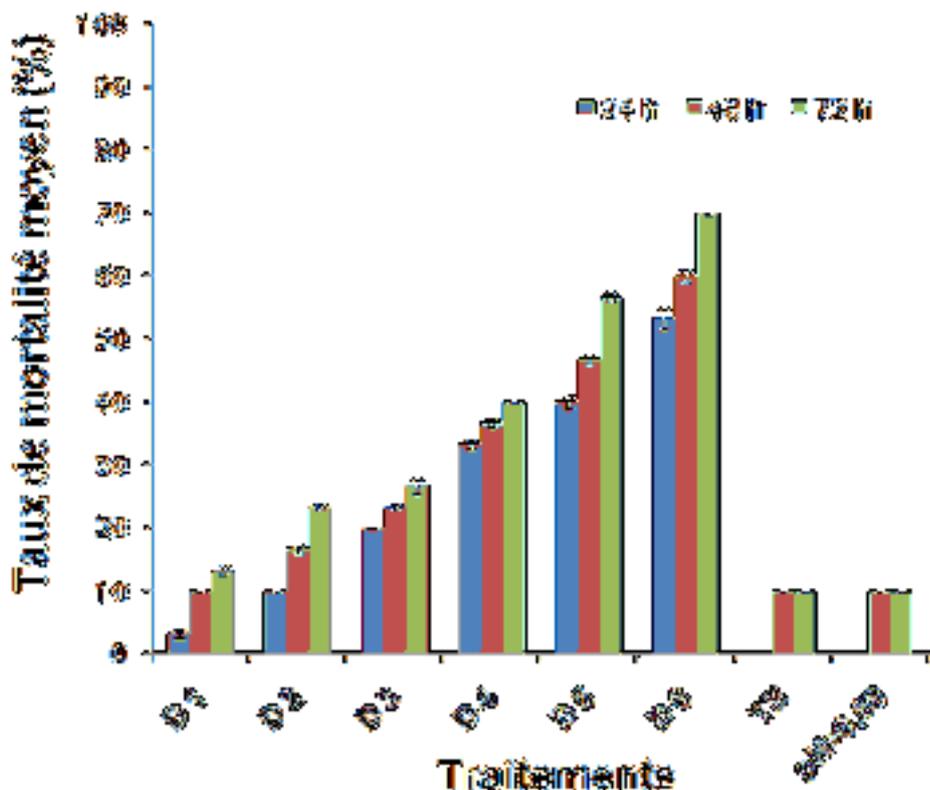


Figure II.2.19. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des racines de *Brassica oleracea* sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans*

#### II.2.1.1.2. Toxicité des extraits aqueux des feuilles

D'après les résultats (Figure II.20) et le tableau 2 (Annexe) en comparant l'effet des traitements avec le témoin (eau distillée) et au pH (5.77) il apparaît que la toxicité des différentes doses des extraits aqueux formulés à partir des feuilles nettement supérieure. Les doses les plus efficaces du traitement sont D4, D5 et D6, leur action est rapide dès les 24h d'exposition. Les taux de mortalité respectives sont de (63,3 ; 70 et 83,3 %). Après (48 et 72h) d'immersion les taux de létalité augmentent considérablement notamment pour la plus forte concentration (D6) 120g/l. ils sont respectivement de (66,7 et 70%) ; (73,3 et 76,7%) et (89,7 et 90%).

De faibles taux de mortalité sont signalés pour les doses D1 à D3. Ils ne dépassent pas les 50%, particulièrement pour la plus faible concentration 20g/l (D1).

Quand à l'effet du pH, il apparaît que le pH acide (5.77) affecte la survie des larves de *T. semipenetrans*. Les taux de mortalité varient sont de (15, 20 et 25%) après (24, 48 et 72h heures) d'exposition.

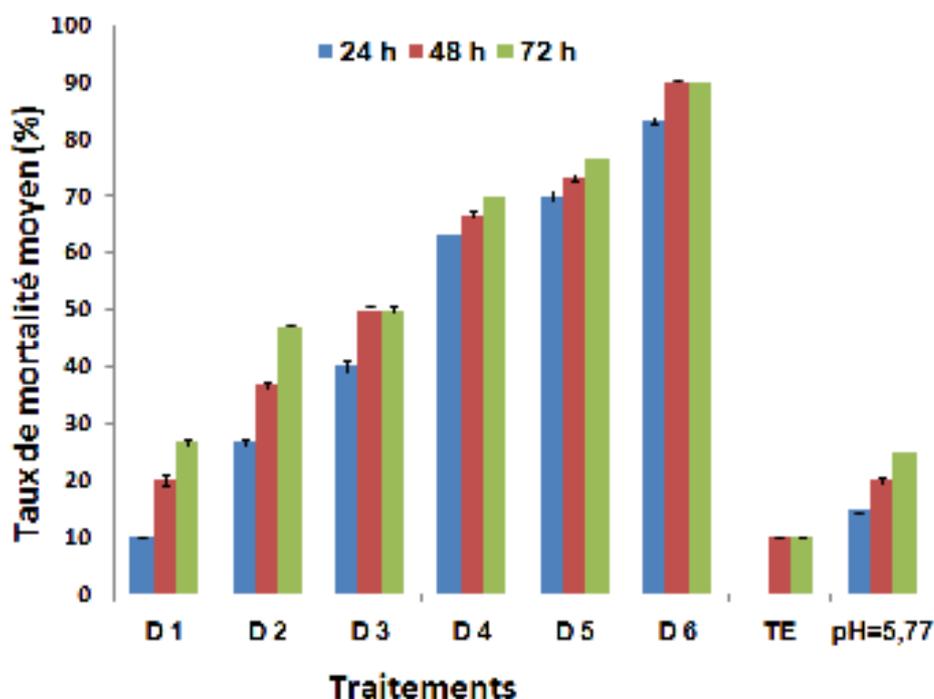


Figure. II.2.20. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des feuilles de *Brassica oleracea* sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans*

### II.2.1.1.3. Toxicité des extraits aqueux du mélange (racines et feuilles)

La figure (II.21) et le tableau (3) en annexe représente les résultats obtenus sur l'effet toxique des extraits aqueux en mélange (racines et feuilles) sur les larves de *T. semipenetrans*. Il apparaît que cette association a amélioré l'effet des extraits aqueux des racines. Avec le mélange, on enregistre des taux de mortalité élevés pour la D5 (100g/l) et la D6 (120g/l). Toutefois, l'action de la D6 est immédiate, ou 63,3% de mortalité est observée après 24h contrairement la D5 (46,7%). Après (48 et 72h) les taux de mortalité s'élèvent sensiblement pour les deux doses (D5 ; D6). Ils sont respectivement de (63,33 ; 66,70%) et (66,70 ; 80%).

Les plus faibles taux de létalité sont signalés pour les doses D2 et D3, ou ces derniers ne dépassent pas les 30%.

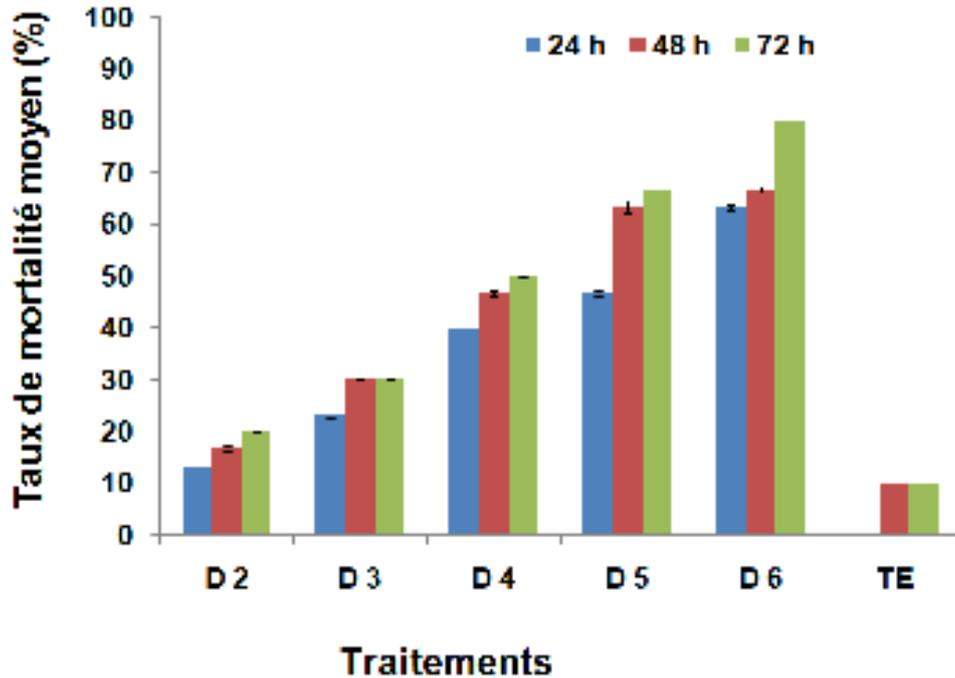


Figure. II.2.21. Evaluation de la toxicité du mélange des extraits aqueux de *Brassica oleracea* sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans*

#### II.2.1.1.4. Toxicité comparée des extraits aqueux de *Brassica oleracea* var *botrytis*

L'application du modèle G.L.M. pour les données (tableau 1 et figure II.22), dévoile que les différents traitements et leurs doses présentent des différences très hautement significatives ( $p=0.000$ ;  $p<0.05$ ). La toxicité des traitements varie significativement dans le temps ( $p=0.000$ ;  $p < 0.05$ ).

Tableau 1 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématicide des bioproduits à base de *B. oleracea* var *botrytis*

Source	Somme des carrés	D.L.L	Carrés moyens	F.ratio	P
Traitements	158.143	9	17.571	44.567	0.000
Doses	705.180	8	88.148	223.572	0.000
Temps	44.916	2	22.458	56.961	0.000
Erreur	80.825	205	0.354	-	-

L'analyse statistique par le modèle G.L.M. (figure. II.22) confirme que l'extrait aqueux des feuilles est plus toxique que celui du mélange et des racines.

En ce qui concerne les concentrations, l'analyse révèle que la toxicité des traitements est proportionnelle aux concentrations testées. En effet, la mortalité augmente avec l'augmentation des doses. Par ailleurs, la toxicité des extraits testés augmente dans le temps d'exposition. Elle agit progressivement dans le temps. La plus forte mortalité est obtenue après les 72h d'exposition des larves de *T. semipenetans* quelque soit le traitement.

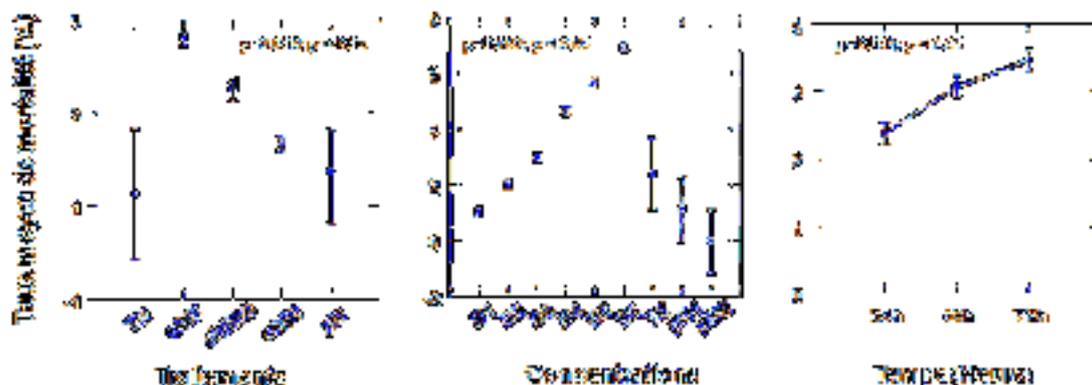


Figure. II.2.22. Variation de la toxicité des extraits du *Brassica oleracea var botrytis* vis à vis des larves de *T. semipenetans*.

## II.2.1.2. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux de *Brassica oleracea* sur les larves de *T. semipenetans*.

### II.2.1.2.1. Toxicité des extraits aqueux des racines

Les résultats (Figure II.23) et le tableau 4 (Annexe), montre que la toxicité des extraits aqueux formulés à partir des racines dépasse les 50% avec la plus forte dose D6 (120g/l) après 48 et 72 h d'exposition. Les taux de mortalité des larves de *T. semipenetans* enregistrées sont respectivement de (53,30 et 56,66%). Alors que pour le reste des concentrations elles sont inférieures à 50% à l'exception des doses D4 et D5 ou après 72 h ou la moitié des larves meurent.

Quand à l'effet du pH, il apparaît que le pH acide (4.77) présente une toxicité aussi importante que le traitement à la concentration 20g/l (D1) par rapport au témoin (eau distillé).

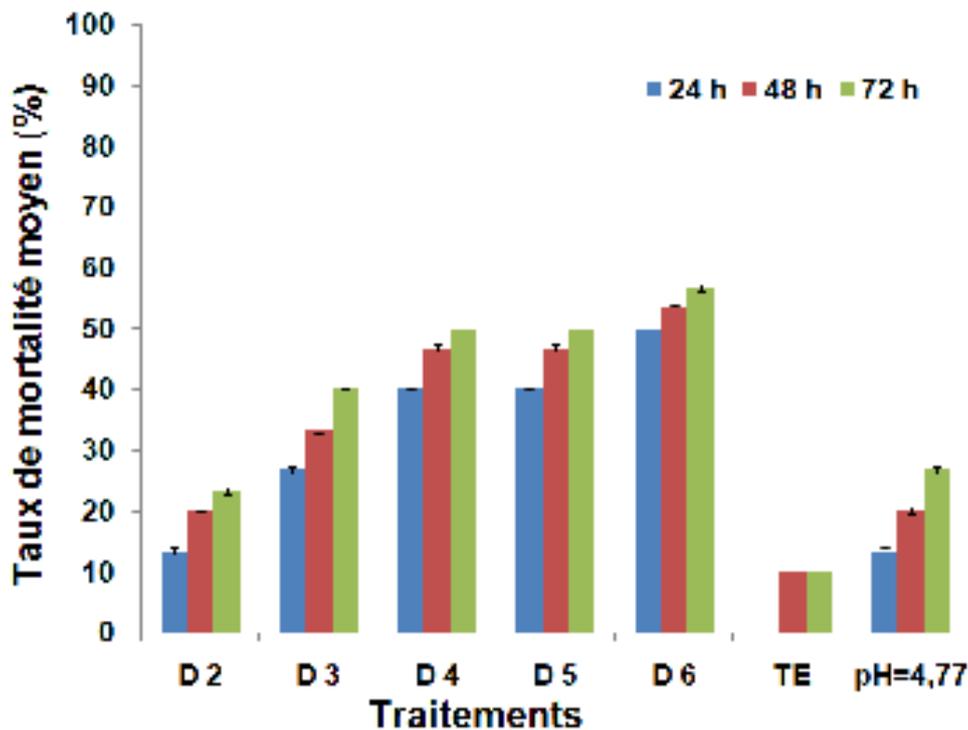


Figure II.2.23. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des racines de *Brassica oleraceae* sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans*

#### II.2.1.2.2. Toxicité des extraits aqueux des feuilles

Les résultats (Figure II.24) et le tableau 5 (Annexe) dévoilent l'effet toxique différent des extraits aqueux formulés à partir des feuilles. Leur action varie en fonction du temps. Les taux de mortalité des larves de *T. semipenetrans* les plus importants sont obtenus avec les doses (D4, D5 et D6). Pour la D4 après 48 et 72h les taux respectifs sont de (56,7 et 66,7%). Par contre pour les D5 et D6 plus de 75% des larves meurent après 48h et atteignent les 90% à 72h d'immersion. Par ailleurs, les bioproduits avec ces concentrations (D5 et D6) ont dévoilé un effet choc dès 24h d'exposition avec des taux de mortalité de 70 et 73,3% respectivement.

En ce qui concerne les traitements réalisés avec les doses D1, D2 et D3 la toxicité est faible. Quelque soit le temps elle ne dépasse pas les 40%.

Quant à l'effet du pH, il apparaît que le pH acide (5.77) présente une toxicité comparable à l'extrait D1 par rapport au pH basique (8.19).

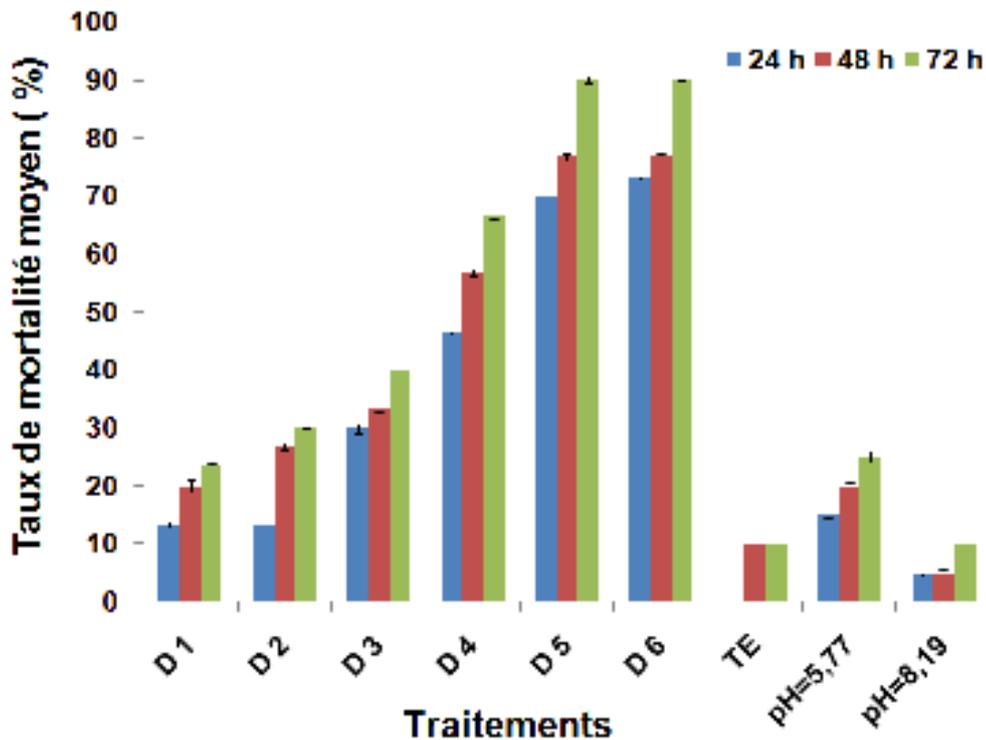


Figure. II.2.24. Evaluation de la toxicité des extraits aqueux des feuilles de *Brassica oleracea* sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans*

### II.2.1.2.3. Toxicité des extraits aqueux du mélange (racines et feuilles)

La figure (II.25) et le tableau (3) en annexe représente les résultats obtenus sur l'effet toxique des extraits aqueux en mélange (racines et feuilles) sur les larves de *T. semipenetrans*. Il apparaît que cette association a amélioré l'effet des extraits aqueux des racines. Avec le mélange, on enregistre des taux de mortalité élevés pour la D4 (80g/l), la D5 (100g/l) et la D6 (120 g/l). Toutefois, l'action de la D6 est immédiate, ou 60% de mortalité est observée après 24h contrairement la D4 et D5 (47%). Après (48 et 72h) les taux de mortalité s'élèvent sensiblement pour les trois doses (D4 ; D5 ; D6). Ils sont respectivement de (58 ; 68 ; 78%) et (70 ; 80 ; 82%).

Les plus faibles taux de létalité sont signalés pour les doses D1, D2 et D3, ou ces derniers ne dépassent pas les 40%.

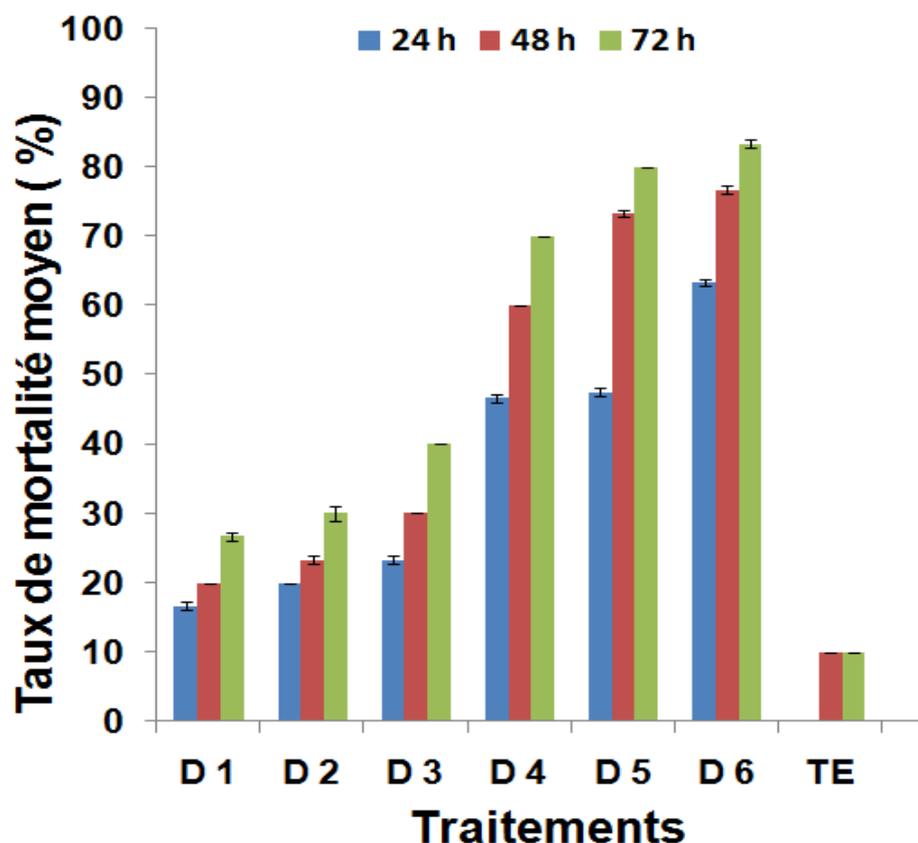


Figure. II.2.25. Evaluation de la toxicité du mélange de *Brassica oleraceae* sur les laves de *Tylenchulus semipenetrans*.

#### II.2.1.2.4. Toxicité comparée des extraits aqueux de *Brassica oleracea L.*

L'application du modèle G.L.M. pour les données (tableau 2 et figure II.26), dévoile que les différents traitements et leurs doses présentent des différences très hautement significatives ( $p=0.000$ ;  $p<0.05$ ). La toxicité des traitements varie significativement dans le temps ( $p=0.000$ ;  $p < 0.05$ ).

Tableau 2 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématicide des extraits du *B. oleracea L.* utilisés en fonction du temps d'exposition et des doses utilisées

Source	Somme des carrés	D.L.L	Carrés moyens	F.ratio	P
Traitements	67.128	3	22.376	49.934	0.000
Doses	836.792	7	119.542	266.766	0.000
Temps	56.214	2	28.107	62.722	0.000
Erreur	99.033	221	0.448	-	-

L'analyse statistique par le modèle G.L.M. (figure. II.26) confirme que l'extrait aqueux des feuilles et de mélange est plus toxique que celui des racines.

En ce qui concerne les concentrations, l'analyse révèle que la toxicité des traitements est proportionnelle aux concentrations testées. En effet, la mortalité augmente avec l'augmentation des doses. Par ailleurs, la toxicité des extraits testés augmente dans le temps d'exposition. Elle agit progressivement dans le temps. La plus forte mortalité est obtenue après les 72h d'exposition des larves de *T. semipenetrans* quelque soit le traitement.

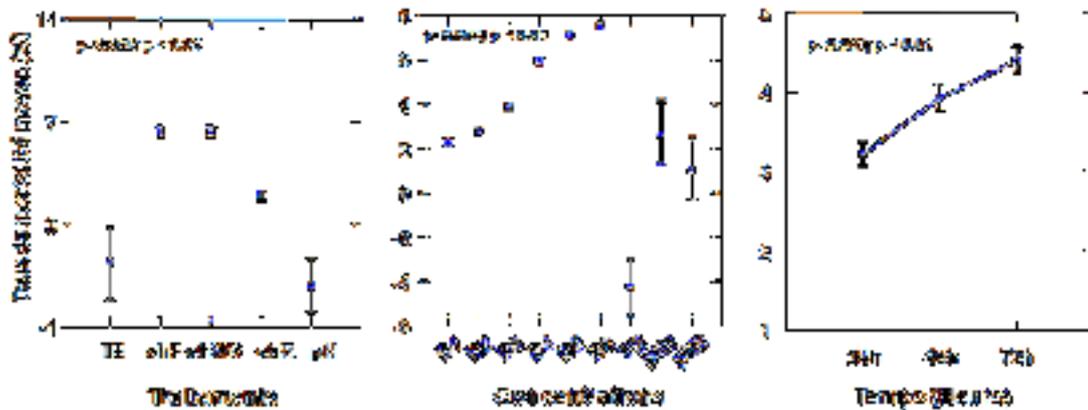


Figure. II.2.26. Variation de la toxicité des extraits du *Brassica oleracea L.* vis à vis des Larves de *Tylenchulus semipenetrans*

#### II.2.1.2.4. L'effet comparé des différents traitements formulés sur la mortalité des larves de *T. semipenetrans*.

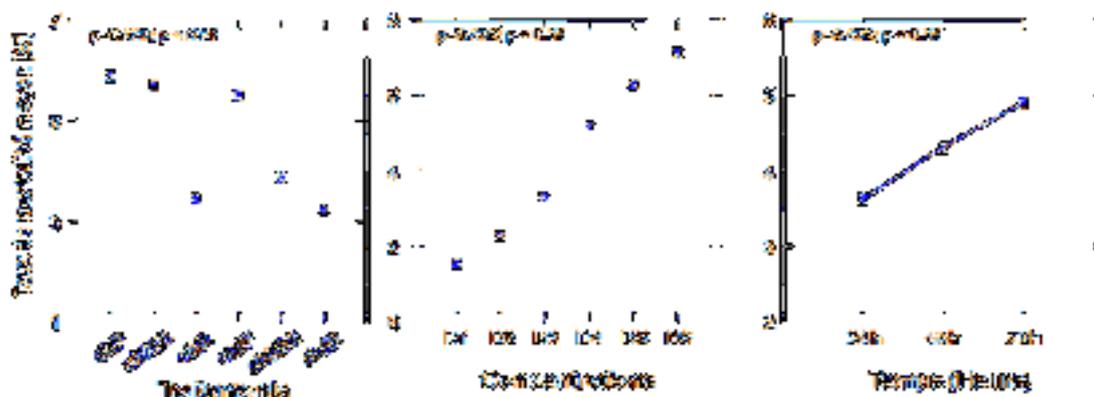
L'application du modèle G.L.M. pour les données (tableau 3 et figure II.27), dévoile que les différents traitements et leurs doses présentent des différences très hautement significatives ( $p=0.000$ ;  $p<0.05$ ). La toxicité des traitements varie significativement dans le temps ( $p=0.000$ ;  $p < 0.05$ ).

**Tableau 3 : Modèle G.L.M. Appliqué au pouvoir nématicide des différents bioproduits formulés en fonction du temps d'exposition et des doses utilisées**

Source	Somme des carrés	D.L.L	Carrés moyens	F.ratio	P
Traitements	216.025	5	43.205	87.070	0.000
Doses	1377.210	5	275.442	555.093	0.000
Temps	88.321	2	44.160	88.996	0.000
Erreur	154.321	311	0.496	-	-

L'analyse statistique par le modèle G.L.M. (figure. II.27) confirme que les extraits aqueux formulé à partir des feuilles des deux variétés de *B. oleracea* présentent toxicité élevée et presque comparable. Contrairement aux extraits préparés des racines des ces variétés. Leur effet biocide est également similaire. En ce qui concerne les formulations mélanges, on remarque que l'association racines-feuilles du chou augmente les performances toxiques des extraits des racines mais ne dépasse pas celui des feuilles. Quand au mélange des extraits des deux organes de chou fleur on note une diminution sensible de la toxicité des extraits issus des feuilles.

En ce qui concerne les concentrations, l'analyse révèle que la toxicité des traitements est proportionnelle aux concentrations testées. En effet, la mortalité augmente avec l'augmentation des doses. Par ailleurs, la toxicité des extraits testés augmente dans le temps d'exposition. La plus forte mortalité est obtenue après les 72h d'exposition des larves de *T. semipenetrans*.



**Figure. II.27. Variation de la toxicité des différents bioproduits préparée sur les larves de *Tylenchulus semipenetrans***

### **II.2.2. Évolution temporelle des populations résiduelles du *T. semipenetrans* sous l'effet des différentes doses des extraits aqueux de deux plantes testées *B.oleraceae var botrytis* et *B.oleraceae L.***

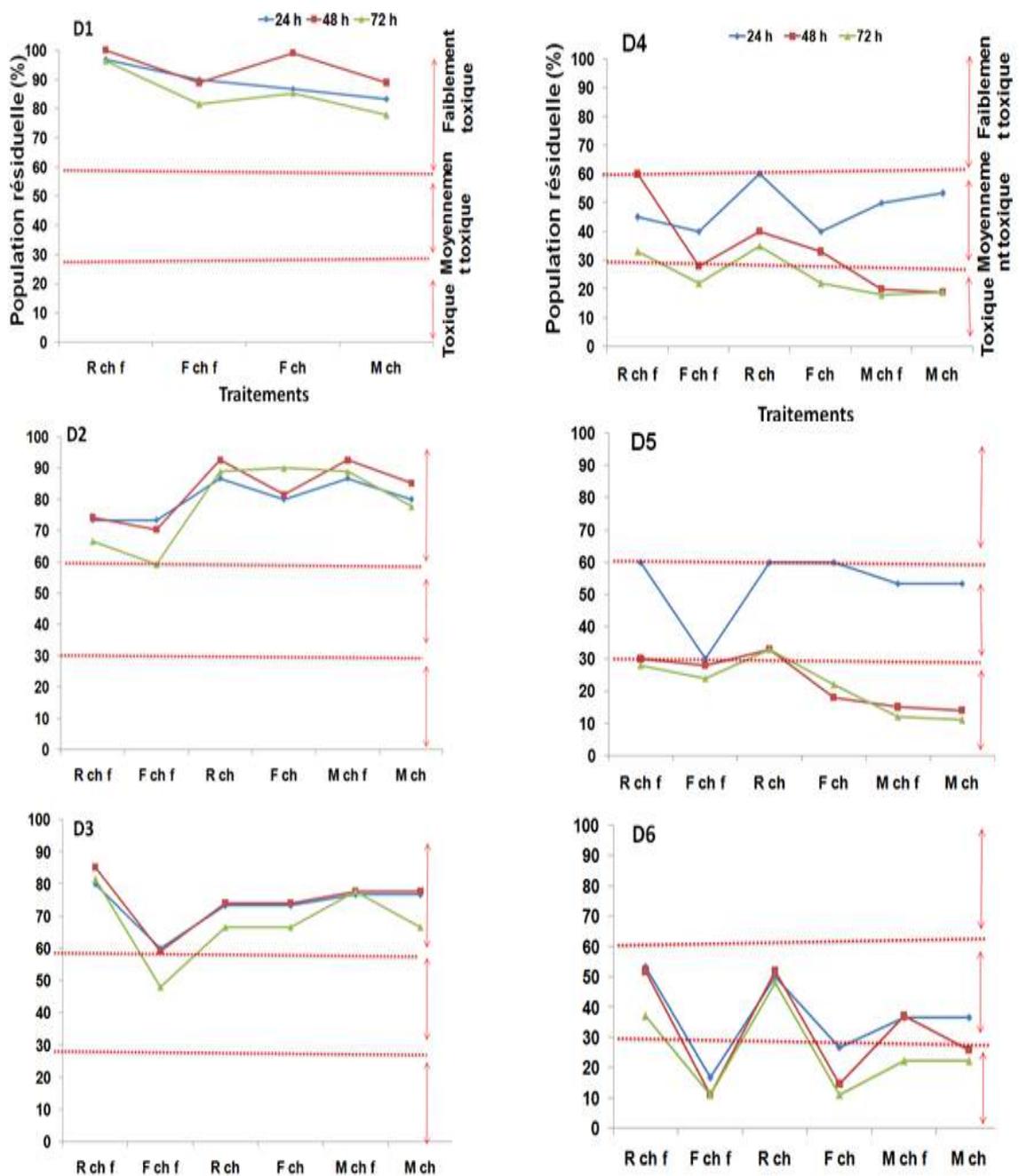
L'application des extraits aqueux formulés *B.oleraceae var botrytis* et *B.oleraceae L.* sur les nématodes des citrus *T.semipenrtrans* nous a permis d'estimer l'efficacité de six doses apportées on se référant à l'évaluation des populations résiduelles par le biais du test de DUNNET.

La figure (II.28) dénote que le taux des populations résiduelles varient en fonction du temps et des concentrations des formulations testées.

Tous traitements testés aux concentrations D1, D2 et D3 quelque soit le temps sont qualifiés de bioproduits faiblement toxique à cause du taux de population résiduelle supérieur à 60%. A l'exception de la formulation issue des feuilles de chou fleur pour la D3 après 72h. Avec l'augmentation des concentrations des bioproduits à partir de 80g/l (D4), ces derniers se rangent dans le champ moyennement toxiques ou toxiques en fonction du temps de traitement. En effet après 24h toutes les formulations sont moyennement toxiques pour la D4 et la D5.

Après 48 et 72 les extraits aqueux issus des feuilles des deux variétés de chou et les mélanges sont qualifiés de bioproduits toxiques, le taux de population résiduelle est inférieur à 30%.

En ce qui concerne la concentration la plus élevée (D6= 120g/l) certaines formulations comme ceux préparées à partir des feuilles des deux variétés de chou quelques soit le temps (24, 48 et 72) sont qualifiés de toxique. Alors que les Les bioproduits issus du mélange, des organes sont toxique qu'après 48 et 72 h.



**D1= 20g/L**    **D2= 40g/L**    **D3= 60g/L**    **D4= 80g/L**    **D5= 100g/L**    **D6= 120g/L**  
**R ch f:** Racine de chou fleur    **F ch f:** Feuilles de chou fleur    **R ch:** Racine de chou  
**F ch:** Feuilles de chou    **M ch f:** Mélange de chou fleur    **M ch:** Mélange de chou

Figure II.2.28. Évolution temporelle des populations résiduelles du *Tylenchulus semipenetrans* sous l'effet des doses et traitements

# 1. Matériels et Méthodes

## II.1.1. Objectif

Le but de notre essai est de tester les potentialités nématocide des extraits aqueux de deux espèces de brassicacées, le chou vert : *Brassica oleracea L* et la chou fleur : *Brassica oleracea var botrytis* contre le nématode de citrus ; *Tylenchulus semipenetrans*.

## II.1.2. Matériels utilisés

### II.1.2.1. Matériels de laboratoire

Nos essais ont été réalisés au laboratoire de Zoophytiatrie, le matériel de laboratoire utilisé dans notre étude sont divers les photos montrent les plus importants.



**Agitateur horizontal**



**Bouteilles de verre**



**Papiers filtre et entonnoirs**



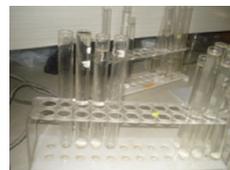
**Tamis en plastique**



**Cellule de comptage**



**cellules de culture**



**tubes a essais**



**cane à pêche**



**Loupe**



**seringue (1cc)**



**seringue (5ml)**



**pissette**



**bâton**



**Deux seaux**



**cristallisoirs**



**pH metre**

Figure II.1.12. Matériel de laboratoire (Originale, 2013)

## **II.1.2.2. Matériel biologique**

### **II.1.2.2.1. Matériel végétal**

Les deux espèces de *Brassica* (chou fleur et de chou vert) ont été récoltées pendant le mois de Décembre 2012 dans un champ proche de la zone de Mefteh de la wilaya de Blida, située à 26 km d'Alger. Les prélèvements ont concerné les racines et les feuilles des deux plantes.

### **II.1.2.2.2. Préparation des extraits aqueux**

Une fois récoltées, les feuilles et les racines des deux plantes sont séparées puis nettoyées à l'eau courante et mises à sécher, à l'air libre sous ventilation continue. Après le séchage, chacun des compartiments des deux plantes est finement broyé et les poudres obtenues sont conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons stériles hermétiquement fermé.

Le procédé d'extraction utilisé dans notre expérimentation 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. Pour cela six mesures de poudre de chaque partie des deux plantes ont été préparées (5, 10, 15, 20, 25 et 30g) et sont mises séparément en suspension avec 250ml d'eau distillée (Aouinty, 2006) dans des flacons hermétiquement fermé et parfaitement enveloppé par du papier aluminium. Ces derniers sont ensuite placés sous agitateur horizontale pendant 72h (Djellout, 2009).

Après ce temps, les extraits sont filtrés à l'aide du papier filtre dans des bouteilles en verre stérile de 250ml, entièrement couverte par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière. Les extraits obtenus sont conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'au moment de leur utilisation (Figure II.13).

### **II.1.2.2.3. Préparation des mélanges des plantes testées**

A partir des extraits aqueux filtrés des organes des plantes, nous avons préparé les différents mélanges qui sont composés par (racines + feuilles) de *Brassica oleracea* et de *Brassica oleracea* var *botrytis*.

Pour cela nous avons prélevé 5 ml de chaque dose des extraits aqueux que nous avons mélangé. Ainsi nous avons obtenu pour le mélange de *Brassica oleracea* toutes les concentrations de (D1 à D6) qui correspondent à (5, 10, 15, 20, 25 et 30g/250ml) de même pour l'espèce *Brassica oleracea* var *botrytis*.

#### II.1.2.2.4. Préparation des pH

Les pH des différentes concentrations (5, 10, 15, 20, 25 et 30g/ 250ml d'eau distillée) sont mesurés. Parallèlement des solutions aux mêmes pH des extraits aqueux testés sont préparées avec de l'eau distillée additionnée d'HCL pour le pH acide ou NaOH pour les pH basique et conservées à 4°C (Figure II.14).



Figure II.1.13. Préparation des extraits aqueux (Originale, 2013)



Figure II.1.14. Préparation des pH (Originale, 2013)

### **II.1.2.3. Matériel zoologique (nématodes)**

Le groupe zoologique utilisé dans notre essai est représenté par les nématodes du genre *Tylenchulus semipenetrans*. Ces derniers ont été prélevés dans la rhizosphère de citronnier infesté dans la région de Beni Mered.

#### **II.1.2.3.1. Technique d'extraction des *Tylenchulus semipenetrans***

Pour extraire les nématodes de leur substrat sol, nous avons eu recours à utilisation de deux méthodes la première la méthode des seaux décrite par Cobb (1918) et la seconde celle de Baermann (1917) qui nous permet de purifier des particules de sol le surnageant récupéré par l'emploi de la méthode des seaux.

##### **➤ Procédé d'extraction par la méthode des seaux (Cobb, 1918)**

Cette méthode est très rudimentaire et demande un équipement minimal

- 2 seaux ou récipients équivalents,
- des tamis de grand diamètre (environ 20 cm) de maille de 1mm et de 40 µm.
- Un bâton lisse son écorchure
- Pissette et cristallisoirs



**Figure II.1.15. Méthode de Cobb (1918)**

#### Déroulement de la manipulation

**I** - Mélanger l'échantillon de sol avec de l'eau par un brassage énergique à l'aide d'un bâton dans le seau A. Laisser décanter quelques secondes (30") les particules lourde du sol, Tandis que les nématodes restent en suspension.

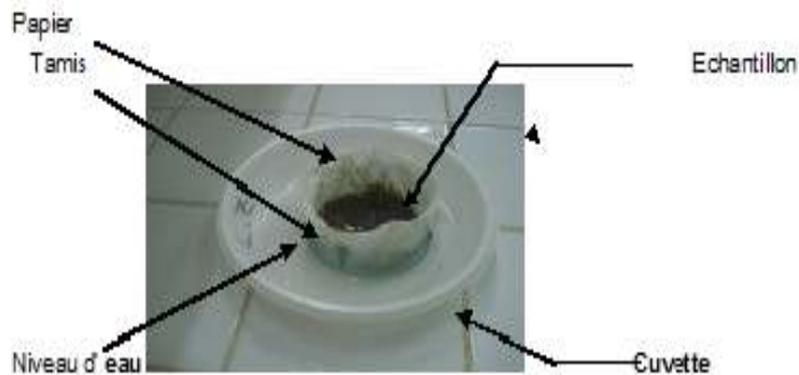
**II** - lorsque l'opérateur estime que la plus grande partie de la phase minérale est déposée au fond du seau (A), passer l'eau surnageant du seau (A) dans un seau (B) à travers un tamis de 1 mm qui retiendra les grosses particules du sol et laissera passer les nématodes. Les particules lourdes restent au fond du seau.

Les opérations peuvent être répétées plusieurs fois en rajoutant de l'eau au résidu du seau (A).

**III** – Mélanger le contenu du deuxième seau après (30"), verser lentement l'eau sur un tamis à maille fine (40 µm) en évitant de verser la boue fine du fond du seau, la plupart des nématodes sont retenu dans ce tamis.

Récupérer les nématodes dans un bécher ou un cristallisoir en rinçant le tamis à l'aide d'un jet de pissette d'eau.

➤ **Méthode de Baermann (1917) (migration sur tamis)**



**Figure II.1.16. Méthode de Baermann modifiée (Originale, 2013)**

Pour purifier la solution boueuse obtenue après extraction par les seaux, nous avons procédé à cette étape (méthode de Baermann) (1917).

Pour cela on prépare les tamis en plastique avec des filtres Kleenex humidifiés. Les échantillons extraits et contenu dans les cristallisoirs ou les béchers sont déverser sur les tamis préparés puis placés dans une cuvette ou un contenant équivalent dans lequel on versera de l'eau du robinet jusqu'à recouvrir l'échantillon (FigII. 16). On laisse la diffusion pendant 3 jours pour que les nématodes migrent dans l'eau de la cuvette. Après ce laps de temps, le tamis est retiré, l'eau de la cuvette est récupéré dans des tubes à essai de 100 ml, puis laissé se décanté pendant 1 heure. Afin de concentrer les nématodes présents dans la suspension on élimine avec précaution le surnageant avant d'examiner la suspension nématodes et récolter les formes libres de *T. semipenetrans*.

### **II.1.3. Les essais in vitro des différents traitements sur les larves**

Les tests sont effectués dans des puits de plaque de culture cellulaire renfermant 12 puits, chaque puits contient de 0,5 cc d'eau distillée additionnée de (10) larves du deuxième stade préalablement comptées (Fig II.17).

Les différents doses de traitements aux extraits aqueux des deux espèces de choux (extraits aqueux racine, partie aérienne et le mélange et les pH correspondants) sont alors ajoutés à la suspension de larves à raison de 1 ml chacun (Agbenin et *al.*, 2005).

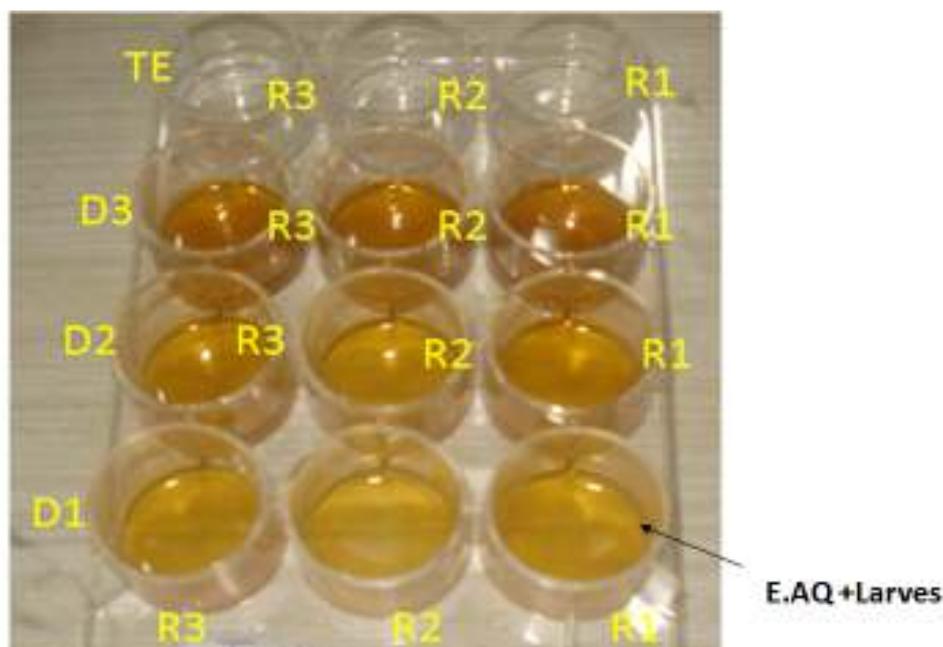
Pour comparer l'efficacité des traitements, nous avons préparé deux témoins ; un à l'eau distillée et l'autre au pH des extraits aqueux.

L'effet toxique des différents traitements est évalué après un temps d'immersion de 24, 48 et 72 heures à l'aide d'une loupe binoculaire (x40).

Chaque traitement est répété trois fois. (Fig II.18)



Figure II.1.17. Larves avant traitement (Originale, 2013)



**Figure II.1.18. Les essais in vitro des différents traitements sur les larves**  
(Originale, 2013)

Le pourcentage de larves mortes dans chaque boîte est estimé après 24 heures, 48h et 72h selon la formule suivante donnée par Jourand *et al.* (2004) :

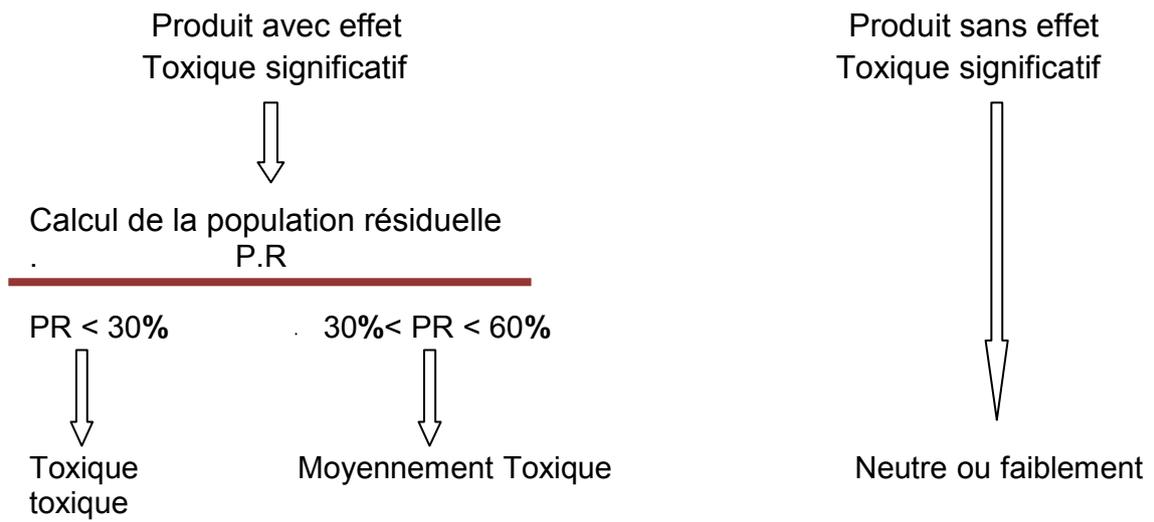
$$\% \text{ de mortalité} = \left( \frac{\text{nombre de larves immobiles}}{\text{nombre total de larves}} \right) \times 100$$

#### **II.1.4. Analyse des données**

Les données recueillies sur l'efficacité des extraits aqueux formulés à partir des deux espèces de choux sont analysées statistiquement afin d'émaner leur potentiel toxiques vis-à-vis des larves de *T. semipenetrans*. Pour cela nous avons fait appel à l'analyse de la variance en utilisant le Modèle Linéaire Global (GLM) (SYSTAT VERS. 12, SPSS 2009).

#### **II.1.5. Estimation des populations résiduelles**

L'évaluation de l'effet toxique des traitements biologiques par les extrait aqueux ont été estimés par la comparaison des populations résiduelles (P.R) selon le Test de DUNNETT (Magali, 2009).



$$PR = \frac{\text{Nombre de formes mobiles(larves) par traitement} \times 100}{\text{Nombre de formes mobiles par témoin (eau)}}$$

### 3. Discussion générale

Les pesticides naturels ont été connus pendant des siècles et leur capacité à combattre les parasites a été découverte au hasard par les observations. Actuellement, les pesticides synthétiques sont largement utilisés contre les bio-agresseurs (Elbadri, 2008). La plupart des nématicides chimiques sont employés dans le contrôle des nématodes phytophages dans les cultures légumières et fruitières. Ces nématicides présentent des résidus toxiques sur les récoltes, la santé humaine et l'environnement ceci à pousser les investigations à s'orienter vers la découverte de méthodes alternatives pour la gestion des nématodes parasites de plantes (Viaene et Abawai, 1998).

Les produits naturels semblent fournir une solution viable aux problèmes provoqués par les pesticides synthétiques et beaucoup de chercheurs ont identifié des produits naturels efficaces pour remplacer les pesticides synthétiques (Kim et al., 2005). Actuellement, les extraits des plantes commencent à avoir un intérêt très promoteur comme une source potentielle de molécules naturelles bioactives (Yakhlef, 2010).

Les métabolites secondaires produits par les espèces de brassicacées particulièrement les isothiocyanates (ITCs) possèdent un large spectre d'activité. En plus de l'effet nématicide, ces plantes possèdent des propriétés herbicide, insecticide et fongicide (Acharya et al., 2002, Sarwar et al., 1998, Djian-Caporalino et al., 2008).

Divers espèces de plantes de la famille « *Brassicaceae* » ont fait objet d'étude dans le cadre de la lutte biologique. Le modèle biologique le plus utilisé est le nématode à galles « *Meloidogyne* spp. ». En effet, Melakberhan, (2006) signalent que la roquette (*Eruca sativa*) affecte tous les stades de développement de *Meloidogyne hapla*. Elle limite le développement des femelles et bloque l'éclosion des œufs de ce nématode. C'est le contenu en glucosinolates dans les racines qui est lié à la capacité de la plante à prévenir l'invasion des nématodes. Les travaux de Monfort et al., (2007) montrent également que la durée du cycle de *M. incognica* sur les espèces de brassicacées « *Eruca sativa*, *Raphanus sativus* et *Brassica verna* » est

remarquablement réduite comparée à la tomate (Curto et al. , 2005). De même la reproduction des populations de *M. chitwoodi* choux fleur, broccoli et colza est faible (Vanderbeek et Mugniéry, 2008).

Vu l'importance de cette famille comme moyen de lutte contre divers maladies et parasites notamment les nématodes nous avons entrepris ce travail afin de valoriser les résidus des variétés de chou cultivées par nos agriculteurs. Pour cela nous avons testé in vitro les extraits aqueux formulés à partir des différentes organes (aérienne, souterraine) de chou vert (*B. oleraceae* L.) et de choux fleur (*B. oleraceae* var *botrytis*) sur les larves des *T.semipenetrans*.

Les résultats des tests des différents bioproduits préparée ont révélé une toxicité vis-à-vis des larves de *T.semipenetrans*. Par ailleurs, l'analyse statistique modèle G.L.M. a révélé que les traitements et leurs concentrations présentent une variation temporelle très hautement significative ( $p=0.000$ ;  $p<0.05$ ).

L'effet biocide de toutes les formulations est proportionnel aux concentrations testées et au temps d'exposition des larves de *T. semipenetrans*. Ce résultat rejoint les travaux d'El badri (2008), Ploeg (2000), Taffifet (2010), Denni (2011) et kheir (2011) qui affirment que les extraits des plantes utilisées ont montré des taux de mortalité plus élevés après 72 h d'exposition.

Le pouvoir biocide des extraits aqueux des deux variétés de *B. oleracea* varie significativement en fonction de l'organe utilisé. Les extraits aqueux formulé à partir des feuilles des deux variétés présentent une toxicité plus élevée et presque comparable a celle des racines. Contrairement aux extraits préparés des racines des ces variétés. Ce résultat est confirmé par le test de DUNNET, qui qualifié ces bioproduits de toxiques avec un taux de population résiduelle inférieur à 30%.

En ce qui concerne les formulations mélanges, on remarque que l'association racines-feuilles du chou augmente les performances toxiques des extraits des racines mais ne dépasse pas celui des feuilles. Quand au mélange des extraits des deux organes de chou fleur on note une diminution sensible de la

toxicité de ce bioproduit par rapport à l'action seule des extraits issus des feuilles.

L'effet synergique n'apparaît pas dans l'association des extraits des deux organes (racine et feuille) aussi bien pour le chou que le chou-fleur, car nous n'avons pas enregistré une augmentation de la toxicité des mélanges par rapport celle formulé des feuilles.

Il est probable que la différence d'action de traitements formulés est en étroite relation avec les composants actifs contenus au niveau de leur tissu. En effet, les travaux d'Oka *et al.*, (2000); Gommers et Bakker (1988) et Chitwood, (2002) signalent plusieurs composés à activité nématocides dans les plantes. Parmi eux les glucosinolates, les isothiocyanates, les acides gras, les alcaloïdes, les diterpènes, les phénols, les polyacétylènes, les flavonoïdes, les sesquiterpènes et les thienyls.

Regnault-Roger *et al.*, (2005) déclarent que la quantité des glucosinolates est importante dans les feuilles des brassicacées, ce qui pourrait expliquer l'effet biocide élevé dans les extraits aqueux des feuilles.

En ce qui concerne nos plantes « *B. oleraceae var botrytis* et *B. oleraceae L.* », les travaux de recherche affirment que les *Brassicaceae* produisent des glucosinolates représentés par  $\beta$ -D-thiogluco-sides qui sont présentes dans toute la plante. Ils sont dégradés par des enzymes en divers composés parmi eux les isothiocyanates (ITCs) (Brown et Morra, 1997; Fahey *et al.*, 2001). Les variations dans les profils de glucosinolates et leurs concentrations existent entre les espèces de *Brassicaceae* et leurs stades de développement (Bellostas *et al.*, 2007).

Brown et Morra (1997) affirment que les isothiocyanates (ITCs) sont des molécules hautement toxiques. Leur activité biocide a été prouvé sur plusieurs espèces de nématode bien connue (Buskov *et al.*, 2002); comme sur *Tylenchulus semipenetrans*, *M. javanica* (Zasada et Ferris, 2003) et sur *Heterodera schachtii* (Lazzeri *et al.*, 1993).

L'espèce *Brassica hirta* contenant le benzyl-isothiocyanates issu de l'hydrolyse du glucotropéoline est très efficace contre *M. halpa* et *M. incognita* (Zasada *et al.*, 2009).

Par ailleurs, la bio fumigation avec les graines broyées de la moutarde éthiopienne (*Brassica carinata*) réduit le nombre de *M. chitwoodi* sur tomate

sous serre et sur pomme de terre (Henderson et al., 2009). Egalement l'incorporation des *Brassicaceae* comme les radis, les navet et quelques variétés de moutarde, réduisent sensiblement les population de *M. incognita* (Monfort et al., 2007). Alors que l'enfouissement de la moutarde brune (*Brassica juncea*) à une profondeur de 15 centimètre réduit les lésions dues à *Pratylenchus penetrans* sur les cultures (Yu et al., 2007).

D'autres effets biocide et sur des modèles biologiques différents sont attribué à cette famille de plante.

Les feuilles et les racines de brassicacées en biofumigation libèrent des composés volatiles qui inhibent le développement des champignons du sol. L'activité des isothiocyanates est fongicide et non fongistatique (Mari et al., 2008). L'utilisation de *Brassica juncea* comme plante de couverture sur un champ de betterave, puis un enfouissement de ses résidus s'avère efficace contre *Rhizoctonia solani* (Motisi et al., 2009).

Des effets insecticides sont accordés aux espèces des brassicacées, d'après Renault-Roger, (2005), les glucosinolates peuvent être toxiques à la piéride de la rave (*Pieris rapa*) et aux larves de la tenthrede de la rave (*Athalia rosae*). Selon ce même auteur la plantation de crucifère *Brassica juncea* en bandes ou tout autour des bordures des champs peut augmenter l'activité des auxiliaires.

Des effets herbicides sont conférés aux plantes productrices de glucosinolates. Ils ont un potentiel biologique dans la suppression des plantes parasites et des mauvaises herbes (Renault-Roger, 2005). L'enfouissement de *Brassica juncea* ou de *Sinapis alba* comme engrais vert entraîne une suppression des mauvaises herbes sur la culture de *vigna unguiculata* (Fabacées) et augmente en conséquence son rendement (Norsworthy, 2005).

Concernant la toxicité des différents pH(4,77), (8,19), (5,77), (9,68) testés les résultats ont révélé un effet assez négligeable. Les taux de mortalité varient entre (15 et 25%) au cours des Différents temps d'immersion. Selon Khanna et al., (1997) et (Mc Sorley, 1998), les nématodes sont généralement tolérants à un large spectre de pH. Toutefois, les pH des sols acides et

alcalins, causé par des modifications dus à la production d'ammoniaque et des nitrifications ou des acides organiques, peuvent contribuer à la suppression des nématodes.

Les essais in vitro des acides organiques se sont montrés très toxiques pour les nématodes parasites de plantes (Taba et *al.*, 2006). Mc elderry et *al.*, (2005) indiquent que l'acidification du sol avec l'acide chlorhydrique à pH =3,5 réduit les populations de *Tylenchorhynchus* de 70% dans des conditions d'aérobies, et de 80% dans des conditions d'anaérobies. Par contre, l'alcalinisation des sols avec les cendres des fours à ciment à pH=10 n'affecte pas les juvéniles de *M. javanica*, contrairement au pH=11 (Oka et *al.*, 2006).

## Conclusion et perspective

Le nématode des Citrus, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, est un nématode semi-endoparasite sédentaire inféodé aux racines des Citrus. Ce nématode provoque plusieurs dégâts, principalement une perte de vigueur des plantes, des chloroses, une diminution de la surface foliaire. Ce parasite est associé aux racines du bigaradier, porte-greffe le plus utilisé dans le bassin méditerranéen et dans la plupart des vergers des régions agrumicole en Algérie qui est très sensible au nématode.

Plusieurs moyens de lutte ont été étudiés contre ce parasite. Cependant, la lutte chimique est le seul moyen en général pour diminuer la population des nématodes phytoparasites. Cette lutte affecte considérablement le potentiel biotique des micro-organismes utiles du sol étant donné, son large spectre d'action. Par ailleurs, les résidus chimiques qui persistent dans les sols traités se sont avérés nocifs pour l'environnement, la santé humaine et animale.

Dans un but d'amélioration agronomique, environnementale et économique nous avons testé les potentialités biocides des biopesticides formulés à base de deux variétés de brassicées, le chou fleur (*B.oleraceae var botrytis*) et le chou vert (*B.oleraceae L.*) sur les nematodes des *Citrus*. Au terme de ce travail nous pouvons dire que :

Les différents bioproduits formulés ont révélé une toxicité vis-à-vis des larves de *T.semipenetrans*. L'effet biocide de toutes les formulations est proportionnel aux concentrations testées et au temps d'exposition des larves.

La toxicité des extraits aqueux des deux variétés de *B. oleracea* varie significativement en fonction de l'organe utilisé. Les extraits aqueux formulé à partir des feuilles des deux variétés présentent toxicité plus élevée que celle préparés à partir des racines des ces variétés. Le test de DUNNET, classe ces bioproduits dans le champ toxique.

Les formulations des mélanges des extraits des deux organes (racine et feuille) aussi bien pour le chou que le chou- fleur l'effet synergique n'apparait

pas dans ces associations, car nous n'avons pas enregistré une augmentation de la toxicité des mélanges par rapport celle formulé des feuilles seule.

De ce travail il apparaît important de sensibiliser nos agriculteurs quand à l'importance les résidus des variétés de chou cultivées. Ils peuvent être utilisés comme biofumigant pour réguler divers bio agresseurs (maladies, nématodes et arthropodes) telluriques.

Il serait intéressant dans des études ultérieures d'approfondir les recherches en utilisant les résidus de ces cultures comme bio fumigation sur d'autres modèles biologiques comme par exemple *Globodera rostochiensis*.

