

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  
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Thème

**Contribution à l'étude de l'effet toxique de la Moutarde  
jaune « *Sinapis arvensis* » sur les larves (L2) de  
Meloidogyne (*Nematoda-Meloidogynidae*)**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II en sciences  
de la nature et de la vie

Spécialité : phytopharmacie appliquée

**PRESENTE PAR : DENNI Aicha**

Soutenu le 20/12/2012 devant le jury composé de :

Mme BENRIMA.A	Professeur	USDB	Président de jury
Mme BELKAHLA.H	Professeur	USDB	Promotrice
Mme NEBIH D.	M.A.A	USDB	Co promotrice
Mme BENS Aid.F	M.A.A	USDB	Examinatrice
Mme OUANIGHI.	M.A.A	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011/2012

# Contribution à l'étude de l'effet toxique de la Moutarde jaune « *Sinapis arvensis* » sur les larves (L2) de *Meloidogyne* (*Nematoda-Meloidogynidae*)

## Résumé

A l'échelle mondiale, les problèmes phytosanitaires posés par les nématodes phytophages ont une incidence économique très importante d'autant plus qu'ils attaquent a toute les cultures sous des latitudes et des climats très diverses en provoquant des baisses de production d'où l'importance de mettre au point des méthodes de lutte efficaces et biologiques car les techniques modernes dont on dispose actuellement s'avèrent tout a fait insuffisantes.

Notre travail de recherche vise à évaluer l'efficacité nématocide in vitro de trois parties (aérienne ; souterraine et mélange) d'espèce de Moutarde « *Sinapis arvensis* » sur les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*.

Les résultats in vitro ont montré une forte toxicité des extraits aqueux de la Moutarde sur les L2 de *Meloidogyne* comparable à celle du produit chimique (Oxamyl).

Mots clés : *Meloidogyne* spp, activité nématocide, *Sinapis arvensis*, tomate.

# Study of the affect of the Mustard « *Sinapis arvensis* » on the evolution about the populations of *Meloidogyne* .

(Nematoda-Meloidogynidae)

## Summary

With the world scale, the plant health problems posed by the phytophagous nematodes have a very significant economic incidence more especially as it attack all the cultures under latitudes and climates very divers by causing talls of production from where it's importante to develop effective biological methods of fight and because the modern techniques currently available prove completely insufficient.

Our research work aims at evaluating the sheets powder of Mustard « *Sinapis arvensis* » on the development of the root-knot nematodes of *Meloidogyne* genus.

The results have makes it possible to test the effect of the various forms of request of the Mustard, it proves to these results that the Mustard presents , nematicid effect.

Key words: *Meloidogyne* spp , activity nematicidal *Sinapis arvensis* , , tomato ,

## دراسة تأثير نبات الخردل

”*Sinapis arvensis*” على تطور مجموعة الميلودوجينات

(*Nématoda- Meloidogynidae*) *Meloidogyne*

### الملخص:

تسبب الديدان الخيطية أكلان النباتات خسائر اقتصادية فادحة على الصعيد العالمي، ويرجع ذلك إلى تواجدها في مختلف الارتفاعات والمخاضات أين تلحق أضرار على عدة محاصيل، مما يؤدي إلى خفض الإنتاج الزراعي، وهذا ما استوجب اللجوء إلى طرق بيولوجية فعالة بسبب الوسائل العلاجية العصرية الأخرى التي تبقى غير كافية.

يهدف هذا العمل البحث إلى دراسة تقييمية لتأثير طحين نبتة الخردل ”*Sinapis arvensis*” على تطور الميلودوجينات.

سمحت النتائج بإبراز تأثير نبات الخردل على تطور الميلودوجينات.

الكلمات المفتاح:

*Sinapis arvensis*, *Meloidogyne spp*، طماطم،

# Introduction

Les nématodes phytophages sont des parasites majeurs à l'échelle mondiale. Ils sont très polyphages. Ces organismes se rencontrent sous toutes les latitudes et dans tous les climats.

Les problèmes phytosanitaires causés par ces parasites ont une incidence économique très importante à l'échelle mondiale car ils s'attaquent aussi bien aux grandes cultures (céréales, pommes de terre, betterave) qu'aux cultures maraîchères, florales et fruitières (Djian-Caproralino et al. 2002).

Les cultures maraîchères occupent une place importante dans l'économie agricole algérienne. Elles sont classées en deuxième position après les céréales du point de vue consommation quotidienne des Algériens. Cependant elles sont sujettes à plusieurs maladies physiologiques et parasitaires, parmi lesquelles les celles causées par les invertébrés et plus particulièrement les nématodes qui colonisent de vastes niches écologiques. Les nématodes les plus dommageables sur ces spéculations appartiennent au type endoparasite sédentaire du genre *Meloidogyne* (Guy, 2005).

D'après Cayrol (1991), les pertes occasionnées aux légumes par ces nématodes sont en moyenne chaque année de l'ordre de 11 % de la production totale.

En Algérie, les *Meloidogyne* sont des ennemis redoutables pour les cultures maraîchères. Ils constituent un facteur limitant des productions. Plusieurs travaux ont signalés leurs présences sur diverses cultures notamment sur les deux familles botaniques ; les solanacées et les cucurbitacées. Mokabli (1988) révèle que 65% des serres de cultures maraîchères sont infestées par les *Meloidogyne* dans plusieurs wilayas du pays. Dans une palmeraie à Ouargla signale 100% des serres sont infestées par les nématodes à galles. En outre, l'arboriculture fruitière et la viticulture représentent également des plantes hôtes non négligeable pour ces phytoparasites Ighili (1986).

A l'égard à toutes ces données, les agriculteurs visent des produits de lutte plus efficaces pour augmenter les rendements des cultures maraîchères. Le contrôle des nématodes phytoparasites a longtemps fait appel à des nématicides fumigants et non fumigants (systémiques) qui ont donné de bon résultats depuis 1950 (Giannakou et al. 2004). Ces produits ont été utilisés intensivement contre les *Meloidogyne* en arboricultures fruitières, en cultures maraîchères et leurs pépinières (Noling et Becker, 1994).

L'utilisation de nématicide dans le contrôle des nématodes à galles a été réduite pour leur nocuité pour l'environnement et la santé humaine. Par ailleurs, les nématicides ne prévient pas l'élimination des pathogènes à long terme (Nicoa et al, 2004). Il est nécessaire de développer des stratégies de contrôle des *Meloidogyne spp* respectueuses de l'environnement. Parmi ces moyens, les plantes antagonistes constituent une voie d'avenir très intéressante.

Dans ce contexte, la présente étude rentre dans le cadre de la valorisation de la flore naturelle locale et nous avons proposé de tester la toxicité de la moutarde des champs «*Sinapis arvensis*» ; dans le but d'apprécier leur capacité nématocides in vitro vis-à-vis des nématodes à galles.

Pour cela nous avons adopté la méthodologie de recherche visant :

➤ Une analyse bibliographique en deux chapitres

Chapitre I, comporte des généralités sur *Meloidogyne spp* concernant leur bio écologie, leur pathogénie et les moyens de lutte.

Chapitre II, arbore une synthèse bibliographique sur la Moutarde des champs.

➤ Une partie expérimentale portant deux chapitres

Chapitre I, présente la méthodologie suivie dans notre étude.

Chapitre II, Evaluation des potentialités nématocides des différentes parties de la «*Sinapis arvensis* » sur les *Meloidogyne spp.* in vitro.

## **Chapitre I. Synthèse bibliographique sur les *Meloidogyne spp.***

## I.1.Généralités

Le genre *Meloidogyne* est connu depuis longtemps à cause des déformations qu'il provoque sur les racines des cultures. En effet, des plantes parasitées présentent des renflements caractéristiques « galles », très facilement reconnaissables qui peuvent envahir tout le système racinaire en cas de forte attaque, (Diop, 1998). Ils sont de plus extrêmement répandus, on les rencontre dans toute la zone intertropicale et dans les régions tempérées chaudes (méditerranéens ou sahéliennes). En Afrique le genre *Meloidogyne* est très connu, mais c'est dans deux pays sahéliens le Sénégal et le Burkina Faso, que la nématofaune parasite des cultures maraîchères a été la plus étudiée, (Sawadogo, 1990). Parmi la cinquantaine espèces que renferme ce genre, quatre sont les plus fréquents et qui sont responsables de pertes assez considérables à savoir : *Meloidogyne arenaria*, *M.incognita*, *M.javanica*, *M.hapla*. (Cadet et Matéille, 1998).

## I.2.Position systématique

La taxinomie est une tâche très ardue. Elle subit sans cesse des modifications du fait de nouvelles découvertes. Autrefois, les nématodes du genre *Meloidogyne* étaient considérés comme appartenant à une seule espèce *Heterodera marioni* Cornu, (de Guiran et Netscher, 1970). En (1949) Chitwood a pu distinguer entre le genre *Heterodera* (nématode à kystes) et le genre *Meloidogyne* (nématode à galles) par l'utilisation de nouveaux caractères morphologiques. Pour distinguer les espèces de ce genre les spécialistes utilisent plusieurs critères. Parmi eux nous citons les caractères morphologiques des larves, des mâles et des femelles, (Whitehead, 1968 in ; de Guiran et Netscher, 1970).

Selon Eisenback (1985), le caractère le plus utilisé dans la systématique des *Meloidogyne* est la morphologie de la région périnéale des femelles, localisée dans la partie postérieure du corps de ces dernières.

Dans ce document nous vous proposons la systématique révisé par Ritter (1971) et Reddy (1983).

Règne :	<i>Animal</i>
Sous règne:	<i>Métazoaire</i>
Embranchement :	<i>Némathelminthe</i>
Phylum :	<i>Nematoda</i>
Classe :	<i>Secernentea</i>
Ordre :	<i>Tylenchida</i>
Sous ordre :	<i>Tylenchina</i>
Super famille :	<i>Heterodroidea</i>
Famille :	<i>Meloidogynidae</i>
Sous famille :	<i>Meloidogynae</i>
Genre :	<i>Meloidogyne</i>

## I. 3.Morphologie

Le genre *Meloidogyne* est caractérisé par un dimorphisme sexuel très remarquable.

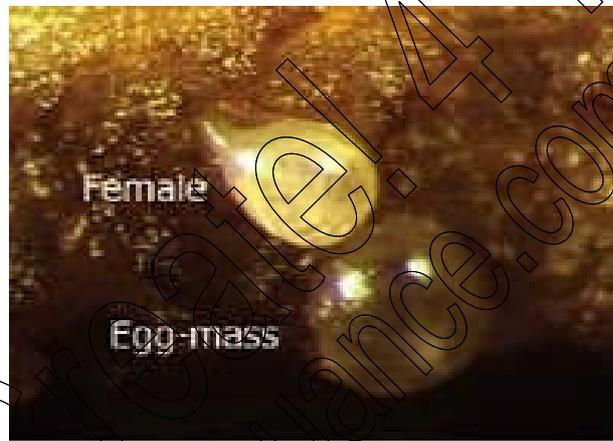
Le mâle est filiforme sa longueur varie de 0,8 à 0,2 mm (fig.1). L'extrémité antérieure est pourvue d'un stylet de 2 fois la largeur des lèvres, mince avec des boutons basaux (Jacob et al 1988). C'est grâce à ce stylet que le nématode se nourrit. Il possède 1 ou 2 testicules débouchant, avec l'intestin, dans un cloaque ou se trouvent 2 spicules copulateurs qui font saillie à l'extérieur (Mateille.1996). La femelle est globuleuse et mesure 0,44 à 1,3mm (Fig.2). Elle présente 2 ovaires débouchant dans le vagin et occupent la majeure partie du corps. Dans la partie postérieure se trouvent 6 glandes s'ouvrant dans le rectum. Ces glandes rectales produisent une substance gélatineuse dans laquelle les œufs sont englobés (Mateille, 1996). (Tyler 1938), affirme que le nombre d'œufs pondus par une femelle environ deux mois après l'inoculation pouvait varier de 1400 à près de 3000 selon l'hôte.

Les larves de 2<sup>ème</sup> stade sont vermiformes, pointus à l'extrémité postérieure. Elles ont une longueur variant de 0,3 à 0,5 mm et un diamètre d'environ 10 µ (fig.3). Leur cavité générale est occupée par le système digestif qui comprend la bouche s'ouvrant à l'extrémité antérieure et qui contient un stylet creux et protractile, l'œsophage, puis l'intestin qui débouche dans le rectum (de Guiran et al., 1970).

Les *Meloidogyne* sont pourvus aussi d'un système musculaire formé de quatre champs musculaires, d'un système nerveux composé d'un anneau et des cordons nerveux, d'organes sensoriels tactiles et de chimiorécepteurs (Mateille.1996).



**Fig.1. Morphologie du Mâle de *Meloidogyne* spp.  
(Dun et William, 2002)**



**Fig.2. Morphologie du Femelle de *Meloidogyne* spp.  
(Sardanelli et al, 1999)**



**Fig.3. Morphologie du Larve (L2) de *Meloidogyne* spp.(Original)**

## I.4. Biologie

Les *Meloidogyne* sont des endoparasites stricts (de Guiran et Villemin 1980 b) leur reproduction se fait par parthénogenèse méiotique (de Guiran et Villemin, 1980 a). Dès que les périodes de plantation arrivent (chaleur et humidité) ; les œufs éclosent et donnent naissance à des minuscules larves filiformes (Cayrol ; 1991). Les petites larves guidées par les sécrétions des racines ; nagent et convergent toutes vers le système racinaire. A l'aide de leur stylet buccal, elles pénètrent dans les tissus et percent les cellules pour se nourrir du cytoplasme. Les sucs salivaires qu'elles injectent dans l'hôte provoquent une réaction qui se traduit par une hypertrophie des cellules (Cayrol, 1991). Ces modifications anatomiques aboutissent à la formation des galles caractéristiques (de Guiran et Netscher, 1970).

Les larves subissent quatre mues dans la première s'effectue dans l'œuf (Sasser, 1989). A l'éclosion on obtient le stade infestant (L2), (Orton Williams, 1974). Ce stade envahit les racines de l'hôte le plus souvent dans la zone d'élongation derrière la coiffe de la racine (Franklin, 1973). Une fois dans la racine les juvéniles des espèces de *Meloidogyne* s'immobilisent, l'extrémité antérieure en contact du cylindre central (de Guiran et Ritter, 1979). Les larves subissent encore trois mues perdent leur apparence vermiforme et deviennent globuleuses (Orton, Williams, 1974). La troisième et la quatrième mue se suivent dans la cuticule du deuxième stade larvaire (Orton Williams, 1972 et 1973). Le stylet buccal est absent chez les larves du troisième et quatrième stade (Manchon et Hunt, 1989) et se forme après la quatrième mue chez l'adulte (Orton Williams, 1973). Seul le deuxième stade larvaire s'alimente (Papadopoulou et Triantaphyllou, 1982). La dernière mue est une véritable métamorphose pour le mâle qui devient long et filiforme.

La femelle mature à un aspect pyriforme reste fixe se nourrit et commence à pondre (de Guiran et Ritter, 1979) (Fig.4).

La fécondité des espèces de *Meloidogyne* diffère entre les espèces, ceci est dû à la génétique et à la variance spécifique de ce genre, (Ferris et al., 1978). Une femelle de nématode à galles peut pondre entre 500 et 1000 œufs, (de Guiran et Ritter, 1979). Parfois, le nombre d'œufs pondus par une femelle est plus élevé, de Guiran (1983) a dénombré 3000 œufs.

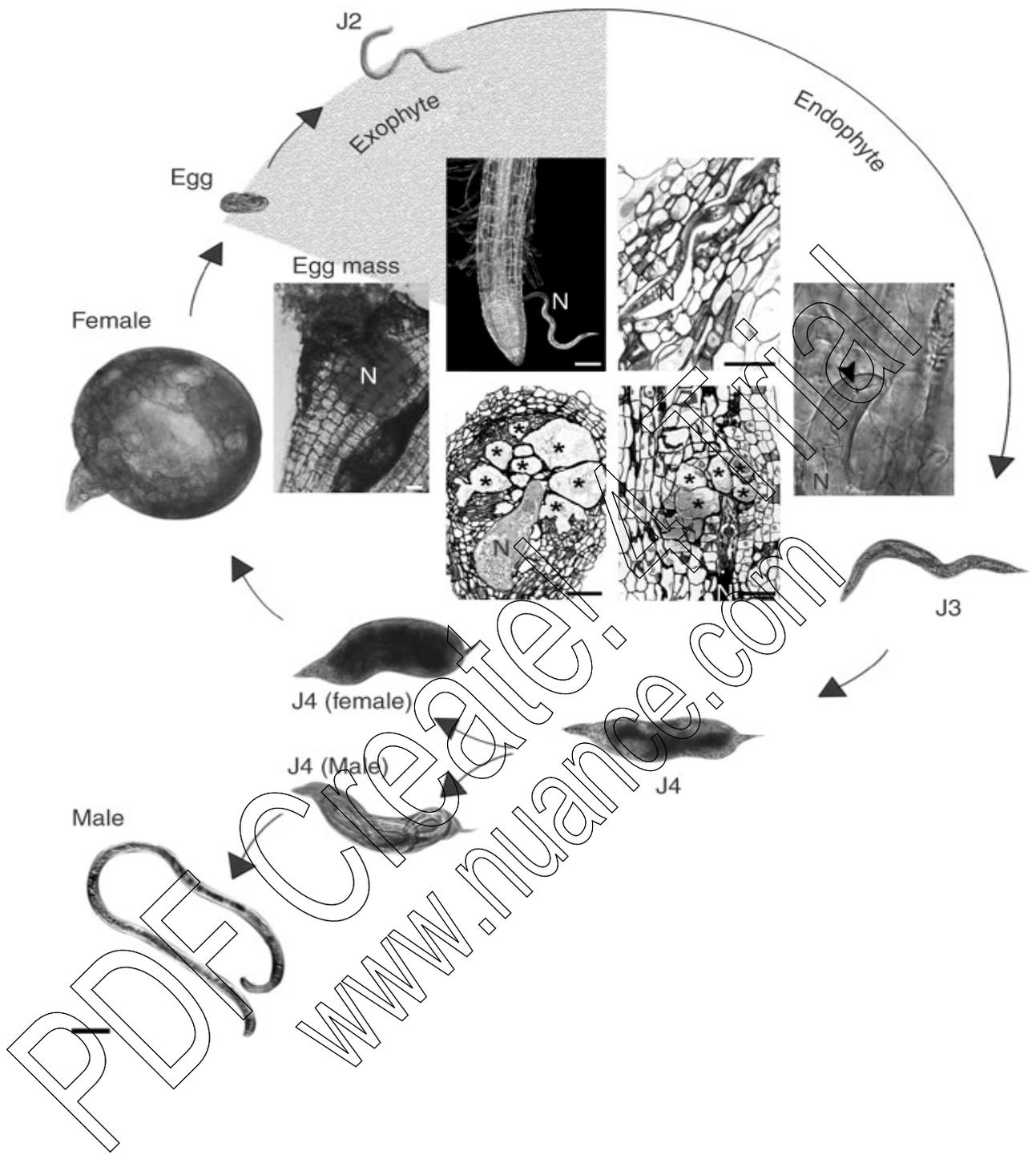


Fig.4. Cycle biologique de *Meloidogyne* spp. Anonyme (2000)

## I.5. Influence de quelques facteurs écologiques sur les *Meloidogyne*

Tout organisme est soumis, dans le milieu où il vit, à des actions simultanées de différents agents très variés d'ordre climatique, physique, édaphique et biotique.

Les traits de vie des nématodes notamment, le genre *Meloidogyne*, sont sous la dépendance de ces divers facteurs.

En effet, la durée du cycle de vie est affectée par la température et l'humidité. Plus il fait chaud et humide, plus le cycle est rapide, (Cayrol, 1991). A titre d'exemple, le cycle complet dure 87 jours à une température de 16,5°C et seulement 25 jours à 27°C, (de Guiran, 1979). Les travaux de recherche réalisés par Nebih-Hadj Sadok (2000), ont révélé que l'étude de l'effet de la température et de la plante hôte sur l'éclosion des œufs des espèces de *M. incognita*, *M. arenaria* et *M. javanica* a montré que l'émergence des larves est favorisée par une gamme de températures comprise entre 20 et 35°C au dessous et au dessus desquelles la fertilité est inhibée. Ces températures favorisent le développement embryonnaire des espèces étudiées. Selon de Guiran (1983) à 28°C l'infestation des sols peut atteindre des niveaux considérables de 100 à 200 000 larves par litre de sol.

L'humidité du sol, est un facteur limitant pour le développement des *Meloidogyne*. Ces derniers ne peuvent se déplacer que si les particules du sol sont recouvertes d'une mince pellicule d'eau. Triantaphyllou (1979) affirme qu'en général, les nématodes sont très actifs dans les sols humides de 40 à 60%. Ils migrent à travers les particules du sol dans les films d'eaux mais dans les sols secs, ils deviennent inactifs et peuvent mourir par dessiccation. Cependant, les sols saturés en eau inhibent les déplacements des nématodes et l'éclosion des œufs à cause du manque d'oxygène, ce qui peut induire également une forme de quiescence des larves (de Guiran, 1979 a et Triantaphyllou, 1979).

D'autres facteurs influent l'activité des *Meloidogyne* comme la nature des sols. Les plus légers, bien aérés et pauvres en matières organiques sont très favorables au développement et à la pullulation de genre *Meloidogyne*, (de Guiran, 1971).

Le pH du sol est également connu comme étant un paramètre important influençant la survie des invertébrés de sol (Van Gestel, Rademaker et Van Straalen 1995 in Doroszuk et al, 2007 in Bellahamou, 2010). Les travaux de Wallace (1966 in ; Ferris et Van Gungy, 1979) signalent que le pH compris entre 4 et 8 favorise l'éclosion des œufs de *Meloidogyne javanica* alors que ces larves présentent une éclosion maximale à un pH de 6,5 (Ritter, 1976).

La plante est un facteur primordial affectant la durée du cycle de vie des *Meloidogyne* (Bonnemaison, 1961). Elle a un effet positif sur la fécondité des nématodes à galles (Huang, 1986 ; de Guiran et Villemin, 1980). Les exsudats racinaires des plantes hôtes stimulent et intensifient l'éclosion des œufs du genre *Heterodera* (Greco, 1981 ; Caubel et Chaubet, 1985 et Divito, 1986). Cependant,

aucun effet similaire n'a été enregistré pour le genre *Meloidogyne* (Ekanayake et Divivo, 1984 ; Rohini et al. 1985 ; Dalmasso et al, 1985). Par ailleurs, d'autres plantes présentent des exsudats très toxiques vis à vis des nématodes à galles comme le genre *Tagete* (*Tagete patula*), (Ploeg, 2000).

## **I.6.Importance économique des nématodes à galles (*Meloidogyne*)**

Les nématodes à galles se caractérisent par la formation de nodosités sur les racines. Elles ont la forme d'une boule ou de fuseau irrégulier qui peuvent prendre des dimensions importantes (Fig. 5), dépassant parfois la grosseur d'une noix (Dirk de Waele et al., 1998).

Les attaques de ces nématodes provoquent une inhibition générale de la croissance des racines et affaiblissent les plants. Les blessures causées par l'activité trophique de ces parasites permettent également l'infiltration des agents pathogènes comme les bactéries et les champignons, (Bakker., 1986 ; Tremblay et Hollis., 1991 ; Gheyson et Fenoll., 2002).

Les *Meloidogyne* parasitent plus de 5500 espèces de plantes (Blok et al.2008) et sont largement répandus sur le globe. Il s'attaque aussi bien aux grandes cultures (céréales, pomme de terre, betterave...), qu'aux cultures maraîchères, florales et fruitières (Djian-Caporalino et al., 2009).

Au niveau mondial, les pertes sont estimées à 100 milliards de dollars par an (Sasser et al.,1987). En Europe, ils sont responsables de dégâts atteignant 10% de la production céréalière et entraînant des diminutions de récoltes de 20 à 30% dans les verges d'agrumes méditerranéennes (Feldmesser, 1971).

En cultures maraîchères, le problème est déjà très important dans certaines exploitations menées en agriculture biologique. Du fait des restrictions d'emploi des nématicides chimiques, le problème se révèle de plus en plus préoccupant même dans les exploitations menées en conventionnel et peut devenir dramatique dans les années à venir (Djian-Caporalino et al., 2009).

En Algérie ces phytoparasites se distinguent comme étant de redoutables ennemis et constituent un facteur limitant des productions maraîchères aussi bien sous abri plastique qu'en plein champ (Sellami., 1999). Ighili (1986) signale une infestation de 100 % des serres prospectées dans une palmeraie à Ouargla. Mokabli (1988) affirme que sur 1976 serres, 65% sont attaquées dans différentes wilayas du pays. Dans les zones littorales centre comme Staouali et Bordj-EL-Bahri toutes les cultures maraîchères examinées sont infestées (100%) par les nématodes à galles (Smaha., 1991). La fréquence et la gravité de l'infestation des serres varient d'une année à une autre, en effet l'étude de Nebih Hadj-Sadok (2000) a montré que le pourcentage de serre infestées durant l'année 1993 est plus élevé (82.59%) que durant l'année 1994 (53.13%).



**Fig.5. Galles sur les racines de tomates.**

**(Ritter. INRA Antibes)**

## **I.7. La lutte contre les *Meloidogyne***

Un certain nombre de méthodes pour la gestion des nématodes à galles sont préconisées tel que, la lutte chimique, les amendements organiques, les variétés résistantes, la solarisation et la lutte biologique. Ils ont été essayés avec différents niveaux de succès pour la protection des plants de tomate (Randhawa et al., 2001; Sakhuja et Jain., 2001). Malgré ces programmes de lutte mis en œuvre contre les nématodes à galles, ces derniers causent des dégâts importants aux cultures, avec des répercussions économiques notoires (Bertrand., 2001). Le principe de base commun aux différentes formes de lutte contre les nématodes serait donc de réduire leur population initiale à un taux suffisamment bas pour qu'ils restent inoffensifs vis-à-vis des cultures pratiquées (Bertrand., 2001).

### **I.7.1. Lutte prophylactique**

Pour éviter la dissémination et la propagation des nématodes. Il faut s'orienter vers les moyens préventifs. Tel que des rotations culturales adéquates réduisant les populations de nématodes, l'arrachage et la destruction de racines des plantes en fin de culture, contrôler les plants des pépinières, l'utilisation de variétés et porte-greffe résistants, surveiller et nettoyer le matériel agricole après un travail dans une parcelle contaminée (Bertrand, 2001).

Les amendements organiques sont un autre moyen. Ils inhibent le développement des nématodes phytoparasites. Singh et al. (1986) ont observé que le fumier de vache, le terreau de feuilles et les tourteaux de ricin, de moutarde diminuent les populations de *Meloidogyne* tout en augmentant la croissance des plants et en diminuant les problèmes de champignons parasitaires.

## **I.7.2. Lutte physique et chimique**

Elle fait appel à divers procédés, les plus employés sont les moyens physiques et chimiques.

Les méthodes physiques regroupent la désinfection à la vapeur et la solarisation. Elles consistent à élever la température du sol à des niveaux létaux pour les nématodes (entre 40 et 60°C) (Bertrand., 2001). L'étude accomplie par Satour et *al.*, (1990) en Egypte affirme que la solarisation est un moyen efficace contrôlant diverses espèces de *Meloidogyne*.

La lutte chimique reste en général la plus employée. Elle consiste à désinfecter le sol avant plantation avec des produits nématicides, (Cayrol et *al.*, 1992). Les plus communs, sont des fumigants qui sont toxiques et demandent un appareillage d'application relativement fragile, facilement attaqué par le produit corrosif. Généralement, les produits systémiques ne sont pas autorisés pour les cultures maraîchères en raison de la présence éventuelle de résidus toxiques dans les parties comestibles (Bertrand., 2001).

## **I.7.3. Lutte biologique**

La lutte biologique est une méthode alternative à la lutte chimique qui se base sur l'utilisation de microorganismes bénéfiques ou biopesticides de diverse origine permettant d'attaquer et de contrôler les agents phytopathogènes (Fravel., 2005). L'activité antagoniste est souvent associée à la production de métabolites secondaires dans le cas des plantes (Silva et *al.*, 2001).

### **I.7.3.1. Utilisation des microorganismes nématopathogènes**

Stirling (1991), affirme qu'un grand nombre de microorganismes, telles que des mycètes, bactéries, virus, nématodes prédateurs, insectes et acariens se sont avérées des parasites ou prédateurs des nématodes. Selon Siddiqui et Mahmoud (1996), Kühn en 1877 était le premier à observer le parasitisme des femelles de *Heterodera schachtii* par un mycète. Plus tard, en 1881, il nomma ce dernier *Tarichum auxiliare* (Kühn., 1881).

Cayrol (1991), a dénombré environ plus de 100 espèces de champignons endoparasites et piégeurs des nématodes. A titre d'exemple *Arthrobotrys irregularis* est un champignon prédateur, son mycélium est pourvu d'organe de captures sous forme d'anneaux. Ils piègent ainsi les nématodes. Il est commercialisé sous le nom de S350 et T350, ce champignon joue un rôle important dans le maintien des populations de *Meloidogyne* à des niveaux économiques tolérables. Il est conseillé dans un programme de lutte intégrée (Anonyme., 2003).

Les toxines produites par les champignons d'avaient efficace contre nématodes phytophages. Siddiqui (2004), affirme que les filtrats de champignons *Fusarium solani* et *Aspergillus* sont efficaces pour contre les *Meloidogyne*.

D'autres microorganismes ont été testés contre les *Meloidogyne*, comme les bactéries. Ces derniers revêtent une grande importance grâce à leurs antibiotiques. La bactérie *Streptomyces avermitilis* produit l'ivermectine qui est une toxine très efficace contre différentes espèces de nématodes notamment le genre *Meloidogyne* (Garabedian et Van Gundy, 1983 ; in Duval, 1991).

La bactérie mycélienne à endospore *Pasteuria penetrans* est un parasite obligatoire, touche très efficacement les nématodes phytoparasites (Trudgill et al, 2001). Les spores de *P. penetrans* sont utilisées en suspension contre les *Meloidogyne*. La réduction de la population de ces nématodes peut atteindre 80% (Mateille, 1996).

Rae et al. (2008) ; Schulenburg et Muller (2004) ; Wei et al., (2003) démontrent pour la première fois qu'une protéine de *Bacillus thuringiensis* BT appelé « Cry5B », dont le gène introduit dans le génome de la plante permet la synthèse de cette protéine qui par conséquent contrôle le développement des nématode endoparasite, *M. incognita*.

En Algérie divers travaux ont été réalisés dans ce domaine. Hammache (2000) a isolé à partir d'échantillons de sols maraichers les champignons prédateurs appartenant aux genres *Arthrobotrys irregularis*, *Dactylaria candida*, et *Dactylella* sp, (Hyphomycète). Des essais préliminaires réalisés in vitro et in vivo par ce même auteur rapporte l'efficacité de ces trois antagonistes vis à vis des larves (L2) de *Meloidogyne* spp avec un pourcentage de piégeage respectivement de 92, 85 et 80 p. cent pour une période d'exposition de 72 heures. Également, Yezli (1995), a montré l'efficacité de deux souches d'*Arthrobotrys irregularis* isolé des régions de Bourdj-EL-Kifane et de Staouali vis-à-vis de *M. incognita*. L'essai a donné un taux de mortalité de 23.33 p. cent et 16.66 p. cent respectivement pour les souches des deux régions.

Les mycotoxines, présentés dans les filtrats de cultures de certains champignons tel que *Fusarium solani* et *Rhizoctonia solani*, ont montré un effet toxique sur les œufs et les larves de 2<sup>ème</sup> stade de *Meloidogyne incognita* (Mahdi., 1996 ; Belkacem, 1997 ; Nebih Hadj- Sadok et al., 2008).

### **1.7.3.2. Utilisation des plantes nématicides et substances**

En raison de la conjoncture actuelle, les biopesticides d'origine botanique sont appelés à un avenir meilleur. La demande en produits phytosanitaires sans danger, de faible rémanence et qualifiés de produits verts est présentement en

hausse (Philogene et *al.*, 2005). Selon Ranasingh (2007), 2121 espèces de plantes possèdent des propriétés de lutte antiparasitaire. Un total de 1005 espèces identifiées présente des propriétés insecticides, 384 avec des propriétés anti appétant, 297 à effets répulsifs, 27 présentes des propriétés attractives et stimulateurs de croissance.

Plusieurs plantes possèdent des propriétés nématocides ont été identifiées. Ces plantes peuvent protéger les cultures sensibles aux nématodes phytoparasites, notamment aux nématodes à galles. Selon Duval (1991), un grand nombre de plantes nématocides ont été identifiées depuis les 30 dernières années. Bertrand (2001) rajoute que plus de deux cents espèces de plantes, appartenant à 80 familles différentes, sont étudiées pour leurs propriétés nématocides. D'après le même auteur c'est sur l'activité nématocide de certains végétaux que s'appuient les pratiques empiriques utilisées en Afrique, en Amérique du sud et en Asie pour protéger les cultures contre les nématodes.

L'utilisation des plantes de la famille des Apocynacées, telle que la pervenche de Madagascar (*Catharathus roseus*) et les chrysanthèmes cultivées conjointement avec la tomate, ont permis de diminuer de 30% les populations de *Meloidogyne incognita* (Bertrand.,2001).

Plusieurs légumineuses cultivées en rotation ou en engrais verts font d'excellents nématocides. Les plus efficaces d'après Marshall (2002) sont *crotalaria juncea* et le Lespeza. Elles permettent de réduire les populations de *Meloidogyne*. Egalement Johnson et Shamiyeh (1975) signalent que les amendements avec des feuilles et des tiges de luzerne à raison de 1 à 8% par masse de sol, inhibe l'éclosion des œufs de *M. incognita*. Il semble qu'un niveau d'azote sous forme d'ammonium de 38 µg/g permet de réduire les populations de *Meloidogyne*, c'est ce qui expliquerait l'action nématocides de ces légumineuses (Pellerin., 1991).

Certaines espèces de graminées ont montré leurs efficacités vis-à-vis des nématodes à galles. En effet, Merwin et Stiles (1989) affirment que la paille d'avoine et les tiges de lin contiennent des substances toxiques pour les œufs et les larves de *M. incognita*. Les études effectuées au Brésil ont aussi montré l'efficacité d'une espèce d'avoine « *Avena strigosa* » contre les larves de la même espèce de *Meloidogyne*. L'activité nématocide du seigle en décomposition provenait de l'acide butyrique et d'autres substances produites lors de la décomposition des résidus (Minton et Parker., 1978).

Grains et Ahmed (1988) ont dénombré plusieurs plantes régulant les populations des nématodes à galles. Dans sa liste nous citons l'ail, l'armoise obsinthe et l'armoise argenté « *Artemisia spp* » ; la moutarde noire « *Brassica nigra* » ; la stramoine « *Datura stramonium* » ; le pourpier gras « *Matricaria chamomilla* » et les radis. Parmi les plantes tropicales plus de cinquante plantes

sont actives contre les *Meloidogyne*. Selon Mojtahedi et al. (1991), les feuilles et les fleurs de la jacinthe d'eau « *Eichhornia crassipes* » en amendement du sol sont efficaces pour contrôler les nématodes à galles dans la culture de tomate. Les extraits de *Calendula officinalis* et *Enhydra fluctuans* des plantes de l'Inde testées contre les populations de *M.incognita*, ont révélé qu'elles réduisent les larves, l'éclosion des œufs et la formation de galles (Siddiqui et Alam., 1988 in ; Oka et al., 2000).

Brandle et al. (1992) affirment que dans le feuillage de la moutarde « *Brassica juncea* » un composé semblable à un nématicide chimique a été identifié. D'après Mojtahedi et al, (1991), la plupart de substances naturelles peuvent avoir une activité systémique c'est-à-dire le principe actif est transporté par la sève dans tous les organes de la plante et il est non phytotoxique et non polluant.

Amaral et al. (2002) affirment que l'extrait méthanoïque de l'oignon (*Cepa L. d'allium*), était plus efficace qu'une solution aqueuse d'aldicarbe dans le contrôle des de *Meloidogyne*.

En Algérie des travaux ont été entrepris sur les substances naturelles d'origine végétale. Des extraits aqueux des plantes appartenant à la famille botanique (*Asteraceae*) ont été testés vis à vis de *Meloidogyne*. A cet effet citons l'efficacité des extraits aqueux de *Tagetes erecta* sur la mortalité des juvéniles et l'inhibition de l'éclosion de *M. incognita* (Sellami et Moufarah, 1994 ; Sellami et Zemmouri, 2001) de même que les extraits des protéines solubles (cytoplasmiques et pariétales) de *Tagetes minuta* (Nebih Hadj-Sadok et al., 2006). Egalement, l'utilisation de *Tagete erecta* comme précédent cultural pendant deux mois diminue les populations des *Meloidogyne* (Sellami et Cheifa., 1997).

# Chap. II. Synthèses bibliographiques sur la moutarde des champs (*Sinapis arvensis*).

## II.1. Généralités

La moutarde des champs ou moutarde sauvage *Sinapis arvensis* est une mauvaise herbe envahissante, indigène à la plupart des régions tempérées de l'Europe, de l'Asie du Sud-ouest et de l'Afrique du Nord. Elle a été introduite en Amérique du Nord. On la retrouve maintenant dans toutes les provinces canadiennes de même que dans le district de Mackenzie, dans les Territoires du Nord-Ouest. En Ontario, la moutarde des champs est commune dans les champs cultivés, les jardins, les pâturages, les rives des cours d'eau, les bords de route et les friches (Robinson, 2003). Cette mauvaise herbe réussit à bien concurrencer les plantes cultivées en leur disputant lumière, eau et éléments nutritifs. Elle y parvient, grâce à la germination de sa graine et à la croissance rapide des jeunes plantules par temps frais en automne et au printemps. Les populations de moutarde des champs qui ne sont pas tenues en échec durant la saison de croissance peuvent occasionner une baisse du rendement de la culture et de la qualité des grains récoltés (Robinson, 2003).

## II.2. Taxonomie

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Brassicales*

Famille : *Brassicaceae*

Genre : *Sinapis*

Espèce : *Sinapis arvensis* (Christian Caius Lorenz Hirschfeld (1742-1792))

Nom commun : moutarde des champs

Synonyme(s) du nom commun : sanve, sénevé, raveluche, sangle

### II.3. Description

La moutarde des champs est une plante annuelle à port dressé. La plantule présente des cotylédons larges, en forme de haricot sec et à la pointe renfoncée (fig.6). Les plantes plus âgées ont des feuilles alternes, légèrement velues, surtout sur les nervures de la face inférieure (Buchanan, 2003).



**Fig.6. Plantule de moutarde des champs (Original)**

Les feuilles du bas ont généralement un pédoncule, des lobes échancrés avec un grand segment terminal et quelques lobes latéraux plus petits. Les feuilles du haut sont sessiles (sans pédoncule), elles ne sont généralement pas découpées, mais plutôt grossièrement dentées (fig.7). La hauteur de la plante varie de 30 à 100 cm et la tige peut être simple ou très ramifiée.



**Fig.7. Jeune plant de moutarde des champs (Original)**

Les fleurs apparaissent en petits groupes aux extrémités des ramifications, s'allongent à mesure que les cosses se développent (Buchanan et al., 2003). Elles sont jaune vif et mesurent environ 1,5 cm de diamètre. Elles comportent 4 petits

sépales, 4 pétales disposés en croix, 4 grandes étamines et 2 petites (6 au total) et un pistil mince (fig.8). Les tiges florales (ou pédoncules) sont minces et courtes (3-5 mm); elles épaississent quand les cosses se développent, mais ne s'allongent pas (Buchanan., 2003).



**Fig.8. Fleure de la moutarde (original)**

Les tiges, vertes ou violacées, sont ordinairement couvertes de poils hérissés dirigés vers le bas, surtout à leur partie inférieure (fig.9) (Buchanan, 2003).



**Fig.9. La tige avec les poiles (original)**

La moutarde des champs ne se reproduit que par graines et il faut 2.5 à 3 mois pour que la graine devienne une plante adulte (Swanton, 2008). La moutarde des champs contient 10–18 graines par cosse et 2000–3500 graines par plante (fig.10). Les opérations culturales peuvent provoquer l'éclatement des cosses.



Fig.10. Les graines de la moutarde des champs (original)



Fig.11. La morphologie de la *Sinapis arvensis* (original)

## II.4. Métabolites secondaires des *Brassicaceae*

Les composés secondaires des 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). Ces composés 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 glycosinolates 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](#)). Selon ces mêmes auteurs ces composés ont une action similaire aux fumigants chimiques commercialisés comme le metham sodium et le dazomet qui dégagent l'isothiocyanate méthylique dans le sol.

Des travaux de recherches affirment que les *brassicaceae* en amendement au sol dégagent certains composés. En effet, Gamliel et Stapleton (1993) certifient qu'en amendant le sol avec la poudre de choux, le méthane-thiol, éthanol et occasionnellement l'acide acétique sont détectés. Alors qu'avec la poudre de *Brassica juncea* (moutarde indienne) additionnée au sol est incubée à 20°C Bending et Lincoln (1999) signalent la présence des composés suivants ; le Carbone-bisulfure, le diméthylsulfure, le diméthylsulfure et le methane-thiol. D'après ces auteurs tous ces composés sont toxiques à une large gamme d'organisme pathogène et contribuent probablement à la toxicité des *Brassicaceae*.

## Introduction

Avec le développement de la chimie, on s'est vite rendu compte qu'il y avait tout un arsenal capable d'éliminer les ennemis de la plante (bactéries, champignons, nématodes, insectes..). Cette approche a conduit à une élimination spectaculaire, du moins à court terme, des organismes nuisibles, et à une détérioration parallèle, mais pas nécessairement visible de la qualité de l'environnement (Benayad., 2008). A cause de leur effet négatif sur l'environnement, l'utilisation des pesticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive (Wmo., 1965). Un examen systématique des découvertes phytochimiques répertoriées, en utilisant la base de données NAPRLERT (Natural Products Alert Database), révèle que seulement 2 à 5% des espèces végétales ont été examinées en détail d'un point de vue phytochimique (Soejarto et *al.*, 1989). Une étude réalisée par Balick et *al.*, (1995), a montré que moins de 1% des plantes tropicales sont étudiées d'un point de vue phytochimique. Par conséquent, la voie reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et en même temps de nouvelles molécules à effet nématicide, bactéricide, insecticide (Benayad., 2008).

### I.1. Objectifs

Les biopesticides d'origine végétale peuvent constituer une solution alternative aux produits chimiques ces dernières décennies. Leurs propriétés pesticides et leur relative innocuité environnementale en font des composés très intéressants pour les traitements phytosanitaires. (Regnault et *al.*, 2005). L'intérêt du développement de nouvelles formulations à base d'extraits végétaux est dû à leurs avantages écologiques et environnementaux indéniables (Balick et *al.*, 1995).

Ce présent travail a pour objectifs d'évaluer l'efficacité nématicide *in vitro* de la Moutarde des champs « *Sinapis arvensis* ». vis-à-vis des espèces de *Meloidogyne*  
Dans cette partie, sont exposés les problèmes d'ordre méthodologique soulevés par notre approche expérimentale.

## I.2. Evaluation de la toxicité de traitement (extrait aqueux de *Sinapis arvensis*) sur les larves (I2) de *Meloidogyne spp* in vitro

### I.2.1. Méthodologies utilisées

#### I.2.1.1. Préparation des extraits aqueux

Les différentes parties aériennes et racinaires des plantes de moutarde « *Sinapsis arvensis* » ont été récoltées au mois de Mai 2011 au niveau du département d'agronomie. Ces derniers ont été étalées et séchées à l'ombre pendant 1 mois puis rangées dans un sac jusqu'au moment de son utilisation. Les plantes sont ensuite broyées et tamisées. La poudre obtenue est utilisée pour la préparation de l'extrait qui sera testé dans notre étude. Le procédé d'extraction utilisé dans notre expérimentation est la macération aqueuse qui consiste à maintenir la poudre de la plante en contact avec l'eau à une température ambiante pendant un laps de temps afin de libérer les molécules actives existantes chez la plante. Pour cela 20g de la poudre végétale est mise en suspension avec 250ml d'eau distillée stérile dans un flacon hermétiquement fermé et parfaitement enveloppé par du papier aluminium. Il est ensuite placé sous agitateur horizontale pendant 72h (Djellout, 2009) (Fig.12) Après 72h, le mélange est filtré (Fig.13) à l'aide du papier WATTMAN (N° 5) dans une bouteille en verre stérile de 250ml, entièrement couverte par du papier aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière. L'extrait pur obtenu est conservé ainsi au réfrigérateur à 4C° jusqu'au moment de son utilisation.



Fig.12. Agitation des extraits aqueux



Fig.13. Filtration des extraits aqueux

#### I.2.1.2. Préparation de la gamme des solutions

A partir de l'extrait aqueux pur de la plante obtenue après filtration (Fig.14), nous

avons préparé séparément les différentes dilutions (P/2 et P/4) dans des bouteilles stériles protégées par du papier aluminium et conservées à 4C°.



**Fig.14. Les extraits filtrés**

Le pH des différentes concentrations ; extrait aqueux pur et dilué au ( $\frac{1}{2}$ ) et au ( $\frac{1}{4}$ ) est mesuré. Ensuite des solutions aux mêmes pH que les concentrations sont préparés et conservées à 4C° (eau distillée additionnée de HCL ou NaOH) afin d'établir si le pH des extraits préparés agit sur les larves des *Meloidogyne* .

Pour comparer l'effet des nos extrait aqueux de plante, nous avons préparé un témoin positif au produit chimique l'oxamyl à la concentration de 1,5 ml/. Cette concentration pur a été diluée à l'eau distillée au ( $\frac{1}{2}$ ) et au ( $\frac{1}{4}$ ) puis sont conservées dans des bouteilles stériles au réfrigérateur jusqu'au moment des essais (Fig.15)



Fig.15. Préparation des solutions de l'Oxamyl

### I.2.1.3. Obtention et préparation des larves (L<sub>2</sub>) de *Meloidogyne*

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

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

Les masses d'œufs isolées des femelles de *Meloidogyne* (15 à 30 masses) sont déposées dans de petits tamis en plastiques de 2 à 4cm de diamètre. Ces derniers sont placés dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée puis sont misés à l'étuve à 25C° en vue d'éclosion massive.

Après éclosion, les larves (L<sub>2</sub>) libérées progressivement dans l'eau sont récupérées et comptées quotidiennement à l'aide d'une loupe binoculaire (x40).

Pour les tests in vitro, nous avons compté et réparti les larves de *Meloidogyne* en des lots de 20±1 larves (L<sub>2</sub>) dans des salières contenant 0,5 ml d'eau. Un total d'environ 1400 larves a été compté.

#### I.2.1.4. Les essais in vitro des différents traitements sur les larves (L2).

Les tests sont effectués dans une série de salières, chaque salière contient 0.5 ml d'eau distillée additionnée de (20±1) larves de deuxième stade préalablement comptées. Les traitements (extrait aqueux de moutarde et de l'oxamyl) et leurs dilutions (1/2 et 1/4) 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 stérile et l'autre au pH d'extraits aqueux des trois parties de la plante «*Sinapis arvensis*».

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 (Fig.16)

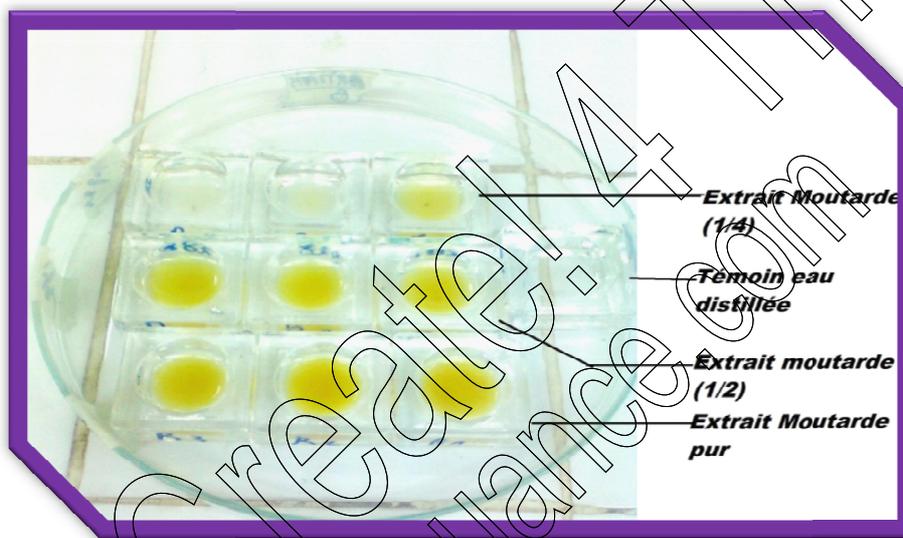


Fig.16. Dispositif de traitements des extraits de Moutarde sur les larves de *Meloidogyne* (L2)

L'évaluation de l'effet irréversible des extraits de trois parties de «*Sinapis arvensis*» et de l'oxamyl est accompli après 72h. Les juvéniles sont lavés trois fois à l'eau distillée dans les salières pour éliminer le traitement et remis à l'étuve à 25C° pendant 24h en vue de la revitalisation (Cox et al, 2006). (Fig.17)

Le pourcentage de larves mortes dans chaque boîte est estimé après 24 heures, 48h et 72h d'incubation selon Jourand et al. (2004).

% de mortalité= (nombre de larves immobiles/nombre total de larves) × 100

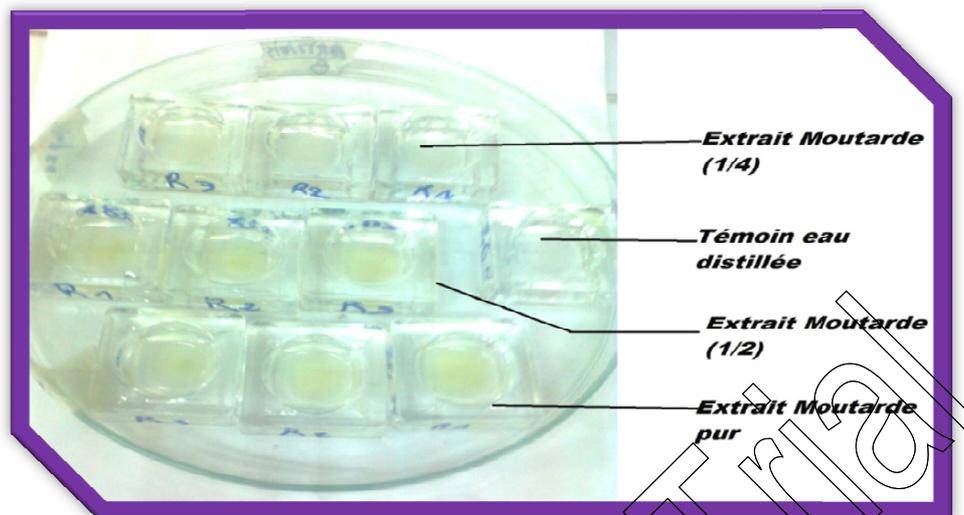


Fig.17. Dispositif de revitalisation

### I.3. Analyse des données

Les données recueillies sur l'efficacité de différentes parties de la Moutarde sont analysées statistiquement afin d'évaluer son potentiel toxique vis-à-vis des *Meloidogyne*. Pour cela nous avons fait appel à l'analyse de la variance (ANOVA pour ANalysis Of Variance) ou nous avons utilisé le Modèle Linéaire Global (GLM) (SYSTAT VERS. 12, SPSS 2009).

## II. Efficacité des extraits aqueux des trois parties de la plante de moutarde « *Sinapis arvensis* » sur les nématodes à galles (*Meloidogyne*).

Les extraits aqueux des différentes parties de la plante ont été préparés et testés sur les larves (L2) de *Meloidogyne spp.* dans les conditions de laboratoire. Pour estimer l'efficacité des extraits nous les avons comparés à trois témoins « témoin neutre (eau distillée) », «témoin chimique (Oxamyl) » et « témoins au pH des dilutions préparées ». Le tableau.1 (annexe), résume les différents résultats.

D'après les résultats il apparaît que l'extrait végétal et le produit chimique Oxamyl utilisés se sont révélés qualitativement et quantitativement actifs sur les nématodes à galles se traduisant par une augmentation du taux moyen de la mortalité des larves (L2) de *Meloidogyne* ; comparé au témoin eau, aucune mortalité n'a été enregistrée après 72h. Ce taux varie en fonction de la période d'exposition et de la concentration des traitements préparés

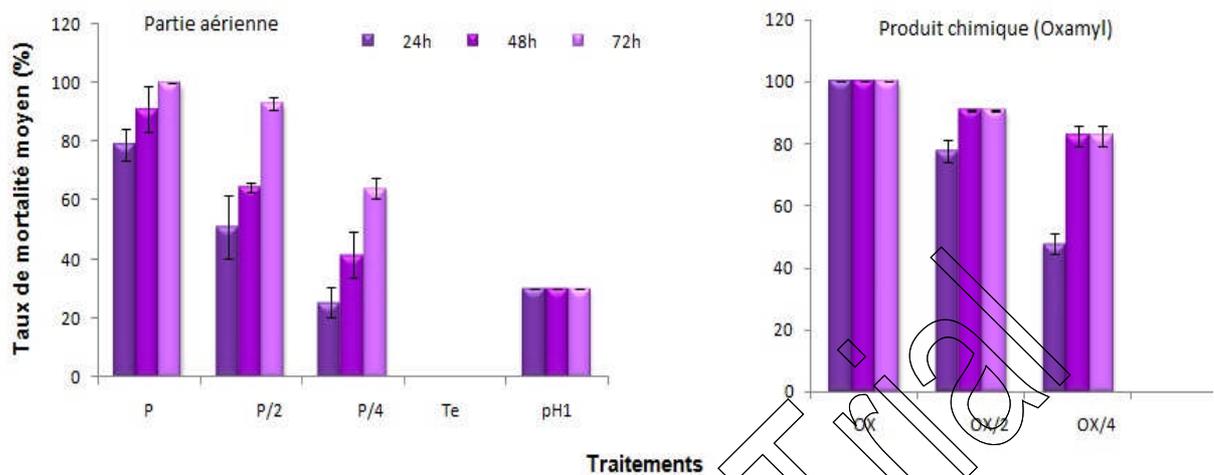
### II.1. Toxicité des extraits aqueux de la partie aérienne de la moutarde.

Les résultats (Fig 18) montrent que pour les deux traitements (partie aérienne et l'oxamyl) l'effet toxique apparaît dès les 24h d'exposition dans les extraits : pur et dilués au  $\frac{1}{2}$  (P/2). Les taux de mortalité respectifs sont de 79 et 51% pour l'extrait de moutarde et de 100 et 77.5% pour l'oxamyl.

Après 48 et 72 heures, d'immersion dans les traitements (pur et P/2) (moutarde et oxamyl) les taux de mortalité s'accroissent pour atteindre en général les 100%.

En ce qui concerne les dilutions au  $\frac{1}{4}$  (P/4), l'effet toxique est observé après 48 heures d'exposition. Il atteint les 50% de mortalité pour l'extrait de moutarde cependant pour l'oxamyl; il les dépasse largement (82.5%).

En ce qui concerne le traitement au pH1=4.27 (pH de l'extrait aqueux pur) la toxicité est assez faible. Le taux de mortalité obtenu est de 30% quelque soit le temps d'immersion.



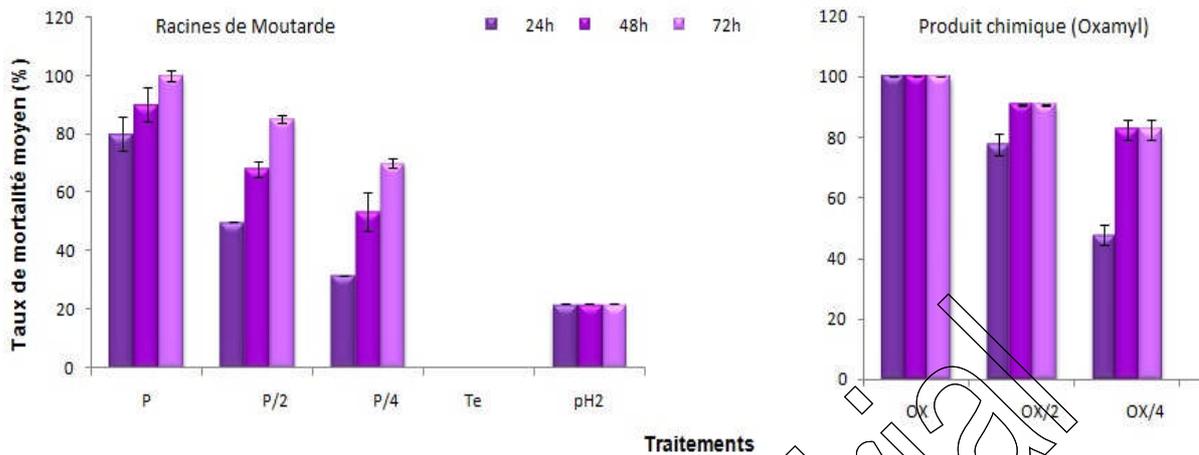
**Fig.18. Evaluation de la toxicité des deux traitements (la partie aérienne et l'oxamyl)**

## II.2. Toxicité des extraits aqueux des racines de la moutarde.

Les résultats représentés dans le tableau (1 annexe) et la figure (19) résument l'effet du traitement et leurs dilutions sur le taux de mortalité des L2 de *Meloidogyne*. Dans l'extrait pur, après 24h d'immersion le taux de mortalité atteint les 80%. Par contre la mortalité est faible dans les dilutions P/2 et P/4. Les taux respectifs sont de 50 et 30%. Toutefois, ces derniers augmentent au cours du temps pour atteindre les 85% après 72h d'immersion.

On comparant la toxicité de l'extrait de racines avec l'oxamyl; il s'avère que ce dernier est plus toxique. En effet le produit chimique quel que soit la concentration ou le temps d'immersion entraîne une mortalité plus élevée des larves de *Meloidogyne*.

Pour le test au pH2 de l'extrait des racines (4.6) ; la toxicité est assez négligeable (22%).



**Fig.19. Evaluation de la toxicité des deux traitements (les racines et l'oxamyl)**

### II.3. Toxicité du mélange (racines et partie aérienne) de la moutarde

Concernant l'effet toxique du mélange des deux parties de la plante de moutarde, les résultats représentés dans le tableau (1 annexe) et la figure (20), montrent une toxicité très importante après 24h d'immersion. Elle dépasse les 85% pour atteindre les 100% après les 72h. L'effet se rapproche de celui du produit chimique Oxamyl.

Après 48 et 72 heures, d'immersion dans les traitements (pur et P/2) (mélange et oxamyl) les taux de mortalité s'accroissent pour atteindre en général les 100%. En ce qui concerne les dilutions au ¼ (P/4), l'effet toxique est observé après 48 heures d'exposition. Il atteint les 80% de mortalité pour le mélange. Cependant, pour l'oxamyl la mortalité dépasse les 80% après 48H d'exposition.

Le traitement au pH3=5.30 du mélange la toxicité est très faible (15%). Alors que pour le témoin eau aucune mortalité n'a été enregistrée.

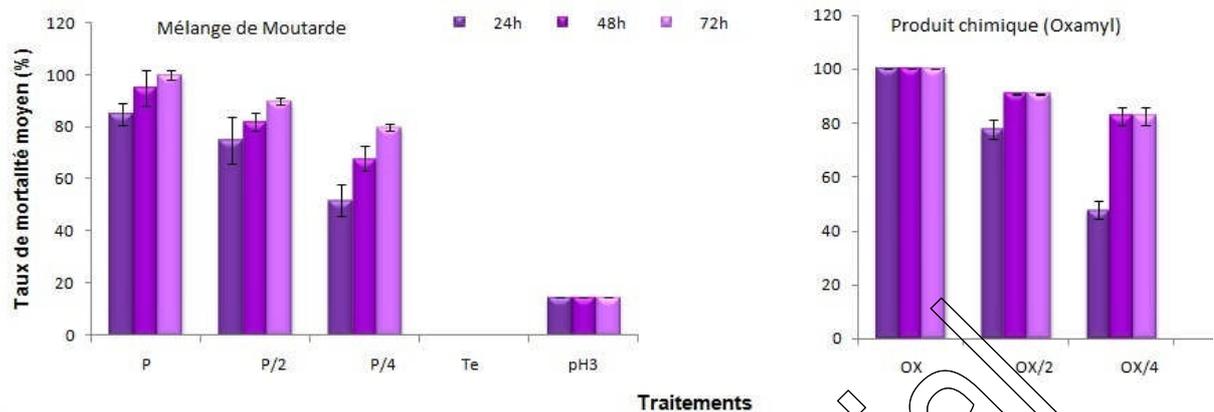


Fig.20. Evaluation de la toxicité des deux traitements (le mélange et l'oxamyl)

#### II.4. l'effet comparé des différents traitements sur la mortalité des larves (L2) de *Meloidogyne*.

Les données recueillies sur les essais des l'extrait aqueux des différentes organes de *Sinapis arvensis* (partie aérienne, racines et mélange) ainsi que le traitement chimique sont analysées statistiquement afin de comparer leur potentiel toxique vis-à-vis des *Meloidogyne*.

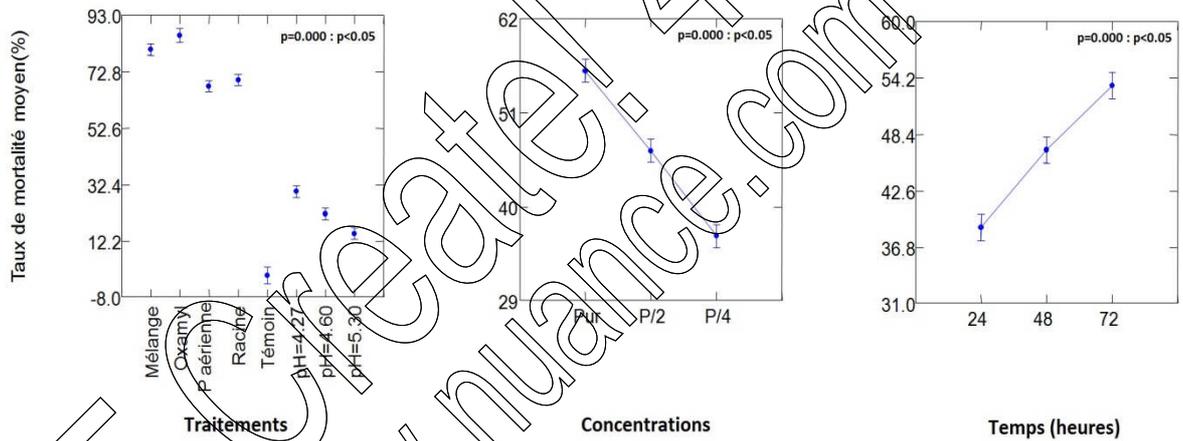
L'application du modèle G.L.M. pour les données (tableau 2 et figure 21), dévoile que les différents traitements et leurs dilutions présentent une variation très hautement significative ( $P=0.000$ ;  $p<0.05$ ). La toxicité des traitements varie très hautement significative dans le temps avec une probabilité de ( $P=0.000$ ;  $p < 0.05$ ).

Tableau 2 : Modèle G.L.M. appliqué à l'effet des traitements testés en fonction du temps d'exposition et des dilutions utilisées:

Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne carré	F ratio	P
Traitements	162071,153	7	23145,308	204,330	0,000
Temps	11868,428	2	5934,214	52,388	0,000
Dilutions	6765,566	2	3382,783	29,846	0,000
Erreur	20389,242	180	57,273		

L'analyse statistique par le modèle G.L.M. (fig.21) confirme que quelque soit le traitement utilisé (Partie aérienne, les racines ou le mélange) la toxicité est très importante ; elle est presque similaire au traitement par l'oxamyl (produit chimique). Cependant, l'extrait le plus toxique est celui du mélange (partie aérienne/ racines) ; il agit rapidement et entraîne une forte mortalité dès les 24h d'exposition notamment pour les extraits pur et dilué au 1/2.

En ce qui concerne les concentrations des traitements, l'analyse révèle que la toxicité des traitements est proportionnelle aux concentrations testées. En effet, la mortalité diminue avec la dilution des extraits (1/2 et 1/4). Par ailleurs, la nocuité des produits testés augmente dans le temps d'exposition. Elle est plus élevée après 72h d'immersion.



**Fig.21. Variation de la toxicité des extraits testés sur les larves de *Meloidogyne***

## II.5. Évaluation de l'effet irréversible des extraits de plante

L'étude de la revitalisation des larves a été réalisée après 72h afin de vérifier l'effet irréversible des extraits de la moutarde. Il en ressort des résultats (table. 3 annexe) et (fig.22), que les différents extraits aqueux de *Sinapis arvensis* présentent un effet irréversible plus important comparé au produit chimique. Cet effet apparaît nettement pour les extraits purs. Par ailleurs, pour l'extrait de la partie aérienne dilué au (1/2) le taux de revitalisation obtenu est le plus bas (14,33%). En ce qui concerne le traitement à l'Oxamyl le taux de revitalisation est plus élevé quelque soit la dilution.

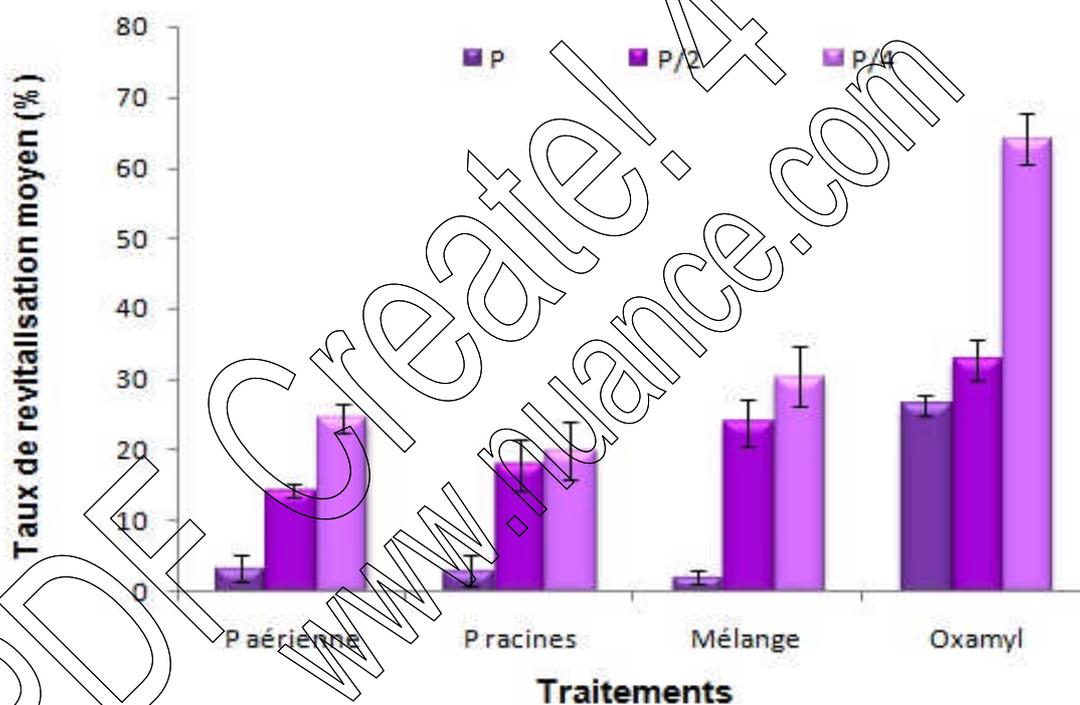


Fig.22. Taux de revitalisation des larves (L<sub>2</sub>) de *Meloidogyne*

## II.6. l'effet comparé des différents traitements sur la revitalisation

Le modèle G.L.M. appliqué à l'évaluation de la revitalisation en fonction des traitements effectués et leurs concentrations (Tableau 4), montre des variations très hautement significatives pour ces paramètres avec une probabilité de ( $p=0.000$  ;  $p < 0.05$ ).

**Tableau 4 : Modèle G.L.M. appliqué sur le taux de revitalisation de *Meloidogyne* après traitement en fonction des dilutions utilisées**

Source	Somme des carrés	df	Moyenne carré	F ratio	P
Traitements	4308,904	3	1436,301	25,078	0,000
Dilutions	1474,242	2	737,121	12,870	0,000
Erreur	1546,369	27	57,273		

La figure (23) relative à l'analyse statistique modèle G.L.M. révèle que l'effet irréversible des extraits de la moutarde est nettement inférieur à celui de l'oxamyl particulièrement avec l'extrait des racines et de la partie aérienne. En ce qui concerne les concentrations en générale, le taux de revitalisation est inversement proportionnel aux concentrations. Quelque soit le traitement le taux de revitalisation le plus faible est enregistré dans les extraits purs.

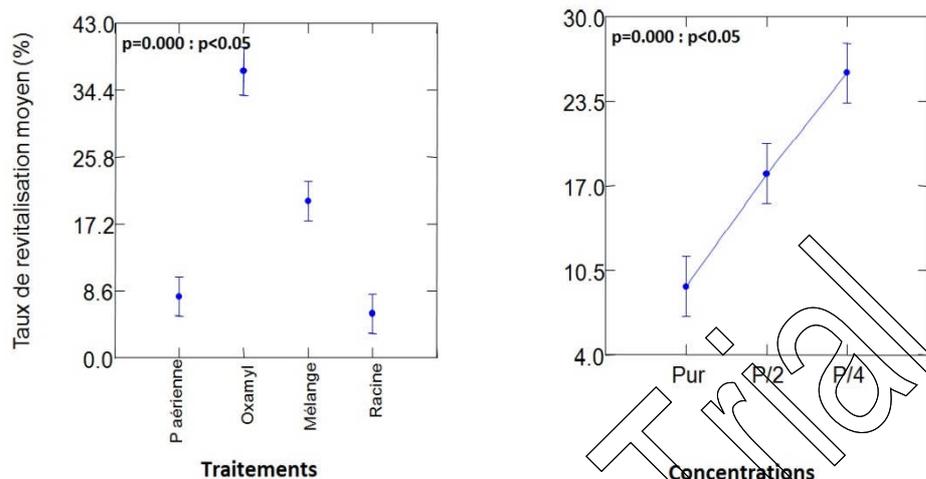


Fig.23. Effet des traitements sur la revitalisation des larves de *Meloidogyne*

## Discussion générale

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées. En effet, en plus des métabolites primaires classiques (glucides, protéines, lipides, acides nucléiques), elles synthétisent et accumulent perpétuellement des métabolites secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source immense de molécules exploitables par l'homme dans des domaines aussi distincts que la pharmacologie, l'agroalimentaire ou encore en agriculture dans le cadre de la phytoprotection (Auger et al., 2002 ; Haddouchi et al., 2008).

Actuellement, les extraits des plantes commencent à avoir un intérêt très promoteur comme une source potentielle de molécules naturelles bioactives. Les extraits végétaux font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticides, bactéricides, nématocides et fongicides (Yakhlef., 2010).

Les effets des extraits de plantes sur les micro-organismes ont été étudiés par un très grand nombre de chercheurs dans différents pays du monde (Kivcak et al., 2002 ; Ates et al., 2003 ; Dulger et al., 2005 ; Kumar et al., 2006). D'autres travaux ont fait l'objet d'essais in vitro des extraits aqueux, alcooliques et lipidiques de diverses espèces végétales sur les larves et les œufs de nématodes, principalement les *Meloidogyne spp* (Isman, 2002).

Il a été mis en évidence par Munacata (1979) que la plupart des substances naturelles nématocides, qui peuvent avoir une activité systémique (véhiculées par la sève de la plante), sont décomposables et non polluantes. Elles pourraient être utilisées comme base pour la synthèse de nouveaux nématocides (Dijian-Caproralino et al, 2002). Les plantes ont servi de pesticides depuis des périodes antiques. Des substances naturelles et synthétiques analogues aux composés naturels des plantes ont été développés pour contrôler les parasites, tels que de la pyrèthrine et les pyrethroides utilisé comme insecticides (Oka, 2010).

Suite a ce concept, nous avons étudiées l'effet nématocide in vitro des extraits aqueux des différents organes (aérienne, souterraine et du mélange) de Moutarde jaune « *Sinapis arvensis* », sur les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*. Les résultats des tests des extraits aqueux des parties de moutarde ont montré une toxicité vis-à-vis des larves de *Meloidogyne*. Cependant, les taux de mortalité produits varient en fonctions de la concentration de l'extrait et du temps d'immersion. L'analyse statistique modèle G.L.M. a révélé que les traitements et leurs concentrations présentent une variation très hautement significative ( $P=0.000$  ;  $p < 0.05$ ). La toxicité des extraits aqueux des parties de moutarde est presque comparable au traitement par l'oxamyl (produit chimique). Elles agissent rapidement et entraînent une forte mortalité dès les 24h d'exposition des larves de *Meloidogyne* notamment pour les extraits purs et dilué au  $\frac{1}{2}$ . La nocuité des traitements est inversement proportionnelle aux concentrations testées. En effet, la mortalité diminue avec l'augmentation des dilutions des extraits ( $\frac{1}{2}$  et  $\frac{1}{4}$ ). Par ailleurs, La toxicité des traitements varie très significativement avec le temps d'exposition ( $P=0.003$  ;  $p < 0.05$ ). Elle est plus élevée après 72h d'exposition.

Il s'avère d'après ces résultats que la moutarde présente un effet nématocide du à des composés toxique. Cette hypothèse rejoint les travaux de recherche réalisée sur quelques Brassicacae. D'après Brown et Morra, (1997) ; Fahey et al. (2001) les Brassicacae produisent des glucosinolates représentés par  $\beta$ - D-thioglucosides qui sont présentes dans toute la plante. Ils sont dégradés par des enzymes en divers composés parmi eux les isothiocyanates (ITCs). Les variations dans les profils de glucosinolates et les concentrations existent entre les Brassicaceae et leurs stades de développement (Bellostas et al, 2007).

Brown et Morra, (1997) affirment que ces derniers sont des composés hautement toxiques. Selon Buskov et al. (2002) ; Lazzeri et al. (1993) ; Zasada et Ferris (2003) la toxicité des ITCs vis-à-vis de certaines espèces de nématodes est bien connue. Les travaux in vitro ont démontré la toxicité des ITCs sur *Tylenchulus semipenetrans* et *M. javanica* (Zasada et Ferris, 2003) et sur *Heterodera schachtii* (Lazzeri et al., 1993).

Concernant la toxicité des pH (4.27), (4.60) et (5.30) des extraits aqueux de moutarde (partie aérienne, racines et mélange), les résultats ont révélé un effet assez négligeable. Les taux de mortalité varient entre (15 et 30%) au cours des

différents temps d'immersion. Selon Khanna et al, 1997) et (Mcsorley, 1998), les nématodes sont généralement tolérants à un large spectre de pH. Toutefois, le 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). Mcelderry 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).

L'analyse statistique modèle G.L.M. montre des variations très hautement significatives de la revitalisation des larves de *Meloidogyne* entre les traitements et leurs concentrations ( $p=0.000$  ;  $p > 0.05$ ). L'effet irréversible de l'extrait des parties de moutarde est nettement supérieur à celui de l'oxamyl.

En ce qui concerne les concentrations en générale le taux de revitalisation est inversement proportionnel aux concentrations. Quelque soit le traitement le taux de revitalisation le plus faible est enregistré dans les extraits purs. Les larves (I2) revitalisées sont vivantes mais immobiles, paralysées et épuisées et ne parviennent plus à se déplacer et ne sont pas actives. Selon Khan (2009), Les extraits de plantes possèdent des propriétés anesthésiques nématocides ou nématostatique qui agissent différemment sur les larves, ceci reflète des différences dans la nature des métabolites chimiques et le type du principe actif toxique des espèces végétales. Ce qui explique la forme observée chez les nématodes à galles traités par nos extraits aqueux durant cette étude.

L'effet irréversible enregistré par nos extraits aqueux peut être expliqué par le fait que les récepteurs sensoriels des nématodes (amphides) sont riches en acétylcholinestérase. Celles-ci sont facilement accessibles et inhibées par les métabolites nématocides (Guany et al., 1984). En effet, ces molécules affectent le système nerveux des nématodes en inhibant l'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase (Khan, 2009).

## Conclusion générale

Au cours des dernières décennies, l'attention portée aux effets secondaires des pesticides a profondément modifié la perception à l'égard des pesticides. Ils sont devenus, pour certains, des produits dangereux que l'on devrait bannir ou, au mieux, un mal nécessaire.

Ces conséquences éco toxicologiques plus contraignantes à une augmentation importante des coûts de développement de nouveaux produits phytosanitaires. Le concept de lutte intégrée se réfère principalement à l'écologie, aux rapports existants entre les organismes vivants et leur environnement ou leur espace vital. A l'origine, cette démarche visant la réduction du nombre d'interventions avec des pesticides et le développement des futurs biopesticides d'origine végétale, est une méthode plus saine et écologique pour la protection des plantes (Gottlieb et *al.*, 2002).

De ce fait, le travail entrepris dans ce mémoire avait pour objectifs d'évaluer les effets toxiques d'une plante adventice qui abonde nos cultures légumières, l'arboriculture fruitière et les grandes cultures contre les nématodes à galles. L'analyse a porté sur leur action dans la régulation des infestations des racines par les larves des *Meloidogyne spp*.

Concernant l'activité nématicide in vitro, les extraits de «*Sinapis arvensis*» utilisés se sont révélés qualitativement et quantitativement actifs sur les larves des nématodes à galles se traduisant par une augmentation de la mortalité des larves du deuxième stade en fonction des concentrations des extraits aqueux et le temps d'exposition des larves.

Ces résultats, semblent très prometteurs et nous ouvrent la voie sur la possibilité d'utiliser cette espèce ou leur extrait en agriculture biologique dans le cadre d'un programme de lutte intégrée. D'autant plus que nos travaux antérieurs (2011) ont révélé qu'in vivo les amendements du sol par la poudre et l'immersion des plants dans les extraits ont présenté une efficacité très significative dans le contrôle de nématode à galles.

Il faut que la recherche s'applique et persévère dans la découverte de nouveaux pesticides naturels à base de végétaux, considérés comme mauvaises herbes car elles sont

méconnues, mais en vérité peuvent être source efficace dans la lutte contre les nématodes et les insectes très redoutables aux cultures.

Il serait également intéressant de tester l'activité de ces extraits sur d'autres nématodes (*Tylenchulus semipenetrans*; *Globodera rostochiensis*; *Ditylenchus dipsaci*); des pathogènes et insectes ravageurs en particulier ceux listés en quarantaine qui constituent des organismes très redoutables comme par exemple; *Phytoplasma ulmi*, *Xanthomonas oryzae pv*, *Tilletia indica*, et *Tuta absoluta*.

Il serait aussi d'intérêt d'approfondir les recherches afin de formuler ces extraits pour stabiliser les molécules actives et d'identifier les DL 50 dont un objectif de commercialisation.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Annexes

**Tableau 1.** Effet des différents traitements sur le taux moyen de la mortalité des larves (L<sub>2</sub>) de *Meloidogyne spp.*

Les traitements	Temps d'exposition (heures)	Taux moyen de mortalité des différentes concentrations (%)		
		P	P/2	P/4
Extrait aqueux de la partie aérienne	24	79	51	25.33
	48	91	64.33	41.66
	72	100	92.96	64
Extrait aqueux de la partie sous terrainne	24	80	50	31.67
	48	90	68	53.33
	72	100	85	70
Extrait aqueux du mélange	24	85	75	52
	48	95	82	68
	72	100	90	80
Témoin pH =4.27	24	30	30	30
	48	30	30	30
	72	30	30	30
Témoin pH=4.60	24	22	22	22
	48	22	22	22
	72	22	22	22
Témoin pH=5.30	24	15	15	15
	48	15	15	15
	72	15	15	15
Oxamyl	24	100	77.5	47.72
	48	100	90.69	82.5
	72	100	90.69	82.5
Témoin neutre	24	00	00	00
	48	00	00	00
	72	00	00	00

**Tableau 4.** Effet des différents traitements sur le taux moyen de la revitalisation.

Traitements	Répétition	Pourcentage de revitalisation sur différentes concentrations		
		P	P/2	P/4
Extrait aqueux de la partie aérienne	R1	05	08	30
	R2	00	20	24
	R3	05	15	20
	Moyenne	3.33	14.33	24.66
Extrait aqueux de la partie sous terrain	R1	04	12	28
	R2	02	20	18
	R3	03	22	14
	Moyenne	03	18	20
Extrait aqueux du mélange	R1	02	33	41
	R2	03	26	38
	R3	01	22	23
	Moyenne	02	24	30.5
Oxamyl	R1	30	44	56
	R2	23	22	66
	R3	26.5	33	71.5
	Moyenne	26.5	33	64.5

PDF Create! 4 Trial  
[www.nuance.com](http://www.nuance.com)