

**AFPP –11^e CONFÉRENCE INTERNATIONALE
SUR LES RAVAGEURS ET AUXILIAIRES EN AGRICULTURE
MONTPELLIER – 25 ET 26 OCTOBRE 2017**

**ACTIVITE NEMATOCIDE DES EXTRAITS AQUEUX DE QUELQUES PLANTES SUR LE NEMATODE DE LA
VIGNE *XIPHINEMA* (NEMATODA –LONGIDORIDAE)**

D. NEBIH HADJ- SADOK ⁽¹⁾, K. FLITA ⁽¹⁾, M. FATIMA⁽¹⁾ ET F. SAFFIDINE

⁽¹⁾UNIVERSITE BLIDA 1, FACULTE DES SCIENCES AGRO. VETERINAIRES, DEPARTEMENT DES
BIOTECHNOLOGIES, BP. 270 ROUTE SOUMAA, BLIDA, ALGERIE.

nebihdhaouia@gmail.com

RÉSUMÉ

L'effet nématocide des extraits aqueux des feuilles de quatre espèces végétales (*Sinapis arvensis*, *Raphanus raphanistrum* et *Ficus carica*), a été testé in vitro sur le nématode de la vigne *Xiphinema*. Les individus de ce nématode ont été exposés à trois doses (10, 15 et 20g de matière sèche/250ml d'eau) pour chaque plante pendant 24, 48 et 72 heures. Les résultats ont confirmé que les traitements testés sont actifs sur le nématode de la vigne. L'effet biocide des extraits est proportionnel aux concentrations testées et au temps d'exposition des *Xiphinema*. Les taux de mortalité les plus importants sont enregistrés pour les extraits aqueux de deux espèces de *Brassicaceae*. Elles ont montré un effet choc dès les premières heures d'immersions (100%). L'effet toxique des extraits aqueux des feuilles de figuier augmente très rapidement pour les doses (15 et 20g/250ml) après 48 et 72h pour provoquer la mortalité totale des individus de *Xiphinema*.

Mots-clés : Extraits aqueux, espèces végétales, Toxicité, Vine, *Xiphinema*.

ABSTRACT

**NEMATOCIDE ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACTS FROM SOME PLANTS ON THE NEMATODE OF VINE
XIPHINEMA (NEMATODA-LONGIDORIDAE)**

The nematocidal effect of aqueous leaf extracts of four plant species (*Sinapis arvensis*, *Raphanus raphanistrum* and *Ficus carica*) was tested in vitro on vine nematode « *Xiphinema* ». The nematodes were exposed at three doses (10, 15 and 20 g dry matter/ 50 ml of water) for each plant for 24, 48 and 72 hours. The results confirmed that the treatments tested are active on the vine nematode. The biocidal effect of the extracts is proportional to the concentrations tested and the exposure time of *Xiphinema*. The highest mortality rates are recorded with aqueous extracts of the two Brassicaceae species. They showed an effect shock in the early hours of immersions (100%). The toxic effect of aqueous extracts of fig leaves increases very rapidly for doses (15 and 20g / 250ml) after 48 and 72h to cause total mortality of *Xiphinema*.

Keywords: Aqueous extracts, Plant species, Toxicity, Vine, *Xiphinema*.

INTRODUCTION

La vigne (*Vitis vinifera* L.) est considérée comme l'une des cultures à importance économique en Algérie. La superficie totale du vignoble est de 80423 ha, avec une production de 5 605620 QX. Le développement de la vigne en intensif a contribué à la prolifération de nombreux parasites et maladies. Les nématodes parasites des plantes se trouvent généralement dans tous les vignobles du monde et sont une contrainte majeure à la production. Plusieurs espèces de nématodes phytoparasites ont été signalées. Les plus fréquents sont *Xiphinema index*, *Meloidogyne ethiopica*, *Mesocriconema xenoplax* et *Tylenchulus semipenetrans* (Aballay et al., 2009). Ils sont souvent associées aux faibles vigueur de la vigne (Pinkerton et al., 1999). Les espèces de *Xiphinema* sont des parasites économiquement importants de la vigne. Elles sont des vecteurs de virus. *Xiphinema index* est le nématode majeur vecteur de virus en viticulture. Il transmet spécifiquement le virus Grapevine fan leaf (GFLV), la plus grave maladie virale de la vigne dans le monde (Villate et al., 2008). Le court-noué (GFLV) est l'une des maladies à virus la plus dommageables pour la vigne. Elle agit à la fois sur le rendement et sur la longévité des ceps, les pertes de récolte pouvant atteindre 80% (Demangeat et al., 2005).

Le court noué (GFLV) est la virose la plus importante. Les ceps atteints par la maladie peuvent être détruits rapidement ou subir un dépérissement lent s'étendant sur plusieurs années (Bovey, 1973). La lutte chimique est le moyen le plus employé, telle que la fumigation du sol, très largement utilisée pour réduire les infestations. L'efficacité de ces produits est réduite vue la répartition verticale du genre *Xiphinema* qui peut atteindre les couches profondes du sol (Esmenjaud et al., 2005). Face aux normes environnementales imposées par la communauté internationale, la mise au point de stratégies de lutte alternatives aux moyens chimiques s'avère indispensable. L'activité anthelminthique des espèces végétales a été signalée par divers auteurs (Zasada et al., 2003 ; Curto et al., 2005 ; Guo et al., 2015). Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'efficacité nématocide *in vitro* des extraits aqueux de *Ficus carica*, *Sinapis arvensis* et *Raphanus raphanistrum* sur les individus de *Xiphinema*.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

PRÉPARATION DES EXTRAITS AQUEUX

Les feuilles de *Ficus carica* et les plantes de *Brassicacea* « *Sinapis arvensis* et *Raphanus raphanistrum* » ont été collectées dans la zone sub-humide de Blida. Les feuilles des plantes sont nettoyées puis séchées à l'ombre pendant 2 mois puis broyées et tamisées. La poudre obtenue de chaque plante est utilisée pour la préparation des extraits. La méthode utilisée est l'extraction aqueuse (Djellout, 2009). Nous avons préparé trois doses (10, 15 et 20g) de la poudre végétale de chaque plante testée. Ces dernières sont mises en suspension avec 250 ml d'eau distillée stérile dans des flacons hermétiquement fermés et parfaitement enveloppés par du papier aluminium sous agitation horizontale pendant 72h. Les extraits sont ensuite filtrés à travers un papier WATTMAN (n°5). Après ce temps, les extraits sont filtrés dans des bouteilles en verre stériles entièrement couvertes par du papier d'aluminium afin d'éviter toute dégradation des molécules actives par la lumière.

OBTENTION ET PRÉPARATION DES NEMATODES

Les nématodes de la vigne *Xiphinema* ont été prélevés dans des parcelles de vigne infestées dans la région de la Mitidja centre la zone de Tassalat El Mardja de la wilaya d'Alger. Les échantillons de sol ont été réalisés dans la rhizosphère à l'aide d'une tarière à la profondeur 70 cm, durant les mois de janvier à avril. Les nématodes sont extraits du sol par la méthode des seaux de Dalmasso (1966), dite méthode de flottaison et sédimentation puis la purification par le passage actif des nématodes est effectué par la technique modifiée des filtres de Baermann (Hooper, 1986).

TEST IN VITRO DE L'EFFICACITÉ DES TRAITEMENTS

Les tests sont effectués dans des puits de microplaque de culture cellulaire renfermant 12 puits. Les puits contiennent 1ml de chacun des traitements à tester (extraits aqueux et hydrolats) auquel nous additionnons (08) individus de *Xiphinema*.

Pour comparer l'efficacité des traitements, nous avons préparé des témoins à l'eau distillée. 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.

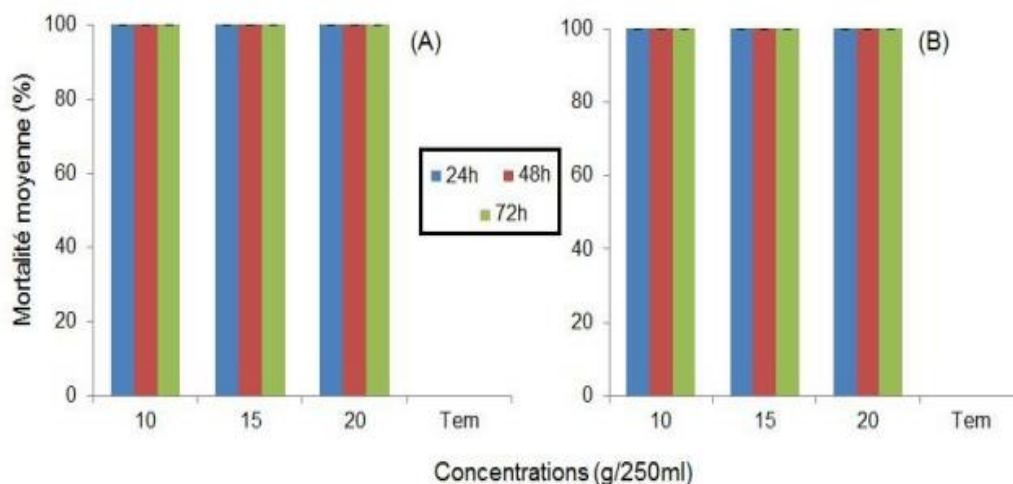
Toutes les données recueillies ont subi une analyse de la variance (ANOVA) en utilisant le Modèle Linéaire Global (GLM) (SYSTAT VERS. 12, SPSS 2009).

RÉSULTATS

TOXICITÉ DES EXTRAITS AQUEUX DES DEUX ESPÈCES DE BRASSICACEAE

D'après les résultats représentés par la figure 1, les extraits aqueux des deux espèces de Brassicaceae (*Sinapis arvensis* et *Raphanus raphanistrum*) ont révélés une toxicité comparable sur les individus de *Xiphinema*. Quel que soit la concentration testée le taux de mortalité moyen est le 100% en comparaison avec le témoin eau distillée (0%) de mortalité. Les extraits aqueux des deux espèces végétales ont montré un effet biocide immédiat dès les premières heures d'exposition (24h) des nématodes.

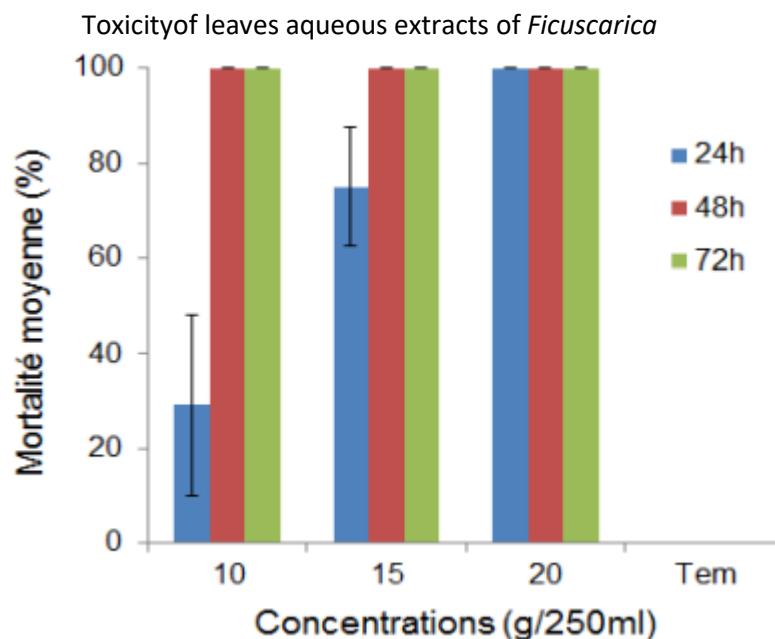
Figure 1 : Toxicité des extraits aqueux des deux espèces de *Brassicaceae*
(A) *Raphanus raphanistrum* et (B) *Sinapis arvensis*
Aqueous extracts toxicity of the two *Brassicaceae* species
(A) *Raphanus raphanistrum* et (B) *Sinapis arvensis*



TOXICITÉ DES EXTRAITS AQUEUX DES FEUILLES DE FIGUIER « FICUS CARICA »

Les résultats (fig. 2) montrent que l'effet des extraits aqueux des feuilles de *Ficus carica* varie en fonction des doses et du temps d'exposition des nématodes *Xiphinema*. Nous constatons que la dose (20g/250ml) a présenté un effet très toxique (100%) dès les premières 24h. Pour les concentrations (10g) et (15g) les taux de mortalité sont respectivement de 25 et 75%. L'effet toxique des extraits aqueux des feuilles de figuier augmente très rapidement après 48 et 72h pour provoquer la mortalité totale des individus de *Xiphinema*.

Figure 2: Toxicité des extraits aqueux des feuilles de *Ficus carica*



TOXICITE COMPAREE DES TROIS TRAITEMENTS

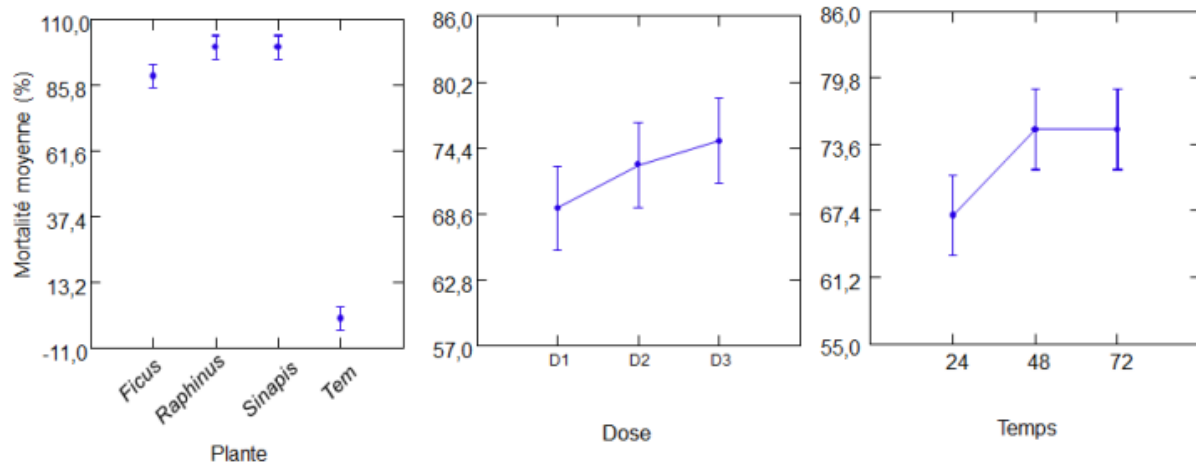
Nous avons fait appel à l'outil statistique pour comparer la toxicité des traitements testés. L'application du model G.L.M. aux données (tableau I) dévoile que les extraits aqueux des trois espèces végétales (*S.arvensis*, *R. raphanistrum* et *F. carica*) ont exprimé un effet biocide vis à vis des *Xiphinema* comparé au témoin. L'activité biocide des extraits varie significativement entre espèces végétales ($P=0,000$; $p > 0,05$) et le temps d'immersion des nématodes ($p=0,003$; $p > 0,05$). Alors que les concentrations testées ont agit d'une manière similaire ($p=0,084$; $p > 0,05$).

Tableau I : Evaluation de la toxicité des traitements en fonction des concentrations et du temps
Evaluation of toxicity of treatment according to the concentrations and time

Source	Somme des carrés	DLL	Carré moyennes	F-ratio	p-value
Plantes	190 421,007	3	63 473,669	498,557	0,000
Doses	645,255	2	322,627	2,534	0,084
Temps	1 530,671	2	765,336	6,011	0,003
Erreur	12 731,481	100	127,315		

Les figures issues de l'analyse statistique (fig.3) confirment que les extraits aqueux de *S. arvensis*, *R.raphanistrum* et *F. carica* sont très actifs in vitro contre le nématode de la vigne *Xiphinema*. Toutefois, les deux espèces de *Brassicaceae* ont une action biocide similaire. Ils agissent rapidement présentant un effet choc dès les premières heures d'immersion. Alors que la toxicité des feuilles de figuier est légèrement inférieure à ces dernières. Quelque soit le traitement, la toxicité des extraits aqueux varie en fonction des concentrations des extraits et du temps d'exposition des nématodes

Figure 3 : Variation temporelle de la toxicité des plantes en fonction de la concentration
Temporal variation of the toxicity of plants according the concentration



DISCUSSION

Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très variées. Plusieurs auteurs ont mis en évidence la présence de molécules actives tels que les composés phénoliques efficaces dans la lutte contre les nématodes (Siddiquiet Alam, 1988 ; Faouzi, 2002). Quelques investigations ont étudié l'activité nématocide des extraits de plantes *in vitro* sur *X.index* (Sasanelli et Catalano, 1991 et Sasanelli, 1992).

Les résultats obtenus ont montré que les extraits aqueux de trois espèces végétales présentent une activité nématocide. Toutefois, l'action biocide de ces derniers dépend d'une manière significative du type de plantes et du temps d'exposition des *Xiphinema*. Ce résultat rejoint les travaux d'Addabbo *et al.* (2013) et Touahri (2015) qui affirment que le genre *Xiphinema* est sensible seulement aux fortes concentrations après un temps d'exposition long dans les extraits aqueux d'*Artemisia annua*, *A. herba-alba*, *A. absinthium*, *Lantana camara* et *Urginea maritima*. La toxicité des extraits des trois plantes testées a révélé que les extraits des deux espèces de *Brassicaceae* « *Sinapis arvensis* et *Raphanus raphanistrum* » s'avèrent plus actifs sur le nématode de la vigne. Elles ont agi rapidement et ont montré un effet choc dès les premières heures d'immersion. Alors que l'activité biocide des feuilles de *Ficus carica* est apparue après 48 et 72h d'exposition des nématodes. Il est probable que l'action différente des traitements testés sur *Xiphinema* est en étroite relation avec les composants actifs contenus dans les tissus de ces plantes. D'Addabbo *et al.* (2013) affirment que la toxicité des extraits aqueux d'*Artemisia annua* sur *X. index* est due en grande partie à ces deux composés phénoliques (acide caféique, l'acide chlorogénique).

Il s'avère d'après ces résultats que l'effet choc des deux espèces de *Brassicaceae* serait lié à leurs métabolites secondaires. Cette hypothèse rejoint les travaux de recherche réalisés par Brown et Morra (1997); Fahey *et al.* (2001) qui affirment que les plantes de cette famille produisent des glucosinolates représentés par β -D-thioglucosides qui sont présentes dans toute la plante. Ils sont dégradés par des enzymes en divers composés parmi eux les isothiocyanates (ITCs) (Bellostaset *al.*, 2007). Leur activité biocide a été prouvée sur plusieurs espèces de nématode bien connues comme sur *Tylenchulus semipenetrans*, *M. javanica* (Zasada et Ferris, 2003) et sur *Heterodera schachtii* (Lazzeri *et al.*, 1993). Les isothiocyanates (ITCs) possèdent un large spectre d'activité. En plus de l'effet nématocide, ils possèdent également des propriétés herbicide, insecticide et fongicide (Sarwa *et al.*, 1998, Djiacaporalino *et al.*, 2008).

En ce qui concerne l'efficacité des extraits aqueux des feuilles de *Ficus carica*, Guo *et al.* (2015) signalent que les furocoumarines (Bergaptène et psoralène) possédaient une activité nématocide. Ces deux furocoumarines pourraient inhiber l'activité de l'amylase, de la cellulase et de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les nématodes.

CONCLUSION

Cette étude a démontré l'efficacité *in vitro* des deux espèces de *Brassicaceae* dans le contrôle du nématode de la vigne *Xiphinema*. Ainsi, ces plantes peuvent contribuer à réduire l'utilisation des nématicides de synthèse potentiellement plus toxiques. Des recherches restent à développer, principalement dans les méthodes d'application dans le sol en tant qu'engrais vert.

BIBLIOGRAPHIE

Aballay E., Persson P., and Martensson A., 2009-Plant-parasitic nematodes in Chilean vineyards. *Nematropica* 39, 85-97.

Bovey R., 1973. Les maladies virales de la vigne : court- noué. Lausanne Ed.Payot, 120p.

Brown P. and Morra M., 1997- Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advance in Agronomy* 61, 167-231.

Bellostas N., Kachlicki P., Sørensen J.C. and Sørensen H., 2007- Glucosinolate profiling of seeds and sprout of *B. oleracea* varieties used for food. *Sci. Hortic*, 114, 234–242

Curto G., Dallavalle E. and Lazzeri L., 2005- Live cycle duration of *Meloidogyne incognita* and host status of *Brassicaceae* and *Capparaceae* selected for glucosinolate content. *Nematology*, 7, 203- 212 .

D 'Addabbo T., Carbonara T., Argentieri M. P., Radicci V., Leonetti P., L. Villanova and Avato P., 2013- Nematicidal potential of *Artemisia annua* and its main metabolites. *Eur J Plant Pathol.*, DOI 10.1007/s10658-013-0240-5.

Djian-Caporalino C., Bourdy G. et Cayrol J.C., 2002. Chapitre 12 : « plantes nématicides et plantes résistantes aux nématodes » in, « Biopesticides d'origine végétale ». Editions Tec & Doc, Paris, France, pp.197-224 .

Demangeat G., Esmenjaud D., Voisin R., Bidault J.M., Grenan S., Claverie M., 2005 - Le court-noué de la vigne. I- Etat des connaissances sur cette maladie lors de la journée « Alternative » du 28 avril 2005. *Phytoma - La Défense des Végétaux* 587, 38-42.

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

Dalmasso, A., 1966 - Méthode simple d'extraction des nématodes du sol. *Rev.Ecol. Biol. Sol* 3, 473–478.

Esmenjaud D., Voisin R., Fritsch J., Bouquet A., Lemaire O., Claverie M., 2005 - Le Court-noué de la vigne : II. Le point sur la lutte contre la maladie. Dossier spécial ITV-INRA « Alternative à la lutte chimique contre le court-noué de la vigne ». *Phytoma-La Défense des Végétaux* 587, 43-48.

Fahey J., Zalemann A. and Talalay P. 2001- The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56, 5-51

Faouzi A., 2002. Etude sur l'utilisation des nématicides et la persistance du fenamiphoros sur la culture de tomate sous serre dans la région de souss Massa. mémoire de fin d'étude IAVH. Agadir, 55 p.

Guo Q., Dua G., Heb H., Xua H., Guoa D. and Lia R., 2015- Two nematicidal furocoumarins from *Ficus carica* L. leaves and their physiological effects on pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) DOI:10.1080/14786419.2015.1094804.

Hooper D.J., 1986. Extraction of free-living stages from soil.. In: Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes (Southey, J.F., ed.). Ministry of Agriculture, Fisheries and Food No. 402, Her Majesty's Stationery Office, London, UK, pp. 5-30

Lazzeri L., Tacconi R., Palmieri S., 1993- In vitro activity of some glucosinolates and their reaction-products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *J Agric Food Chem*, 41, 825–829

Pinkerton, J.N., Forge T.A., Ivors K.L., and Ingham R.E., 1999 - Plant-parasitic nematodes associated with grapevines, *Vitis vinifera*, in Oregon vineyards. Supplement to the *Journal of Nematology* 31, 624–634.

Sasanelli N., 1992 - Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematologia Mediteranea*, 20, 53-55.

Sasanelli N. and Catalano L., 1991- Attività nematocida in vitro di *Capsicum annuum* su *Xiphinema index*. *Informatore fitopatologico* 41 (10), 55-56,

Sarwar M., J.A. Kirkegaard P.T.W. Wong and Desmarchelier J.M., 1998- Biofumigation potential of brassicas: III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soilborne fungal pathogens. *Plant and Soil* 201, 103-112.

Siddiqui, M.A, and M.M., Alam. 1988 - Toxicity of different plant parts of *Tagetes lucida* to plant parasitic nematodes. *Indian J. Nematol.* 18, 181-185.

Siddiqui M.A., Alam M.M. and Saxena S.K., 1988 - Seasonal fluctuation of plant parasite nematodes associated with certain fruit trees. *International Nematology Network Newsletter* 5, 22-23.

Villate L., Fievet V., Hanse B., Delemarre F., Plantard O., Esmenjaud D., van Helden M., 2008- Spatial distribution of the dagger nematode *Xiphinema index* and its associated Grapevine fanleaf virus in French vineyard. *Phytopathology* 98, 942-948.

Zasada I.A., Ferris H., 2003 - Sensitivity of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans* to isothiocyanates in laboratory assays. *Phytopathology* 93, 747–750.

Zasada I.A., Ferris H., Elmore C.L., Roncoroni J.A., Mac Donald J.D., Bolkan L.R. et Yakabe L.E., 2003 - Field Application of Brassicaceous Amendments for Control of Soilborne Pests and Pathogens. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2003-1120-01-RS.