

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
École Nationale Supérieure Agronomique

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD en Sciences
Agronomiques

Option: Bioagresseurs et Phytopharmacie

Thème

**Distribution, identification et application d'une méthode alternative de lutte
contre les nématodes à galles du genre Meloidogyne (Kofoid and White)
Chitwood dans le littoral algérois.**

Préparée par : M. ZAIDAT Sabri Ala Eddine

Soutenue le, 23/02/2021 devant le jury composé de :

Président :	M. DOUMANDJI Salaheddine	Professeur (ENSA)
Directeur de thèse :	M ^{me} MOUHOUCHE Fazia	Professeur (ENSA)
Co-directeur de thèse :	M. HAMMACHE Miloude	Professeur (ENSA)
Examineurs :	M. MOKABLI Aissa	Professeur (UDBKM)
	M ^{me} HADJ-SADOK NEBIH Dhaouya	M.C.A (USDB)

Année universitaire : 2020/2021

Tables des matières

Introduction	1
Chapite I. Shynthèse bibliograpgique	
1. Nématodes phytoparasites	5
1.1. Nématodes à galles	5
1.1.1. <i>Meloidogyne incognita</i>	5
1.1.1.1. Position systématique	5
1.1.1.2. Morphologie	6
1.1.1.3. Cycle de vie	6
1.1.1.4. Gamme d'hôtes.....	8
1.1.1.5. Symptomatologie.....	8
1.1.1.6. Espèces du genre <i>Meloidogyne</i> spp. et leur distribution.....	8
1.1.1.7. Dégâts et impact économique des <i>Meloidogynes</i>	9
2. la lutte à l'égard des nématodes.....	10
2.1. Lutte biologique à l'égard des nématodes	10
2.1.1. Biopesticides.....	10
2.1.1.1. Bio-nématicides	11
a. Plantes nématicides.....	11
a.1. Amendements organiques et tourteaux (bio-fumigation)	11
a.2. Extraits des végétaux (biopesticides)	12
2.2. Commercialisation des biopesticides (bio-nématicides)	12
2.3. Potentiel des extraits des végétaux à l'égard des nématodes à galles.....	12
3. Plantes étudiées	14
3.1. <i>Sinapis arvensis</i> L.....	14
3.1.1. Position systématique	14
3.1.2. Description botanique et biologique	14
3.1.3. Caractères écologiques	15
3.1.4. Répartition géographique.....	15
3.1.5. Composition biochimique	15
3.2. <i>Raphanus raphanistrum</i> L.	16
3.2.1. Position systématique	16

3.2.2. Description botanique et biologique	16
3.2.3. Caractères écologiques	17
3.2.4. Répartition géographique.....	17
3.2.5. Composition chimique.....	17
3.3. <i>Taxus baccata</i> L.	17
3.3.1. Position systématique	17
3.3.2. Description botanique et biologique	18
3.3.3. Caractères écologiques	18
3.3.4. Répartition géographique.....	18
3.3.5. Composition biochimique.....	19
3.4. <i>Peganum harmala</i> L.	19
3.4.1. Position systématique	19
3.4.2. Description botanique et biologique	19
3.4.3. Caractères écologiques	20
3.4.4. Répartition géographique.....	20
3.4.5. Composition biochimique.....	20
3.5. <i>Ricinus communis</i> L.....	20
3.5.1. Position systématique	20
3.5.2. Description botanique et biologique	20
3.5.3. Caractères écologiques	21
3.5.4. Répartition géographique.....	21
3.5.5. Composition biochimique.....	21
Chapitre II. Distribution et identification des nématodes à galles dans le littoral algérois.	
I. Introduction.....	23
II. Matériel et méthodes	24
1. Prospections et enquêtes	24
2. Échantillonnage	25
3. Identification moléculaire des populations	26
3.1. Extraction des larves.....	26
3.2. Extraction d'ADN.....	27
3.2.1. Protocole (1)	27
3.2.2. Protocole (2)	28
3.2.3. Protocole (3)	28
3.2.4. Protocole (4)	28

3.3. Amplification par PCR	29
3.3.1. Choix des amorces	29
3.3.2. Préparation des amorces	29
3.3.3. Réactions PCR	30
3.4. Électrophorèse	30
4. Traitement des données	31
III. Résultats	31
1. Prospections et enquêtes	31
2. Degré d'infestation	33
3. Identification moléculaire des populations	36
3.1. Extraction d'ADN	36
3.2. Amplification	36
4. Distribution	37
IV. Discussion	38
Chapitre III. Évaluation du potentiel nématocide des extraits de cinq plantes à l'égard des nématodes à galles.	
I. Introduction	40
II. Matériel et méthode	41
1. Matériel biologique utilisé	41
1.1. Matériel animal	41
1.1.1. Préparation d'inoculum	41
1.1.2. Élevage des nématodes <i>in-vivo</i>	42
1.2. Matériel végétal	42
1.2.1. Obtention des plants de tomate	42
1.2.2. Extraits des plantes	42
1.2.2.1. Choix des cinq plantes	42
1.2.2.2. Origine géographique et période de récolte des plantes étudiées	43
1.2.2.3. Préparation des extraits aqueux et organique	44
a. Rendement des extraits bruts	45
2. Évaluation du potentiel nématocide des extraits de plantes (aqueux et organique) de cinq espèces à l'égard de <i>M. incognita</i>	48
2.1. Test <i>in-vitro</i>	48
2.1.1. Test préliminaire et sélection des doses	48

2.1.2. Évaluation de l'effet nématocide des extraits de plantes sur la mortalité des juvéniles (J2s).....	48
2.1.3. Évaluation de l'effet nématocide des extraits de plantes sur l'éclosion des œufs...	49
2.2. Test <i>in-vivo</i>	50
2.2.1. Évaluation de l'effet nématocide des extraits de plantes sur les paramètres d'infestation des nématodes sur les plants de tomate	50
2.3. Calcul de la mortalité corrigée	50
2.4. Calcul de la DL ₅₀ et TL ₅₀	51
3. Traitement des données	51
III. Résultats	52
1. Rendement des extraits bruts	52
2. Effet du potentiel nématocide des extraits de plantes (aqueux et organique) de cinq espèces à l'égard de <i>Meloidogyne incognita</i>	53
2.1. Test <i>in-vitro</i>	53
2.1.1. Effet des extraits de plantes (aqueux et organiques) sur la mortalité des juvéniles (J2s) <i>M. incognita</i>	53
2.1.2. Effet des extraits de plante (aqueux et organiques) sur l'éclosion des œufs de <i>M. incognita</i>	58
2.2. Test <i>in-vivo</i>	60
2.2.1. Effet des extraits organiques de plantes sur le taux d'infestation des racines de tomate par <i>M. incognita</i>	60
IV. Discussion	64
Conclusion générale et perspectives	70
Références bibliographiques	72

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFLP : Amplified Fragment-Length Polymorphism

ANOVA : Analysis of variance

CL50 : Concentration Létale 50

DMSO : Diméthylsulfoxyde

E° : Est

Ed : Edition.

ENSA : Ecole nationale supérieur Agronomique

h : Heure

I.G. :Indice de galle.

IFAPA : Instituto de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria.

IMIDA : Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario.

Inst : Institut.

J1s : Juvéniles premier stade

J2s : Juvéniles second stade

J3s : Juvéniles troisième stade

J4s : Juvéniles quatrième stade

N° : Nord

P : Probabilité

pH : Potentiel hydrogène

PCR : Polymerase chain reaction

RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA

RFLP : *Restriction Fragment Length Polymorphism*

S : Sud

SCAR : Sequence Characterized Amplified Region

Tab : Tableau.

TL50 : Temps Létale 50

tr : Tour

US : Dollars américain

Var. : Variété

Liste des figures

Figure 1. Cycle de développement des nématodes à galle, 1 : Attraction des J2s par la racine, 2 : Pénétration du J2s, 3 : Juvénile rejoint leur site définitif, 4 : Création du site nourricier, 5 : Début de formation de galle et mue au stade J3 puis au J4, 6 : Galle contenant une femelle adulte pondant des œufs (Antipolis, 2009, Modifiée).....	7
Figure 2. Localisation des stations échantillonnées.....	24
Figure 3. Schéma illustratif de l'échelle de l'indice de galle (Zeck, 1971),.....	26
Figure 4. Aspect des racines de tomate avec différents degrés d'infestations de galles, I.G. : Indice de galles.....	34
Figure 5. Effet de différents facteurs (stations, types de sol, variétés, précédents culturaux et traitements chimiques) sur le degré d'infestation, AK : Ain elkahla, AT : Ain Taya, BK : Bordj el kiffan, H : Hraoua, SF : Sidi Fredj, St : Staoueli, Z : Zeralda.....	35
Figure 6. Visualisation des bandes d'ADN amplifié avec l'amorce 194/195 sur gel d'agarose.....	37
Figure 7. Étapes de préparation d'inoculum, A : Racine de tomate infestée, B : Fragments de racines dans un éclosoir, C : Incubation des œufs pour l'éclosion, D : Aspect des larves sous microscope optique (Gr. × 40).....	41
Figure 8. Schéma simplifié du procédé d'obtention des extraits aqueux et organique (Originale).....	46
Figure 9. Schéma simplifié des différentes étapes d'obtention des solutions mères aqueuse et organique (Originale).....	47
Figure 10. Dispositif expérimental, D: dose, T + : Témoin positif, T- : Témoin négatif, M : Moutarde des champs, H : Harmale, I : If commun.....	52
Figure 11. Effet de deux extraits aqueux (A) et organiques (O) de cinq plantes à différentes concentrations (A : 80, B : 60, C : 50, et D : 40 %) sur la mortalité des juvéniles de <i>Meloidogyne incognita</i> après 32 h. Tax : <i>T. baccata</i> , Peg : <i>P. harmala</i> , Sin : <i>S. arvensis</i> , Rap : <i>R. raphanistrum</i> , Ric : <i>R. communis</i> , EDS : eau distillée stérile et DMSO : diméthylsulfoxyde.....	55
Figure 12. Effet de deux extraits aqueux et organiques de chaque plantes à différentes concentrations (A: 80, B: 60, C: 50, et D: 40 %) sur la mortalité des juvéniles de	

Meloidogyne incognita en fonction du temps. Tax : *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin : *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*, EDS : eau distillée stérile et DMSO : diméthylsulfoxyde.....56

Figure 13. Dynamique de la mortalité des juvéniles traités par les extraits aqueux (A) et organiques (O) de cinq plantes à différentes concentrations (A : 80, B : 60, C : 50, et D : 40%) pendant les temps d'exposition. Tax: *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin : *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*.57

Figure 14. Droite de régression des probits aux différentes concentrations utilisées des extraits aqueux (A) et organique (O) de *S. arvensis* (Sin), *P. harmala* (peg), *T. baccata* (Tax), *R. communis* (Ric), et *R. raphanistrum* (Rap) sur des juvéniles de *Meloidogyne incognita* après 32 h de traitement.58

Figure 15. Effet des extraits ; aqueux (A) et organique (O) de cinq plantes à différents concentrations (A: 80, B: 60, C: 50 et D: 40 %) sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne incognita* après 12 jours d'incubation, Tax : *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin: *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*, EDS : eau distillée stérile et DMSO : Diméthylsulfoxyde.....59

Figure 16. Aspect des plantules de tomate traitées avec les trois extraits organiques de *T. baccata* (Tax), *P. harmala* (Peg) et *S. arvensis* (Sin) et inoculées préalablement avec les juvéniles de *M. incognita*, TI : témoin inoculé, TNI: témoin non inoculé.....63

Figure 17. Aspect des plantules de tomate traitées avec les trois extraits organiques de *T. baccata* (Tax), *P. harmala* (Peg) et *S. arvensis* (Sin) et inoculées préalablement avec les juvéniles de *M. incognita* montrant la relation dose (D)-vigueur (D1 : 3 ml, D2 : 1.5 ml, D3 : 0.75 ml).....64

Liste des tableaux

Tableau 1. Potentiel des extraits des végétaux à l'égard des nématodes à galles.	13
Tableau 2. Tableau comparatif des trois tampons de lyse.	29
Tableau 3. Séquences des amorces et le nombre de leurs paires de base.	30
Tableau 4. Données sur les stations échantillonnées.	32
Tableau 5. Programme de PCR établi dans le thermocycleur pour chaque amorce...	36
Tableau 6. La distribution des nématodes à galles et les populations des espèces tropicales (<i>M. incognita</i> , <i>M. arenaria</i>) dans le Littoral algérois.	38
Tableau 7. Origine géographique des cinq plantes étudiées et leurs familles botaniques	44
Tableau 8. Pourcentages des différents volumes de la solution mère dans le test de mortalité des juvéniles.	49
Tableau 9. Poids et rendements des extraits aqueux et organiques des plantes étudiées.	53
Tableau 10. Dose létale 50 (DL50) des extraits aqueux et organiques causant la mortalité des J2s de <i>Meloidogyne incognita</i> après 32 h de traitement.	58
Tableau 11. Effet des extraits organiques de <i>S. arvensis</i> , <i>P. harmala</i> et <i>T. baccata</i> appliqués dans le sol sur la reproduction de <i>M. incognita</i> et le poids sec des plantules de tomates sous-serre.	62

Introduction générale

Les nématodes sont des animaux multicellulaires du groupe des Ecdysozoaires, ils colonisent presque toutes les niches sur terre qui contiennent une certaine quantité d'eau, ces microparasites sont des animaux extrêmement abondants et diversifiés, la plupart des nématodes vivent en liberté et se nourrissent de bactéries, de champignons, de protozoaires et d'autres nématodes (40% des espèces décrites), beaucoup sont des zooparasites (invertébrés et vertébrés (44% des espèces décrites) et phytoparasites (15% des espèces décrites) (Lambert & Bekal, 2002).

Comme les nématodes phytoparasites sont petits et telluriques, il n'y a pas beaucoup de références anciennes sur eux. Une observation intéressante suggère que les nématodes phytoparasites étaient connus depuis l'Antiquité (235 av. J.-C.) parce qu'un ancien symbole chinois d'un organisme infestant les racines du soja ressemble à un nématode femelle adulte du soja (Noel, 1992). Les premiers nématodes parasites des plantes décrits ont été découverts dans des semences de blé par Needham (1743). L'identification des nématodes à galles sur concombre et les nématodes à kystes sur la betterave à sucre a été faite respectivement par Berkeley (1855) et Schacht (1859).

Les nématodes phytoparasites sont connus comme l'une des contraintes majeures de la production agricole mondiale, parmi eux, on trouve les nématodes à galles qui sont l'un des principaux ravageurs affectant un grand nombre de cultures (polyphages) et causent des pertes énormes aux produits récoltés (12,3 % des rendements mondiaux par an) (Khan et al., 2014 ; Singh et al., 2015), l'espèce *Meloidogyne incognita* est considérée d'être le pathogène agricole le plus nuisible au monde (Trudgill & Blok, 2001).

Le diagnostic précis des nématodes à galles est cruciale pour une lutte efficace, l'identification continue de poser un obstacle, même avec des méthodes d'identification fiables et courantes (Janssen et al., 2016). Traditionnellement, les chercheurs se sont appuyés sur la morphométrie, la partie périnéale et les tests différentiels d'hôtes, cependant, l'identification par ces méthodes est fortement entravée par la plasticité phénotypique et les similarités interspécifiques et elle prend du temps et nécessite un travail important (Devran, & Söğüt, 2009 ; Hunt & Handoo, 2009).

L'analyse des isoenzymes est aussi une méthode d'identification efficace qui peut être effectuée sur des femelles de *Meloidogyne* spp. (Esbenshade et Triantaphyllou, 1990).

Toutefois, l'application de cette méthode uniquement sur des individus de sexe féminin est un facteur limité, difficile et susceptible d'être affecté par des facteurs environnementaux.

Cependant, les techniques moléculaires basées sur l'ADN peuvent être utilisées à chaque étape du cycle de vie du nématode, et elles sont rapides et fiables (Devran, & Söğüt, 2009).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour lutter contre les nématodes phytoparasites, la plus courante est l'utilisation de nématicides synthétiques (chimiques) et des fumigants car ils sont efficaces et rapides à mettre en œuvre (Odeyemi et al., 2013). Toutefois, plusieurs fumigants et nématicides chimiques ont été retirés du marché au cours des dernières décennies, telle que le méthyle de bromure (Giannakou et al., 2004 ; Rich et al., 2004).

Les fumigants et nématicides chimiques ont des effets dévastateurs sur l'environnement et sur la santé humaine (Soltani et al., 2013), la présence de résidus de ces produits chimiques toxiques dans l'alimentation et leur accumulation conséquente dans la graisse sous-cutanée humaine pourrait entraîner des effets néfastes sur la santé, y compris la mort (Elbadri et al., 2008).

En plus de ces inconvénients, leur coût est très élevé, 1 milliard de dollars US par an dont 48 % du coût global est dédié aux nématicides des nématodes à galles (Perry & Moens, 2006).

La préoccupation concernant la sécurité de l'environnement et la santé humaine a nécessité une réduction de la quantité de nématicides utilisée et l'interdiction de beaucoup d'entre eux a exigé des méthodes alternatives non chimiques (Giannakou et al., 2004 ; Rich et al., 2004 ; Adegbite & Adesiyun, 2005 ; Odeyemi et al., 2013).

Plusieurs méthodes de contrôle ont été testées comme solutions alternatives possibles qui respectent les écosystèmes (Giannakou et al., 2004). Parmi ces alternatives, on trouve les pratiques culturales et la lutte biologique. La première consiste dans les rotations, les amendements organiques et les variétés résistantes, la seconde consiste dans la lutte par les micro-organismes, les bio-fumigants et les extraits végétaux (Hague & Gowen, 1987 ; McSorley et al., 1998 ; Oka et al., 2007 ; Radwan et al., 2012 ; Kim, 2016 ; Meadows et al., 2018).

La lutte biologique par les extraits végétaux constitue une alternative prometteuse à utiliser en agriculture durable (Chitwood, 2002 ; Singh, 2015 ; Kepenekçi et *al.*, 2016).

Plusieurs extraits végétaux ont montré leur efficacité à l'égard des nématodes à galles (Oka et *al.*, 2000 ; Adegbite & Adesiyan, 2005 ; Natarajan et *al.*, 2006 ; Curto et *al.*, 2015 ; Mayad et *al.*, 2013 ; Xia et *al.*, 2019). Ces derniers présentent moins de risques pour les humains et les animaux que leurs ancêtres synthétiques, ils ont un mode d'action sélectif, sont écologiques, évitent l'émergence de races résistantes d'espèces nuisibles, sont faciles à appliquer et sont économique (Isman, 2006 ; Sultana et *al.*, 2010 ; Singh, 2015), Ils sont biodégradable car ils sont facilement transformés par la lumière, l'oxygène et les micro-organismes en produits moins toxiques (Wiratno et *al.*, 2009; Singh, 2015). Plusieurs études ont montré le potentiel nématocide des extraits des végétaux (Bawa et *al.*, 2014 ; Chaudhary et *al.*, 2013 ; Kepenekci et *al.*, 2016).

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de notre travail, qui vise les points suivants :

- Prospections et enquête sur les nématodes à galles sur la culture de tomate dans le Littoral algérois.
- Échantillonnage des racines infestées par les nématodes à galles dans les régions prospectées.
- Estimation de l'indice de galles des racines échantillonnées.
- Extraction des juvéniles à partir des masses d'œufs des racines infestées.
- Identification moléculaire des populations de nématode à galles.
- Réalisation d'un élevage de *Meloidogyne incognita*.
- Sélection de cinq plantes connues pour leurs activités biologiques (*Taxus baccata*, *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*).
- Préparation des extraits (aqueux et organiques) de plantes.
- Analyse biochimique des extraits de plantes.
- Évaluation du potentiel nématocide des extraits de plantes (*in-vitro* et *in-vivo*) à l'égard des nématodes à galles.

Pour répondre à ces objectifs, ce travail est subdivisé en introduction générale, trois chapitres : le premier concerne une synthèse bibliographique présentant les données les plus récentes relatives au sujet ; trois volets ont été développés dans cette partie, à savoir ; des données sur les nématodes à galles, sur la lutte biologique contre

les nématodes à galles et sur les plantes étudiées. Le deuxième chapitre, porte sur la distribution et l'identification des nématodes à galles dans le Littoral algérois. Le troisième et dernier porte sur l'évaluation du potentiel nématicide des extraits de plantes (*Taxus baccata*, *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*) à l'égard de *Meloidogyne incognita*. Les deux derniers chapitres sont structurés comme suit: petite introduction, matériel utilisé et les méthodes suivies et les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale récapitule l'essentiel des résultats et les perspectives pour les recherches futures.

1. Nématodes phytoparasites

La plupart des nématodes phytoparasites sont des pathogènes racinaires transmis par le sol, mais quelques espèces se nourrissent principalement des parties aériennes. La majorité des espèces de nématodes phytoparasites appartiennent à la classe Chromodorea, ordre Rhabditida (autrefois placé dans l'ordre Tylenchida), les nématodes phytoparasites utilisent sept stratégies d'alimentation ; Ectoparasites, Semi-endoparasites, endoparasites migrants, endoparasites sédentaires, nématodes à galle des graines et nématodes foliaires (Lambert & Bekal. 2002).

1.1. Nématodes à galles

Les nématodes à galle (genre : *Meloidogyne*, mot grec signifiant femelle en forme de pomme) sont des endoparasites sédentaires de diverses cultures, ce sont de petits organismes semblables à des vers, transmis par le sol, qui infectent de nombreuses plantes agricoles et horticoles. Les nématodes à galles sont présents dans le monde entier et portent le nom des gonflements qu'ils provoquent dans les racines des plantes (appelés "galles" ou "nœuds"). Ils se nourrissent des plantes en causant des modifications typiques au niveau des cellules hôtes (transfert de la cellule hôte en cellule géantes) et ils établissent des relations parasitaires pour leur développement et leur reproduction (Khan et al., 2014).

1.1.1. *Meloidogyne incognita*

Meloidogyne incognita sont les plus importants des nématodes parasites des plantes infectant presque toutes les plantes cultivées, Il s'agit d'endoparasites sédentaires obligatoires dont le cycle de vie est de 1 à 2 mois (Abad et al., 2008).

1.1.1.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (Kofoid & White, 1919) :

Règne : Animalia

Embranchement : Nematoda

Classe : Secernentea

Sous-classe : Diplogasterida

Ordre : Tylenchida

Famille : Heteroderidae

Genre : *Meloidogyne*

Espèce : *Meloidogyne incognita*

1.1.1.2. Morphologie

Les nématodes sont des animaux, contenant souvent 1000 cellules au moins. Les mâles sont vermiformes et mesurent entre 1100 et 2000 μm de longueur. Ils ont des lèvres distinctes, des stylets très développés et souvent des spicules visibles pour l'accouplement et une queue arrondie émoussée, les femelles sont globulaires et sédentaires à maturité, leur longueur varie entre 400 et 1000 μm (Mitkowski *et al.*, 2003). Ils ont une cuticule externe qui est sécrétée par un hypoderme interne. Les muscles sont attachés longitudinalement à l'hypoderme, ce qui leur permet de se déplacer uniquement dans la direction dorso-ventrale (mouvement d'un serpent), le canal alimentaire s'étend de la tête jusqu'à la queue. Entre le canal alimentaire et la paroi du corps se trouve un fluide qui exerce une pression contre la paroi pour maintenir la forme du corps et permettre le mouvement. À la tête se trouve une lance à bouche creuse (comme une aiguille hypodermique) appelée stylet. Le nématode utilise ce stylet pour piquer les cellules de la plante, aspirer la nourriture et aussi pour sécréter des protéines et des métabolites qui l'aident à parasiter la plante. Le stylet est relié au pharynx qui est lui-même relié à l'intestin. L'intestin se termine par un rectum chez le nématode femelle et au cloaque chez le mâle. Attachées au pharynx, trois à cinq glandes salivaires produisent des sécrétions qui peuvent être émises par le stylet et qui lui permettent d'envahir les plantes et combattre le parasitisme (Lambert & Bekal, 2002).

1.1.1.3. Cycle de vie

Les nématodes à galles subissent quatre stades juvéniles passant d'un stade à l'autre par un processus de "mue" semblable à celui des insectes, la vie des nématodes à galles commence par l'éclosion des œufs qui se transforment rapidement en nématodes J2s (juvéniles au deuxième stade) (**Figure 1**). Le stade J1s se passe entièrement à l'intérieur de l'enveloppe translucide de l'œuf, où il mue en nématode J2s. Au stade J2s, les nématodes sont d'apparence filiformes, ils commencent à bouger et recherchent activement les extrémités des racines pour les envahir, c'est le seul stade où peut se déclencher des infections. Les J2s s'attaquent aux extrémités des racines en croissance d'une plante hôte sensible et y pénètrent (intercellulaires), derrière la coiffe de la racine, ils se déplacent vers la zone d'élongation cellulaire où ils établissent un site d'alimentation (fait d'un groupe de cellules appelées "cellules géantes") en y injectant les sécrétions des glandes œsophagiennes, Ces sécrétions de nématodes provoquent des changements physiologiques spectaculaires dans les cellules parasitées et les transforment en cellules géantes (Rahman, 2003; Mitkowski *et al.*, 2003; Gharabadiyan *et al.*, 2013; Meadows *et al.*, 2018).

Une fois que les femelles ont établi un site d'alimentation, elles y restent en permanence. Les cellules parasitées deviennent rapidement multi-nucléées (elles contiennent de nombreux noyaux) car la division nucléaire se produit en l'absence de formation de paroi cellulaire. Ce processus est considéré comme "découplé" de la division cellulaire. En fait, les cellules ne se divisent jamais en nouvelles cellules ; elles deviennent simplement plus grandes et contiennent plus de matières nucléaires. Cela permet à la cellule géante de produire de grandes quantités de protéines que le nématode ingérera ensuite. Le nématode à galles ne se nourrit pas directement des cellules, il forme un tube d'alimentation (à partir des sécrétions des cellules de la glande œsophagienne) dans le cytoplasme des cellules végétales, qui agit comme un tamis pour filtrer le cytosol. Les cellules racinaires voisines des cellules géantes grandissent et se divisent rapidement, probablement en raison de la diffusion du régulateur de croissance des plantes, ce qui entraîne la formation de galle. Au fur et à mesure que le nématode grandit, il devient femelle adulte globulaire ou mâle adulte vermiforme c'est le stade J4s. La femelle rapproche sa région postérieure de l'épiderme de la racine pour le briser et déposer ses œufs en une masse gélatineuse de couleur blanc nacré à l'extérieur de la racine (Un seul nématode femelle peut produire de 500 à 1000 œufs) (**Figure 1**). Si le nématode meurt, les cellules géantes dont il se nourrit mourront aussi (Mitkowski & Abawi, 2003).

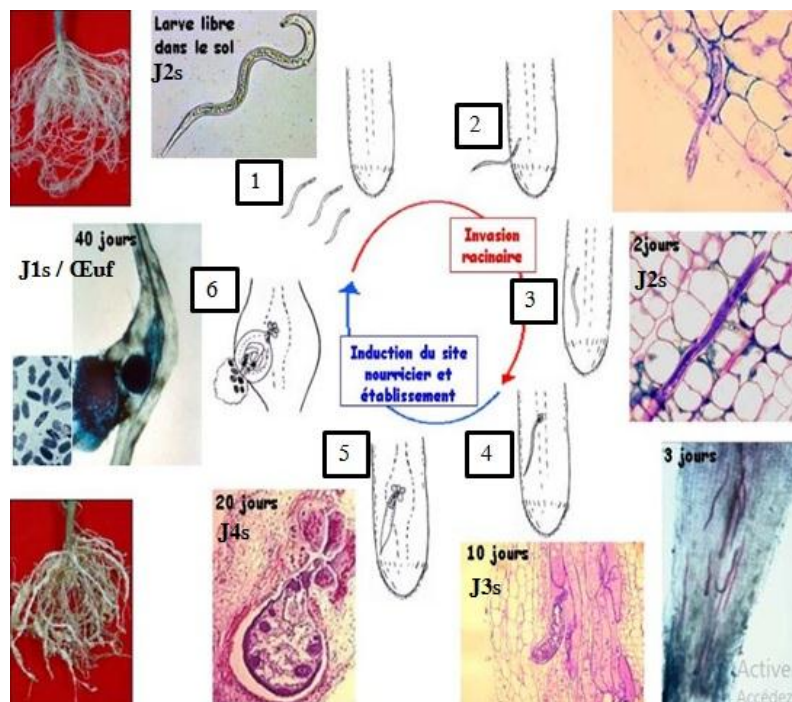


Figure 1. Cycle de développement des nématodes à galle, 1 : Attraction des J2s par la racine, 2 : Pénétration du J2s, 3 : Juvénile rejoint leur site définitif, 4 : Création du site nourricier, 5 : Début de formation de galle et mue au stade J3 puis au J4, 6 : Galle contenant une femelle adulte pondant des œufs (Antipolis, 2009, Modifiée).

1.1.1.4. Gamme d'hôtes

Les *Meloidogynes* ont un large éventail de plantes hôtes, y compris les monocotylédones, les dicotylédones, les plantes herbacées et ligneuses (Sirca et al., 2004). Ils parasitent plus de 5500 espèces (Blok et al., 2008). Les *Meloidogynes* sont des agents pathogènes de la plupart des cultures maraîchères (*Solanum lycopersicum* L., *Beta vulgaris* subsp. *Vulgaris* L., *Daucus carota* subsp. *Sativus* (Hoffm), *Pisum sativum* L., *lactuca sativa* L., *Solanum tuberosum* L., *Capsicum annuum* L., *Cucumis sativus* L., *Cucurbita maxima* Duchesne, *Raphanus sativus* L., *Solanum melongena* L., *Cucumis melo* L., *Cichorium endivia* L., *Phaseolus vulgaris* L.), les arbres fruitiers à noyau, la vigne, les céréales et le tabac (Djian-Caporalino et al., 2009 ; Rahman, 2013 ; Soltani et al., 2013 ; Salim et al., 2016 ; Meadows et al., 2018).

1.1.1.5. Symptomatologie

Les nématodes à galles induisent des symptômes typiques, communément appelé "nœud racinaire" ou "galle des racines", de tailles variables selon la densité de population, l'espèce de nématode à galle, la race, l'hôte et le cultivar. Les symptômes caractéristiques produits sur l'hôte lui donnent l'identité du nématode en tant que "nématode à galle", la gravité de la galle ou du nœud sur le système racinaire peut être facilement déterminée en tirant une plante ou en creusant autour de la racine. Les symptômes sur la partie aérienne ne sont pas spécifiques, ils peuvent être reconnus comme suit ; manque de vigueur, croissance rabougrie, jaunissement des feuilles et flétrissement sous l'effet du stress hydrique (Mitkowski & Abawi, 2003 ; Khan et al., 2014).

1.1.1.6. Espèces du genre *Meloidogyne* spp. et leur distribution

Environ 100 espèces de *Meloidogyne* ont été décrites, les espèces les plus répandues et les plus néfastes sont *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. minor*, *M. enterolobii*, *M. exigua* et *M. paranaensis* (Elling, 2013). Ils sont répartis dans le monde entier dans différentes conditions géographiques : dans les régions tropicales, les régions subtropicales et les régions tempérées (Khan et al., 2014). Ils sont présent dans tous les continents ; l'Amérique du nord et du sud, l'Europe, L'Afrique, l'Asie et l'Australie, la région la plus infestée dans le monde est la région qui s'étend entre les latitudes 35 N° et 35 S° (Taylor & Sasser, 1978).

En Algérie, la distribution des nématodes *Meloidogyne* affecte les zones de forte productivité des cultures maraîchères (Alger, Constantine, Biskra, Ouargla, Adrar...) avec une incidence de 60 à 80% (Sellami et al., 1999 ; Babaali et al., 2016).

1.1.1.7. Dégâts et impact économique des *Meloidogynes*

Les nématodes parasites des plantes sont les principaux ravageurs des cultures agricoles (Abbasi et *al.*, 2008). Les nématodes à galles peuvent affecter la qualité du rendement et causer des pertes allant de 24,5 jusqu'à 50 % (Taylor & Sasser, 1978 ; Abbasi et *al.*, 2008). Ces pertes sont dues à la diminution de la partie aérienne (feuilles, fleurs et fruits) résultant de la réduction des racines qui ont pour rôle l'alimentation minérale, la diminution de la partie aérienne se présente souvent par des plages dans un champ (De Guiran & Netscher, 1970 ; Orenge et *al.*, 2018). Elles ont un impact à la fois sur la qualité et la quantité des rendements commercialisables. Outre les pertes directes des attaques des nématodes, de nombreuses pertes indirectes dues à la perte d'eau d'irrigation et les engrais peuvent se produire car les racines endommagées n'utilisent pas l'eau et les engrais aussi efficacement que les racines saines (Mai, 1985).

Les dégâts sont très importants dans les régions méditerranéennes (Espagne, Afrique du nord, Sud de la France...) où les conditions optimales de leur développement sont réunies: températures élevées et successions de plantes sensibles (Castagnone-Sereno & Djian-Caporalino, 2011).

Les dégâts dus aux *Meloidogynes* sont difficilement chiffrables en raison de nombreuses interactions les liant à d'autres pathogènes fongiques ou bactériens (*Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, etc) favorisés par les lésions induites par l'entrée des nématodes (Orenge et *al.*, 2018).

Singh, et *al.* (2015) ont estimé les dommages causés par les nématodes phytoparasites à 157 milliards de dollars par an dans le monde.

2. la lutte à l'égard des nématodes

La lutte contre les nématodes a été exclusivement basée sur l'emploi de nématicides chimiques, à l'aide de spécialités peu spécifiques qui conduisaient à une désinfection des couches superficielles du sol. Cependant, on assiste aujourd'hui à une réduction drastique de l'usage des pesticides suite à l'interdiction progressive de la plupart des matières actives, en raison de contraintes réglementaires et environnementales (Cayrol *et al.*, 1992), diverses stratégies alternatives de lutte contre les nématodes à galles peuvent être envisagées, parmi lesquelles; les méthodes physiques (désinfection à la vapeur, solarisation), l'utilisation des biopesticides d'origine microbiens (champignons nématophages, bactéries parasites et mycorhizes), ou d'origine végétal (plantes nématicides) et les pratiques culturales (variétés résistantes et rotation). Ces méthodes sont encore expérimentales, voire utilisées en pratique (à une échelle limitée) pour certaines d'entre elles, mais toutes font preuve d'une efficacité variable (Castagnone-Sereno & Djian-Caporalino, 2011 ; Chaudhary *et al.*, 2013).

2.1. Lutte biologique à l'égard des nématodes

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).

2.1.1. Biopesticides

Les pesticides naturels sont connus depuis des siècles par leur capacité à lutter contre les parasites. Ils ont généralement été découverts par hasard (Abdalla Elbadri *et al.*, 2008). Ils ont été classés comme des produits naturels d'origine végétale, microbienne (activité pesticide) ou des micro-organismes vivants (capables de contrôler les agents pathogènes et les parasites des plantes) (Rousidou *et al.*, 2013).

Selon Copping & Menn (2000), Les biopesticides englobent de nombreux produits de lutte contre les parasites:

- Organismes microbiens (viraux, bactériens et fongiques)
- Nématodes entomophages
- Pesticides d'origine végétale
- Métabolites secondaires de micro-organismes
- Phéromones d'insectes appliquées pour la perturbation de l'accouplement, des stratégies de surveillance ou d'attrait et d'élimination
- Gènes utilisés pour transformer les cultures afin d'exprimer la résistance aux attaques d'insectes, de champignons et de virus ou pour les rendre tolérant l'application d'herbicides

2.1.1.1. Bio-nématicides

Divers stratégies ont été largement utilisées au fil des années pour gérer les nématodes, l'utilisation de bio-pesticides pour la lutte contre ces derniers est la méthode la plus efficace et la plus respectueuse de l'environnement. Ainsi, l'utilisation de bio-produits dans la lutte intégrée contre les nématodes est désormais acceptée comme une alternative écologique saine (Raza et *al.*, 2014).

Les bio-pesticides sont considérés comme des composés à faible risque (Rousidou et *al.*, 2013).

a. Plantes nématocides

Plus de 200 espèces de plantes sont signalées pour leurs propriétés nématocides, les substances actives peuvent être exsudées au niveau racinaire et agir soit en inhibant la pénétration des juvéniles dans les racines; effet répulsif (sésame, *Sesamum indicum* L.), soit en inhibant l'éclosion des œufs; effet ovicide (graminée pleureuses, *Eragrostis curvula* Schrad.), soit en empoisonnant les larves des nématodes; effet larvicide (pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus* L.) (Djian-Caporalino et *al.*, 2008).

a.1. Amendements organiques et tourteaux (bio-fumigation)

La bio-fumigation est définie comme l'action des substances volatiles produites lors de la biodégradation de la matière organique, en tant que fumigants dans la lutte contre les agents pathogènes des plantes. Les bio-fumigants sont des stimulants de la biologie du sol, ils agissent en outre comme une biorestauration du sol. La bio-fumigation a été utilisée dans la lutte contre les champignons, les insectes, les nématodes et les adventices, étant également capable de réguler les problèmes bactériens, avec une efficacité similaire à celle des pesticides conventionnels. Il est prouvé qu'une grande variété de matières organiques ont un effet de bio-fumigation, les effluents d'élevage, les engrais verts et les résidus des agro-industries, leur efficacité dépendant uniquement des doses et de la méthodologie à appliquer (Bello et *al.*, 1999). L'utilisation de sources rentables de différents bio-fumigants pour stabiliser la production agricole dans les sols infestés de nématodes est une méthode de plus en plus souhaitable à l'heure actuelle. La bio-fumigation fait référence à la suppression des nématodes présents dans le sol par des composés biocides (Behera et *al.*, 2020).

L'apport de tourteaux végétaux de neem et de ricin sur plusieurs années peut avoir une action cumulative intéressante sur la diminution de l'indice de galles (Djian-Caporalino et *al.*, 2009).

Les tourteaux des brassicacées sont considérés comme engrais vert biocide, Il contribue à la limitation de l'infection causée par les nématodes (Lazzeri et al., 2009).

a.2. Extraits des végétaux (biopesticides)

L'utilisation d'extraits de plantes est l'une des méthodes de lutte contre les nématodes (Sultana et al., 2010). De nombreuses espèces de plantes sont connues pour être très résistantes aux nématodes parasites des plantes. Ces espèces végétales appartiennent à plusieurs familles botaniques dont les *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Lauraceae*... Elles contiennent des molécules nématicides (Sukul, 1992 ; Andrés et al., 2012). Des exemples bien documentés de ces espèces ; les soucis (*Tagetes* spp.), le croton (*Crotalaria spectabilis*), les chrysanthèmes (*Chrysanthemum* spp.), l'ail (*Allium sativum*), la cannelle (*Cinnamomum verum*) et le margousier (*Azadirachta indica*) (Duke, 1990 ; Park et al., 2005).

2.2. Commercialisation des biopesticides (bio-nématicides)

Les pesticides biologiques sont devenus une importante composante de la lutte antiparasitaire respectueuse de l'environnement (Glare et al., 2012), les biopesticides représentaient 3,5 % (1,6 milliard de dollars) du marché mondial des pesticides en 2009 (Lehr, 2010). Le marché américain des bionématicides est évalué à plus de 42 millions de dollars en 2015 (800 000 de dollars pour la culture du coton) (Pulidindi & Pandey, 2016).

L'usage des bio-nématicides du marché mondial des biopesticides ne représente que 3%. (Rollin, 2012). Plusieurs bio-nématicides avec différentes matières actives ont été commercialisés dans différents pays tel que: Nematode Control (Geraniol: huile de geranium), Majestene (Heat-killed *Burkholderia*).

2.3. Potentiel des extraits des végétaux à l'égard des nématodes à galles

Plusieurs extraits végétaux issus de différentes parties de plantes ont été étudiés pour leur potentiel nématicide, et ont montré une grande efficacité à l'égard des larves et des œufs (**Tableau 1**).

Tableau 1. Potentiel des extraits des végétaux à l'égard des nématodes à galles.

Noms scientifiques	Familles botaniques	Types d'extrait	Parties de plantes	Références
<i>Chromolaena odorata</i> L.	Asteraceae	Aqueux	Racines	Adegbite & Adesiyan, 2005
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Meliaceae	Aqueux	Racines	Adegbite & Adesiyan, 2005
<i>Datura stramonium</i> L.	Solanaceae	Aqueux et organiques	Feuilles, racines et grains	Babaali <i>et al.</i> , 2017
<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae	Organique	Rhizome	Bawa <i>et al.</i> , 2014
<i>Parkia biglobosa</i> Jacq.	Mimosaceae	Organique	Graines	Bawa <i>et al.</i> , 2014
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	Asteraceae	Organique	Rhizomes	Costa <i>et al.</i> , 2003
<i>Melia azedarah</i> L.	Margousier	Organique	Feuilles	Kepenekci <i>et al.</i> , 2016
<i>Xanthium strumarium</i> L.	Asteraceae	Organique	Feuilles	Kepenekci <i>et al.</i> , 2016
<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl	Lauraceae	Aqueux	Feuilles	Salim <i>et al.</i> , 2016
<i>Allium sativum</i> L.	Liliaceae	Aqueux	Feuilles	Salim <i>et al.</i> , 2016
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae	Organique	Feuilles	Wiratno <i>et al.</i> , 2009
<i>Syzygium aromaticum</i> L.	Myrtaceae	Organique	Bourgeon	Wiratno <i>et al.</i> , 2009
<i>Acacia nilotica</i> L.	Fabaceae	Oraganique	Gousses	Elbadri <i>et al.</i> , 2008
<i>Chenopodium album</i> L.	Amaranthaceae	Oraganique	Feuilles	Elbadri <i>et al.</i> , 2008
<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle	Rutaceae	Aqueux	Feuilles	Singh <i>et al.</i> , 2015
<i>Bidens pilosa</i> L.	Asteraceae	Aqueux et Oraganique	Feuilles	Chaudhary <i>et al.</i> , 2013
<i>Heliotropium indicum</i> L.	Boraginaceae	Aqueux	Feuilles	Chaudhary <i>et al.</i> , 2013

3. Plantes étudiées

3.1. *Sinapis arvensis* L.

La famille des Brassicaceae comprend environ 350 genres et plus de 3000 espèces, elle englobe de nombreuses espèces de grande importance agronomique appartenant aux genres : *Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis* et *Armoracia* (Hasterok et *al.*, 2006).

3.1.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (Doucet, 2013):

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Dicotylédones

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Capparales

Famille : Brassicaceae

Genre : *Sinapis*

Espèce : *Sinapis arvensis*

L.

3.1.2. Description botanique et biologique

La moutarde des champs (*Sinapis arvensis* = *Brassica kaber*), *Brassica* est le nom latin du chou et *Sinapis* qui veut dire moutarde. Les tiges de la moutarde des champs sont dressées (20 à 90 cm), simples ou le plus souvent ramifiées dans la partie supérieure. Au bas des tiges, les poils sont dressés et relativement rigides, parfois, ces poils recouvrent les tiges sur toute leur longueur sinon la partie supérieure reste glabre. Les tiges sont verdâtres, parfois pourprées, surtout aux points d'attache des tiges secondaires sur les tiges principales. Les cotylédons sont larges et réniformes. Au stade 5 feuilles, la plantule présente des feuilles nettement plus longues que larges, peu garnies de poils et non lyrées. La première feuille de la plantule n'est pas caractéristique. Les feuilles sont alternes, quelque peu pubescentes notamment sur les nervures de la face inférieure. Les feuilles basilaires sont pétiolées et lyrées, tandis que les feuilles caulinaires sont sessiles, généralement non lobées, mais grossièrement dentées. Les fleurs (1,5 cm) nombreuses, à quatre pétales et quatre sépales, jaune brillant, se regroupent au bout des tiges en grappes lâches. Les fleurs et les fruits

coexistent très souvent sur le même plant. Les fleurs apparaissent à la fin mai et la floraison se poursuit tout l'été (Doucet, 2013).

3.1.3. Caractères écologiques

La moutarde est une adventice, originaire de l'Eurasie, elle est largement répandue et naturalisée dans toutes les zones tempérées du monde, Elle pousse principalement dans les habitats à forte intensité lumineuse. Elle infeste les grandes cultures, les oasis, les jachères, les jardins, les vergers, les clairières, elle existe aussi sur les rives des rivières, sur les rivages, le long des routes et les chemins de fer (Warwick *et al.*, 2000).

3.1.4. Répartition géographique

La moutarde des champs est répartie dans la plupart des régions tempérées du monde: l'Europe (sauf le nord de la Scandinavie), L'Islande, les îles Féroé, la Sibérie, Asie mineure. Asie du Sud-Ouest jusqu'au Himalaya, Afrique du Nord (à l'exclusion du Sahara), Madère et les îles Canaries (Fogg, 1950). Elle a été récemment introduite accidentellement en Amérique du Nord et du Sud, en Afrique du Sud, en Australie et en Nouvelle-Zélande (Mulligan & Bailey, 1975).

3.1.5. Composition biochimique

Les plantes médicinales et aromatiques ont joué un rôle critique lorsqu'elles ont été utilisées comme agents thérapeutiques pendant longtemps, Trente composés phytochimiques bioactifs ont été identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Sinapis arvensis* : Erythritol, Nitro-2-propanol, Cyclopentaneméthylamine, 2-isopropylidène-N,N,5-triméthyle, Furfural, 3-(1,3-Dihydroxyisopropyl)-1,5,8,11-tétraoxacyclotridecane, 3-azabutyl-1-ol, Bromure de 4-cyclopropyl-3,3-diméthyle, 1-butène, 4-isothiocyanato-, 2,4-difluorobenzène, 1-benzyloxy, acide eicosanoïque, ester phénylméthyle, α -D-Glucopyranoside, O- α -D-glucopyranosyl-(1. fvdarw.3)- β -, Trigonelline, 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-méthyl, Estragole, Pentanenitrile, 5-(methylthio)-, 5-Hydroxyméthylfurfural, Eugénol, Maltose, 2H-Thiopyran-3,5-diol, tétrahydro-4-nitro-, monoacétate (ester), Tétracétyl-d-xylonic nitrile, 3,6-Diazahomoadamantan-9-one Hydrazone, 9,10-Sécocholesta-5,7,10(19)-triène-3,24,25-triol, (3 β ,5Z,7E)-, 13-Heptadécyn-1-ol, Acétylcitrate de tributyle, E)-13-Acide docosénoïque, Acide phtalique, Ester décyclique d'oct-3-yle, γ -

Tocophérol , Désoxo-9x-hydroxy-7-cétoacétate de 3,8,9,12-tétraacétate de désoxo-9x-hydroxyle , Campesterol , γ -Sitostérol (Al-Rubaye et *al.*, 2017).

3.2. *Raphanus raphanistrum* L.

3.2.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (Doucet, 2013) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Dicotylédones

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Brzssicales

Famille : Brassicaceae

Genre : *Raphanus*

Espèce: *Raphanus raphanistrum*

L.

3.2.2. Description botanique et biologique

Le radis sauvage est une adventice agricole, annuelle qui développe une racine pivotante grêle; elle est parfois hivernante à l'état juvénile. Elle peut atteindre de 30 à 90 cm de hauteur, elle présente des poils courts et grossiers surtout à la base des tiges.

Les cotylédons de la plantule du radis sauvage sont semblables à ceux de la moutarde des champs et de la moutarde des oiseaux, sauf que les pétioles sont plus longs. Les feuilles du radis sauvage aux 3 feuilles sont déjà lyrées, la plantule de radis sauvage à la hauteur du collet dégage l'odeur caractérisant du radis cultivé. Les feuilles sont alternes et rude au toucher, et peuvent atteindre 7 à 8 cm de longueur, les feuilles de la base tiges sont lyrées, les autres au milieu et au haut des tiges étant étroites, souvent lobées, sessiles et parfois entières. Les fleurs sont petites (2,5 à 3 cm), nombreuses et arrangées en petites grappes peu denses au sommet des tiges (Doucet, 2013).

3.2.3. Caractères écologiques

R. raphanistrum pousse principalement dans des habitats où la lumière est très intense et les précipitations suffisantes, il est présent sur tous les types de sol mais il préfère les sols sableux acides (Warwick & Francis, 2005).

3.2.4. Répartition géographique

La ravenelle est répartit dans le sud d'Europe et la région du circum-méditerranéenne (Scott et *al.*, 2002).

3.2.5. Composition chimique

Il y a un manque d'informations sur les composants biochimiques de cet espèce, les données existantes se référant uniquement aux glucosinolates (Maldini et al., 2017).

Cinq glucosinolates (glucoerucine, glucotropaeolin, glucoraphenin, glucobrassicin, et gluconasturine) sont présents dans les parties de ravenelle allant du stade cotylédonnaire au stade de la floraison. La concentration la plus élevée de glucosinolates totaux était présente au stade de la floraison. La glucoraphénine et la glucoérucine sont les glucosinolates prédominants. Les glucosinolates s'hydrolysent pour former des isothiocyanates (Mayank, 2009).

3.3. *Taxus baccata* L.

Taxus est un genre d'environ de sept espèces étroitement liées, dispersées dans la région tempérée du nord (Thomas & Polwart, 2003).

3.3.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (Martin & Thiébaud, 2010) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Pinophyta

Classe : Pinopsida

Ordre : Taxales

Famille : Taxaceae

Genre : *Taxus*

Espèce : *Taxus baccata* L.

3.3.2. Description botanique et biologique

If est un arbre gymnosperme à feuilles persistantes pouvant atteindre 20 m, souvent avec des troncs multiples et une canopée étalée, arrondie ou pyramidale, capable de produire des branches feuillues à partir de vieilles branches et de vieux troncs. Système racinaire peu profond avec des racines horizontales. Écorce brun-rougeâtre, mince, écailleuse. Les feuilles sont attachées en spirale mais sur les rameaux latéraux plus ou moins torsadés en deux rangs, peuvent vivre jusqu'à 8 ans, elles sont vert foncé brillant sur la face supérieure, pâles et jaunâtres sur la face inférieure, structure de reproduction verte, portée à l'aisselle des feuilles ; parties mâles en petits cônes structures femelles solitaires ou par paires (ne formant pas de cônes), elle est constituées de plusieurs écailles imbriquées, la plus fertile, portant un seul ovule. Graine ovoïde, lisse et brillante, jaune brun, le fruit mûrissent la première année (Thomas & Polwart, 2003).

3.3.3. Caractères écologiques

Taxus baccata est une espèce tolérante au stress, il a une croissance lente et une longue durée de vie (> 1000 ans), tolérant à l'ombre mais il peut résister au plein soleil, il peut pousser sur une large gamme de sol mais il préfère les substrats calcaires. Il forme des peuplements denses dans les climats océaniques, mais devient de plus en plus un arbre de sous-bois dans les climats continentaux. *T. baccata* ne pousse qu'aux altitudes assez basses (Thomas & Polwart, 2003).

3.3.4. Répartition géographique

La répartition naturelle de l'if commun est brouillée par la plantation extensive de ce dernier en particulier dans les cimetières et il est pratiquement impossible de séparer les registres des autochtones et des étrangers. *Taxus baccata* s'étend vers le nord jusqu'à c 63 ° N (Norvège et Suède), vers l'est jusqu'à l'Estonie, la Pologne, vers la mer Caspienne et la Turquie, et vers le sud de la Grèce (y compris les îles de Eubée), il croit à basse altitude, jusqu'à 500 m environ ; en Angleterre, en Irlande, en Bretagne, en Europe centrale et en Scandinavie, tandis que plus au sud, c'est une espèce montagnarde que l'on retrouve jusqu'à 1600 m d'altitude, l'if s'épanouit sous un climat océanique humide et frais, d'où sa présence en Europe de l'ouest. Il ne supporte pas les hivers trop longs et rigoureux, ni une sécheresse prolongée. Il est souvent absent des régions à climat plus continental. (Martin & Thiébault, 2010).

3.3.5. Composition biochimique

L'if commun est connu par sa contenance d'alcaloïde diterpènes ; taxol (taxane) et taxine (taxine A et B), ces derniers existent dans toutes les parties de la plante à l'exception de l'aril (Iszkuło et *al.*, 2013; Sarmadia et *al.*, 2018 ; Siegle & Pietsch, 2018 ; Wilson & Hooser, 2018).

3.4. *Peganum harmala* L.

La famille des Zygophyllaceae comprend environ 22 genres et plus de 250 espèces (Asgarpanah & Ramezanloo, 2012).

3.4.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (khalik, 2012) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Superdivision : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Peganum*

Espèce : *Peganum harmala*

L.

3.4.2. Description botanique et biologique

Peganum harmala est une plante herbacée pérenne et glabre, qui peut atteindre 30 à 100 cm, Elle possède des tiges très ramifiées et des feuilles ressemblant à des frondes. En face des feuilles se trouvent des fleurs blanches solitaires aux nervures vertes, ces fleurs relativement grandes de cinq pétales elliptiques et de cinq sépales étroits, chaque fleur a le potentiel de se développer en un fruit qui est une capsules globulaires à trois loges contenant de nombreuses graines anguleuses noirâtres, La période de floraison s'étend de mars à avril (Mahmoudian et *al.*, 2002 ; Asgarpanah & Ramezanloo, 2012).

3.4.3. Caractères écologiques

Harmal est une espèce très répandue dans les zones de pâturages semi-arides, les steppes et les sols sablonneux (Moloudizargari et *al.*, 2013).

3.4.4. Répartition géographique

Harmal une plante herbacée originaire des zones arides d'Afrique du Nord, de la Méditerranée, du Moyen-Orient, du Pakistan et de l'Inde, la plante est largement distribuée en Asie centrale, au Moyen-Orient, en Amérique, en Australie et l'est de la Méditerranée (Mahmoudian et *al.*, 2002 ; Herraiz et *al.*, 2010).

3.4.5. Composition biochimique

Les composants actifs de cette plante sont les alcaloïdes qui se trouvent essentiellement dans les graines et les racines, Il s'agit notamment de β -carbolines telles que : harmine, harmaline (harmidine), harmalol, harmol, harman et de dérivés de la quinazoline : vascine, vasicinone, isopeganine, le harmaline est le composant le plus important (Mayad et *al.*, 2013; Moloudizargari et *al.*, 2013 ; Behidj- Benyounes, 2014).

3.5. *Ricinus communis* L.

La famille des Euphorbiacées comprend près de 300 genres et 7 500 espèces (Jena & Gupta, 2012).

3.5.1. Position systématique

La position taxonomique de cette espèce est comme suit (Salihu et al., 2014) :

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Euphorbiales

Famille: Euphorbiaceae

Genre: *Ricinus*

Espèce: *Ricinus communis* L.

3.5.2. Description botanique et biologique

Ricinus communis est une plante oléagineuse, elle présente surtout un intérêt économique en tant que source d'huile de ricin, elle est utilisée pour la production de

lubrifiants de haute qualité en raison de sa forte proportion d'acide gras inhabituel (Chan et al., 2010).

Le ricin est un arbuste vivace à croissance rapide ou parfois un petit arbre (6 mètres ou plus), mais il n'est pas de nature rustique. Les feuilles sont de couleur verte ou rougeâtre d'environ 30 à 60 cm de diamètre. Les feuilles contiennent 5 à 12 lobes profonds. Les tiges sont plus ou moins pigmentées. Les fleurs sont monoïques et le fruit est une capsule épineuse. Les graines présentent différentes tailles et différentes couleurs. Ils sont ovales de 8 à 18 mm de longueur et 4-12 mm de largeur (Jena & Gupta, 2012).

3.5.3. Caractères écologiques

R. communis possède une capacité à coloniser différents types d'habitat en raison de plasticité, Cela peut permettre une grande adaptabilité à diverses niches écologiques.

Cette espèce pourrait devenir un envahisseur efficace, car l'espèce porte un immense potentiel de résistance aux différentes conditions environnementales par la modulation des traits végétatifs et reproductifs (Goyal et al., 2014).

Le ricin est essentiellement une plante à longs jours, mais il s'adapte à une large gamme de photopériodes avec des rendements différents. Le ricin pousse dans toutes sortes de sols mais préfère un sol bien drainée comme le limon sableux. Le ricin tolère un pH de 4,5-8,3 et une température de 7-27,8 °C et des précipitations annuelles de 20-429 cm (Salihu et al., 2014).

3.5.4. Répartition géographique

Ricinus communis est un arbuste tropical vivace originaire d'Afrique de l'Est (Ethiopie), mais qui est maintenant cultivé dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales du monde (Chan et al., 2010 ; Lakhani et al., 2015).

3.5.5. Composition biochimique

L'étude phytochimique préliminaire de *R. communis* a révélé la présence de stéroïdes, de saponines, d'alcaloïdes, de flavonoïdes et de glycosides (Bhakta & Das, 2015). Les feuilles séchées de cette espèce contiennent deux alcaloïdes (la ricinine et la N-déméthylricinine) et six flavones (glycosides kaempférol-3-O-β-D-Xylopyranoside, kaempférol-3-O-β-D-glucopyranoside, quercétine-3-O-β-D-xylopyranoside, quercétine-3-O-β-D-glucopyranoside, kaempférol-3-O-β-rutinoside

et quercétine-3-O- β -rutinoside), L'alcaloïde prédominant dans cette plante est la ricinine (Kang et *al.*, 1985).

I. Introduction

Les nématodes à galles du genre *Meloidogyne* représentent une menace importante pour la production agricole en raison des dégâts qu'ils causent sur un large éventail de cultures, notamment les cultures maraichères (Elling, 2013).

Les dommages directs et indirects causés par ces espèces se traduisent par une diminution du rendement, de la qualité, des coûts de production élevés et une perte de revenus, elles sont souvent négligées ou non reconnues et ils sont régulièrement mal diagnostiquées en raison de la nature non spécifique des symptômes de surface (Talwana et al., 2016).

Lorsqu'ils sont reconnus, le diagnostic n'est pas souvent effectué au niveau de l'espèce ou il est effectué de manière inexacte, en raison d'une expertise limitée et d'un manque de techniques simples pour diagnostiquer les espèces de manière fiable (Trudgill & Blok, 2001 ; Pagan et al., 2015).

Afin de mettre en œuvre des méthodes de gestion pour les nématodes à galles, une connaissance et un diagnostic précis des espèces présentes peuvent être essentiels (Coyne et al., 2018). Plus de 100 espèces ont été décrites dans le genre *Meloidogyne* dont 23 ont été 86 signalées en Afrique (Moens et al., 2009 ; Jorge et al., 2016).

Traditionnellement, l'identification et la description des espèces de *Meloidogyne* étaient principalement basées sur les différences de caractères morphologiques et morpho-métriques des femelles, des juvéniles et des mâles (Singh et al., 2012).

Un certain nombre d'autres méthodes telles que le test différentiel de l'hôte, les caractères reproductifs et cytologiques, et les modèles d'enzymes et de protéines ont également été utilisées pour aider l'identification des espèces de *Meloidogyne* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985 ; Hussey, 1985).

Cependant, chacune de ces méthodes a ses propres forces et faiblesses, une combinaison de méthodes est nécessaire pour une identification fiable des espèces. Plus récemment, les méthodes moléculaires basées sur plusieurs marqueurs génétiques telles que : RAPD, RFLP, SCAR et l'AFLP ont été développées et utilisées avec succès pour faciliter l'identification d'un certain nombre d'espèces de *Meloidogyne* (Harris et al., 1990 ; Powers et Harris, 1993 ; Castagnone Sereno et al., 1995 ; Zijlstra et al., 1995 ; Petersen & Vrain, 1996).

Chapitre II : Distribution et identification des nématodes à galles dans le littoral algérois.

L'objectif de ce chapitre est: i) de déterminer la distribution des nématodes à galles dans le littoral algérois et d'estimer leurs degrés d'infestation, ii) d'identifier les espèces de *Meloidogyne* spp. existant par une analyse moléculaire.

II. Matériel et méthodes

1. Prospections et enquêtes

Plusieurs prospections et prélèvements ont été réalisés sur 14 stations dans tout le long du littoral algérois ; de la région de Ain Taya à l'est jusqu'à Zeralda à l'ouest (**Figure 2**).

La période d'échantillonnage s'est étalée sur tout le mois de juillet de 2019 où la culture de tomate est pratiquement en fin de cycle dans toutes les parcelles échantillonnées.

Un questionnaire a été mis en place pour effectuer une enquête sur les populations de *Meloidogyne* spp. et leur multiplication dans les sols à savoir ; variété utilisée, traitement nématicide dans le cas de son utilisation, précédent cultural, type de sol et système d'irrigation.

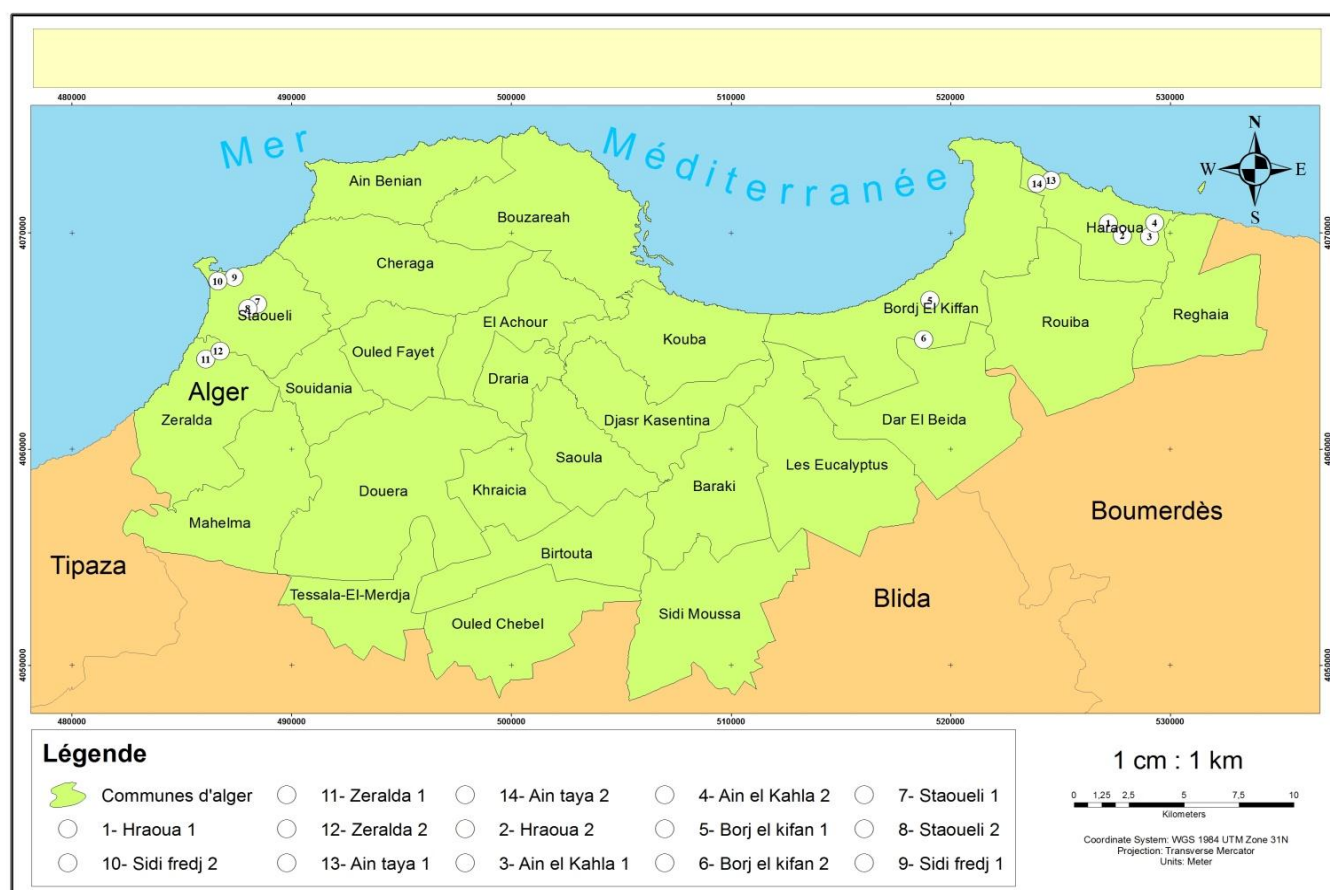


Figure 2. Localisation des stations échantillonnées.

2. Échantillonnage

Un échantillonnage en zigzag d'une envergure importante a été effectué dans les serres de tomate.

Vingt racines de chaque serre ont été prélevées et en suite conservées dans une glacière à une température inférieure de 10 °C au moment d'échantillonnage et du transport afin de garder leur texture et de préserver les masses d'œufs.

Un rinçage avec de l'eau du robinet a été effectué afin d'éliminer les débris de sol des racines et pour bien estimer le degré d'infestation, l'estimation de ce degré a été effectuée sur la base d'une échelle d'indice de galles de 0 à 10 (**Figure 3**) Zeck (1971).

Huit racines de chaque station ont été retenues pour la réalisation de cette étude (estimation de l'indice de galles et l'identification des populations).

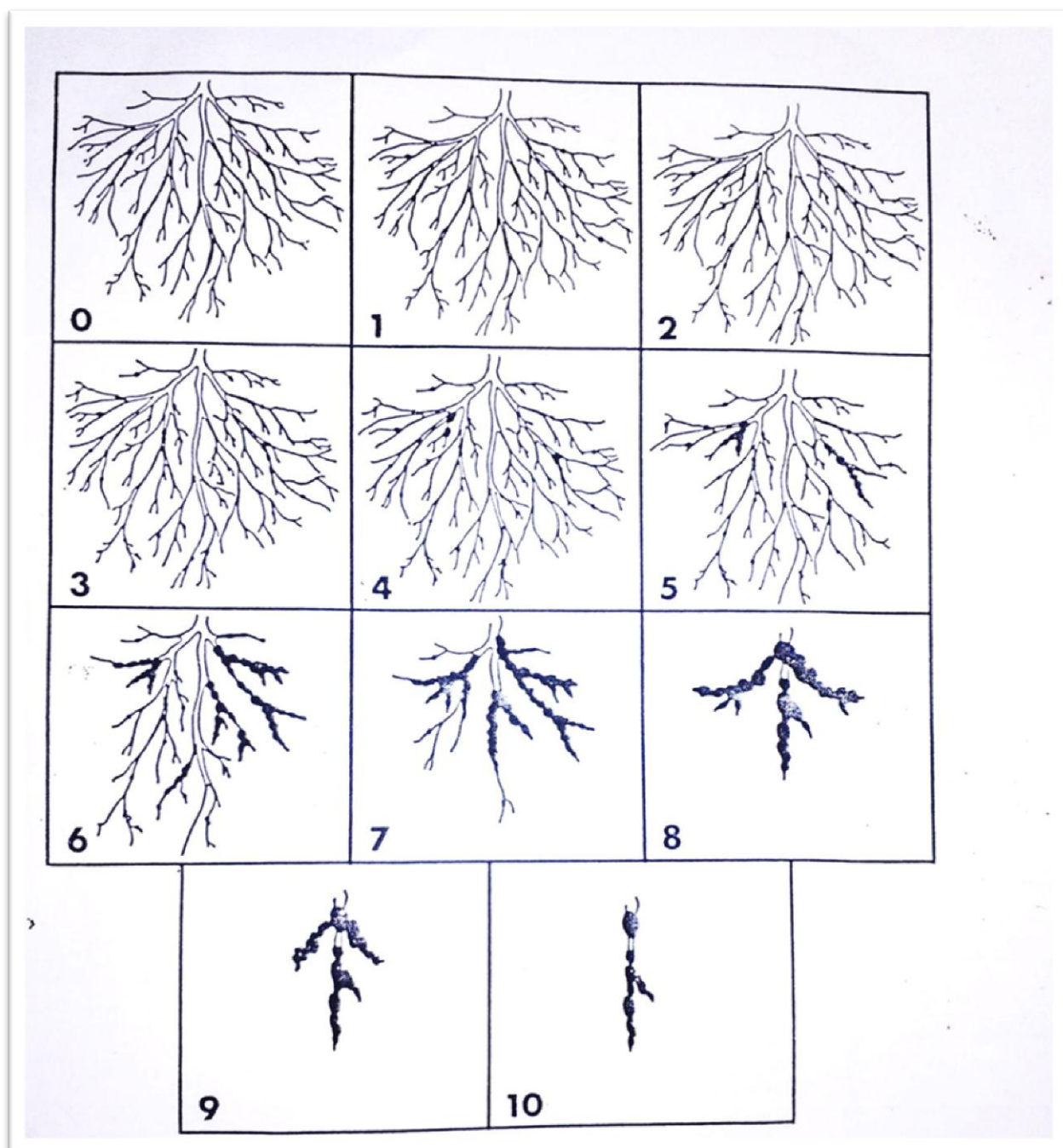


Figure 3. Schéma illustratif de l'échelle de l'indice de galle (Zeck, 1971), 0=0 %, 1=5 %, 2=10 %, 3=15 %, 4=20%, 5=25%, 6=50%, 7=75%, 8=90%, 9= 95 %, 10=100 %.

3. Identification moléculaire des populations

3.1. Extraction des larves

Une seule masse d'œufs a été soigneusement détachée de chaque racine à l'aide d'une épingle stérile et mise dans un compartiment de piluliers de 10 (une masse

d'œufs par compartiment) contenant 2 ml de l'eau distillée stérile, ensuite incubée à une température de 25 °C pendant 4 jours. Une moyenne de 30 juvéniles issus de chaque masse d'œufs a été pêchée et conservés dans des Eppendorfs contenant 0,25 ml d'éthanol à 70 % à une température de 4 °C (les Eppendorfs ont été étiquetés selon les initiales de leur station d'échantillonnage).

Seule 80 populations parmi 88 de *Meloidogyne* spp. a été retenues (en raison de la viabilité de leurs larves, dans certain population, les conditions de conservation ont été détériorées à cause du transport) pour l'identification moléculaire au laboratoire de génomique au Centre de Formation en Agriculture et pêche (IFAPA) à Almeria en Espagne.

3.2. Extraction d'ADN

Quatre protocoles d'extraction d'ADN ont été testés afin de choisir le meilleur, le tampon de lyse a été aussi un facteur déterminant pour une bonne extraction, trois type de tampon ont été testés (**Tableau 2**).

Les différents protocoles d'extraction ont été testés sur des échantillons reçus du département de protection des plantes de Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), Murcia, Espagne. Ces échantillons contiennent des racines infestés par *M. javanica*.

Les masses d'œufs de chaque espèce ont été soigneusement prélevées de la racine à l'aide d'une épingle stérile, chaque masse d'œufs a été placée dans un tube Eppendorf contenant 0.2 ml de l'eau distillée stérile. Après 4 jours, les masses d'œufs ont été retirées à l'aide d'une aiguille stérile.

Ces Eppendorfs ont été mis dans une centrifugeuse à pompe à vide pour éliminer l'eau et garder que les J2s. A l'aide d'une loupe binoculaire, les juvéniles ont été observées au fond des Eppendorfs afin de vérifier leur présence.

3.2.1. Protocole (1)

Une quantité de 10 µL de tampon de lyse (1) (**Tableau 2**) et 3 µL de protéinase K (20mg/ml) ont été ajoutés dans chaque Eppendorf. La solution a été macérée à l'aide d'un bâtonnet stérile, les tubes Eppendorfs ont été mis dans un congélateur à une température de -80 °C pendant 15 min.

Ensuite, les Eppendorfs ont été mis dans un bain-marie à 65 °C pendant 1 h et à 95 °C pendant 15 min, 40 µl d'isopropanol a été ajouté et le mélange a été centrifugé pendant 30 min à 13200 tours/min à 4 °C, un lavage du produit final a été réalisé avec

30 µl d'éthanol à 70 % à 13200 tours/min dans la centrifugeuse, en suite, l'éthanol a été évaporé à l'aide d'une centrifugeuse à pompe à vide. A la fin, une quantité d'eau distillée stérile a été ajoutée à l'ADN et ce dernier a été conservé à -20 °C (Rubstova, 2005).

3.2.2. Protocole (2)

Une quantité 10 µL de tampon de lyse (2) (**Tableau 2**) a été ajoutée dans chaque Eppendorf, en suite, les Eppendorfs ont été mis au congélateur à -80 °C pendant 15 min. Un choc thermique a été créé dans un bain marie à 60 °C pendant 1 h. La température du bain-marie a été élevée à 95 °C pour une durée de 15 min supplémentaires.

Le stockage de la préparation final a été réalisé à une température de -20 °C (Seid, 2019).

3.2.3. Protocole (3)

Une quantité de 10 µl de tampon de lyse (3) (Warm Lysis Buffer) (**Tableau 2**) a été ajoutée dans chaque Eppendorf, ces derniers ont été placés à une température de -80 °C pendant 15 min, ensuite dans un bain-marie à 65 °C pendant une heure puis à une température de 95 °C pendant 15 min. les Eppendorfs ont été stockés à une température de -20 °C (Decarvalho, 2018).

3.2.4. Protocole (4)

Le protocole (4) a consisté sur la même méthode suivie en protocole (3) sauf que la méthode d'obtention des juvéniles a été différente.

Dans ce protocole, les juvéniles (10) ont été obtenue par la pêche à l'aide d'un cil collé à une épingle sous la loupe (Decarvalho, 2018, modifié).

La qualité d'ADN obtenu à partir des différents protocoles a été vérifiée à l'aide d'un Nanodrop après chaque extraction afin de quantifier le matériel génétique (ADN) et choisir le meilleur protocole.

L'extraction d'ADN des populations sélectionnées (80) pour l'identification a été réalisée par la méthode choisie.

Tableau 2. Tableau comparatif des trois tampons de lyse.

Tampon de lyse (1) (Rubstova, 2005)	Tampon de lyse (2) (Seid, 2019)	Tampon de lyse (3) (Decarvalho, 2018)
-KCl (50 mM) -Tris (10 Mm, pH 8.2) - MgCl ₂ (2.5 mM) -10 mM dithiothreitol (DTT) -Tween 20 (0.45%).	-0.2 M NaCl -0.2 M Tris-HCl (pH 8.0) -1 % (v/v) β-mercapto-ethanol -Proteinase-K (800 µg/ml)	-KCl (50 mM) -Tris (10 Mm, pH 8.2) -MgCl ₂ (2.5 mM) -4.5 µl de Tween 20 (0.45 %) -Proteinase K (60 µg/ml)

3.3. Amplification par PCR

3.3.1. Choix des amorces

L'amorce (194/195) de la région IGS a été choisie afin de repérer les trois espèces tropicales (*M. incognita*, *M. arenaria* et *M. javanica*) qui sont susceptibles d'être présents parmi nos échantillons et aussi d'optimiser les frais et les couts de cette opération (Sellami et *al.*, 1999 ; Adam et *al.*, 2007).

Le choix des amorces spécifiques (Fjav/Rjav, Finc/Rinc et Far/Rar) a été fait afin d'identifier les espèces tropicales (**Tableau 3**) (Adam et *al.*, 2007).

3.3.2. Préparation des amorces

Avant l'utilisation de amorces, une centrifugation et des dilutions de ces dernières ont été effectuées.

La centrifugation a été réalisée afin d'éviter les pertes d'amorces sur le bouchon ou les parois.

Deux dilutions ont été réalisées ; la première a consisté a ajouté une quantité de l'eau distillée stérile aux amorces, les quantités sont mentionnées dans la fiche descriptive (**Annexe 1 & 2**) afin d'avoir une concentration de 100µM.

La deuxième a consisté à diluer 10 fois la concentration de 100 µM, cette dilution d'amorces (Follow (F) ou Rerverse (R)) a été réalisées dans des Eppendorfs

(100 μ l : 900 μ l ; amorce : eau distillée stérile) afin d'obtenir une concentration finale de 10 μ M d'amorce.

Tableau 3. Séquences des amorces et le nombre de leurs paires de base.

Espèces	Marqueurs Génétiques	Séquences 5'— 3'	Paire de bases	Source
<i>M. incognita</i>	F inc	CTCTGCCCAATGAGCTGTCC	1200	Zijlstra et al., 2000
	R inc	CTCTGCCCTCACATTAG 3		
<i>M. arenaria</i>	Far	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC3	420	Zijlstra et al., 2000
	R ar	TCGGCGATAGACACTACAAACT		
<i>M. javanica</i>	F jav	GGTGCGCGATTGAACTGAGC	670	Zijlstra et al., 2000
	R jav	CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC		
Espèces tropicales	F (194)	TTAACTTGCCAGATCGGACG	720	Blok et al., 1997
	R (195)	TCTAATGAGCCGTACGC		

3.3.3. Réactions PCR

Toutes les réactions PCR ont été réalisées dans des tubes PCR contenant 23 μ L de Mix PCR suivant les instructions de la manufacture (GoTaq™ Probe qPCR Master Mix) ; 5x Buffleur (5 μ L), MgCl₂ (1.25 μ l), dNTPs (0,5 μ l), Taq Polymérase (0,5 μ l), amorce F (2 μ l), amorce R (2 μ l) à une concentration de 10 μ M, H₂O (11,75 μ l). Le volume final de la réaction est de 25 μ L ; 23 μ L de Mix PCR plus 2 μ L d'ADN de l'échantillon.

Plusieurs programmes de température ont été testés afin de trouver le programme qui convient plus avec chaque amorce.

Dans ces tests, le matériel biologique de *M. javanica* a été reçu de l'IMIDA et celui de *M. incognita* et de *M. arenaria* a été reçu de l'IFAPA (des échantillons de racines infestées).

3.4. Électrophorèse

La qualité des produits PCR a été vérifié à l'aide d'une électrophorèse, une quantité de 4 μ L de produit PCR a été ajouté à 1 μ L de marqueur (6xDNA load Thermo scientific), la migration a été menée sur 1 % TAE (Tris, Acide acétique et

EDTA) dans 1,5 % de gel d'agarose pendant 15 min et à 80 Volt. Les bandes ont été visualisées sur un transilluminateur UV.

4. Traitement des données

Les prélèvements des racines ont été réalisés selon l'échantillonnage en zigzag (8 racines de chaque station). Les données de l'enquête ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA à seul facteurs). Les moyennes ont été comparées en utilisant le HSD de Tukey à $P \leq 0.05$ en utilisant le logiciel STATISTICA (Statistica version 8.5, année 2014).

III. Résultats

1. Prospections et enquêtes

L'enquête sur les stations d'études a fourni beaucoup d'informations sur les facteurs (variété utilisée, traitement nématocide dans le cas de son utilisation, précédent cultural, type de sol et système d'irrigation) qui peuvent influencer l'existence et la reproduction des nématodes à galles (**Tableau 4**).

Ces facteurs changent d'une station à une autre sauf pour le facteur « système d'irrigation » qui est le même dans toute les stations.

Le système d'irrigation utilisé dans toutes les exploitations est le système goutte à goutte.

Tableau 4. Données sur les stations échantillonnées.

Stations	Types de sol	Variétés	Précédents culturaux	Traitements nématicides
Ain el kahla 1	Argileux-limoneux	Toufan	<i>Brassica oleracea</i>	Telone EC 93,6% Concentré émulsionnable
Ain el kahla 2	Argileux-limoneux	Tomastar	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Mocap 150g/Kg 15% Granulés
Hraoua 1	Sableux-limoneux	Sultana	Jachère (3 mois)	Fenomen 240 g/L EC
Hraoua 2	Sableux-limoneux	Khalida	<i>Capsicum annum</i>	Fenomen 240 g/L EC
Bordj el Kiffan 1	Argileux-limoneux	Tomastar	<i>Cucumis sativus</i>	Vetacur 10% Granulés
Bordj el kiffan 2	Argileux	Roma vf	Jachère (2 mois)	Aucun traitement
Staoueli 1	Sableux-limoneux	Tomastar	<i>Solanum melongena</i>	Telone EC 93,6% Fumigant liquid
Staoueli 2	Sableux-limoneux	Khalida	<i>Solanum melongena</i>	Velum 400g/l 34.48% suspension concentrée
Sidi Fredj 1	Argileux-limoneux	Tomastar	<i>Cucumis sativus</i>	Telone EC 93,6% Fumigant liquid
Sidi Fredj 2	Argileux-limoneux	Susana	<i>Phaseolus Vulgaris</i>	Fenomen 240 g/L EC
Zeralda 1	Sableux-limoneux	Khalida	<i>Cucumis sativus</i>	Vetacur 10% Granulés
Zeralda 2	Sableux-limoneux	Susana	Jachère (3 mois)	Velum 400g/l 34.48% SC
Ain Taya 1	Argileux	Tomastar	<i>Solanum melongena</i>	Aucun traitement
Ain Taya 2	Argileux	Roma vf	<i>Phaseolus Vulgaris</i>	Aucun traitement

2. Degré d'infestation

Les prospections sur les différentes stations du Littoral algérois ont montré différents degrés d'infestations sur la culture de tomate par les nématodes à galle du genre *Meloidogyne* (**Figure 4**).

L'analyse de variance a montré un effet significatif des différents facteurs ($P < 0.001$) sur le degré d'infestation des galles.

Le degré d'infestation le plus élevé a été enregistré dans les stations ; Ain el Kahla 2 suivi du degré enregistré dans la station de Staoueli 1 et 2 par contre une absence totale de galles a été enregistré dans les stations de : Bordj el kiffan 2, Ain Taya 1 et 2 (**Figure 5-A**).

Le degré d'infestation diffère d'une station à une autre de la même région sauf pour la région d'Ain Taya qui a montré une absence d'infestation pour les deux stations (**Figure 5-A**).

Les types de sols ; argileux-limoneux et sableux- limoneux ne semblent pas avoir un effet sur le degré d'infestation par contre une absence d'infestation a été enregistrée dans les sols argileux (**Figure 5-B**).

Les degrés d'infestations enregistrés chez les mêmes variétés de tomates est plus ou moins similaires sauf le degré enregistré chez la variété Tomaster dans la région de Ain Taya 1 (**Figure 5-C**).

Le précédent cultural ne semble pas avoir un effet sur le degré d'infestation, différents degrés d'infestation ont été enregistrés en présence du même précédant cultural sauf dans le précédant cultural « *Cucumis sativus* ». Le degré d'infestation le plus faible a été obtenu dans le précédant cultural « jachère et *Brassica oleracea*. (**Figure 5-D**).

Les degrés d'infestations enregistrés chez les tomates traitées par le même produit chimiques étaient similaires sauf le degré enregistré chez les tomates traitées par Fenomen dans la station Hraoua 1 et par Telone EC dans la station d'Ain el Kehla 1, aucun traitement n'a été appliqué dans les stations montrant l'absence de galles (**Figure 5-E**).



Figure 4. Aspect des racines de tomate avec différents degrés d'infestations de galles, I.G. : Indice de galles.

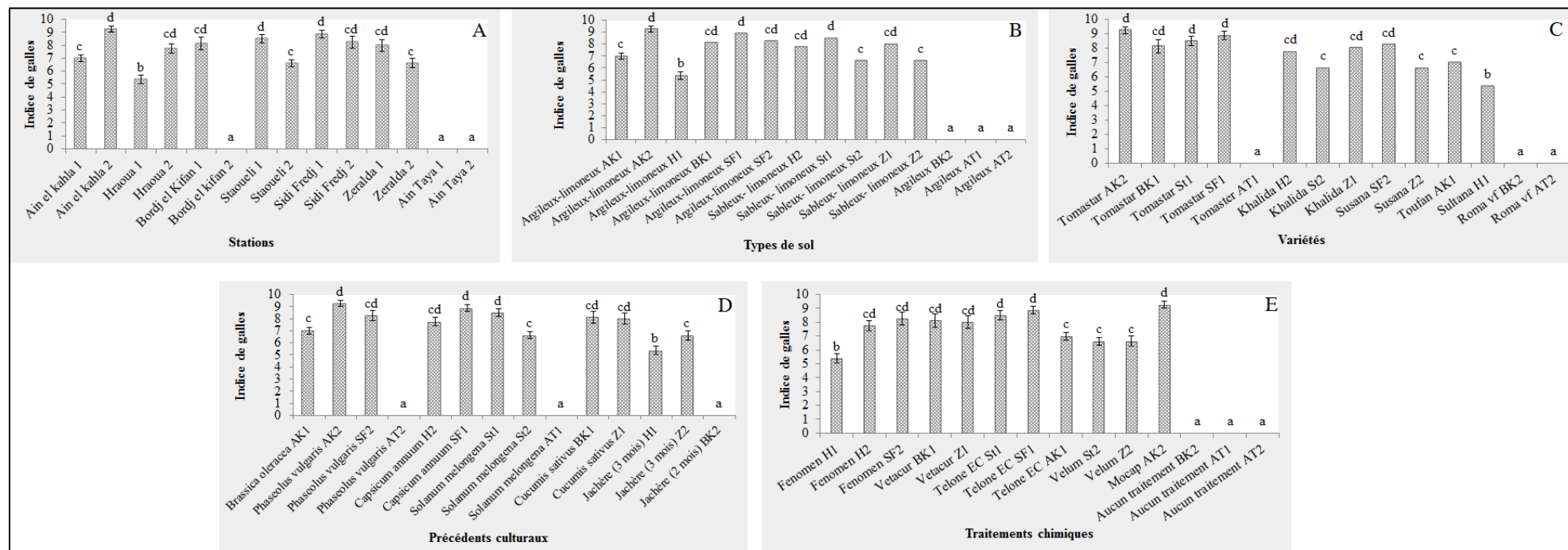


Figure 5. Effet de différents facteurs (stations, types de sol, variétés, précédents culturaux et traitements chimiques) sur le degré d'infestation, AK : Ain elkahla, AT : Ain Taya, BK : Bordj el kiffan, H : Hraoua, SF : Sidi Fredj, St : Staoueli, Z : Zeralda.

3. Identification moléculaire des populations

3.1. Extraction d'ADN

La vérification de la quantité d'ADN obtenue par le premier protocole d'extraction est révélée négative sur l'appareil du Nanodrop (0 ng/ μ l) par contre le deuxième protocole d'extraction a donné une quantité d'ADN comprise entre 0,5 et 3 ng/ μ l. Le 3^{ème} et 4^{ème} protocole ont enregistré des résultats très semblables avec des quantités d'ADN suffisantes à l'amplification ; (11,4-54,2 ng/ μ l) et (10,8-59,1 ng/ μ l) respectivement. En se basant sur ces résultats, le 4^{ème} protocole a été choisi pour le gain du temps et sa réalisation rapide.

Seulement la quantité de 76 populations parmi 80 était suffisante et apte pour l'amplification.

3.2. Amplification

Seulement le programme de PCR de *M. javanica* et des espèces tropicales a été établi (**Tableau 5**) et il a permis une amplification (le programme de PCR de *M. arenaria* et de *M. javanica* n'a pas été établi à cause de la restriction du temps de stage).

Les ADN amplifiés avec l'amorce 194/195 de 49 populations ont migré sur le gel d'agarose et ont révélé des bandes sous transilluminateur UV, ces bandes révèlent la présence d'espèce tropicales dans 49 populations.

Les ADN amplifiés avec l'amorce Fjav/Rjav n'ont pas migré sur le gel d'agarose ce qui montre l'absence de *M. javanica* dans les 49 populations.

Tableau 5. Programme de PCR établi dans le thermocycleur pour chaque amorce.

<i>M. javanica</i>	Espèces tropicales
1 * 94 °C => 3'	1 * 95 °C => 2'
35 * 94° C => 30''	35 * 94 °C => 30''
35 * 61 °C => 30''	35 *50 °C => 30''
35 * 72 °C => 1'	35 * 72 °C=> 40''
1 * 72 °C => 7'	1 * 72 °C => 5'

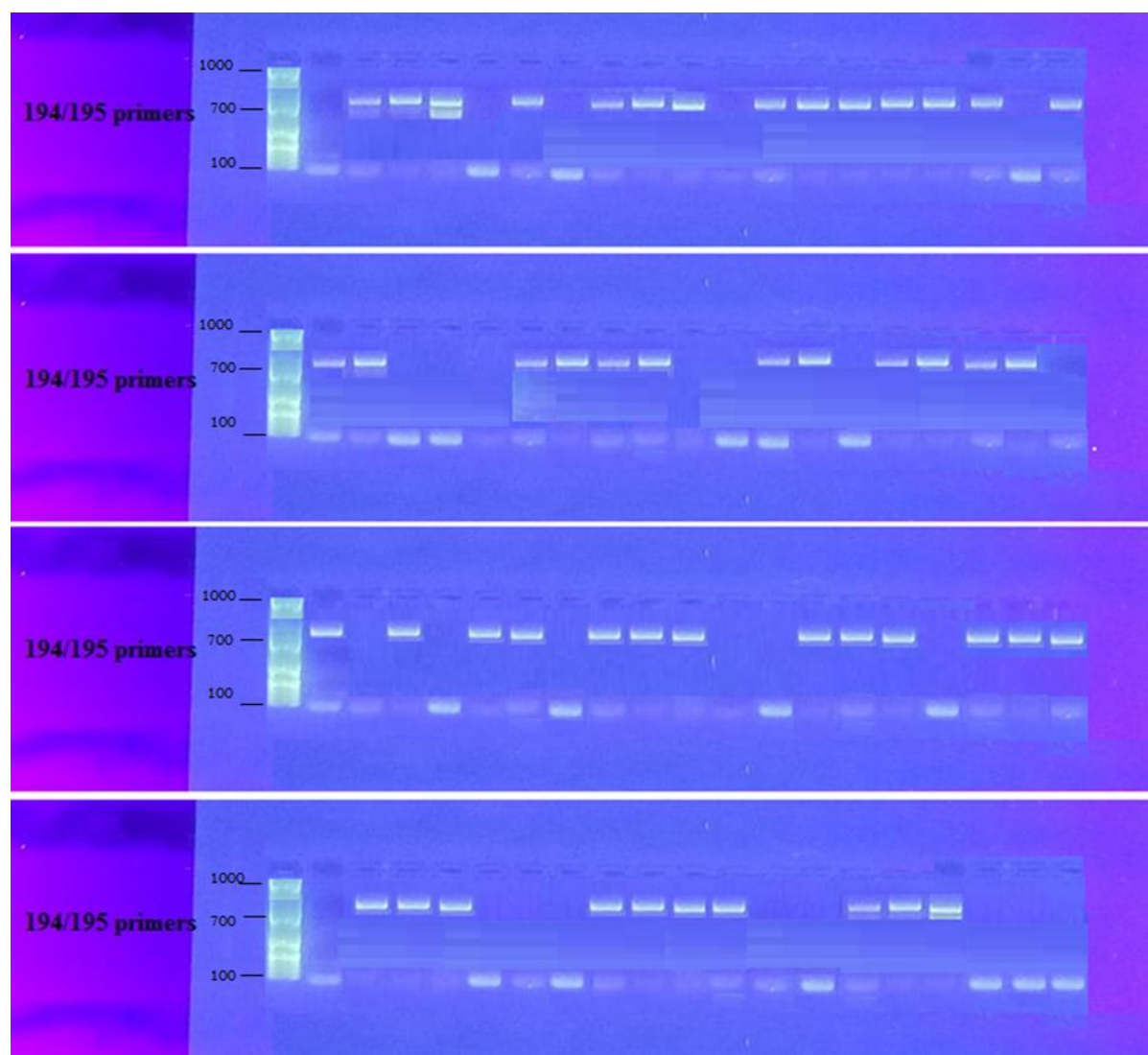


Figure 6. Visualisation des bandes d'ADN amplifié avec l'amorce 194/195 sur gel d'agarose.

4. Distribution

Les nématodes à galles sont présents dans toutes les stations des régions échantillonnées à l'exception de la station de Bordj el kiffan 1 et les deux stations de Ain Taya (**Tableau 6**).

Les espèces tropicales sont présentes dans toutes les stations infestées par les nématodes à galles mais le nombre de leurs populations changent d'une station à une autre. Le nombre le plus élevé des populations d'espèces tropicales (6/8) a été enregistré dans la station de Zeralda 2 et le plus faible (3/8) dans la station de Ain el kahla 2 (**Tableau 6**).

Tableau 6. La distribution des nématodes à galles et les populations des espèces tropicales (*M. incognita*, *M. arenaria*) dans le Littoral algérois.

Stations	Galles	Population d'espèces tropicales / 8
Ain el kahla 1	+	5
Ain el kahla 2	+	3
Hraoua 1	+	4
Hraoua 2	+	4
Bordj el Kiffan 1	+	5
Bordj el kiffan 2	-	-
Staoueli 1	+	4
Staoueli 2	+	5
Sidi Fredj 1	+	5
Sidi Fredj 2	+	4
Zeralda 1	+	4
Zeralda 2	+	6
Ain Taya 1	-	-
Ain Taya 2	-	-

+ : Présence, - : Absence.

IV. Discussion

L'infestation diffère d'une parcelle à une autre, cette différence est influencée par plusieurs facteurs, dans cette étude, les facteurs influençant le degré d'infestation sont : le type de sol (argileux), les variétés et les traitements chimiques.

Nos résultats montrent une absence totale de degré d'infestation dans les stations à sol argileux ce qui est en accord avec l'étude faite par Asif et *al.* (2015), lorsque ils ont trouvé une corrélation négative entre la reproduction des nématodes et la texture argileuse du sol.

La réponse de la même variété vis-à-vis du degré d'infestation dans différentes régions a été plus ou moins identique à l'exception de la variété Tomastar dans la région d'Ain Taya 1, cela peut être expliqué par le type de sol (argileux) de cette station.

Le traitement chimique a toujours le même effet sur le degré d'infestation dans les différentes stations étudiées à l'exception de l'effet du traitement Fenomen et Telone EC respectivement dans la station Hraoua 1 et de Ain el Kehla 1 ont été différents (ils sont plus efficaces dans ces deux régions), cela peut être expliqué par le précédent cultural utilisé dans ces deux stations. La jachère et le précédent cultural

(Braceaceae) sont des facteurs limitant de la reproduction des *Meloidogyne* spp. et connus par leur effet réducteur des populations des nématodes dans le sol (Reynolds, 1968 ; Daneel et *al.*, 2018).

L'extraction de l'ADN génomique des nématodes est un processus complexe à cause de leur taille et leur cuticule robuste (460 nm d'épaisseur), cette dernière résistante aux perturbations chimiques, enzymatiques et physiques (Dawkins & Spencer, 1989 ; Seesao et *al.*, 2014 ; Decarvalho et *al.*, 2019). L'extraction d'ADN de haute qualité est une étape primordiale pour une analyse moléculaire car elle est la première étape à faire ce qui influence les étapes ultérieures, (Decarvalho et *al.*, 2019).

Les méthodes d'extraction d'ADN doivent être efficaces, rapides, simples et rentables (Seesao et *al.*, 2014).

D'après nos résultats, le protocole (3) et (4) basés sur le tampon (WLB) ont donné les meilleurs rendements, ce qui est en accord avec le travail de Decarvalho et *al.* (2019) qui ont testé plusieurs protocoles d'extraction et ont trouvé que le meilleur a été basé sur le tampon de (WLB).

Toutes les amorces spécifiques utilisées dans cette étude ont été précédemment testées sur un large éventail de populations, bien que certains matériels génétiques de certaines populations ne puissent pas s'amplifier en raison du changement qui puisse se produire (Adam & Blok, 2007).

La présence des espèces de nématodes à galles pratiquement dans toutes les régions échantillonnées de littoral algérois pourrait être expliquée par les mauvaises pratiques agricoles (origine des plantules et la non désinfection du matériel agricole).

Les espèces tropicales sont présentes dans presque la moitié des populations étudiées ce qui a été déjà mentionné dans les travaux de Sellami et *al.* (1999).

I. Introduction

Les nématodes cécidogènes sont des ravageurs qui causent de graves dommages à plusieurs cultures, principalement les cultures maraichères (Adegbite et *al.*, 2005). Ces vers microscopiques sont des polyphages et menacent plus de 2400 espèces (Scotto la massese, 1986), entraînant des pertes considérables de production agricole, ces pertes sont généralement dus à un dysfonctionnement des racines, à la réduction du volume racinaire et à l'inefficacité de la recherche de nourriture et de l'utilisation de l'eau et des nutriments (Hemlata & Jyoti, 2018).

Plusieurs méthodes sont disponibles pour lutter à l'égard des nématodes, les nématicides synthétiques sont le plus souvent utilisés car ils sont efficaces et agissent rapidement (Odeyemi et *al.*, 2013). L'utilisation indiscriminée de pesticides synthétiques était susceptible d'entraîner une phytotoxicité, une pollution de l'environnement et une résistance aux nématodes, en plus de ces inconvénients, le coût est très élevé (Adegbite et *al.*, 2005), d'où la nécessité de la recherche d'une méthode de lutte alternatives efficaces et respectueuses de l'environnement. L'une des alternatives possibles est l'utilisation de biopesticides d'origine végétale (Javed et *al.*, 2007).

L'utilisation des biopesticides d'origines végétales comme produits nématicides et nématostatiques est une approche prometteuse car elle est économique et écologique, ces produits ont l'avantage d'être entièrement compatibles avec l'environnement par leur spécificité élevée et leur capacité à être biodégradables (Saravanapriya & Sivakumar, 2005).

Le but de cette partie du travail est: i) d'évaluer le potentiel larvicide et ovicide des extraits aqueux et organiques de cinq plantes sur *Meloidogyne incognita* dans des conditions contrôlées.

II. Matériel et méthode

1. Matériel biologique utilisé

1.1. Matériel animal

Le matériel biologique animal utilisé au cours de notre expérimentation est les nématodes à galles ; *M. incognita*, plus précisément les juvéniles du 2^{ème} stade (J2s) et les masses d'œufs. Ces derniers ont été obtenus à partir des racines de tomate infestées de l'élevage de M. Baabali D. réalisé sous serre au niveau de la station expérimentale de l'ENSA (École Nationale Supérieure Agronomique) (36°43'19.3 "N, 3°08'58.6 "E et 36 m au-dessus du niveau de la mer).

1.1.1. Préparation d'inoculum

Les racines de tomates portant des galles prélevées de l'élevage de M. Baabali ont été transférées au laboratoire. Des masses d'œufs ont été soigneusement détachées de la masse gélatineuse à partir des racines infestées et déposées dans des éclosiers contenant de l'eau distillée stérile. Après 48 heures, les juvéniles (J2s) ont été récupérées dans des béchers gradués 1 ml de la suspension a été prélevé pour le comptage du nombre de J2s (l'opération a été répétée 10 fois) (**Figure 7**) (Babaali et *al.*, 2017).

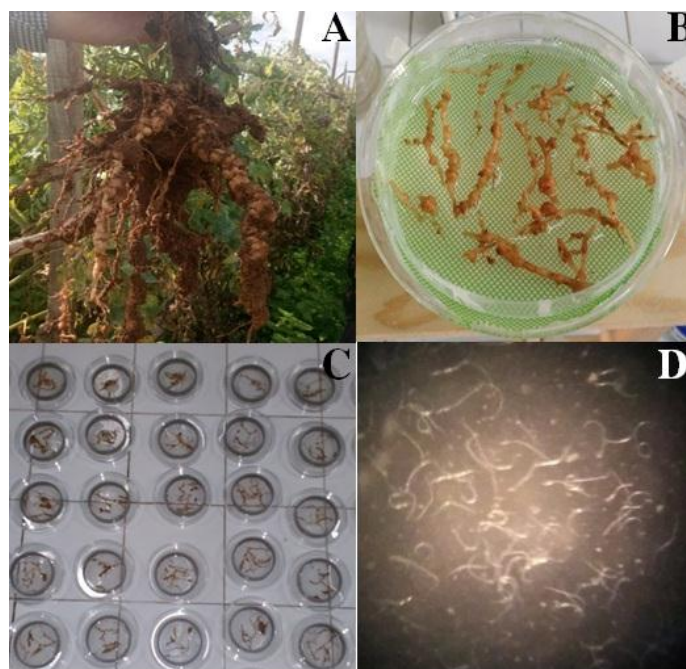


Figure 7. Étapes de préparation d'inoculum, A : Racine de tomate infestée, B : Fragments de racines dans un éclosier, C : Incubation des œufs pour l'éclosion, D : Aspect des larves sous microscope optique (Gr. × 40).

1.1.2. Élevage des nématodes *in-vivo*

La multiplication du nombre de juvéniles J2s a été réalisée sur des plants de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Moneymaker, Solanaceae) sous serre à la station expérimentale de l'ENSA. Un mois après le repiquage, les plants de tomate ont été inoculés par 2500 J2s âgés de 48 heures, la suspension larvaire a été déposée autour de la tige dans 5 trous d'environ 3 cm de profondeur, dont 1 ml pour chaque trou, en moyenne de 500 J2s par ml. Les plants de tomate ont été irrigués régulièrement pendant 60 jours. À la fin de l'expérimentation, les racines infestées ont été récupérées et transférées au laboratoire afin de fournir le matériel animal nécessaire pour expérimentation.

1.2. Matériel végétal

1.2.1. Obtention des plants de tomate

Les graines de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Moneymaker, Solanaceae) ont été semées dans des plaques alvéolées sous serre pendant un mois, puis les plants ont été transplantés dans des pots en plastique de 2,5 L (17,5x14,5 cm : diamètre x hauteur) contenant 1 L de mélange stérile; sable-sol (1/2 : 1/2).

1.2.2. Extraits des plantes

1.2.2.1. Choix des cinq plantes

Le choix des cinq espèces étudiées est basé principalement sur leurs compositions biochimiques et leurs effets biocides montré par plusieurs études précédentes.

Plusieurs travaux ont montré la toxicité des espèces de *Brassicaceae* vis-à-vis des *Meloidogyne* (*Eruca sativa*, *Raphanus sativus* var. *oleiformis*, *Reseda luteola*) (Curto et al., 2015).

Lazzeri et al. (2004) ; Mari et al. (2008) ont déterminé la molécule responsable à cet effet ; glucosinolate (GL) qui se décompose en isothiocyanates (ITC).

Pour cela deux espèces de *Brassicaceae* ont été choisies : *Sinapis arvensis* et *Raphanus raphanistrum*.

Le choix de la plante *Peganum harmala* a été sélectionné grâce à ses différentes activités biologique ; antibactériennes, antifongiques et même nématicide (Nenaah, 2010 ; Behidj-Benyounes et al., 2014).

El-Hassan et al. (2013) ; Xia et al. (2019) ont montré que cette plante a un effet contre *Meloidogyne javanica* et *Bursaphelenchus xylophilus*.

Taxus baccata une espèce connue pour son usage médicinal comme un traitement des maladies digestives, respiratoire et rhumatisme grâce à la molécule Taxol (Guenard et *al.*, 1993 ; Vadivel et *al.*, 2018).

L'utilisation de *T. baccata* contre les nématodes n'a pas été signalée dans la littérature pour cela la sélection de cette plante est très important dans notre étude.

Ricinus communis est une plante à plusieurs usages ; cosmétique antioxydante, antidiabétique et insecticide (Bhakta & Das, 2015). Son effet nématicide a été déjà prouvé *in-vitro* et *in-vivo* (Rich et *al.*, 1989 ; Zaki & Bhatti, 1990).

1.2.2.2. Origine géographique et période de récolte des plantes étudiées

Cinq plantes (*Peganum harmala*, *Raphanus raphanistrum*, *Taxus baccata*, *Sinapis arvensis* et *Ricinus communis*) appartenant à 4 familles botaniques différentes ont été récoltées avant la floraison (mars-mai) dans différentes régions d'Algérie à différents étages bioclimatiques en 2017 (**Tableau 7**). Les plantes collectées ont été identifiées à l'aide des spécimens témoins déposés dans l'herbier du Département de Botanique de l'ENSA, l'identification a été confirmée par B. FARSSI, docteur en Écologie du même département.

Tableau 7. Origine géographique des cinq plantes étudiées et leurs familles botaniques.

Noms scientifiques (Noms communs)	Familles botaniques	Régions	Données Geographiques
<i>Peganum harmala</i> (Harmal)	Zygophyllaceae	El Bayadh	33°18'59.6"N 1°11'35.1"E
<i>Raphanus raphanistrum</i> (Ravenelle)	Brassicaceae	Bouira	36°16'11.8"N 3°57'20.8"E
<i>Taxus baccata</i> (If commun)	Taxaceae	Blida	36°26'05.5"N 2°53'15.7"E
<i>Sinapis arvensis</i> (Moutarde des champs)	Brassicaceae	EL-Harrach	36°43'23.8"N 3°08'59.1"E
<i>Ricinus communis</i> (Ricin)	Euphorbiaceae	EL-Harrach	36°43'23.8"N 3°08'59.1"E

1.2.2.3. Préparation des extraits aqueux et organique

Deux types d'extraits (organiques et aqueux) ont été évalués dans cette étude.

Les feuilles des cinq plantes ont été séchées à l'ombre pendant 15 jours dans des conditions de laboratoire, puis réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur commercial.

Une quantité de 25 g de poudre de chaque espèce (*P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T. baccata*, *S. arvensis* et *R. communis*) a été placée dans un flacon de 500 ml contenant 250 ml de solvant (eau distillée et méthanol à 80 % respectivement pour l'extraction aqueuse et organique) (Dane et al., 2015). Les flacons ont été placés en agitation orbital pendant 4 heures à 500 tr/min. Le mélange a été filtré à travers un entonnoir équipé d'un papier filtre (N°1 ; 100 µm) et centrifugé pendant 15 min à 1500 tr/min (élimination des débris). Le solvant (méthanol) de l'extrait organique a été évaporé sous vide à l'aide du Rotavapor à 60 °C, tandis que l'eau de l'extrait aqueux a été évaporée par un bain-marie à 60 °C (**Figure 8**). Toutes les quantités des extraits bruts aqueux (après évaporation) ont été pesées et ensuite dissoutes dans 25 ml d'eau distillée, tandis que les quantités des extraits bruts organiques ont été pesées et dissoutes dans 25 ml de DMSO (diméthylsulfoxyde) à 2 % (la solution a été

considérée comme une solution mère et elle a été stockée à 4 °C pendant 24 heures au maximum).

La dissolution des extraits bruts aqueux et organiques a été réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique chauffé pendant 5 min à 150 tr/min. Les solutions obtenues (aqueuses et organiques) ont été centrifugées à 3000 tr/min pendant 5 afin d'éliminer les débris. La stérilisation des solutions (aqueuse et organique) a été réalisée à l'aide d'un micro-filtre de 0.2 µm (**Figure 9**) (Babaali et *al.*, 2017).

a. Rendement des extraits bruts

Le rendement des extraits bruts est estimé en pourcentage ; le poids d'extrait brut sur le poids sec de la plante. Le poids de l'extrait brut est calculé par la différence entre le poids du ballon plein après évaporation (métabolites secondaires) et le poids du ballon vide (Mohareb, 2017).

$$\text{Rendement (R)\%} = \frac{\text{Poids d'extrait brut}}{\text{Poids sec de la plante}} \times 100$$

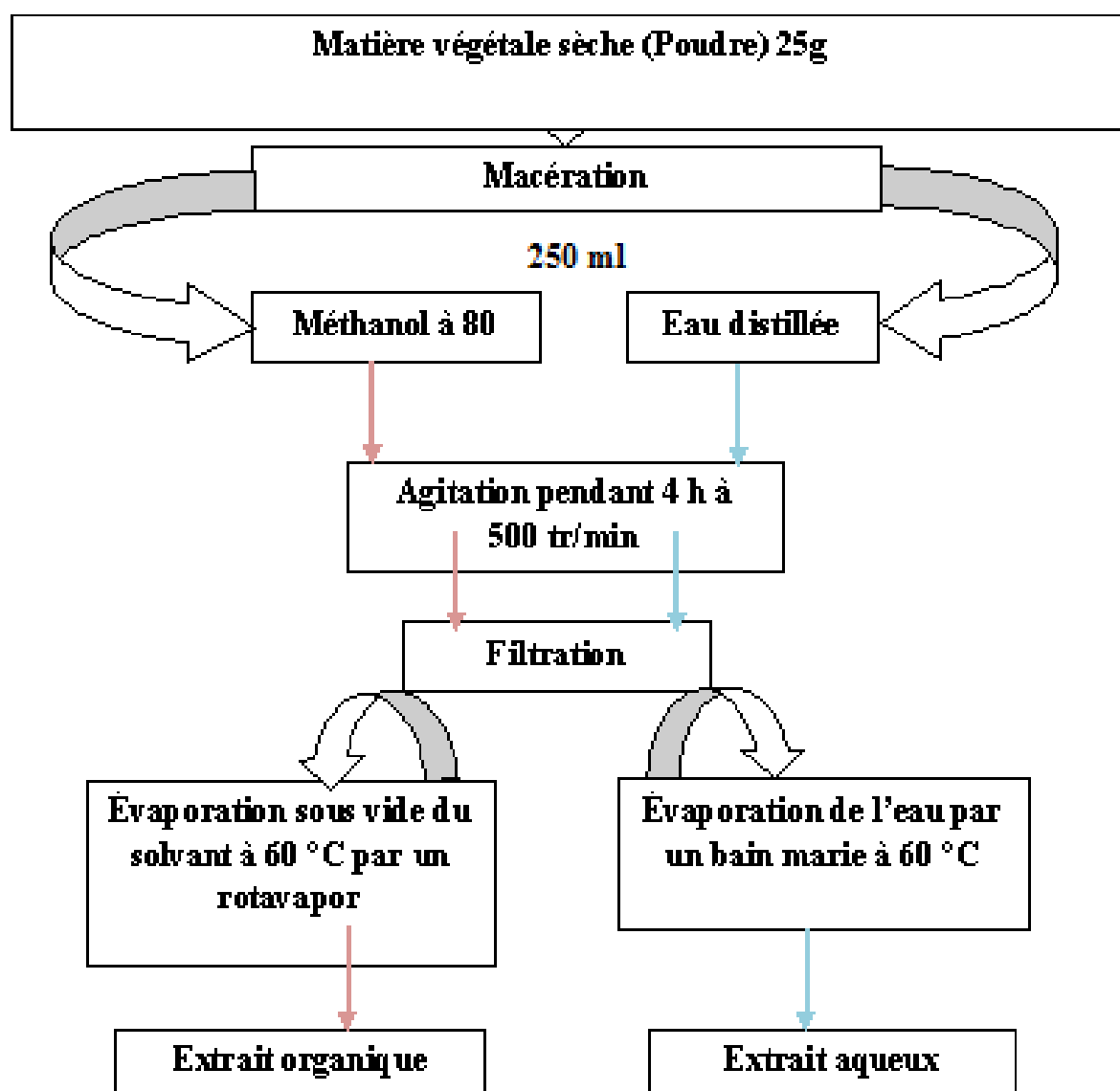


Figure 8. Schéma simplifié du procédé d'obtention des extraits aqueux et organique (Originale).

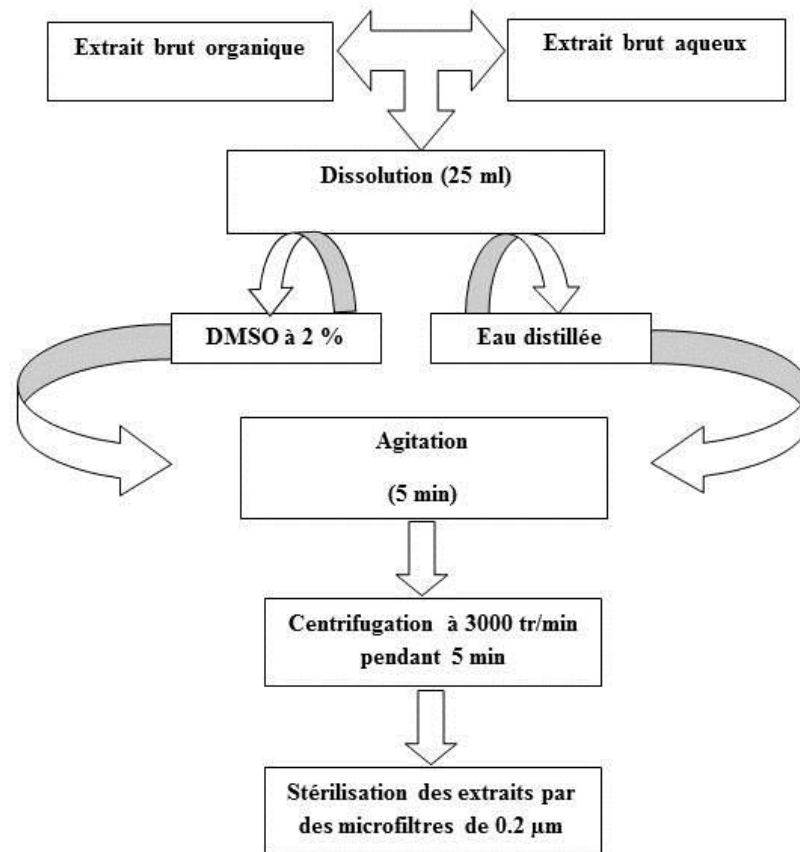


Figure 9. Schéma simplifié des différentes étapes d'obtention des solutions mères aqueuse et organique (Originale).

2. Évaluation du potentiel nématicide des extraits de plantes (aqueux et organique) de cinq espèces à l'égard de *M. incognita*

2.1. Test *in-vitro*

2.1.1. Test préliminaire et sélection des doses

Avant de procéder aux tests d'évaluation du potentiel nématicide des extraits de plantes, un test de présélection de doses a été réalisé à partir de la dose 100 % (1 ml d'extrait et 1 ml de solution juvéniles). 4 doses ont été calculées à raison de 2 soit : 100, 50, 25 et 12.5 %. Pour la dose 100 %, les résultats de ces tests ont révélé en 10 min un effet choc pour certains extraits. Les faibles doses de 25 et 12.5 % ont donné une mortalité moins de 50 % en 72 heures. Afin de respecter la notion de l'équilibre biologique, de nouvelles doses ont été calculées à partir de la dose 50 % à raison de 1.4 soit : 80, 60, 50 et 40 %.

2.1.2. Évaluation de l'effet nématicide des extraits de plantes sur la mortalité des juvéniles (J2s)

L'effet des extraits aqueux et organiques (méthanoliques) à différentes concentrations (**Tableau 8**) obtenus à partir de la solution mère (en considérant que 1 ml de solution mère avec 1 ml de suspension de J2s était la concentration de 100 %), a été évalué sur les J2s de 48 heures. 1 ml de traitement et 1ml de la suspension juvéniles (un ml de suspension de nématodes contient plus de 100 J2s) ont été déposés dans des puits de la plaque de 24 et maintenus dans un incubateur dans l'obscurité à 24 °C. Chaque traitement a été répété 5 fois. En utilisant un double compteur, 100 J2s entre les juvéniles morts et vivants ont été comptés chaque 12, 16, 24, 32 heures d'exposition, en considérant une juvénile droit ou immobile comme étant une larve morte, ce qui a été confirmé par le toucher avec une aiguille fine. Pour comparer les résultats, la mortalité naturelle a été comptée dans l'eau et dans le DMSO à 2 % et ils ont été considérés comme des témoins.

La concentration létale (CL50) pour exterminer 50 % des juvéniles a été calculée en utilisant l'analyse par probit (Bliss, 1934).

Tableau 8. Pourcentages des différents volumes de la solution mère dans le test de mortalité des juvéniles.

Suspension des juvéniles (1 ml)	Concentrations			
Volumes de la solution mère (ml)	0,8	0,6	0,5	0,4
Pourcentages (%)	80	60	50	40

2.1.3. Évaluation de l'effet nématicide des extraits de plantes sur l'éclosion des œufs

Pour l'évaluation de l'effet des deux extraits (aqueux et organique) avec les mêmes concentrations utilisées dans le test précédent sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne*, les œufs ont été extraits à partir des racines de tomate infestées avec une solution de NaOCl (hypochlorite de sodium). Les racines de tomate infestées ont été coupées en petits morceaux de 5 cm et mis dans un flacon de 250 ml contenant 100 ml d'hypochlorite de sodium à 1,5 % pendant 3 min en agitation manuelle. Après 3 min d'agitation, les œufs ont été récupérés par deux passages successifs à travers deux tamis de 250 µm et de 50 µm respectivement, le premier passage a consisté à éliminer les morceaux de racines et récupérer la solution des œufs (œufs+ hypochlorite de sodium), le deuxième a consisté à récupérer les œufs. Les œufs récupérés ont été rincés 2 à 3 fois avec de l'eau distillée stérile pour se débarrasser des traces de l'hypochlorite de sodium (Hussey & Barker, 1973).

Chaque traitement consistait en cinq répétitions de 100 œufs dans 1 ml de chaque concentration d'extrait. Les expériences ont été réalisées dans une plaque de 24 puits maintenue dans un incubateur dans l'obscurité à 24 °C. Les témoins utilisés sont des œufs : les uns traités avec 2 % de DMSO et les autres traités avec de l'eau distillée stérile, cependant le comptage des œufs non éclos a été fait après 2, 4, 8 et 12 jours. (Babaali et al., 2017) . Le taux d'inhibition de l'éclosion T (IE) a été calculé par la formule suivante :

$$T(IE) = [(N1 - N2)/N1]*100.$$

T : Taux.

IE : Inhibition de l'éclosion.

N1 : Nombre initial d'œufs.

N2 : Nombre d'œufs éclos.

2.2. Test *in-vivo*

2.2.1. Évaluation de l'effet nématicide des extraits de plantes sur les paramètres d'infestation des nématodes sur les plants de tomate

Pour confirmer les résultats obtenus *in-vitro*, un test *in-vivo* sur les plants de tomate a été effectué. Dans ce test, trois extraits organiques de *P. harmala*, *T. baccata* et *S. arvensis* ont été sélectionnés du fait de leurs efficacités *in-vitro*. Aussi des nouvelles doses ont été sélectionnées ; 3, 1.5 et 0.75 ml Cette expérience a été menée sur des plants de tomate en pots, les traitements (une quantité de 3, 1.5 et 0.75 ml de chaque extrait de plante a été ajustée à 20 ml avec l'eau distillée stérile afin de faciliter leur application) ont été appliqués un jour avant la transplantation des plants de tomate. Après un jour de la transplantation, 2500 J2s (âgés de 48 heures) ont été mis dans 5 trous autour de la tige à une profondeur de 3 cm. Deux témoins ont été réalisés pour la comparaison des résultats, un témoin positif inoculé avec des juvéniles (J2s) seulement et un autre témoin négatif traité uniquement avec de l'eau distillée stérile. Chaque traitement a été répété 6 fois. À la fin du test, les paramètres d'infestation (indice de galles, nombre de juvéniles par racine, nombre de galles et nombre de masses d'œufs) et les paramètres de croissance (poids sec de la partie aérienne et de la racine) ont été estimés. L'indice de galles a été estimé selon l'échelle de Zeck (1971).

2.3. Calcul de la mortalité corrigée

L'efficacité d'un extrait sur les nématodes est évaluée par l'estimation de la mortalité causée. Pour chaque dose testée, le pourcentage moyen de la mortalité de larves est calculé. Les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité corrigée. Considérant qu'il y'a une mortalité naturelle dans la population (témoin: eau distillée et DMSO) qui s'ajoute à la mortalité due au solvant. Les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité selon la formule suivante :

Mortalité observée = [(nombre de nématodes morts) / (nombre total d'individus)] x 100

La mortalité est ensuite corrigée par la formule de Schneider-Orelli (1947).

$M_c = [(M_2 - M_1) / (100 - M_1)] \times 100$

M_c : Pourcentage de mortalité corrigée.

M_1 : Pourcentage de mortalité enregistrée dans le lot témoin.

M_2 : Pourcentage de mortalité enregistrée dans les lots traités

2.4. Calcul de la DL₅₀ et TL₅₀

Le but du calcul de la DL₅₀ est l'estimation de la dose létale à partir de laquelle, une mortalité de 50 % est obtenue, et le TL₅₀ ; temps létale à partir duquel, une mortalité de 50 % est obtenue.

Une transformation des pourcentages de mortalités corrigées en Probit, et la transformation en logarithme décimale les doses et les temps. Ces transformations nous permettent d'établir des équations des droites de régression de Log (dose) en fonction des Probits qui est la suivante :

$$Y = a X + b.$$

Y : Probit des mortalités corrigées.

X : Logarithme des doses.

a : la pente.

À partir des équations de régression, en remplaçant Y par le Probit de 50 qui égale à 5, la DL₅₀ sera égale à anti-log₁₀ X pour la reconversion du Probit à la concentration (unité de la DL₅₀) (Cavelier, 1976).

3. Traitement des données

Toutes les expériences ont été menées selon le dispositif en blocs aléatoires complets (6 répétitions pour chaque traitement) (**Figure 10**). Les données des expériences menées en laboratoire et sous serre ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA à deux facteurs pour le test de la mortalité des juvéniles et pour le test *in vivo*, l'ANOVA à trois facteurs pour le test d'éclosion des œufs. Les moyennes ont été comparées en utilisant le HSD de Tukey à P ≤ 0.05 en utilisant le logiciel STATISTICA (Statistica version 8.5, année 2014).

Chapitre III : Évaluation du potentiel nématicide des extraits de cinq plantes à l'égard des nématodes à galles.

T - 1	D2 I1	D1 M1	T + 1	D1 H1	D3 H1	D2 H1	D3 I1	D2 M1	D1 I1	D3 M1
D1 M2	T + 2	D2 M2	D2 H2	D3 M2	D3 I2	D1 H2	D1 I2	D3 H2	D2 I2	T - 2
D2 H3	D2 M3	D3 H3	D3 I3	T + 3	D1 H3	D2 I3	T - 3	D3 M3	D1 M3	D1 I3
D1 H4	D2 H4	D3 H4	D1 I4	D2 M4	D3 I4	T + 4	D1 M4	D2 I4	D3 M4	T - 4
D3 M5	D2 I5	D2 H5	D2 M5	D3 I5	T - 5	D1 I5	D1 M5	D1 H5	T + 5	D3 H5
D1 H6	D1 M6	D3 H6	D2 H6	T - 6	D2 M6	D3 I6	D1 I6	D3 M6	D2 I6	T + 6

Figure 10. Dispositif expérimental, D: dose, T + : Témoin positif, T- : Témoin négatif, M : Moutarde des champs, H : Harmale, I : If commun.

III. Résultats

L'effet des deux types d'extraits (aqueux et organique) de *S. arvensis*, de *T. baccata*, de *P. harmala*, de *R. raphanistrum* et de *R. communis* testés à différentes concentrations et à différents temps d'exposition a montré une efficacité sur le taux de mortalité des J2s et sur l'inhibition d'éclosion des œufs. Les extraits organiques de *S. arvensis*, de *T. baccata* et de *P. harmala* testés *in-vivo* ont entraîné une réduction du taux d'infestation des juvéniles dans les racines des plants de tomates inoculées préalablement.

1. Rendement des extraits bruts

Les différentes plantes utilisées dans cette étude ont donné différents poids d'extrait brut et différents rendements (**Tableau 9**). Selon ces résultats on remarque que les rendements sont différents d'un extrait à un autre, où les trois extraits aqueux et organiques de *S. arvensis*, *P. harmala* et *T. baccata* ont été plus élevés que ceux des autres extraits de *R. raphanistrum* et *R. communis*. Les meilleurs rendements ont été enregistrés chez *S. arvensis* dans les deux types d'extraction avec un pourcentage de 18.56 et 15.40 % respectivement pour les extraits organiques et aqueux.

Tableau 9. Poids et rendements des extraits aqueux et organiques des plantes étudiées.

Types d'extrait	Plantes	Extraits bruts (g)	Rendements (%)
Aqueux	<i>T. baccata</i>	03,76	15,04
	<i>P. harmala</i>	03,92	15,68
	<i>S. arvensis</i>	04,64	18,56
	<i>R. raphanistrum</i>	03,42	13,68
	<i>R. communis</i>	03,68	14,72
Organique	<i>T. baccata</i>	03,53	14,12
	<i>P. harmala</i>	03,80	15,20
	<i>S. arvensis</i>	03,85	15,40
	<i>R. raphanistrum</i>	02,46	09,84
	<i>R. communis</i>	03,10	12,40

2. Effet du potentiel nématicide des extraits de plantes (aqueux et organique) de cinq espèces à l'égard de *Meloidogyne incognita*

2.1. Test *in-vitro*

2.1.1. Effet des extraits de plantes (aqueux et organiques) sur la mortalité des juvéniles (J2s) *M. incognita*

L'analyse de la variance à deux facteurs (plantes et types d'extrait) a montré un effet hautement significatif et très hautement significatif ($P_A = 0.001$, $P_B = 0.001$, $P_C = 7.99 \cdot 10^{-15}$, $P_d = 2.74 \cdot 10^{-9}$) des deux types d'extrait (organique ou aqueux) des 5 plantes testées (*P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T. baccata*, *S. arvensis* et *R. communis*) à différentes concentrations sur la mortalité des J2s de *M. incognita* (**Figure 11**).

l'extrait organique de *T. baccata* a montré l'effet nématicide le plus élevé suivi par l'extrait organique de *P. harmala*, en agissant très rapidement et provoquant un

effet choc sur les J2s dès les premières heures du traitement (12 h à 80 %), ces derniers ont causé des taux de mortalité des J2s de 69 et de 51 % respectivement, tandis que le taux de mortalité des J2s traitées avec les extraits organiques de *S. arvensis* et de *R. raphanistrum* respectivement n'a pas dépassé les 50 % : 44 et 25 %. En outre, le taux de mortalité des J2s le moins fort causé par les extraits organique a été enregistré chez *R. communis* avec un taux de 20.2 % (**Figure 11**).

Les taux de mortalité des J2s traités avec les extraits aqueux de *T. baccata*, *P. harmala*, *S. arvensis*, *R. raphanistrum* et *R. communis* respectivement à la même durée d'exposition et à la même concentration ont atteint 59, 30, 25, 18 et 16.2 %. Après 32 heures à la concentration 80 %, l'extrait organique de *P. harmala* a causé une mortalité des J2s de 100 % tandis que les autres extraits organique de ; *S. arvensis*, *T.baccata*, *R. raphanistrum* et *R. communis* respectivement ont causé une mortalité de 89.2, 86.6, 70.4 et 53 %. Le meilleur effet des extraits aqueux est marqué par l'extraits de *T. baccata* qui a provoqué un taux de mortalité de 73.8 % à la concentration 80 % après 32 heures d'exposition, dépassant le taux enregistré (70.4 et 53 % respectivement) chez les J2s traités avec les extraits organiques de *R. raphanistrum* et *R. communis* à la même concentration et la même durée d'exposition (**Figure 11**). Dans cet essai, le taux de mortalité le plus faible (1.8 %) a été enregistré chez les J2s traités avec l'extrait aqueux de *R. communis* à la concentration 40 % et la durée d'exposition 12 heures, suivi par les taux de mortalité de 4.6, 6.4, 5.4 et 9.2 % respectivement, enregistrés chez les J2s traités avec l'extrait aqueux de *S. arvensis* et de *R. raphanistrum* et l'extrait organique de *R. communis* et *R. raphanistrum*.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits organiques de *P. harmala* et de *S. arvensis* ont une meilleure efficacité que leurs extraits aqueux sur la mortalité des J2s aux 4 concentrations et à tous les temps d'exposition (**Figure 12**), les extraits aqueux et organiques de *T. baccata* et *R. communis* ont un effet plus ou moins similaire sur la mortalité des J2s à certaines concentrations et certains temps d'exposition, les extraits aqueux et organiques de *R. raphanistrum* ont un effet plus ou moins similaire sur la mortalité des J2s aux 4 concentrations et à tous les temps d'exposition sauf la concentration 80 et 60 aux temps d'exposition 32 h (**Figure 12**).

La dynamique de la mortalité des juvéniles traités avec les extraits aqueux et organiques des cinq plantes est différente selon les différentes concentrations, et aussi le taux d'augmentation de mortalité des j2s diffère d'un extrait de plante à un autre même lorsqu'il s'agit du même type d'extrait et de la même concentration, à titre

Chapitre III : Évaluation du potentiel nématicide des extraits de cinq plantes à l'égard des nématodes à galles.

d'exemple, la dynamique de l'extrait organique *S. arvensis* a montré une augmentation considérable de 20 % en 24 heures, contrairement à l'extrait de *T. baccata* qui a montré une dynamique irrégulière pour atteindre 86.6 % (**Figure 13**).

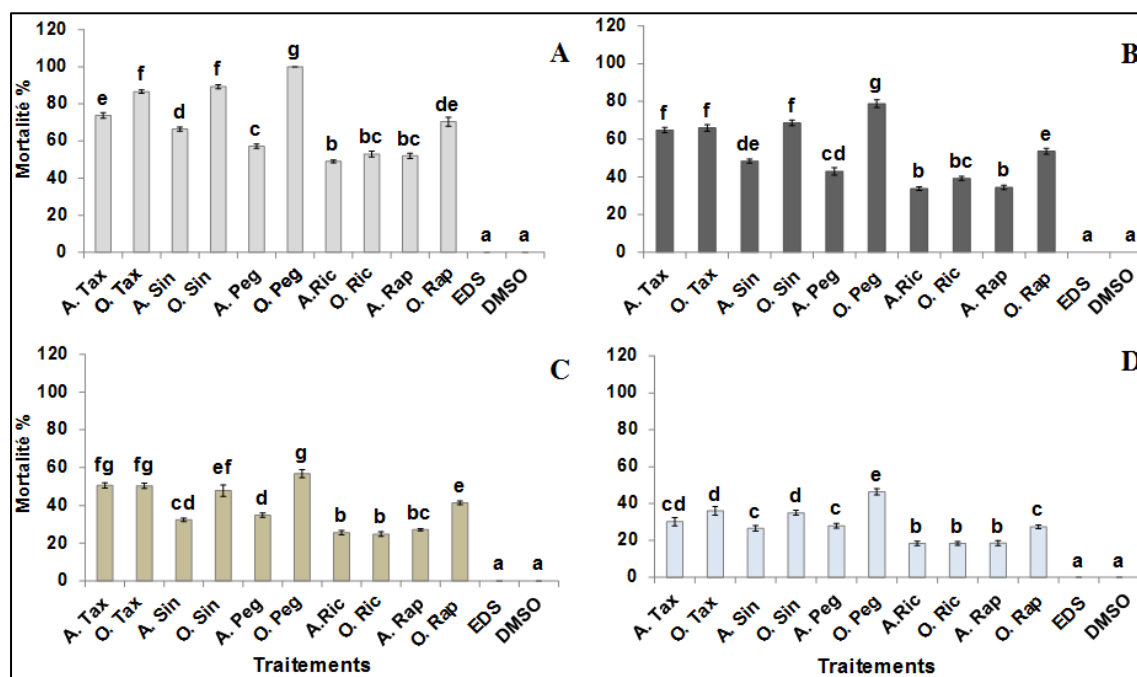


Figure 11. Effet de deux extraits aqueux (A) et organiques (O) de cinq plantes à différentes concentrations (A : 80, B : 60, C : 50, et D : 40 %) sur la mortalité des juvéniles de *Meloidogyne incognita* après 32 h. Tax : *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin : *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*, EDS : eau distillée stérile et DMSO : diméthylsulfoxyde.

Chapitre III : Évaluation du potentiel nématicide des extraits de cinq plantes à l'égard des nématodes à galles.

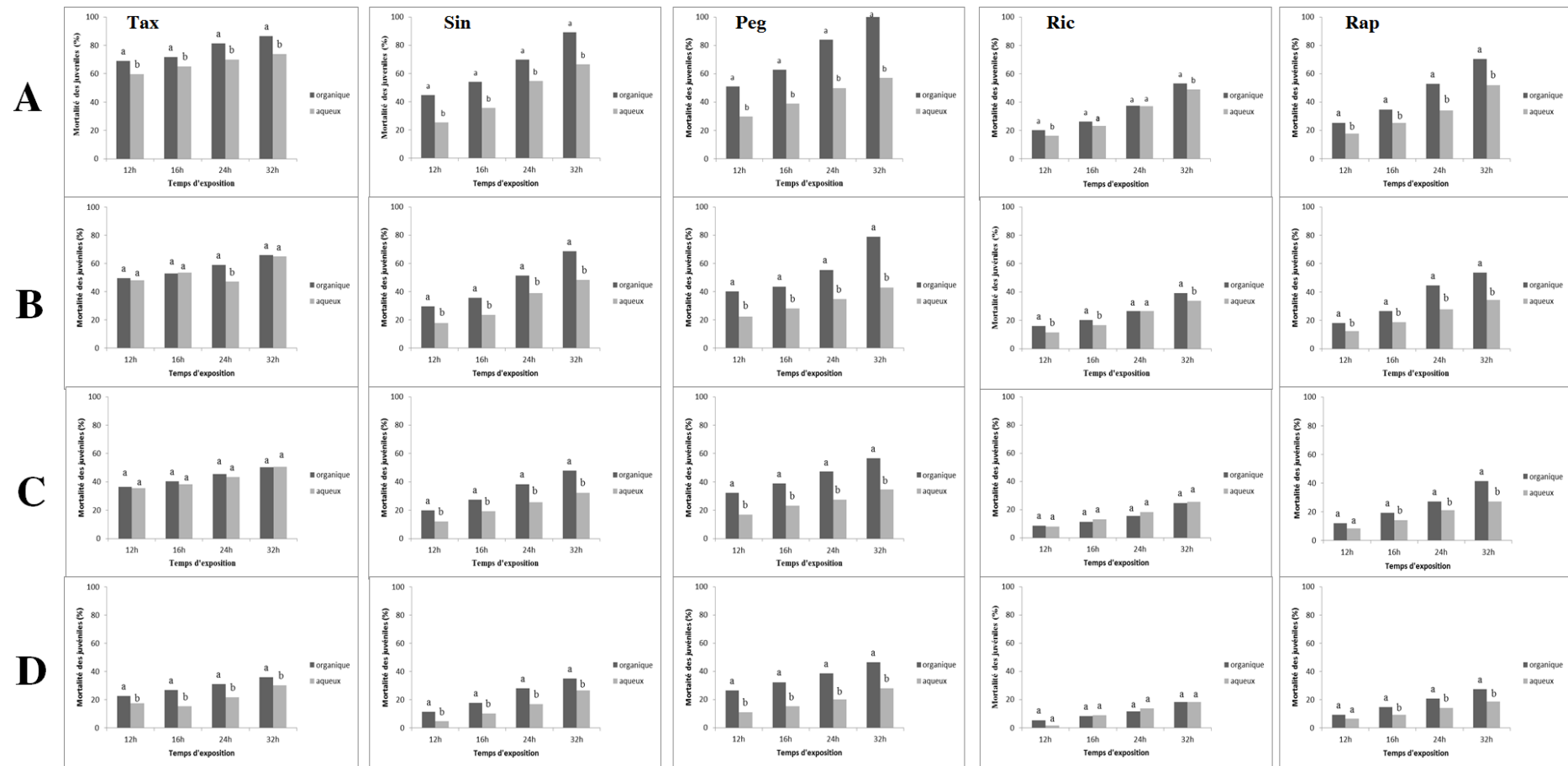


Figure 12. Effet de deux extraits aqueux et organiques de chaque plantes à différentes concentrations (A: 80, B: 60, C: 50, et D: 40 %) sur la mortalité des juvéniles de *Meloidogyne incognita* en fonction du temps. Tax : *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin : *S.arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*, EDS : eau distillée stérile et DMSO : diméthylsulfoxyde.

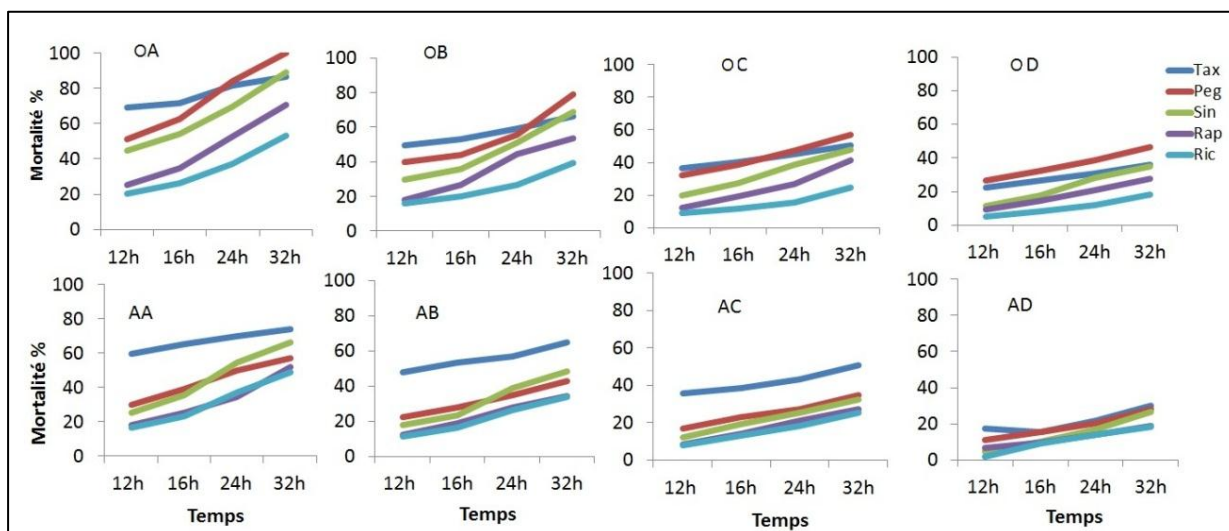


Figure 13. Dynamique de la mortalité des juvéniles traités par les extraits aqueux (A) et organiques (O) de cinq plantes à différentes concentrations (A : 80, B : 60, C : 50, et D : 40%) pendant les temps d'exposition. Tax: *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin : *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*.

Les résultats présentés dans le **tableau 10** et la **figure 14** montrent que les valeurs de DL_{50} calculées pour le temps d'exposition de 32 heures sont comprises entre 0,43 ml/ml et 0,83 ml/ml respectivement pour l'extrait organique de *T. baccata* et de l'extrait aqueux de *R. communis*, la DL_{50} la plus élevée de tous les extraits organiques (0,75 ml/ml) est enregistrée chez le *R. communis* et la DL_{50} la plus faible de tous les extraits aqueux (0,51 ml/ml) a été obtenue par l'extrait de *T. baccata*.

Tableau 10. Dose létale 50 (DL50) des extraits aqueux et organiques causant la mortalité des J2s de *Meloidogyne incognita* après 32 h de traitement.

Espèces	Extrait organique		Extrait aqueux	
	DL ₅₀ (ml/ml d'eau)	Pente	DL ₅₀ (ml/ml d'eau)	Pente
<i>T. baccata</i>	0,43	$y = 4,9306 x - 8,2421$	0,51	$y = 3,8489x - 5,4401$
<i>P. harmala</i>	0,44	$y = 10,64 x - 23,221$	0,69	$y = 3,4938x - 4,908$
<i>S. arvensis</i>	0,48	$y = 5,5311 x - 9,8702$	0,62	$y = 3,6387x - 5,1658$
<i>R. raphanistrum</i>	0,57	$y = 3,7723 x - 5,4048$	0,78	$y = 3,1408x - 4,0865$
<i>R. communis</i>	0,75	$y = 3,4586 x - 4,9463$	0,83	$y = 2,9389x - 3,5748$

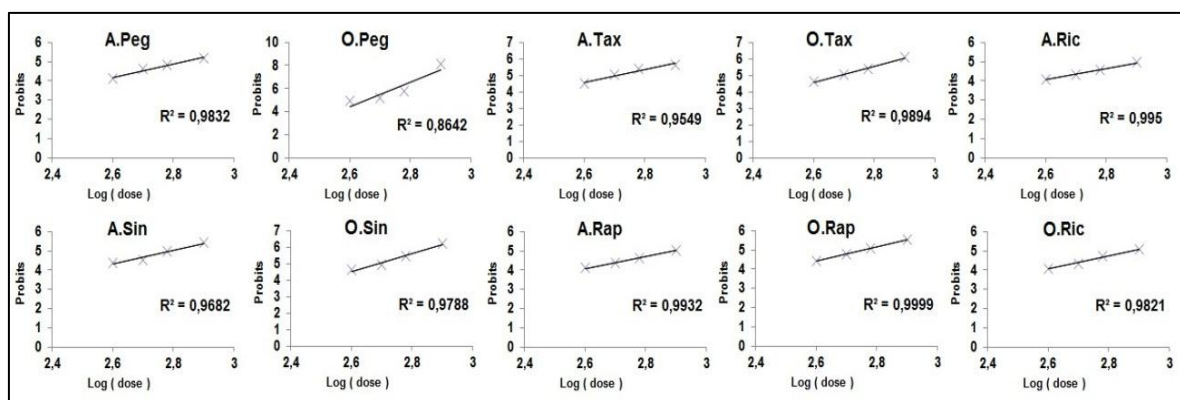


Figure 14. Droite de régression des probits aux différentes concentrations utilisées des extraits aqueux (A) et organique (O) de *S. arvensis* (Sin), *P. harmala* (peg), *T. baccata* (Tax), *R.communis* (Ric), et *R. raphanistrum* (Rap) sur des juvéniles de *Meloidogyne incognita* après 32 h de traitement.

2.1.2. Effet des extraits de plante (aqueux et organiques) sur l'éclosion des œufs de *M. incognita*

À la fin du test (12 jours), l'analyse de la variance à trois facteurs (plante, types d'extrait et concentration) a montré un effet très hautement significatif ($P = 0.000053$) des deux types (organique ou aqueux) d'extraits des 5 plantes testées (*P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T.*

baccata, *S. arvensis* et *R. communis*) à différentes concentrations sur les œufs de *M. incognita*.

Le taux d'inhibition d'éclosion des œufs varie entre 47.2 % (extrait aqueux de *R. communis* à la concentration de 40 %) et 85.2 % (extrait organique de *S. arvensis* à la concentration de 80 %), ce dernier est suivi par les extraits organiques de *T. baccata* et de *P. harmala* respectivement à la même dose avec un taux de 84.2 et de 81 %. Le pourcentage d'inhibition d'éclosion des œufs a augmenté avec l'augmentation de la concentration des extraits (**Figure 15**). Les extraits organiques des cinq plantes ont montré une meilleure efficacité que leurs extraits aqueux dans les quatre concentrations à l'exception de l'extrait de *P. harmal*, de *R. raphanistrum* à la concentration 60 % et de l'extrait de *R. raphanistrum* à la concentration 40 %.

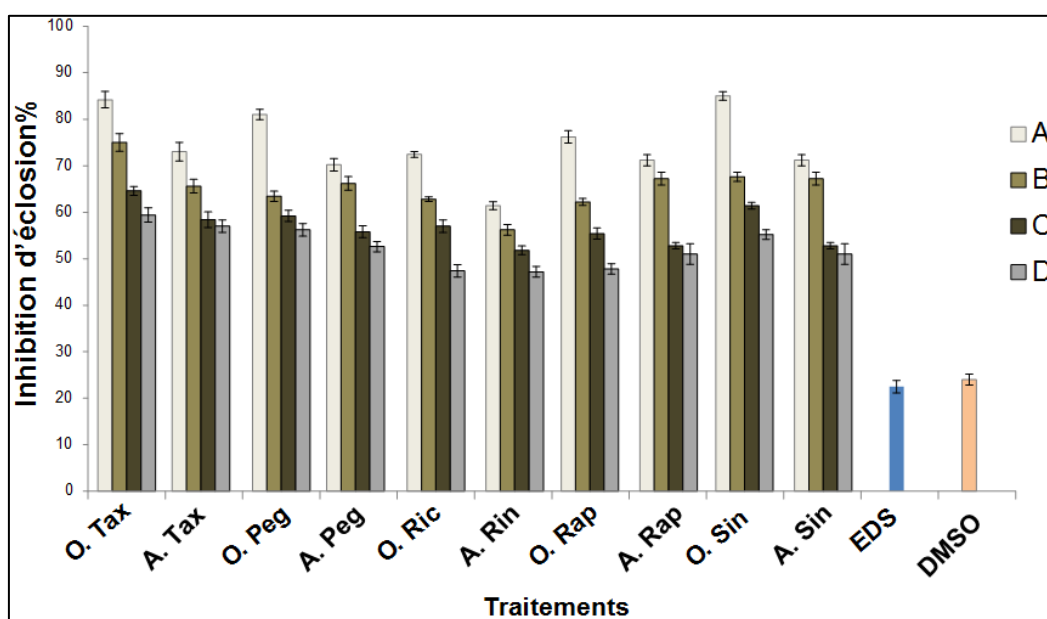


Figure 15. Effet des extraits ; aqueux (A) et organique (O) de cinq plantes à différents concentrations (A: 80, B: 60, C: 50 et D: 40 %) sur l'éclosion des œufs de *Meloidogyne incognita* après 12 jours d'incubation, Tax : *T. baccata*, Peg : *P. harmala*, Sin: *S. arvensis*, Rap : *R. raphanistrum*, Ric : *R. communis*, EDS : eau distillée stérile et DMSO : Diméthylsulfoxyde.

2.2. Test *in-vivo*

2.2.1. Effet des extraits organiques de plantes sur le taux d'infestation des racines de tomate par *M. incognita*

À la fin du test (après 4 semaines de suivi), les racines des plants de tomates inoculées avec des J2s de *M. incognita* et traitées avec les 3 extraits de plantes sélectionnés (*S. arvensis*, *P. harmala*, *T.baccata*) ont présenté des symptômes d'attaque de *M. incognita* (galles) avec différents degrés d'infestation. Les résultats présentés dans le **tableau 11** montrent les différents paramètres estimés de la reproduction des J2s de *M. incognita* ainsi que le poids sec de la partie aérienne et de la partie racinaire des plants de tomate. L'indice de galle estimé a été compris entre 3.5 et 5.5 chez les racines de tomates traitées avec les différents extraits. Les trois extraits organiques de *T. baccata*, *S. arvensis* et *P. harmala* à différentes doses ont un effet plus ou moins proche sur la réduction du taux l'infestation (Indice de galle) des racines par les J2s, à l'exception de l'extrait *P. harmala* à la dose de 3 ml/20 ml de l'eau soit 3 ml/pot qui a causé une réduction remarquable d'indice de galle (3), alors qu'il se classe au deuxième rang pour la réduction du nombre de J2s après l'extrait de *T. baccata*. Les deux témoins négatif et positif respectivement utilisés pour confirmer l'agressivité des J2s ont donné un indice de galle de 0 et 6. Le nombre de galles sur les racines infestées a été proportionnellement identique à celui de l'indice de galle qui a été déterminé sur les racines.

L'analyse de variance à deux facteurs (extraits de plantes et doses) a montré deux effets sur les paramètres de reproduction de *M. incognita* : un effet significatif et un effet hautement significatif (**Tableau 11**). Les masses d'œufs comptées pour évaluer le potentiel de reproduction des femelles ont donné une idée sur le pouvoir de ponte des femelles et la maturation des œufs. Les deux extraits de *T. baccata* et *P. harmala* respectivement à la dose 0.75 ml / 20 ml d'eau soit 0.75 ml/pot n'ont pas été différents du témoin positif en ce qui concerne le paramètre ; nombre des masses d'œuf avec une moyenne de 164 et 164.16.

Les extraits *P. harmala* et *S. arvensis* respectivement à la dose 3ml/pot ont présentés une meilleure réduction de nombre des masses d'œuf avec une moyenne de 68 et 72. Toutes les concentrations des trois extraits ont été différentes du témoin positif concernant le paramètre du le nombre de J2s, le meilleur extrait ayant inhibé l'éclosion des œufs de *M. incognita* récupéré des racines traitées à la concentration 3 ml/20 ml est l'extrait organique de *T. baccata* (2682 J2s) suivie par les extraits de *S. arvensis* (3500 J2s) et de *P. harmala* (3140 J2s) à la même concentration.

Les paramètres de croissance (poids sec de la partie aérienne et des racines) ont révélé aussi deux effets: un effet significatif et l'autre non significatif (**Tableau 11**). Les plants de tomate traités avec les trois extraits organiques et préalablement inoculés avec les juvéniles ont montré des vigueur différentes (**Figure 16**) cette vigueur augmente avec l'augmentation de la concentration, la meilleur vigueur est marquée chez les plants traités avec l'extrait organique de *T. baccata* (**Figure 17**). L'efficacité des extraits organiques des 3 plantes augmente avec l'augmentation de la concentration, mais elle était différente d'un paramètre à l'autre.

Chapitre III : Évaluation du potentiel nématicide des extraits de cinq plantes à l'égard des nématodes à galles.

Tableau 11. Effet des extraits organiques de *S. arvensis*, *P. harmala* et *T. baccata* appliqués dans le sol sur la reproduction de *M. incognita* et le poids sec des plantules de tomates sous-serre.

Extraits organiques	Doses (ml/pot)	Indice de galles	Nombre de galles	Nombre de masse d'œufs	Nombre de J2s	Poids sec de la partie aérienne	Poids sec des racines
Extrait de <i>S. arvensis</i>	3	4,5±0,22 bcd	121,66±5,23 bc	72,50±5,65 b	3500,33±231,45 bc	7,10±0,46 cde	2,09±0,26 a
	1,5	5,0±0,25 cde	128,33±4,93 c	97,00±11,30 bce	3687,33±238,61 cd	6,01±0,47 bcd	2,12±0,20 a
	0,75	5,66±0,21 de	146,83±12,07 cd	104,5±4,89 cef	4416,83±263,12 d	4,76±0,60 b	1,24±0,15 a
Extrait de <i>T. baccata</i>	3	4,00±0,25 bc	125,33±8,08 bc	87,33±3,30 bc	2682,50±151,36 b	7,54±0,51 de	1,53±0,31 a
	1,5	4,500±0,22 bcd	176,00±5,70 de	129,83±12,12 f	3723,50±205,96 cd	6,55±0,54 bcde	1,21±0,08 a
	0,75	4,83±0,30 cd	190,33±9,85 e	164,00±11,93 g	4390,00±205,47 d	5,23±0,34 bc	1,07±0,15 a
Extrait de <i>P. harmala</i>	3	3,50±0,22 b	86,83±4,60 b	68,16±5,28 b	3140,50±73,78 bc	6,87±0,58 bcde	1,38±0,10 a
	1,5	4,83±0,30 cd	144,66±5,94 cd	121,00±5,5ef	4017,0±0177,32 cd	6,54±0,56 bcde	1,37±0,19 a
	0,75	5,50±0,22 de	160,33±12,78 cde	164,16±3,09 g	4437,16±178,38 d	5,45±0,64 bcd	1,76±0,11 a
Témoin positif (Inoculum)	/	6,16±0,40 e	244,66±10,84 f	178,16±4,25 g	7319,66±197,74 e	1,24±0,15 a	1,32±0,25 a
Témoin négatif	/	00±00 a	00±00 a	00±00 a	00±00 a	8,21±0,16 e	4,28±0,25 b
Valeur de P		P=0,01	P=4,4 .10 ⁻⁵	P=3,6 .10 ⁻⁷	P=9 .10 ⁻⁶	P=0,13	P=0,15
Moyennes avec les différentes lettres sont significativement différents selon le test de Tukey (P≤ 0,05). Les valeurs avec ± représentent les erreurs standards.							

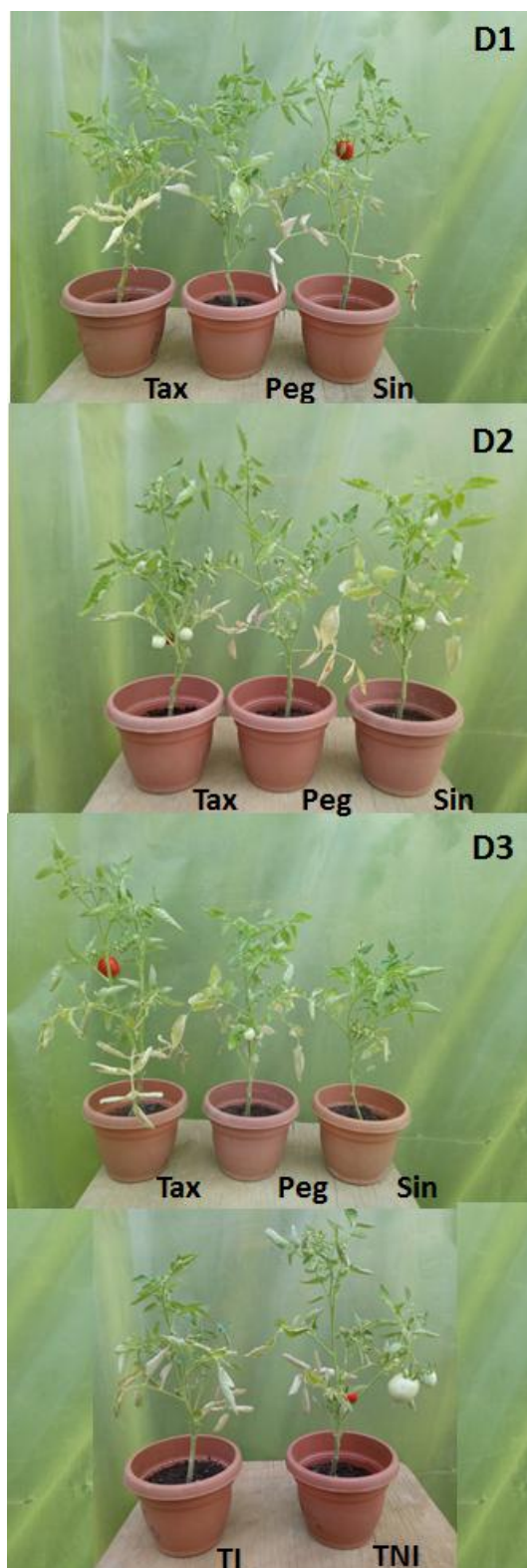


Figure 16. Aspect des plantules de tomate traitées avec les trois extraits organiques de *T. baccata* (Tax), *P. harmala* (Peg) et *S. arvensis* (Sin) et inoculées préalablement avec les juvéniles de *M. incognita*, TI : témoin inoculé, TNI: témoin non inoculé.

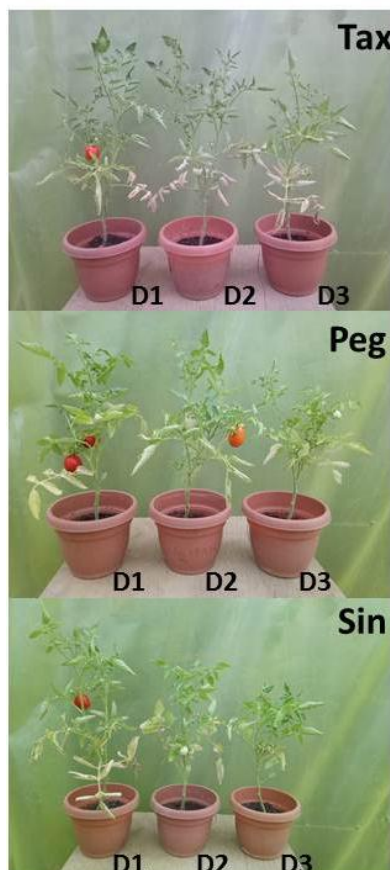


Figure 17. Aspect des plantules de tomate traitées avec les trois extraits organiques de *T. baccata* (Tax), *P. harmala* (Peg) et *S. arvensis* (Sin) et inoculées préalablement avec les juvéniles de *M. incognita* montrant la relation dose (D)-vigueur (D1 : 3 ml, D2 : 1.5 ml, D3 : 0.75 ml).

IV. Discussion

La présente étude a été menée dans le but d'évaluer le potentiel nématicide de cinq espèces végétales (*Peganum harmala*, *Raphanus raphanistrum*, *Taxus baccata*, *Sinapis arvensis* et *Ricinus communis*) avec deux types d'extrait (aqueux et organique), quatre concentrations (80, 60, 50 et 40 %) et quatre temps d'exposition (12, 16, 24, 32 h) sur la mortalité des juvéniles et sur l'inhibition de l'éclosion des œufs dans des conditions de laboratoire. Trois extraits organiques (*P. harmala*, *T. baccata* et *S. arvensis*) ont été sélectionnés pour évaluer leur potentiel nématicide sur les paramètres d'infestations (indice de galle, nombre de galles) et de reproductions (nombre de masses d'œufs, nombre de larves) de *Meloidogyne incognita* sur les racines des plants de tomates préalablement inoculés sous-serre.

Plusieurs espèces végétales ont été considérées et étudiées comme un potentiel de lutte contre *Meloidogyne* spp. et ont été proposées comme nématicides. Ce fut le cas de *Artemisia*

vulgaris L., *Azadirachta indica* A. Jass, *Ricinus communis* L., *Nicotiana tabacum* L., *Syzygium aromaticum* L., *Piper betle* L., *Capsicum annuum* L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Parkia biglobosa* (Jacq.), *Datura stramonium* L., *Datura innoxia* Mill. (Costa et al., 2003 ; Adegbite & Adesian, 2005 ; Wiratno et al., 2009 ; Bawa et al., 2014 ; Babaali et al., 2017).

Dans notre étude, les extraits de plantes testés ont montré un effet positif sur la mortalité des juvéniles et sur l'éclosion des œufs (*in-vitro*), ce qui est confirmé par l'expérience de Rich et al., (1989) ; Hassan et al., (2013) ; Curto et al., (2015), qui ont utilisé l'extrait des graines de *Ricinus communis*, de *Peganum harmala* et de trois espèces de brassicacées (*Eruca sativa*, *Raphanus sativus* var. *oleiformis*, *Reseda luteola*) sur *Meloidogyne* spp. et ils les ont trouvés efficaces.

La mortalité des juvéniles et l'inhibition d'éclosion des œufs ont augmenté avec l'augmentation de la concentration et de la durée d'exposition, ce résultat est en accord avec les résultats de Adegbite & Adesian (2005) ; Chaudhary et al., (2013) ; Kepenekci et al., (2016).

La dynamique de la mortalité des juvéniles traités par l'extrait aqueux et organique des cinq plantes est différente selon les différentes concentrations, ce résultat peut être expliqué par la différence de la teneur des composants biochimiques de la plante dans chaque concentration.

Nos résultats ont montré que les extraits aqueux et organiques de la mêmes plantes ne donnent pas le même effet (efficacité), cela peut-être expliquer par la différence de la composition biochimique de chaque type d'extrait, cette différence de composition est le résultat de la solubilité des composants dans chaque solvant (méthanol ou eau). Les extraits aqueux et organiques de la mêmes plantes présentent des activités différentes, il n'existe pas de règles communes à ce sujet, mais dans la plupart des cas, les extraits organiques ont une activité identique ou supérieure à ceux des extraits aqueux (Olano et al., 1996). Nos résultats ont montré que les extraits organiques de *P. harmala*, de *S. arvensis* et de *R. raphanistrum* ont une meilleure efficacité que l'extrait aqueux de la même espèce sur la mortalité des juvéniles à la plus part des concentrations et durées d'exposition et même sur l'inhibition d'éclosion des œufs, ce qui est en accord avec l'effet rapporté dans des études précédentes de Chaudhary et al. (2013) ; Babaali et al. (2017).

Les trois extraits organiques des trois plantes sélectionnées pour l'essai *in-vivo* ont montré une réduction des paramètres d'infestation de *Meloidogyne incognita* surtout à la concentration la plus élevée, ce résultat est en correspondance avec les résultats de Khan, et

al. (2019), lorsqu'ils ont testé *Artemisia elegantissima* et *Artemisia incisa* contre *Meloidogyne incognita* et ils l'ont trouvé efficace.

Le nombre de J2s estimé à partir du test *in-vivo* confirme l'activité ovicide des extraits des trois plantes *in-vitro*, en comparant le nombre de masse d'œufs par racine multiplié par 500 œufs (moyenne estimée dans une masse d'œuf par rapport au nombre de juvéniles issues du même nombre de masses d'œufs), ainsi que le nombre de juvéniles issues des galles traitées est significativement différent par rapport au témoin non traité (Agrios, 2005).

L'augmentation observée du poids sec de la partie aérienne des plantules de tomate inoculées par J2s et cultivées dans les sols traités par rapport aux plantules de tomate inoculées par J2s et cultivées dans les sols non traités peut être attribuée à l'efficacité des extraits de plantes contre les *M. incognita*, ce résultat a été observé dans l'expérimentation de Oka & Pivonia (2010), lorsqu'ils ont traité les plantules de tomate (cultivées dans un sol infesté par *M. javanica*) avec des composés d'ammonium.

Les métabolites secondaires des plantes sont considérés comme outils de protection des cultures et ont été évalués par l'observation de leurs activités biologiques lors de leur utilisation dans les pratiques traditionnelles et éventuellement par leur identification, ainsi que par leur criblage systématique de familles botaniques.

L'activité nématicide a été évaluée dans plusieurs travaux résumés par Nikoletta et *al.* (2012), dont une large gamme de familles chimiques (aldéhydes, cétones, alcaloïdes, glycosides, glucosinolates et isothiocyanates, limonoïdes, quassinoïdes et saponines, Acides organiques, Pipéramides, polythiényles, terpènes) d'origine végétale ont été testées efficaces contre les nématodes phytoparasites.

Les glucosinolates (GSLs) sont parmi les familles chimiques les plus utilisées comme alternative aux produits chimiques contre plusieurs nématodes phytoparasite. (Dutta et *al.*, 2019). Après l'endommagement du tissu végétal, les GSLs stockés dans les vacuoles sont hydrolysés à travers l'enzyme myrosinase), puis convertis en isothiocyanates toxiques (ITCs) (Jeschke et *al.*, 2018). Ces derniers ont révélés une efficacité contre les *Meloidogyne* spp (Wu et *al.*, 2011 ; Lazzeri et *al.*, 2009).

Les alcaloïdes, ce sont des molécules qui sont présentes dans plusieurs familles botaniques et qui ont fait objet de plusieurs recherches pour l'intérêt de leurs activités biologiques. Ntalli & Caboni (2012) a cité plusieurs travaux qui consiste à l'évaluation des alcaloïdes sur les espèces de nématodes et qui ont donnés des résultats remarquables dans la suppression des juvéniles *in vitro* et *in vivo* notamment les *Meloidogyne* spp.

Dans le **tableau 11**, les différentes molécules présentes dans les espèces choisies pour ce travail.

Tableau 11. Molécules à effet nématicide présentes dans les espèces choisies.

Familles chimiques	Molécules
Glucosinolates	Isothiocyanate
Alcaloïdes	Harmine
	Harmaline
	Sinapine
	Taxine A
	Taxine B
	ricinine
	N-demethylricinine

L'extrait organique de *Peganum harmala* à la dose la plus élevée a montré le meilleur effet sur la mortalité des juvéniles *in-vitro* et sur l'indice de galles, nombre de galles et le nombre de masse d'œufs *in-vivo*, cela peut être expliqué par la présence des substances à potentiel nématicides illustré dans des alcaloïdes, notamment la carboline en tant qu'harmine, l'harmaline, l'harmalol, l'harmol et l'harman et les quinazolines comme vaccin et la vasicinone (El-Hassan et *al.*, 2013 ; Saeed & Shawkat, 2014).

L'extrait organique de *S. arvensis* à la dose la plus élevée a engendré l'inhibition la plus élevée de l'éclosion des œufs et il s'est met à la deuxième position pour la mortalité des juvéniles, ce résultat est en relation direct avec la composition biochimique de l'espèce, cette dernière est connu par des substances à activité biologiques dont trente sont identifiés par (Al-Rubaye et *al.*, 2017).

D'après nos résultats, l'extrait de *T. bacata* est montré efficace sur la mortalité des juvéniles et sur l'éclosion d'œufs et même sur les paramètres d'infestation et de reproduction de *M. incognita*, cet effet est peut-être dû aux composants biochimiques libérés dans l'extrait tel que l'alcaloïde taxol (taxane) (Iszkuło et *al.*, 2013).

Les extraits de *Raphanus raphanistrum* et de *Ricinus communis* ont montré des effets modérés sur la mortalité des juvéniles et sur l'éclosion d'œufs par rapport aux effets causés par les autres extraits (*Peganum harmala*, *Taxus baccata* et *S. arvensis*). Ce résultat est en accord avec le résultat de Jbilou et al. (2008), lorsque ils ont testé sept espèces végétales (*Centaurium erythraea*, *Peganum harmala*, *Ajuga iva*, *Aristolochia baetica*, *Pteridium aquilinum* et *Raphanus raphanistrum*) sur le développement larvaire (poids des larves, mortalité larvaire, période larvaire, l'émergence des adultes, nombre de F1 adultes) de *Tribolium castaneum*, ils ont trouvé que *Raphanus raphanistrum* est parmi les extraits les moins efficaces à l'égard de *Tribolium castaneum*.

Les effets causés par les extraits de plante et la différence d'effet de chaque plante sur chaque test et paramètre peuvent s'expliquer par la présence de substances toxiques libérées dans les extraits possédant différentes activités ; larvicide et ovicide, ces substances peuvent être des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines, des amides y compris le benzamide et les cétones (Adegbite & Adesian, 2005), à titre d'exemple : Les extraits organiques et aqueux de *R. communis* ayant un meilleur effet ovicide qu'un effet larvicide.

Les résultats obtenus montrent que les plantes testées ont une activité nématicide, par ailleurs leur potentiel biocide a été prouvé à maintes reprises :

- *Peganum harmala*, *Taxus baccata* et *Ricinus communis* ont toujours été connues pour leurs activités biologiques (médicinales, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, insecticides) (Nenaah, 2010 ; Behidj-Benyounes et al., 2014 ; Bhakta & Das, 2015 ; Wilson & Hooser, 2018).

- *Peganum harmala* a été connue par ses activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes, antidiabétiques, antitumorales, antileishmaniennes, insecticides et cytotoxiques (Asgarpanah & Ramezanloo, 2012). Dans l'expérimentation de Abbasipour et al. (2010), ils ont montré que l'extrait de l'harmal a une forte activité insecticide contre le *Plutella xylostella* en recommandant son utilisation biologique pour lutter contre *P. xylostella*. Selon Abbassi et al. (2003), l'extrait de *P. harmala* a un effet insecticide sur criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk).

- *Taxus baccata* a un large éventail d'activités biologiques, notamment analgésique, antipaludéen, antirhumatismal, sédatif, antispasmodique, aphrodisiaque, anti-inflammatoire et antiasthmatique (Dutta et al., 2010). Riffi et al. (2019) ont trouvé que l'extrait obtenu à partir des feuilles de *Taxus baccata* a un effet insecticide très important sur *Sitophilus oryzae*.

- L'énorme variété des substances biochimiques de *S. arvensis* lui offre des activités biologiques ; antioxydant, antibactérienne (Rad et al., 2013).
- Jbilou et al. (2006 ; 2008) ont trouvé que *Raphanus raphanistrum* a un effet insecticide à l'égard de *Tribolium castaneum*.
- Selon Upasani et al. (2003), *R communis* a une excellente activité insecticide grâce au flavonol (flavonoïdes), Ce dernier a un effet ovicide et un effet dissuasif sur la ponte de *Callosobruchus chinensis*. Selon l'étude de Ramos-López et al. (2010) l'huile de ricin et la ricinine sont des principes actifs de *R. communis* qui agissent contre *Spodoptera frugiperda*, ces composants ont une activité insecticide et insectistatique.

Malgré les avantages (moins dangereux, décomposition assez rapide, efficacité ...) d'utilisation des plantes pesticides, ils sont très peu utilisés par les agricultures. En effet, le temps nécessaire pour préparer les extraits est souvent considéré comme trop long, le nombre de traitements requis trop important et la spécificité de ces extraits forment quelques-unes des raisons qui n'encouragent pas leur utilisation par les agriculteurs (Adékambi et al., 2010). En matière d'efficacité, la lenteur de leurs effets, leur faible rémanence et le spectre d'action très réduit, comparé à celui des produits de synthèse, sont souvent considérés comme un inconvénient par les producteurs (Adékambi et al., 2010 ; Tounou et al., 2011). Ces produits sont généralement produits par des petites unités de production ou des associations locales qui les fabriquent en très faibles quantités, ce qui limite leur disponibilité. En effet, ces petites unités de transformation ne disposent souvent pas d'assez de ressources matérielles et financières pour pouvoir rentabiliser leur activité. Lorsqu'ils sont vendus dans le commerce, ces extraits ou formulations coutent relativement plus chers que les pesticides de synthèse (James et al., 2010 ; Adétonah et al., 2011). En Afrique, la législation sur l'homologation, la réglementation et la commercialisation des biopesticides d'origine végétale (toutes formulations à base de substances actives d'origine végétale, destinées à la protection des produits végétaux) reste encore très embryonnaire. L'homologation des biopesticides dans les pays africains reste un défi, car leur utilisation doit faire l'objet d'une évaluation identique à celle des pesticides de synthèse. Cette démarche est inaccessible pour une petite unité de fabrication locale. Les questions de la variabilité de l'efficacité des extraits de plantes et celle du prix au producteur, qui doit rester abordable, sont également deux aspects à travailler (Yarou et al., 2017).

Conclusion générale et perspectives

Un bon diagnostic constitue une étape primordiale pour établir une bonne gestion, l'identification des nématodes à galles par une analyse moléculaire est la meilleure méthode pour déterminer les espèces.

Les extraits de plantes sont considérés comme des moyens de biocontrôle prometteurs pour la régulation et la maîtrise de la densité croissante des nématodes à galle en milieu agricole.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de notre travail visant la détermination des espèces de nématodes à galles et leur distribution dans le Littoral algérois ainsi que l'évaluation des extraits (aqueux et organiques) de cinq plantes (*Taxus baccata*, *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*) à potentiel nématicide.

Des prospections ont été réalisées sur le Littorals algérois afin de déterminer la distribution des nématodes à galles dans le littoral algérois et d'estimer leurs degrés d'infestation ainsi que d'identifier les espèces de *Meloidogyne* spp. existant par une analyse moléculaire.

Plusieurs degrés d'infestation ont été observés sur les racines échantillonnées de différentes stations du Littorals algérois qui allaient de 0 jusqu'à 9.

L'identification moléculaire des populations de nématode à galles a montré la présence des espèces tropicales dans les stations infestées et l'absence de *M. javanica*.

L'évaluation du potentiel nématicide a porté sur les extraits de plantes aqueux et organiques à l'égard des juvéniles, des œufs et les juvéniles infestant les racines de tomate.

L'extrait organique de *Peganum harmala* et de *Sinapis arvensis* se sont révélés les plus efficaces parmi les traitements testés.

D'après les recherches bibliographiques sur ces cinq plantes (*Taxus baccata*, *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*) en tant qu'outil potentiel de biocontrôle contre nématode à galle et proposées comme nématicides, il s'agit d'une première utilisation des feuilles de ces plantes locales récoltées de différentes régions d'Algérie.

Sur la base des résultats d'évaluation des cinq extraits de plantes (*Taxus baccata*, *Raphanus raphanistrum*, *Sinapis arvensis*, *Peganum harmala*, *Ricinus communis*) sur la mortalité des juvéniles, l'éclosion des œufs et le degré d'infestation des racines de tomate préalablement inoculé par les juvéniles, on peut conclure que les cinq extraits de plantes

pourraient être des outils de biocontrôle prometteurs pour réguler et contrôler la densité croissante des nématodes à galle dans les agroécosystèmes.

En conclusion, il serait intéressant, d'élargir le spectre des recherches pour mettre en évidence :

- L'identification de toutes les espèces de nématodes à galles existant dans le Littoral algérois.
- La distribution des de nématodes à galles dans le Littorals algérois.
- Toute la composition biochimique active de ces plantes et leurs effets sur certains bio-agresseurs.
- Purification des extraits végétaux et l'évaluation des métabolites purs.

Références bibliographiques

- 1. Abad P., Gouzy J., Aury J. M., Castagnone-Sereno P., Danchin E. G., Deleury E., Wincker P., 2008.** Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature biotechnology*, **26(8)**: 909-915.
- 2. Abbassi K., Mergaoui L., Atay-Kadiri Z., Stambouli A., Ghaout S. 2003.** Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775). *Zoologica baetica*, **13(14)** : 203-217.
- 3. Abbasi W.M., Ahmed N.Z.N., Shaukat S.S., 2008.** Effect of *Barleria acanthoides* Vahl. on root-knot nematode infection and growth of infected okra and brinjal plants. *Pakistan Journal of Botany*, **40 (5)**: 2193-2198.
- 4. Abbasipour H., Mahmoudvand M., Rastegar F., Basij M., 2010.** Insecticidal activity of *Peganum harmala* seed extract against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Bulletin of Insectology*, **63(2)** : 259-263.
- 5. Abbassi K., Mergaoui L., Kadiri Z.A., Stambouli A., Ghaout S., 2015.** Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775). *Zoologica Baetica*, **13(14)**: 203-217.
- 6. Adam M. A. M., Phillips M. S., Blok V. C., 2007.** Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically important species of root- knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *Plant pathology*, **56(1)** : 190-197.
- 7. Adékambi S.A., Adégbola P.Y., Arouna A., 2010.** Perception paysanne et adoption des biopesticides et/ou extraits botaniques en production maraichère au Bénin. *In : Contributed Paper Presented at the Joint 3rd African Association of Agricultural Economists (AAAE) and 48th Agricultural Economists Association of South Africa (AEASA) Conference, September 19-23, Cape Town, South Africa.*
- 8. Adétonah A. Koffi-Tessio E., Coulibaly O., Sessou E., Mensah G. A., 2011.** Perceptions et adoption des méthodes alternatives de lutte contre les insectes des cultures maraichères en zone urbaine et péri-urbaine au Bénin et au Ghana. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, **69**: 1-10.
- 9. Adegbite A.A., Adesiyon S.O., 2005.** Root Extracts of Plants to Control Root-Knot Nematode on Edible Soybean. *World Journal of Agricultural Sciences*, **1(1)**: 18-21.

- 10. Al-Rubaye A. F., Kadhim M.J., Hameed I.H., 2017.** Determination of Bioactive Chemical Composition of Methanolic Leaves Extract of *Sinapis arvensis* Using GC-MS Technique. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, **9(2)**: 163-178.
- 11. Andrés M.F., González-Coloma A., Sanz J., Burillo, J., Sainz, P., 2012.** Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews*, **11**: 371-390.
- 12. Antipolis S., in Djian-Caporalino, Caroline V. H., Arrufat, A., 2009.** Gestion des nématodes à galles: lutte conventionnelle et luttés alternatives. L’atout des plantes pièges. *Phytoma*, **624** : 21-25.
- 13. Asgarpanah J., Ramezanloo F., 2012.** Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L.. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6(22)**:1573-1580.
- 14. Asif M., Rehman B., Parihar K., Ganai, M. A., & Siddiqui, M. A., 2015.** Effect of various physico-chemical factors on the incidence of root knot nematode *Meloidogyne* spp. infesting tomato in District Aligarh (Uttar Pradesh) India. *Journal of Plant Sciences*, **10(6)**: 234-243.
- 15. Babaali D., Berrabah D.E., Serghine R., Hammache, M., Doumandji, S., 2016.** Comparative efficacy of two modes of applications of 1.3-Dichloropropene in the control of root-knot nematodes on two varieties of tomato, pepper and some weeds. *Advances Environmental Biology*, **10(11)**: 51-60.
- 16. Babaali D., Roeb J., Hammache M., Hallmann, J., 2017.** Nematicidal potential of aqueous and ethanol extracts gained from *Datura stramonium*, *Datura innoxia* and *Datura tatula* on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Plant Diseases Protection*, **124**: 339-348.
- 17. Bawa J.A., Mohammed I., Liadi S., 2014.** Nematicidal Effect of some Plants Extracts on Root-Knot Nematodes of Tomato. *World Journal Life Science Medical Research*, **3(3)**:81-87.
- 18. Behera S.K., Anukiran Sahu A., Das N., Kumari, A., 2020.** Effect of bio-fumigation on nematode population and nutrient status of soil in okra. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **8(2)**: 394-397.

- 19. Behidj-Benyounes N., Dahmene T., Alloiche N., Laddad A., 2014.** Phytochemical, Antibacterial and Antifungal Activities of Alkaloids Extracted from *Peganum harmala* (Linn.) Seeds of South of Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, **26(10)**: 2960-2964.
- 20. Bello A., López-Pérez J.A., Díaz-Viruliche L., Sanz R., Arias M., 1999.** Biofumigation and local resources as methyl bromide alternatives. In *Abstracts 3rd International Workshop "Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*, 7-10.
- 21. Berkeley M.J., 1855.** Vibrio forming cysts on the roots of cucumbers. *Gardener's Chronicle and Agricultural Gazette* **14**:220.
- 22. Bhakta S., Das S.K., 2015.** In praise of the medicinal plant *Ricinus communis* L.: a review. *Global Journal Research Medicinal Plants and Indigenous Medicine*, **4(5)**: 95-105.
- 23. Bliss C.I., 1934.** The method of probits. *Science*, **79**: 38-39.
- 24. Blok V.C., Jones J.T., Phillips M.S., Trudgill D. L., 2008.** Parasitism genes and host range disparities in biotrophic nematodes: the conundrum of polyphagy versus specialisation. *BioEssays*, **30 (3)**: 249-259.
- 25. Blok V.C., Phillips M.S., Fargette M., 1997.** Comparison of sequences from the ribosomal DNA intergenic region of *Meloidogyne mayaguensis* and other major tropical root-knot nematodes. *Journal of Nematology*, **29** : 16-22.
- 26. Carter, C.C. (Eds).** An advanced treatise on *Meloidogyne*, *Vol. I: biology and control*. Raleigh, North Carolina, USA, North Carolina State University and United States Agency for International Development, North Carolina State University Graphics, pp. 11-17.
- 27. Castagnone-Sereno P., Djian-Caporalino C., 2011.** Lutte contre les nématodes à galles en cultures maraîchères : des recherches pour promouvoir la durabilité des résistances variétales. *Innovations Agronomiques*, **15**: 55-64.
- 28. Castagnone-Sereno P., Esparrago G., Abad P., Leroy F., Bongiovanni M. 1995.** Satellite DNA as a target for PCR-specific detection of the plant-parasitic nematode *Meloidogyne hapla*. *Current Genetics*, **28(6)** : 566-570.
- 29. Cavelier A., 1976.** Cours phytopharmacie. Institut National Agronomique, EI-Harrach, Alger, 514p.

- 30. Cayrol J. C., Djian-Caporalino C., Panchaud-Mattei E., 1992.** La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites. *INRA*, **17**: 31-44.
- 31. Chan A. P., Crabtree J., Zhao Q., Lorenzi H., Orvis J., Puiu D., Rabinowicz P. D., 2010.** Draft genome sequence of the oilseed species *Ricinus communis*. *Nature biotechnology*, **28(9)**: 951-960.
- 32. Chaudhary K.K., Haile A., Ayresea Z.G., Semereab G., Weldegergish T., 2013.** Nematicidal activity of Eritrean weed plants against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. *Nematropica*, **43**: 207-215.
- 33. Chitwood D.J., 2002.** Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*, **40** : 221-249.
- 34. Copping L.G., Menn J.J., 2000.** Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, **56**:651-676.
- 35. Costa SDSR, Santos D.A., Ryan M.F., 2003.** Effect of *Artemisia vulgaris* Rhizome Extracts on Hatching, Mortality, and Plant Infectivity of *Meloidogyne megadora*. *Journal of Nematology*, **35(4)**: 437-442.
- 36. Curto G., Dallavalle E., Santi R., Casadei N., D'Avino L., Lazzeri L., 2015.** The potential of *Crotalaria juncea* L. as a summer green manure crop in comparison to *Brassicaceae* catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. *European Journal Plant Pathology*, **142**: 829-841.
- 37. Coyne D. L., Cortada L., Dalzell J. J., Claudius-Cole A. O., Haukeland S., Luambano N., Talwana H., 2018.** Plant-parasitic nematodes and food security in Sub-Saharan Africa. *Annual review of phytopathology*, **56** : 381-403.
- 38. Dahlin P., Hallmann J., 2020.** New Insights on the Role of Allyl Isothiocyanate in Controlling the Root Knot Nematode *Meloidogyne* hapla. *Plants*, **9(5)**: 603-616.
- 39. Dane Y., Mouhouche F., Canela-Garayoa R., Delpino-Rius A., 2015.** Phytochemical Analysis of Methanolic Extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (*Asteraceae*), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (*Cupressaceae*) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Biological Sciences*, **6**: 30-11.

- 40. Daneel M., Engelbrecht E., Fourie H., Ahuja, P., 2018.** The host status of *Brassicaceae* to *Meloidogyne* and their effects as cover and biofumigant crops on root-knot nematode populations associated with potato and tomato under South African field conditions. *Crop Protection*, **110**: 198-206.
- 41. Dawkins, H. J. S., Spencer, T. L., 1989.** The isolation of nucleic acid from nematodes requires an understanding of the parasite and its cuticular structure. *Parasitology Today*, **5(3)**: 73-76.
- 42. Decarvalho A. C., Kim H., Poisson L. M., Winn M. E., Mueller C., Cherba D., Verhaak R. G., 2018.** Discordant inheritance of chromosomal and extrachromosomal DNA elements contributes to dynamic disease evolution in glioblastoma. *Nature genetics*, **50(5)** : 708-717.
- 43. Devran Z., Söğüt M. A., 2009.** Distribution and identification of root-knot nematodes from Turkey. *Journal of Nematology*, **41(2)**: 128.
- 44. De Guiran G., Netscher C., 1970.** Les nematodes du genre *Meloidogynes*, parasites de cultures tropicales. *Cahier Orstom Série Biologie*, **11**: 151-185.
- 45. Djian-Caporalino C., Bourdy G., Cayrol J. C., 2008.** Plantes nématicides et plantes résistantes aux nématodes. *Biopesticides d'origine végétale: potentialités phytosanitaires*. C. Regnault-Roger et al, Editions Tec & doc, Lavoisier, Paris, 125-185.
- 46. Djian-Caporalino C., Védie H., Arrufa A., 2009.** Gestion des nematodes à galles : Lutte conventionnelle et lutte alternatives, L'atout des plantes pièges. *Phytoma*, **624**: 5-21.
- 47. Doucet R., 2013.** Les mauvaises herbes agricoles. 1ère Ed. Berger, Canada, 367 p.
- 48. Duke, S. O., 1990.** Natural pesticides from plants. In *Advances in new crops. Proceedings of the first national symposium'New crops: research, development, economics'*, Indianapolis, Indiana, USA, 23-26 October 1988. Timber Press. 511-517.
- 49. Dutta S., Mariappan G., Sarkar D., Sarkar, P., 2010.** Assessment of anti-inflammatory activity of *Taxus baccata* Linn. bark extract. *Ancient Science of Life*, **29(3)**, 19.
- 50. Dutta T.K., Khan M.R., Phani V., 2019.** Plant-parasitic nematode management via biofumigation using brassica and non-brassica plants: Current status and future prospects. *Current Plant Biology*, **17**: 17-32.

- 51. Elbadri A. G., Lee D.W., Park J.C., Yu H. B., Choo H. Y., 2008.** Evaluation of various plant extracts for their nematicidal efficacies against juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **11**: 99-102.
- 52. Elling A. A., 2013.** Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, **103**:1092-1102.
- 53. El-Hassan M., Zahra F., Mina I. H. L., 2013.** Anti-nematode effect assessment of *Peganum harmala* based-products against *Meloidogyne javanica* on melon. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, **3(5)**, 5-10.
- 54. Esbenshade P. R., Triantaphyllou A. C., 1990.** Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, **22(1)**: 1-10.
- 55. Esbenshade P. R., Triantaphyllou A. C., 1985.** Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of nematology*, **17(1)** : 1- 6.
- 56. Fogg G. E. 1950.** Biological flora of the British Isles. *Journal of Ecology*, **38**: 415-429.
- 57. Gharabadiyan F., Jamali S., Komeili H.R., 2013.** Determining of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) damage function for tomato cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, **58 (2)**:147-157.
- 58. Giannakou I.O., Karpouzas D.G., Prophetou-Athanasiadou D., 2004.** A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes. *Applied Soil Ecology*, **26**: 69-79.
- 59. Glare T., Caradus J., Gelernter W., Jackson T., Keyhani N., Köhl J., Stewart A., 2012.** Have biopesticides come of age? *Trends in Biotechnology*, **30**: 250-258.
- 60. Guenard D., Gueritte-Voegelein F., Potier P., 1993.** Taxol and taxotere: discovery, chemistry, and structure-activity relationships. *Accounts of Chemical Research*, **26**: 160-167.
- 61. Hague N. G. M., 1987.** Chemical control of nematodes. *Principals and Practices of Nematode Control in Crops*, 131-178.
- 62. Harris T. S., Sandall L. J., Powers T. O., 1990.** Identification of single *Meloidogyne* juveniles by polymerase chain reaction amplification of mitochondrial DNA. *Journal of Nematology*, **22(4)** : 518.

- 63. Hasterok R., Wolny E., Hosiawa M., Kowalczyk M., Kulak-Ksiazczyk S., Ksiazczyk T., Maluszynska J., 2006.** Comparative Analysis of rDNA distribution in chromosomes of various species of *Brassicaceae*. *Annals of Botany*, **97**: 205-216.
- 64. Hemlata P., Jyoti V., 2018.** Bio-Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *International Journal for Environmental Rehabilitation and Conservation*, **9(2)**: 60-63.
- 65. Herraiz T., González D., Ancín-Azpilicueta C., Arán V. J., Guillén H., 2010.** β -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and Chemical Toxicology*, **48(3)**, 839-845.
- 66. Hunt D. J., Handoo Z. A., 2009.** Taxonomy, identification and principal species. *Root-knot nematodes*, **1**: 55-88.
- 67. Hussey R.S., Barker K.R., 1973.** A Comparison methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease reporter*, **57**: 1025-1028.
- 68. Hussey R. S., 1985.** Host-parasite relationships and associated physiological changes.
- 69. Isman M. B., 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review Entomology*, **51**: 45-66.
- 70. Iszkulo G., Kosiński P., Hajnos M., 2013.** Sex influences the taxanes content in *Taxus baccata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, **35(1)**: 147-152.
- 71. James B., Baimey H., Goergen G., Sikirou R., Toko M., 2010.** Gestion intégrée des nuisibles en production maraichère : guide pour les agents de vulgarisation en Afrique de l'Ouest. Ibadan, Nigéria: IITA.
- 72. Janssen T., Karszen G., Verhaeven M., 2016.** Mitochondrial coding genome analysis of tropical root-knot nematodes (*Meloidogyne*) supports haplotype based diagnostics and reveals evidence of recent reticulate evolution. *Scientific reports*, **6(1)**: 1-13.
- 73. Javed N., Gowen S. R., Inam-ul-Haq M., Abdullah K., Shahina F., 2007.** Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. *Crop Protection*, **26(7)**, 911-916.

- 74. Jbilou R., Amri H., Bouayad N., Ghailani N., Ennabili A., Sayah F., 2008.** Insecticidal effects of extracts of seven plant species on larval development, α -amylase activity and offspring production of *Tribolium castaneum* (Herbst)(Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Bioresource technology*, **99(5)** : 959-964.
- 75. Jbilou R., Ennabili A., Sayah F. 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology*, **5(10)**.
- 76. Jena J., Gupta A.K., 2012.** *Ricinus communis* Linn: a phytopharmacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4(4)**: 25-29.
- 77. Jorge A. S., Cares J. E., Mattos V. S., Coyne D., Dos Santos M. F. A., Carneiro R. M. D. G., 2016.** First Report of *Meloidogyne izalcoensis* (Nematoda: Meloidogynidae) on Coffee, Cabbage, and Other Crops in Africa. *Plant Disease*, **100(10)** : 2173-2173.
- 78. Jeschke V., Burow M., 2018.** Glucosinolates (Herbst Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Bioresource technology*, **99(5)**: 959-964.
- 79. Kang S.S., Cordell A., Soejarto D.D., Fong H. H., 1985.** Alkaloids and flavonoids from *Ricinus communis*. *Journal of Natural Products*, **48 (1)**: 155-156.
- 80. Kartal M., Altun M.L., Kurucu S., 2003.** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L.. *Journal Pharmarmaceutical and Biomedical*, **31**: 263-269.
- 81. Kepenekçi İ., Erdoğan D., Erdoğan P., 2016.** Effects of some plant extracts on root-knot nematodes *in vitro* and *in vivo* conditions. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, **40 (1)**: 3-14.
- 82. Khalik K. N. A., 2012.** A numerical taxonomic study of the family *Zygophyllaceae* from Egypt. *Acta Botanica Brasilica*, **26** : 165-180.
- 83. Khan M.R., Jain R.K., Ghule T.M., Pal S., 2014.** Root knot Nematodes in India-a comprehensive monograph. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, 118 p.
- 84. Khan R., Naz I., Hussain S., Khan R. A. A., Ullah S., Rashid M. U., Siddique I., 2019.** Phytochemical management of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) kofoid and white

chitwood by *Artemisia* spp. in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Brazilian Journal of Biology*, **80(4)** : 829-838.

85. kim J.W., 2016. Biological control of the Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*): The development of a nematicide fertilizer using natural products. *Host Parasite Interaction*, **30806** :1-15.

86. Lakhani H.N., Patel S.V., Bodar N.P., Golakiya B. A., 2015. RAPD analysis of genetic diversity of castor bean (*Ricinus communis* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **4**: 696-703.

87. Lambert K., Bekal S., 2002. Introduction to plant-parasitic nematodes. *The plant Health instructor*, **10**: 1094-1218.

88. Lazzeri L., Curto G., Leoni O., Dallavalle E. 2004. Effects of glucosinolates and their enzymatic hydrolysis products via myrosinase on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52(22)** : 6703-6707.

89. Lazzeri L., Curto G., Dallavalle E., D'avino L., Malaguti L., Santi R., Patalano G., 2009. Nematicidal Efficacy of Biofumigation by Defatted Brassicaceae Meal for Control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. on a Full Field Zucchini Crop, *Journal of Sustainable Agriculture*, **33(3)**: 349-358.

90. Lehr P., 2010. Biopesticides the global market, Report code CHM029B, BBC Research. Accessible en ligne: <http://www.bccresearch.com/> consulté le 29/03/2019.

91. Mahmoudian M., Jalilpour H., Salehian P., 2002. Toxicity of *Peganum harmala*: Review and a Case Report. *Iranian journal of pharmacology & therapeutics*, **1(1)**:1-4.

92. Maldini M., Foddai M., Natella F., Petretto G. L., Rourke J. P., Chessa M., Pintore G., 2017. Identification and quantification of glucosinolates in different tissues of *Raphanus raphanistrum* by liquid chromatography tandem-mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, **61**: 20-27.

93. Mari M., Leoni O., Bernardi R., 2008. Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. *Postharvest Biology and Technology*, **47(1)** : 61-67.

- 94. Martin L., Thiébault S., 2010.** L'if (*Taxus baccata* L.): histoire et usage d'un arbre durant la Préhistoire récente. L'exemple du domaine alpin et circum-alpin. *Des hommes et des plantes: exploitation du milieu et gestion des ressources végétales de la Préhistoire à nos jours, Actes des XXXèmes rencontres internationales d'archéologie et d'histoire d'Antibes*, 1-20.
- 95. Mai W.F., 1985.** Plant-parasitic nematodes: their threat to agriculture. An advanced treatise on *Meloidogyne*. *Biology and control*, **1**: 11-17.
- 96. Mayad H., Ferji Z., Hassani I.L.M., 2013.** Anti-nematode Effect Assessment of *Peganum harmala* Based-Products Against *Meloidogyne javanica* on Melon. *Journal of Biological*, **3(5)**: 5-10.
- 97. Mayank M., 2009.** "Biology and Ecology of Wild Radish (*Raphanus raphanistrum*)" *All Dissertations*. 386.https://tigerprints.clemson.edu/all_dissertations/386. 13.03.2019.
- 98. McSorley R., Stansly P.A., Noling J.W., Obreza T. A., Conner J. M., 1998.** Impact of organic soil amendments and fumigation on plant–parasitic nematodes in a southwest Florida vegetable field. *Nematropica*, **27**: 181-189.
- 99. Meadows I., Averre C., Duncan H., Barker K., 2018.** Control of Root-Knot Nematodes in the Home Vegetable Garden. *State Extension Publications*, **420**: 1-1.
- 100. Mitkowski N.A., Abawi G.S., 2003.** Root-knot nematodes. *The Plant Health Instructor*, **10**: 1-1.
- 101. Moens M., Perry R. N., Starr J. L., 2009.** *Meloidogyne* species—a diverse group of novel and important plant parasites. *Root-knot nematodes*, **1**: 483.
- 102. Mohareb A. S. O., Kherallah I. E. A., Badawy M. E. I., Salem M. Z., Yousef H. A., 2017.** Chemical composition and activity of bark and leaf extracts of *Pinus halepensis* and *Olea europaea* grown in AL-Jabel AL-Akhdar region, Libya against some plant phytopathogens. *Journal of Applied Biotechnology Bioengineering*, **3**: 331-342.
- 103. Moloudizargari M., Mikaili P., Aghajanshakeri S., 2013.** Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacognosy Reviews*, **7(14)**: 199-212.

- 104. Mulligan G.A., Bailey L.G., 1975.** The biology of canadian weeds *Sinapis arvensis* L.. *Canadian Journal of Plant Sciences*, **55**: 171-183.
- 105. Natarajan N., Cork A., Boomathi N., Velavan S., Dhakshnamoorthy G., 2006.** Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, **25(11)**: 1210-1213.
- 106. Needham J.T. 1743.** XVI. A letter from Mr. Turbevil Needham, to the President; concerning certain chalky tubulous concretions, called malm; with some microscopical observations on the farina of the red lily, and of worms discovered in smutty corn. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, **42(471)**: 634-641.
- 107. Nenaah G., 2010.** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia*, **81**: 779-782.
- 108. Ng T. B., Liu F., Wang H. X., 2004.** The antioxidant effects of aqueous and organic extracts of *Panax quinquefolium*, *Panax notoginseng*, *Codonopsis pilosula*, *Pseudostellaria heterophylla* and *Glehnia littoralis*. *Journal of ethnopharmacology*, **93(2-3)**: 285-288.
- 109. Noel G.R. 1992.** History, distribution, and economics. Pages 1-3 in Riggs R.D., Wrather J.A., (éds.). *Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, É.-U.
- 110. Ntalli N. G., Caboni P., 2012.** Botanical nematicides in the mediterranean basin. *Phytochemistry reviews*, **11(4)**: 351-359.
- 111. Odeymi I.S., Aflami S.O., Daramol F.Y., 2013.** Evaluation of *Tithonia diversifolia* and *Chromolaena odorata* residues as potencial organic compost materials for the management of *Meloidogyne incognita* on Cowpea (*Vigna unguiculata* L. WALP). *Journal of Agriculture Sciences and Environmental*, **14**: 73-81.
- 112. Oka Y., Nacar S., Putievsky E., Ravid U., Yaniv Z., Spiegel Y., 2000.** Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components Against the Root-Knot Nematode. *Phytopatology*, **90(7)**: 710-715.
- 113. Oka Y., Pivonia S., 2002.** Use of ammonia-releug compounds for control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology*, **4(1)**: 65-71

- 114. Oka Y., Shapira N., Fine P., 2007.** Control of root-knot nematodes in organic farming systems by organic amendments and soil solarisation. *Crop Protection*, **26 (10)**:1556-1565.
- 115. Olano I., Alonso Paz E., Cerdeiras M.P., et al., 1996.** Screening of the Uruguayan medicinal plants for anti-microbial activity. Part II. *Journal of Ethnopharmacology*, **53** : 111-115.
- 116. Pagan C., Coyne D., Carneiro R., Kariuki G., Luambano N., Affokpon A., Williamson V. M., 2015.** Mitochondrial haplotype-based identification of ethanol-preserved root-knot nematodes from Africa. *Phytopathology*, **105(3)**, 350-357.
- 117. Pardha-Saradhi N. P., Sharma G. P., 2014.** Can adaptive modulation of traits to urban environments facilitate *Ricinus communis* L. invasiveness?. *Environmental monitoring and assessment*, **186(11)**: 7941-7948.
- 118. Park I.K., Park J.Y., Kim K.H., Choi K. S., Choi I. H., Kim C. S., Shin S. C., 2005.** Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematodes (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Nematology*, **7**: 767-774.
- 119. Perry R. N., Moens M. (Eds.). 2006.** *Plant nematology*. CABI.
- 120. Petersen D. J., Vrain T. C., 1996.** Rapid identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. hapla*, and *M. fallax* using PCR primers to amplify their ribosomal intergenic spacer. *Fundamental and Applied Nematology*, **19(6)** : 601-605.
- 121. Powers T. O., Harris T. S., 1993.** A polymerase chain reaction method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of nematology*, **25(1)**, 1.
- 122. Pulidindi k., Pandey H., 2016.** Bionematicides Market Size By Crop (Cotton, Corn, Soybean, Fruits & Vegetables [Leafy Vegetables, Tomato, Pepper]), Industry Analysis Report, Regional Outlook, Growth Potential, Price Trends, Competitive Market Share & Forecast, 2016-2024. <https://www.gminsights.com/industry-analysis/bionematicides-market>, consulté le 25.01.2019.
- 123. Rad J. S., Alfatemi M. H., Rad M. S., Sen D. J., 2013.** Phytochemical and antimicrobial evaluation of the essential oils and antioxidant activity of aqueous extracts from

flower and stem of *Sinapis arvensis* L. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, **1(1)**: 1-10.

124. Radwan M.A., Farrag S.A.A., Abu-Elamayem M.M., Ahmed, N. S., 2012. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*, **56**: 58-62.

125. Rahman L., 2003. Root knot disease and its control. *Agdex*, **633 (1)**: 1-10.

126. Ramos-López M. A., Pérez S., Rodríguez-Hernández G. C., Guevara-Fefer P., Zavala-Sanchez M. A., 2010. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *African Journal of Biotechnology*, **9(9)**.

127. Scotto La Masses JC., 1986. Influence des caractéristiques bioécologiques des milieux sur la distribution des nématodes telluriques. *Bull. Rech. Agro.Gembloux*, **21** : 255-272.

128. Raza M.S., Imran M, Afzal M., Azeem M., Riaz A., Awais M., 2014. Evaluation of Bio-Nematicides against the development of Root Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) in Tomato. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **2 (6)**: 333-335.

129. Reynolds H. W., 1968. Effect of Fallow-Land Treatment and Crop Rotation on Root-Knot Nematode, *Meloidogyne incognita* acrita, Populations.

130. Rich J.R., Rahi G.S., Opperman C.H., Davis, E. L., 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. *Nematropica*, **19**: 99-103.

131. Rich J. R., Dunn R. A., Noling J. W., 2004. Nematicides: Past and present uses. *Nematology*, **21**: 1179-1200.

132. Riffi O., Amechrouq A., Elhourri M., El Idrissi M., Fliou J., 2019. Study of the insecticidal activity of *Taxus baccata* of the Ifrane Valley on *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, **28(4)** : 3197-3202.

133. Rousidou C., Papadopoulou E.S., Kortsinidou M. Giannakou, I. O., Singh, B. K., Menkissoglu-Spiroudi, U., & Karpouzias, D. G., 2013. Bio-pesticides: Harmful or harmless to ammonia oxidizing microorganisms? The case of a *Paecilomyces lilacinus*-based nematicide. *Soil Biology & Biochemistry*, **67**: 98-105.

- 134. Rubtsova T. V., Moens M., Subbotin S. A., 2005.** PCR amplification of a rRNA gene fragment from formalin-fixed and glycerine-embedded nematodes from permanent slides. *Russian Journal of Nematology*, **13(2)**: 137.
- 135. Saeed M., Shawkat J., 2014.** Nematicidal Effect of Some Botanical Powders and Poultry Manure Against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood infecting Tomato Plants. *Egyptian Journal of Agronematology*, **13(1)**: 160-171.
- 136. Salihu B. Z., Gana A. K., Apuyor B. O., 2014.** Castor oil plant (*Ricinus communis* L.): botany, ecology and uses. *International Journal of Science and Research*, **3(5)**: 1333-1341.
- 137. Salim H.A., Salman I.S., Majeed I.I., Hussein, H. H., 2016.** Evaluation of some plant extracts for their nematicidal properties against root-knot nematode, *Meloidogyne* sp.. *Journal of Genec and Environmental Resources Conservaon*, **4(3)**:241-244.
- 138. Saravanapriya B., Sivakumar, M., 2005.** Management of root knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with botanicals. *Natural product radiance*, **4(3)**: 158-161.
- 139. Sarmadia M., Karimi N., Palazón J., Ghassempour A., Mirjalili M. H., 2018.** The effects of salicylic acid and glucoe on biochemical traits and taxane production in a *Taxus baccata* callus culture. *Plant Physiology and Biochemistry*, **132**: 271-280.
- 140. Schacht H. 1859.** Ueber einige Feinde der Ruebenfelder. *Zeitschrift Ven Rübenzucker. Industrie Zollver*, **9**: 175-179.
- 141. Schneider-Orelli O., 1947.** Entomologisches Praktikum: einführung in die landund forstwirtschaftliche insektenkunde. Sauerlander & Co., Aarau, Switzerland.
- 142. Scott J., Julien M., McFadyen R., Cullen J., 2012.** *Raphanus raphanistrum* L.-wild radish. *Biological control of weeds in Australia*, 486-493.
- 143. Seesao Y., Audebert C., Verrez-Bagnis V., Merlin S., Jerome M., Viscogliosi E., Gay, M., 2014.** Monitoring of four DNA extraction methods upstream of high-throughput sequencing of Anisakidae nematodes. *Journal of microbiological methods*, **102** : 69-72.
- 144. Seid A., Fininsa C., Mekete T., Janssen T., Decraemer W., Wesemael W. M., 2019.** Biodiversity of *Meloidogyne* spp. from major tomato growing areas of Ethiopia. *European Journal of Plant Pathology*, **154(3)**: 513-528.
- 145. Sellami S., Lounici M., Eddoud A., Benseghir H., 1999.** Distribution et plantes hotes

associées aux Meloidogyne sous abris plastiques en Algérie. *Nematologia Mediterranea*, **27**: 295-301.

146. Siegle L., Pietsch J., 2018. Taxus ingredients in the red arils of *Taxus baccata* L. determined by HPLC- MS/MS. *Phytochemical Analysis*, **29(5)** : 446-451.

147. Singh R., 2015. Evaluation of nematicidal potency of botanical biopesticides in combination with triazophos against root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infestation on chickpea, *Cicer arietinum* L.. *International Journal of Applied and Natural*, **4(3)**:75-82.

148. Singh U. B., Sahu A., Singh R. K., Singh D. P., Meena K. K., Srivastava J. S., Manna M. C., 2012. Evaluation of biocontrol potential of *Arthrobotrys oligospora* against *Meloidogyne graminicola* and *Rhizoctonia solani* in Rice (*Oryza sativa* L.). *Biological Control*, **60(3)** : 262-270.

149. Singh S., Singh B., Singh A.P., 2015. Nematodes: A threat to sustainability of agriculture. *Procedia Environmental Sciences*, **29**: 215-216.

150. Sirca S., Gregor U., Gerrit K., 2004. The incidence of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla* in Slovenia. *Acta Agriculture Slovenia*, **83 (1)**: 15-22.

151. Soltani T., Nejad R.F., Ahmadi A.R., Fayaz F., 2013. Chemical control of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) On Olive in the Greenhouse conditions. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, **4(6)**: 1-4.

152. Sukul N.C., 1992. Plants antagonistic to plant-parasitic nematodes. *Indian Review Life Sciences*, **12**: 23-52.

153. Sultana N., Akhter M., Khan R.A., Afza N., Tareen R. B., Malik A., 2010. Nematicidal natural products from the aerial parts of *Buddleja crispa*. *Natural Product Research*, **24**: 783-788.

154. Talwana H., Sibanda Z., Wanjohi, W. L., 2016. Agricultural nematology in East and Southern Africa: problems, management strategies and stakeholder linkages. *Pest Management Science*, **72(2)** : 226-245.

- 155. Taylor A.L., Sasser J.N., 1978.** Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematode (Meloidogyne species). North Carolina State University Graphics, Carolina, 110.
- 156. Thomas P.A., Polwart A., 2003.** Biological flora of the British isles *Taxus baccata* L.. *Journal of Ecology*, **91**, 489-524.
- 157. Tounou A.K., 2011.** Bio-insecticidal effects of plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semi-field conditions. *Journal of Applied Biosciences*, **43**: 2899-2914.
- 158. Trudgill D. L., Blok V. C., 2001.** Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual review of phytopathology*, **39(1)** : 53-77.
- 159. Upasani S. M., Kotkar H. M., Mendki P. S., Maheshwari V. L., 2003.** Partial characterization and insecticidal properties of *Ricinus communis* L foliage flavonoids. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, **59(12)** : 1349-1354.
- 160. Vadivel V., Anand P., Monajkumar S., Rajalakshmi P., Brindha P., 2018.** Chemical fingerprints of an Indian traditional herbal drug Talisapatra (*Abies webbiana*) and comparison with English yew (*Taxus baccata*). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **10(2)** : 84-91.
- 161. Warwick S. I., Beckie H. J., Thomas A. G., McDonald T., 2000.** The biology of Canadian weeds *Sinapis arvensis* L. (updated). *Canadian Journal of Plant Science*, **80**: 939-961.
- 162. Warwick S. I., Francis, A., 2005.** The biology of Canadian weeds. 132. *Raphanus raphanistrum* L. *Canadian Journal of Plant Science*, **85(3)**: 709-733.
- 163. Wilson C.R., Hooser S.B., 2018.** Toxicity of Yew (*Taxus* spp.) Alkaloids. In: *Veterinary Toxicology*, 3rd edn. Elsevier, New York.
- 164. Wiratno W., Taniwiryono D., Van den Berg H., 2009.** Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Open Natural Products Journal*, **2**: 77-85.

- 165. Wu H., Wang C.J., Bian X.W., Zeng S. Y., Lin K. C., Wu B., Zhang X., 2011.** Nematicidal efficacy of isothiocyanates against root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in cucumber. *Crop Prot*, **30**: 33-37.
- 166. Xia Y., Qi Y., Yu X., Wang B. F., Cao R. H., Jiang D. X., 2019.** Nematicidal effect against *Bursaphelenchus xylophilus* of harmine quaternary ammonium derivatives, inhibitory activity and molecular docking studies on acetylcholinesterase. *European Journal of Plant Pathology*, **153**: 239-250.
- 167. Yarou B. B., Silvie P., Assogba Komlan F., Mensah A., Alabi T., Verheggen F., Francis F., 2017.** Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **21(4)** : 288-304.
- 168. Zaki F. A., Bhatti D. S., 1990.** Effect of castor (*Ricinus communis*) and the biocontrol fungus *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne Javanica*. *Nematologica*, **36(1-4)** : 114-122.
- 169. Zeck W.M., 1971.** Rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. *Pflanzenschutz Nachrichten*, **24 (1)**: 141-144.
- 170. Zijlstra C., Donkers-Venne D.T.H.M., Fargette M., 2000.** Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology*, **2** : 847-53.
- 171. Zijlstra C., Lever A. E. M., Uenk B. J., Van Silfhout C. H. 1995.** Differences between ITS regions of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi*. *Phytopathology*, **85(10)** : 1231-1237.

Annexe 1 : Fiche descriptive des amorces spécifiques aux espèces *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*.

Sigma-Aldrich

Technical Data Sheet

SALES ORDER NO: 8813957789
 CUSTOMER NO: 0011015600
 SHIPMENT DATE: 14/10/2019

INSTITUTE: DISTRIBUCIONES INDUSTRIALES
 RESEARCHER: DISTRIBUCIONES INDUSTRIALES
 PURCHASE ORDER NO: PC0030726

Batch #	Oligo Name	Oligo #	Len	Pur	Scale	MW	Tm*	µg/OD	OD	µg	nmol	Epsilon (µmMol)	Dimer	2ndry	GC %	µl for 100µM	Sequence(5'-3')
HA13390936	M incognita F	8813957789-000010	20	DST	0.025	6029	67.2	34.3	15.8	542.7	90.0	175.5	No	Weak	60	900	CTCTGCCCAATGAGCTGTCC
HA13390937	M incognita R	8813957789-000020	17	DST	0.025	5081	53.7	33.9	15.08	511.5	100.7	149.8	No	None	52.9	1006	CTCTGCCCTCACATTAG
HA13390938	M arenaria F	8813957789-000030	21	DST	0.025	6519	62.8	30.0	13.52	406.5	62.4	216.8	No	None	47.6	623	TCCGGCATAGAGGTAATGAC
HA13390939	M arenaria R	8813957789-000040	22	DST	0.025	6712	62.5	30.8	15.16	467.2	69.6	217.8	No	Very Weak	45.4	696	TCCGGCATAGACACTACAACT
HA13390940	M javanica F	8813957789-000050	20	DST	0.025	6198	70.4	32.2	15.72	505.6	81.7	192.3	No	None	60	817	GGTGCCCGATTGAACTGAGC
HA13390941	M javanica R	8813957789-000060	23	DST	0.025	7009	64.7	32.0	15.48	495.3	70.7	219	No	Very Weak	52.1	708	CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC

10 00 00 00

Bin Number: 1320

* Calculation is provided for oligo shipped dry



Scanned with

2018-10-20

Centrifuge tube prior to opening to prevent loss of pelleted oligonucleotide.
 For R&D use only. Not for drug, household, or other uses.

© 2019 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved. The vibrant M and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates.



Annexe 2 : Fiche descriptive des amerces 194/195 de la région ribosomique 5S-18S spécifiques aux espèces de *Meloidogyne* spp.

Sigma-Aldrich Technical Data Sheet

SALES ORDER NO: 8814219592
 CUSTOMER NO: 0000002034
 SHIPMENT DATE: 28/11/2019

INSTITUTE: DICSA
 RESEARCHER: DICSA
 PURCHASE ORDER NO: PC0031596

Batch #	Oligo Name	Oligo #	Len	Pur	Scale	MW	Tm*	µg/OD	OD	µg	nmol	Epsilon (254nm)	Dimer	Zndry	GC %	µl for 100µM	Sequence(5'-3')
HA13536764	M2F4	8814219592-10/0	21	DST	0.025	6485	60.8	31.4	14.04	440.9	68.0	206.5	No	Weak	42.8	679	ATGAAAGCTAAGACTTTGGGCT
HA13536755	M1R1	8814219592-20/0	21	DST	0.025	6222	67.4	34.5	14.68	507.7	81.6	179.9	No	None	57.1	816	TCCCGGTACACCCTGAACCTC
HA13536766	194	8814219592-30/0	20	DST	0.025	6117	65.0	31.9	12.88	411.2	67.2	191.5	No	None	50	672	TTAACTTGCCAGATCGGADG
HA13536767	185	8814219592-40/0	17	DST	0.025	5170	57.4	32.0	12.04	385.9	74.6	161.3	No	None	52.9	746	TCTAATGAGCCGTACGC

Bin Number: 962

* Calculated or provided for oligos shipped dry

Centrifuge tube prior to opening to prevent loss of pelleted oligonucleotide.
 For R&D use only. Not for drug, household, or other uses.

© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved. The vibrant M and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates.

Résumé : Des prospections ont été faites sur 14 stations dans tout le long du littoral algérois ; de la région de Ain Taya à l'est jusqu'à Zeralda à l'ouest afin de déterminer la distribution des nématodes à galles dans le littoral algérois et d'estimer leurs degrés d'infestation, ainsi que d'identifier les espèces de *Meloidogyne* spp. existant par une analyse moléculaire. Plusieurs protocoles d'extraction et d'amplification d'ADN par PCR ont été testés sur des populations de nématodes à galle de différentes origines afin de choisir le meilleur.

D'après les résultats obtenus, différents degrés d'infestations ont été observés sur les racines de la culture de tomate échantillonnées des différentes stations dont le plus élevé a été enregistré dans la station Ain el Kahla 2. Les nématodes à galles sont présents dans toutes les stations des régions échantillonnées à l'exception de la station de Bordj el kiffan 1 et les deux stations de Ain Taya. Les espèces tropicales sont présentes dans toutes les stations infestées par les nématodes à galles mais le nombre de leurs populations changent d'une station à une autre. Le nombre le plus élevé des populations d'espèces tropicales (6/8) a été enregistré dans la station de Zeralda 2 et le plus faible (3/8) dans la station de Ain el kahla 2.

L'évaluation du potentiel larvicide et ovicide a été conduite *in-vitro* et *in-vivo* par l'utilisation de des extraits aqueux et organiques de cinq plantes sur *Meloidogyne incognita*. les résultats obtenus ont montré que les extraits (aqueux et organique) des cinq plantes ont un potentiel nématicide sur les nématodes à galle. Lors des essais *in-vitro*, les cinq extraits de plantes se sont révélés efficaces sur la mortalité des juvéniles et sur l'éclosion des œufs, l'extrait organique de *Peganum harmala* à la concentration 80 % a causé la mortalité des juvéniles la plus élevée tandis que l'extrait organique de *Sinapis arvensis* à la concentration 80% a donné le meilleur résultat d'inhibition d'éclosion, ces effets augmentent avec l'augmentation de la concentration des extrait et la durée d'exposition. Dans les deux tests *in-vitro*, les extraits organiques ont montré une meilleure efficacité par rapport aux extraits aqueux. *In-vivo*, seuls trois extraits organiques (*S. arvensis*, *P. harmala*, *T. baccata*) à trois concentration (3, 1.5 et 0.75 ml) ont été testé (ils ont été sélectionnés à partir des résultats obtenus *in-vitro*) sur des plants de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Moneymaker, Solanaceae) préalablement inoculés par 2500 juvéniles âgés de 48 h, À la fin du test (après 4 semaines de suivi), les racines des plants de tomates inoculées ont présenté des symptômes d'attaque (galles) avec différents degrés d'infestation, des paramètres d'infestation (indice de galles, nombre de juvéniles par racine, nombre de galles et nombre de masses d'œufs) et de croissance (poids sec de la partie aérienne et de la racine) ont été estimés. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité des trois extraits de plantes sur la réduction des paramètres d'infestation de nématodes à galle et un effet positif sur la vigueur des plants traités préalablement inoculés par les juvéniles.

Mots clés : *Meloidogyne* spp., Distribution, PCR, Extrait végétal, activité nématicide.

Abstract: Surveys were carried out at 14 stations all along the Algerian coastline; from the region of Ain Taya in the east to Zeralda in the west in order to determine the distribution of root-knot nematodes in the Algerian coastline and to estimate their degree of infestation, as well as to identify the species of *Meloidogyne spp.* existing by molecular analysis. Several DNA extraction and PCR amplification protocols were tested on gall nematode populations of different origins in order to select the best one.

According to the results obtained, different degrees of infestations were observed on the roots of the tomato crop sampled from the different stations, the highest of which was recorded in the Ain el Kahla 2 station. Gall nematodes are present in all the stations of the sampled regions except for the Bordj el kiffan 1 station and the two Ain Taya stations. Tropical species are present in all stations infested by root-knot nematodes but the number of their populations varies from one station to another. The highest number of tropical species populations (6/8) was recorded in Zeralda 2 and the lowest (3/8) in Ain el kahla 2.

The evaluation of larvicidal and ovicidal potential was conducted in-vitro and in-vivo using aqueous and organic extracts of five plants on *Meloidogyne incognita*. The results obtained showed that the extracts (aqueous and organic) of the five plants have nematocidal potential on gall nematodes. In in-vitro tests, the five plant extracts were effective on juvenile mortality and egg hatching, the organic extract of *Peganum harmala* at the 80% concentration caused the highest juvenile mortality while the organic extract of *Sinapis arvensis* at the 80% concentration gave the best hatching inhibition result, these effects increase with increasing extract concentration and duration of exposure. In both in-vitro tests, the organic extracts showed better efficacy compared to the aqueous extracts. In-vivo, only three organic extracts (*S. arvensis*, *P. harmala*, *T. baccata*) at three concentrations (3, 1.5 and 0.75 ml) were tested (they were selected from the results obtained in-vitro) on tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. Moneymaker, Solanaceae) previously inoculated with 2500 juveniles aged 48 h. At the end of the test (after 4 weeks of follow-up), roots of inoculated tomato plants showed symptoms of attack (galls) with different degrees of infestation, infestation parameters (gall index, number of juveniles per root, number of galls and number of egg masses) and growth (dry weight of aerial part and root) were estimated. The results obtained showed the efficacy of the three plant extracts on the reduction of gall nematode infestation parameters and a positive effect on the vigour of treated plants previously inoculated by the juveniles.

Key words : *Meloidogyne spp.*, Distribution, PCR, Vegetal extract, Nematicidal activity.

RESEARCH

Open Access



Nematicidal activity of aqueous and organic extracts of local plants against *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in Algeria under laboratory and greenhouse conditions

Sabri Ala Eddine Zaidat^{1*}, Fazia Mouhouche¹, Djaafar Babaali¹, Nesma Abdessemed², Miguel De Cara³ and Miloude Hammache¹

Abstract

The nematicidal efficiency of two types of extracts (aqueous and methanolic) of 5 plants *Peganum harmala* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Taxus baccata* L., *Sinapis arvensis* L., and *Ricinus communis* L. on second stage juveniles (J2s) of *Meloidogyne incognita* was evaluated at 4 doses in vitro (40, 50, 60 and 80%) at 4 exposure times (12, 16, 24, and 32 h). In a greenhouse, methanol extracts obtained from 0.75, 1.5, or 3 g of the dry matter of *T. baccata*, *S. arvensis*, and *P. harmala* were added in pots of tomato plants (Moneymaker cultivar) to test the effect of the extracts on the nematode, its reproduction, and the plant's growth. After 32 h of exposure, the in vitro results on J2s showed that all the aqueous and methanolic extracts of the 5 plants had positive effects on J2 mortality compared to controls; water and DMSO (2%) (dimethyl sulfoxide). In general, methanolic extracts were significantly more effective than the aqueous ones. Methanolic extracts of *T. baccata*, *P. harmala*, and *S. arvensis* had the highest mortality rates (100, 89.2, 86.6%), respectively, followed by the aqueous extract of *T. baccata* (73.8%). After 12 days, the hatching inhibition varies between (61.4%) for the aqueous extract of *R. communis* and (84.2%) for the methanolic extract of *T. baccata*. The average was significantly different from controls (DMSO 23.8 and water 21.8%) for all extracts. Methanolic extracts were not always significantly different than the aqueous ones. In vivo methanolic extracts of *S. arvensis*, *P. harmala*, and *T. baccata* reduced infestation than the controls. The gall index varied between 3.5 and 5.5 for the extracts than the positive control 6.5. The present study revealed the effectiveness of all tested plant extracts to root-knot nematodes without any chemical inputs.

Keywords: *Meloidogyne incognita*, Plant extracts, Hatch suppression, Juvenile mortality

Background

Cecidogenic nematodes are pests that cause serious damage to several crops, mainly horticulture (Adegbite et al. 2005). Crop production problems induced by nematodes therefore generally occur as a result of root

dysfunction, reducing rooting volume and foraging and utilization efficiency of water and nutrients (Hemlata and Jyoti 2018).

In Algeria, the distribution of *Meloidogyne* nematodes affects areas of high vegetable crop productivity (Alger, Constantine, Biskra, Ouargla, Adrar) (Babaali et al. 2016). Several methods are available to control the plant parasitic nematodes. Synthetic nematicides are used most often compared to other known nematode control

* Correspondence: zaidatsabri@hotmail.com

¹Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, 1 Avenue Hassan Badi, El-Harrach, 16200 Algiers, Algeria
Full list of author information is available at the end of the article

strategies because they are effective and quick in action (Odeyemi et al. 2013). The indiscriminate use of synthetic pesticides to control nematodes was likely to give rise to phytotoxicity, environmental pollution, and resistance to nematodes, in addition to its very high cost (Adegbite et al. 2005). The growing concern for the environment and the recent ban on many nematicides has required a reduction in the amount of chemical nematicides and the development of non-chemical options (Odeyemi et al. 2013). In addition, the search for effective, environmentally sound and safe alternative control methods has been intensified.

One of the possible alternatives is the utilization of biopesticides from plant origin, known as botanical pesticides (Javed et al. 2007). These biopesticides are generally considered to be non-persistent under field conditions as they are readily transformed by light, oxygen, and microorganisms into less toxic products (Wiratno et al. 2009). Numerous plant species, representing 57 families including *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, and *Lauraceae*, can contain nematicidal compounds (Andrés et al. 2012). The use of plant extracts as an alternative tool to synthetic pesticides for control of root-knot nematode has become important (Kepenekçi et al. 2016). The use of plant extracts against *Meloidogyne* spp. has shown their effectiveness in several previous studies (Hassan et al. 2013; Curto et al. 2015; Xia et al. 2019).

The objective of the present work was evaluation of juvenicidal and ovicidal potential of aqueous and organic extracts of 5 local plants on *Meloidogyne incognita* under controlled conditions.

Materials and methods

Plant extracts

Five plants (*Peganum harmala*, *Raphanus raphanistrum*, *Taxus baccata*, *Sinapis arvensis*, and *Ricinus communis*), belong to 4 different botanical families, were collected at their vegetative stage from different regions of Algeria at different bioclimatic levels in 2017. The collected plants were identified using voucher specimens deposited in the herbarium of the Botany Department of Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA, ex. INA, Algiers, Algeria); identification was further confirmed by B. FARSSI, Doctor of Ecology in the same Department. Plant leaves were dried in shade for 15 days under laboratory conditions and then turned to fine powders using a commercial grinder.

The species used (wild rue, wild radish, field mustard, and castor bean) were chosen because of their nematicidal effects as shown in several previous studies (Hassan et al. 2013; Curto et al. 2015; Xia et al. 2019). *T. baccata* was chosen for its medicinal properties and it has not been tested previously on nematodes (Guenard et al.

1993). In order to prepare the inoculum and/or in plant test, tomato plants were used. The seeds of tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. Moneymaker, Solanaceae) were sown in alveolate plates and raised in a greenhouse for 1 month, and then the seedlings were transplanted into 2.5 L plastic pots (17.5 × 14.5 cm: diameter × height) containing 1 L of a sand mold mixture (1/2:1/2).

Preparation of aqueous and organic extracts

Two types of extracts (organic and aqueous) were used in this study. A quantity of 25 g of powder of each plant species (*P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T. baccata*, *S. arvensis*, and *R. communis*) was placed in 500 ml glass flasks containing 250 ml of solvent (distilled water or methanol at 80% for aqueous or organic extraction, respectively) (Dane et al. 2015). The flasks were placed under an orbital shaker (Ika-Werke-GMBH & CO.KG D-79219 Staufen, Germany) for 4 h at 500 rpm. The mixture was filtered through a funnel equipped with filter paper (N°1; 100 µm) and centrifuged (Horizontal centrifuge, Swing-3000, Apogee, Germany) for 15 min at 1500 rpm to remove debris. The solvent (methanol) of the organic extract was evaporated using the Rotavapor (Laborgerate, GmbH, ISOLAB) at 60 °C, while the water of aqueous extract was evaporated by water bath (LWB-111D, LabTech, Korea) at 60 °C. All quantities obtained from aqueous extracts after evaporation were diluted by 25 ml of distilled water, while the methanolic extracts were diluted by 25 ml of DMSO (2%) (dimethyl sulfoxide). The solution was considered as a stock solution and stored at 4 °C for up to 24 h. (Babaali et al. 2017).

Nematode inoculum

Tomato roots infected with *Meloidogyne incognita* were sampled from the Staoueli region (25 km west of Algiers, Algeria) and transferred to the laboratory. The egg masses were carefully detached from the roots and placed in hatchers containing sterile distilled water (SDW). After 48 h, the juveniles were recovered in graduated beakers. One milliliter of the suspension was collected and observed under an optical microscope to determine the number of existing J2s in the solution (the recommended concentration of J2s of inoculum was always adjusted by adding sterile distilled water for juveniles). This step was repeated at least 10 times. The multiplication of the number of juveniles (J2s) was carried out on tomato seedlings (Moneymaker cultivar) on greenhouse at experimental station of ENSA. The tomato seedlings were inoculated 1 month after transplanting by 2500 J2s (tomato seedlings were irrigated regularly for 60 days). After 2 months, fresh egg masses were collected and hatched.

Table 1 Percentages of the different volumes of the stock solution in the juvenile mortality test

Juvenile suspension (1 ml)				
Volumes of stock solution (ml)	0.8	0.6	0.5	0.4
Percentages (%)	80	60	50	40

Biological assays

In vitro test

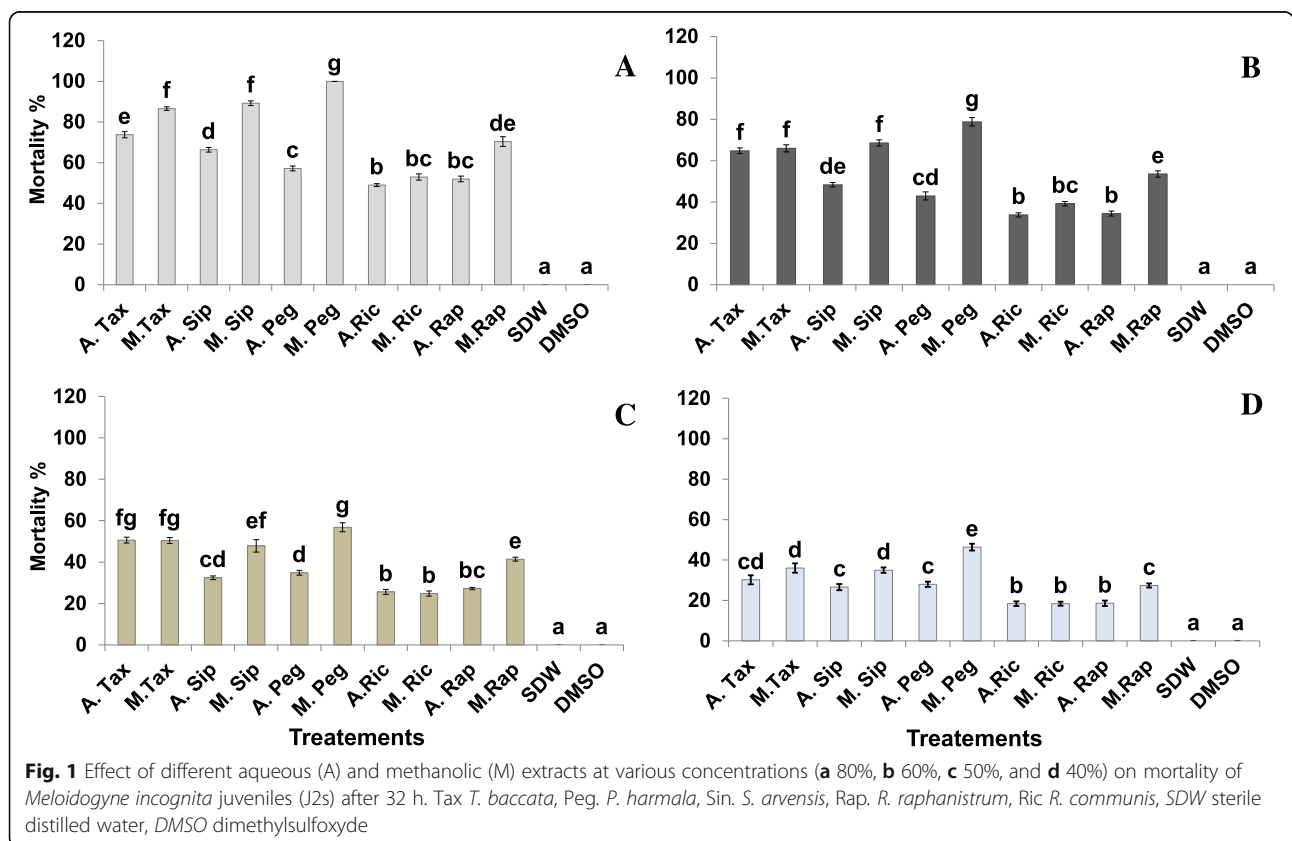
Juveniles mortality bioassay The effect of aqueous and organic (methanolic) extracts at various concentrations (Table 1), obtained from the stock solution (considering that 1 ml of stock solution with 1 ml of J2s suspension was the 100% concentration) on the juveniles of 48 h was evaluated. One milliliter nematode suspension > 100 J2s in a 24-well plate maintained in an incubator, in the dark, at 24 °C. Each treatment was repeated 5 times. Using a double counter, 100 J2s between dead and live juveniles were counted after 12, 16, 24, and 32 h of exposure considering a young straight or motionless juvenile as dead, which was confirmed by touching them with a fine needle. To compare the results, natural mortality was counted in water and in DMSO at 2% and they were considered as controls. The lethal concentration (LC₅₀)

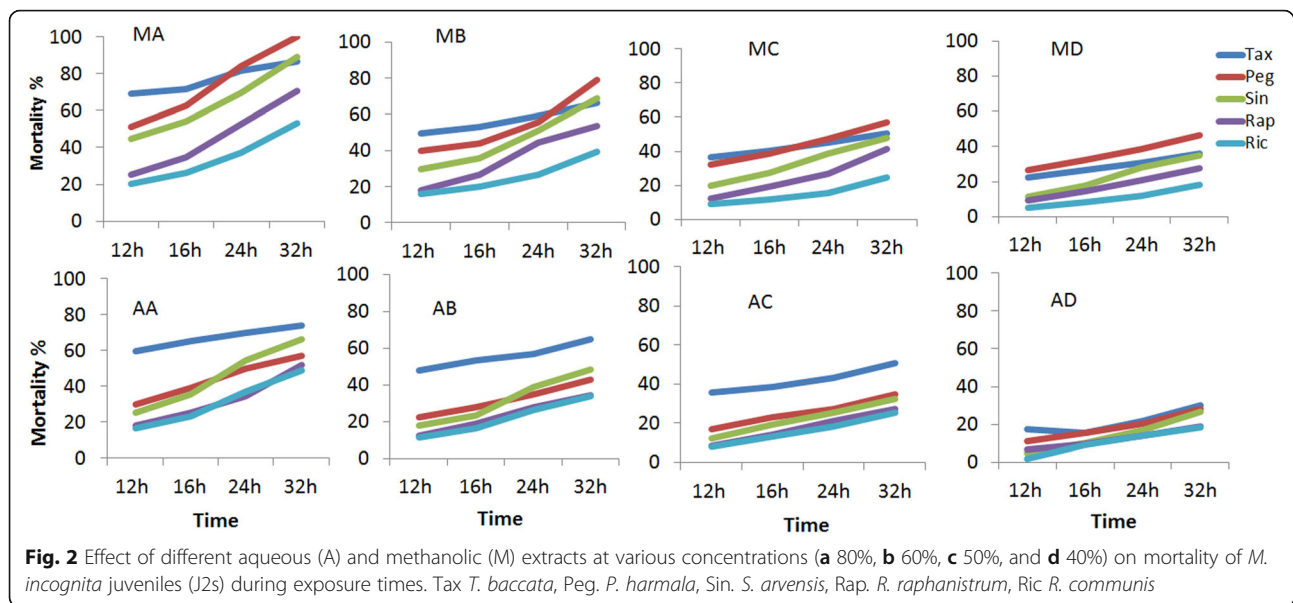
to exterminate 50% of juveniles was calculated using probit analysis (Bliss 1934).

Hatching bioassay For the evaluation of the effect of the 2 types of extracts (aqueous and organic) at the same concentrations, used in the previous test on the hatching of *M. incognita* eggs, a suspension was prepared from the eggs extracted from the tomato roots with a 0.5% NaOCl (sodium hypochlorite) solution, knowing that the *M. incognita* eggs were obtained by passing the solution through a 250-µm sieve and rinsing the eggs with sterile water in a 25-µm sieve (Hussey and Barker 1973). Each treatment consisted of 5 replicates of 100 eggs in 1 ml of each extract concentration. The experiment was conducted in 24-well plate maintained in an incubator, in the dark, at 24 °C. Hatched J2s were counted after 12 days in treatments. The controls used were eggs treated with DMSO (2%) and eggs treated with sterile distilled water (Babaali et al. 2017). The hatching inhibition rate R (HI) was calculated using the following formula:

$$R (HI) = [(Nie - Neh)/Nie]*100$$

where Nie is the initial number of eggs and Neh is the number of eggs hatched.





In vivo infestation of nematodes into roots of the tomato bioassay To confirm the results obtained in vitro, plant test was performed. In this test, the methanolic extracts used were *P. harmala*, *T. baccata*, and *S. arvensis* (their doses were 3, 1.5, and 0.75 ml for each dose, and water was added to reach 20 ml). This experiment was conducted in pots using tomato seedlings of the Moneymaker cultivar, which is very sensitive to *M. incognita* under greenhouses. The treatments were applied 1 day before transplanting the tomato seedlings. After 1 day of transplantation, 1500 J2s (48 h old) were deposited in 5 holes around the stem at a depth of 3 cm. Unlike the positive control seedlings, which were treated by the nematodes juveniles and by sterile distilled water, the negative control seedlings were treated by sterile distilled water only. Each treatment was repeated 6 times. At the end of the test, the infestation parameters (galls index, number of juveniles per root, number of galls, and number of egg masses) and growth parameters (dry weight of the aerial part and of the root) were estimated. The gall index was estimated according to Zeck's rating of 1 to 10 (Zeck 1971).

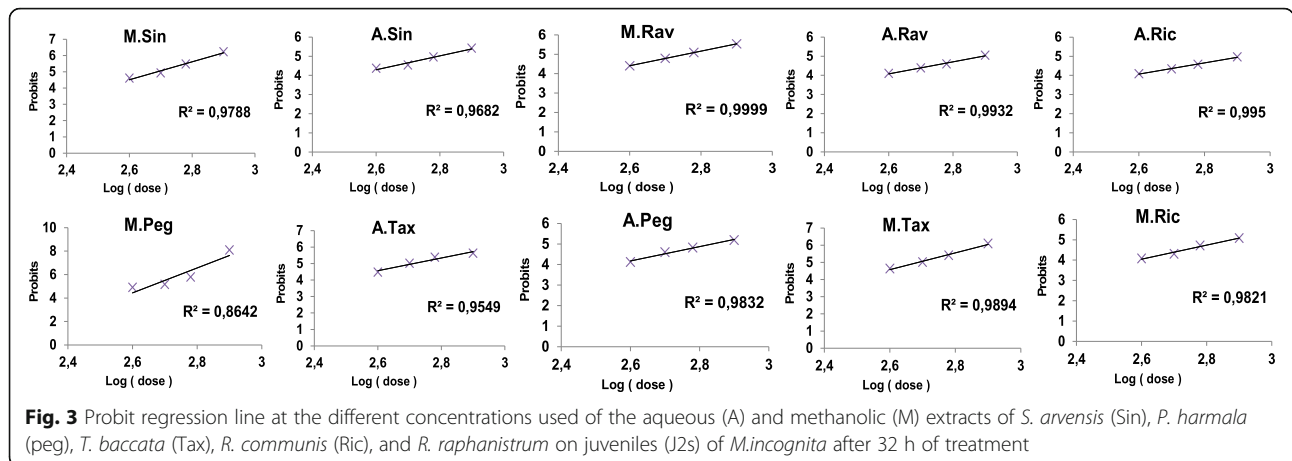
Data processing Experiments were conducted in a complete randomized design. The data were performed by the analysis of variance (two-way ANOVA) for juvenile mortality and for in vivo test parameters, three-way ANOVA for egg hatching, and their means were compared, using HSD of Tukey at $P < 0.05$, using the STATISTICA software (Statistica version 8.5 year 2014).

Results and discussion

The two types of extracts of the 5 plant species at different concentrations and at different times of exposure showed different effects on the J2s mortality rate, on the hatching rate, and on the degree of infestation of juveniles in the roots of tomato plants. To the best of our knowledge, this is the first time that the leaves of local species; *P. harmala*, *T. baccata*, *R. raphanistrum*, and *R. communis* have been tested. Various plant species have been studied as a potential biocontrol tool against *M. incognita* and were therefore proposed as nematicidal. This was the case for *Artemisia vulgaris* L., *Azadirachta indica* A. Jass, roots of *Ricinu scommunis* L., *Nicotiana tabacum* L., *Syzygium aromaticum* L., *Piper betle* L., *Capsicum*

Table 2 Lethal concentration 50 (LC₅₀) of the effect of extracts on *M. incognita* J2s mortality after 32 h of treatment

Species	Methanolic extract		Aqueous extract	
	LC ₅₀ (ml/mlwate)	Slope	LC ₅₀ (ml/mlwate)	Slope
<i>T. baccata</i>	0.43	$y = 4.9306x - 8.2421$	0.51	$y = 3.8489x - 5.4401$
<i>P. harmala</i>	0.44	$y = 10.64x - 23.221$	0.69	$y = 3.4938x - 4.908$
<i>S. arvensis</i>	0.48	$y = 5.5311x - 9.8702$	0.62	$y = 3.6387x - 5.1658$
<i>R. raphanistrum</i>	0.57	$y = 3.7723x - 5.4048$	0.78	$y = 3.1408x - 4.0865$
<i>R. communis</i>	0.75	$y = 3.4586x - 4.9463$	0.83	$y = 2.9389x - 3.5748$



annuum L., *Zingiber officinale* Roscoe, *Parkiabiglobosa* (Jacq.), *Datura stramonium* L., and *Datura innoxia* Mill. (Costa et al. 2003; Adegbite and Adesiyon 2005; Wiratno et al. 2009; Bawa et al. 2014; Babaali et al. 2017).

In vitro test

Effect of plants extract on the juveniles mortality

The two types (methanolic or aqueous) of extracts from the 5 tested plants (*P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T. baccata*, *S. arvensis*, and *R. communis*) showed efficacy on *M.incognita* J2s (Fig. 1). The results are confirmed by Rich et al. (1989), Hassan et al. (2013), and Curto et al. (2015), when they used the seed extracts of *Ricinus communis* and *Peganum harmala* and the extracts of the 3 brassicaceae species of (*Eruca sativa*, *Raphanu ssativus* sp. *oleiformis*, *Reseda luteola*) on *Meloidogyne* juveniles, and found them effective.

This effect was consistent with the increase in concentration and the exposure period (Fig. 2), which is consistent with that reported by (Adegbite and Adesiyon 2005; Chaudhary et al. 2013; Kepenekçi et al. 2016).

The species, *T. baccata* and *P. harmala*, showed the highest nematicidal effect as they acted quickly with a shock effect from the first hours of immersion (12 h) J2s. At the highest concentration (80%), the mortality rate of J2s treated with methanolic extracts of *T.baccata* and *P.harmala* reached 69 and 51%, respectively, while the mortality rate of J2s treated with methanolic extracts of *S.arvensis* and *R.raphanistrum* was lower. It reached 44 and 25%, respectively. Moreover, the lowest mortality rate of methanol extracts was recorded at *R.communis* with 20.2%. Mortality rates of J2s treated with aqueous extracts of *T.baccata*, *P.harmala*, *S. arvensis*, *R.*

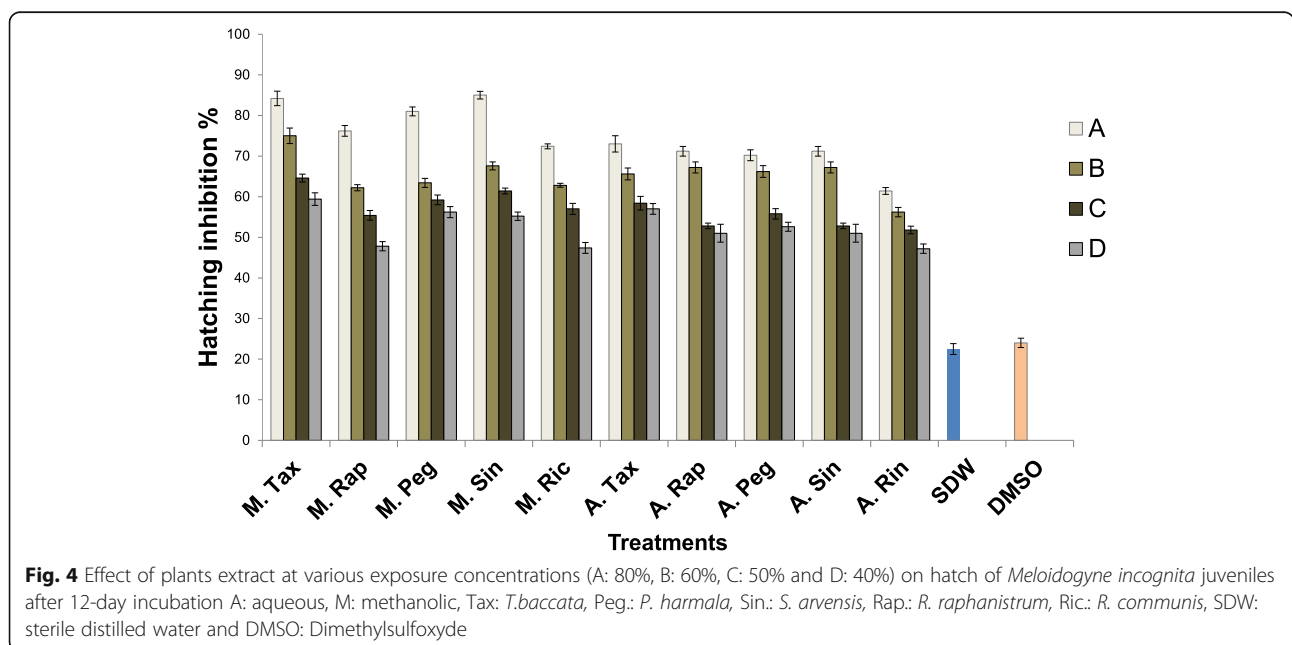


Table 3 Effect of the methanolic extracts of *S.arvensis*, *P.harmala*, and *T.baccata* applied in the soil on the reproduction of *M.incognita* and the growth of tomato plants under greenhouse

Plant extract	Extract dosage (ml/pot)	Gall index	Number of J2s	Number of egg masses	Number of galls	Dry weight of the aerial part	Dry weight of roots
Methanolic <i>S.arvensis</i>	3	4.5 ± 0.22 bcd	3500.33 ± 231.45bc	72.50 ± 5.65b	121.66 ± 5.23bc	7.10 ± 0.46cde	2.09 ± 0.26a
	1.5	5.0 ± 0.25 cde	3687.33 ± 238.61cd	97.00 ± 11.30bce	128.33 ± 4.93c	6.01 ± 0.47bcd	2.12 ± 0.20a
	0.75	5.66 ± 0.21 de	4416.83 ± 263.12d	104.5 ± 4.89cef	146.83 ± 12.07cd	4.76 ± 0.60b	1.24 ± 0.15a
Methanolic <i>T. baccata</i>	3	4.00 ± 0.25 bc	2682.50 ± 151.36b	87.33 ± 3.30bc	125.33 ± 8.08bc	7.54 ± 0.51de	1.53 ± 0.31a
	1.5	4.500 ± 0.22 bcd	3723.50 ± 205.96cd	129.83 ± 12.12f	176.00 ± 5.70de	6.55 ± 0.54bcde	1.21 ± 0.08a
Methanolic <i>P. harmala</i>	0.75	4.83 ± 0.30 cd	4390.00 ± 205.47d	164.00 ± 11.93g	190.33 ± 9.85e	5.23 ± 0.34bc	1.07 ± 0.15a
	3	3.50 ± 0.22 b	3140.50 ± 73.78bc	68.16 ± 5.28b	86.83 ± 4.60.b	6.87 ± 0.58bcde	1.38 ± 0.10a
	1.5	4.83 ± 0.30 cd	4017.0 ± 0177.32cd	121.00 ± 5.5ef	144.66 ± 5.94cd	6.54 ± 0.56bcde	1.37 ± 0.19a
Positif control (inoculum)	0.75	5.50 ± 0.22 de	4437.16 ± 178.38d	164.16 ± 3.09g	160.33 ± 12.78cde	5.45 ± 0.64bcd	1.76 ± 0.11a
Negatif control	/	6.16 ± 0.40 e	7319.66 ± 197.74e	178.16 ± 4.25g	244.66 ± 10.84f	1.24 ± 0.15a	1.32 ± 0.25a
<i>P</i> value	/	00 ± 00a <i>P</i> = 0.01	00 ± 00a <i>P</i> = 4.4.10 ⁻⁵	00 ± 00a <i>P</i> = 3, 6.10 ⁻⁷	00 ± 00a <i>P</i> = 9.10 ⁻⁶	8.21 ± 0.16e <i>P</i> = 0.13	4.28 ± 0.25b <i>P</i> = 0.15

Means with the different letters are significantly different according to the Tukey's test ($P \leq 0.05$). Values with ± represent the standard errors

raphanistrum, and *R. communis* at the same exposure time and the same concentration attained 59, 30, 25, 18, and 16.2% respectively. After 32 h, the percentage of mortality reached 100% at 80% by the methanolic extract of *P.harmala*. The same extract of *S.arvensis* recorded a considerable increase up to 89.2% unlike the extract of *T.baccata*, which showed an irregular increase to reach 86.6%. The best aqueous extracts were of *T. baccata*, which caused a mortality rate of 73.8 at 80% after 32 h of exposure, exceeding the recorded rate of 70.4 and 53% for methanolic extracts (80%, 32 h) of *R. raphanistrum* and *R. communis*, respectively. In this test, the lowest mortality rate (1.8%) was recorded in juveniles treated with aqueous extract of *R.communis* at a concentration of 40% and exposure time of 12 h, followed by mortality rates of 4.6, 6.4, 5.4, and 9.2% and recorded in juveniles treated with aqueous extract of *S. arvensis* and *R. raphanistrum* and with methanolic extract of *R. communis* and *R. raphanistrum*, respectively. Obtained results showed that the organic extract had better efficacy than the aqueous one on J2s at the 4 concentrations and all exposures times.

The results presented in (Table 2 and Fig. 3) showed that the LC₅₀ values calculated for the 32 h of exposure time ranged from 0.43 ml/ml (methanolic extract of *T.baccata*) to 0.83 ml/ml (aqueous extract of *R. communis*). The highest LC₅₀ of all methanolic extracts expressed by 0.75 ml/ml (extract of *R.communis*) and the lowest LC₅₀ of all aqueous extracts by 0.51 ml/ml (extract of *T. baccata*).

Effect of plants extracts on egg hatching of *M.incognita*

Different extracts (methanolic and aqueous) of the tested 5 plants showed very highly significant effects ($P = 5, 3.10^{-5}$) on egg hatching. After 12 days of exposure of *M. incognita* eggs to the various extracts, significant differences with the DMSO 2% and water controls recorded egg hatch inhibition of 23.8 and 21.8%, respectively (Fig. 4). The inhibition rate varied between 47.2 at 40% for the aqueous extract of *R. communis* and 85.2 at 80% for the methanolic extract of *S. arvensis*, followed by the methanolic extracts of *T. baccata* and *P. harmala* at the same dose with 84.2 and 81%, respectively. Concerning the juveniles, the methanolic extract of *P. harmala* gave (100%) mortality rate; the methanolic and aqueous extracts of *R. communis* had a better yield than its juvenicidal effect. The percentage of inhibition in hatching increased with the increase of the concentration of the extracts from 40 to 80%. In the present study, the efficacy of methanolic extracts compared to aqueous extracts was also verified for the hatch inhibition of *M.incognita* eggs. Similarly, in previous studies, they reported that the effect of organic extracts was better than the effect of aqueous extracts, and the rate of egg inhibition increased by increasing the concentrations

of extracts (Chaudhary et al. 2013; Kepenekçi et al. 2016; Babaali et al. 2017).

In vivo test

Effect of plant extracts on root infestation of nematodes

At the end of the test, the roots of the tomato plants inoculated with the suspension of juveniles of *M.incognita* and treated with the 3 selected plant extracts (*S. arvensis*, *P. harmala* and *T. baccata*) that showed symptoms of disease (galls) with different degrees of infestation. The variance analysis at two factors (plants extracts and doses) of the methanolic extracts of the 3 selected plants showed 2 effects on the index of *M.incognita* infestation: one significant and the other highly significant on the roots of tomato seedlings, and 2 effects on growth parameters (dry weights of the aerial part and the roots): one significant and the other non-insignificant (Table 3). *P. harmala* extract showed a significant difference than other extracts to reduce *M.incognita* infestation for the highest concentration, while it ranked 2nd in reducing the number of juveniles after *T. baccata* extract. The efficacy of the methanol extracts of the 3 plants increased at the high concentration but it was different from one parameter to another. The reduction of the infestation rate and number of galls on the roots after the application of the 3 methanolic extracts of the 3 plants was at the same line with other researches like that Costa et al. (2003), Wiratno et al. (2009), and Bawa et al. (2014).

These results can be attributed to the presence of toxic substances released by the extracts such as alkaloids, flavonoids, saponins, and amides including benzamide and ketones, which have juvenicidal and ovocidal potentials and can effect singly or combination (Adegbite and Adesiyun 2005). *Peganum harmala*, *Taxus baccata*, and *Ricinus communis* have always been known for their biological activities (medicinal, antibacterial, antifungal, antioxidant, insecticide) (Nenaah 2010; Behidj-Benyounes et al. 2014; Bhakta and Das 2015; Abbassi et al. 2015 and Wilson and Hooser 2018).

Conclusion

Obtained results suggest that *P. harmala*, *R. raphanistrum*, *T. baccata*, *S. arvensis*, and *R. communis* have potentials as nematocidal on *Meloidogyne incognita*, especially when applied in a methanolic solvent. A study of the biochemical composition of these 5 plants and detection of molecules with nematocidal potential is worth for further researches. These species are well adapted to humid, arid, and semi-arid conditions, where wild tomato is cultivated, and *M.incognita* is its common threat.

Abbreviations

A: Aqueous; DMSO: Dimethyl sulfoxide; E: East; ENSA: Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie; J2s: Juvenile of second stage juveniles; LC

50: Lethal concentration 50; M: Methanolic; N: North; NaOCl: Sodium hypochlorite; Nhe: Number of eggs hatched; Nie: Initial number of eggs; Peg: *Peganum harmala*; R (hi): Rate of hatching inhibition; Rap: *Raphanus raphanistrum*; Ric: *Ricinus communis*; RKNs: Root-knot nematode; SDW: Sterile distilled water; Sin: *Sinapis arvensis*; Tax: *Taxus baccata*

Acknowledgements

The authors would like to thank Mr G. Kaci for his contribution in the statistical analyses, Mr S. Bouzaa for his contribution in the experiment, and Ms F. Abdessemed for her assistance in English correction. We also want to thank the National Institute of Plant Protection (INPV) of El Harrach especially the laboratory for locust control.

All authors read and approved the final manuscript

Authors' contributions

SAZ carried out the experiment and was a major contributor in writing the manuscript. FM conceived and planned the experiments. NA carried out the experiment and revised the manuscript and corrected references. DJB followed the work in the laboratory and in greenhouses. DM assistance in statistical analysis and correction of the manuscript. MH supervised the work. The author(s) read and approved the final manuscript.

Funding

Not applicable

Availability of data and materials

Not applicable

Ethics approval and consent to participate

Not applicable

Consent for publication

Not applicable

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, 1 Avenue Hassan Badi, El-Harrach, 16200 Algiers, Algeria.

²Department de Botanique, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El-Harrach, Algiers, Algeria. ³Departamento de Protección Vegetal, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, IFAPA-La Mojonera, Camino San Nicolás n.1, La Mojonera, 04745 Almería, Spain.

Received: 29 November 2019 Accepted: 25 March 2020

Published online: 28 April 2020

References

- Abbassi K, Mergaoui L, Kadiri ZA, Stambouli A, Ghaout S (2015) Effets des extraits de *Peganumharmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*Forskål, 1775). *Zool Baetica* 13(14):203–217
- Adegbite AA, Adesiyun SO (2005) Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. *World J Agric Sci* 1:18–21
- Adegbite AA, Adesiyun SO, Agbaje GO, Omoloye AA (2005) Host suitability of crops under Yam intercrop to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* Race 2) in South-Western Nigeria. *J Agric Rural Dev Trop Subtrop* 106:113–118
- Andrés MF, González-Coloma A, Sanz J, Burillo J, Sainz P (2012) Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochem Rev* 11:371–390
- Babaali D, Berrabah DE, Serghine R, Hammache M, Doumandji S (2016) Comparative efficacy of two modes of applications of 1,3-dichloropropene in the control of root-knot nematodes on two varieties of tomato, pepper and some weeds. *Adv Environ Biol* 10(11):51–60
- Babaali D, Roeb J, Hammache M, Hallmann J (2017) Nematicidal potential of aqueous and ethanol extracts gained from *Daturastramonium*, *Daturainnoxia* and *Daturatatulaon* *Meloidogyne incognita*. *J Plant Dis Prot* 124:339–348
- Bawa JA, Mohammed I, Liadi S (2014) Nematicidal effect of some plants extracts on root-knot nematodes of tomato. *World J Life Sci Med Res* 3(3):81–87

- Behidj-Benyounes N, Dahmene T, Allouche N, Laddad A (2014) Phytochemical, antibacterial and antifungal activities of alkaloids extracted from *Peganumharmala* (Linn.) seeds of South of Algeria. *Asian J Chem* 26:2960–2964
- Bhakta S, Das SK (2015) In praise of the medicinal plant *Ricinuscommunis* L.: a review. *Global J Res Med Plants Indigen Med* 4(5):95–105
- Bliss CI (1934) The method of probits. *Sci*. 79:38–39
- Chaudhary KK, Haile A, Ayresea ZG, Semereab G, Weldegergish T (2013) Actividad nematocida de malezas de Eritrea sobre el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Kofoid y blanco) Chitwood. *Nematropica* 43:207–215
- Costa SDSR, Santos DA, Ryan MF (2003) Effect of *Artemisia vulgaris* rhizome extracts on hatching, mortality, and plant infectivity of *Meloidogyne megadora*. *J Nematol* 35(4):437–442
- Curto G, Dallavalle E, Santi R, Casadei N, D'Avino L, Lazzeri L (2015) The potential of *Crotalaria juncea*L. as a summer green manure crop in comparison to Brassicaceae catch crops for management of *Meloidogyne incognita* in the Mediterranean area. *Eur J Plant Pathol* 142:829–841
- Dane Y, Mouhouche F, Canela-Garayoa R, Delpino-Rius A (2015) Phytochemical analysis of methanolic extracts of artemisiaabsinthium L. 1753 (Asteraceae), *Juniperusphoenicea*L., and *Tetraclinisarticulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Biol Sci* 6:30–11
- Guenard D, Gueritte-Voegelein F, Potier P (1993) Taxol and taxotere: discovery, chemistry, and structure-activity relationships. *Acc Chem Res* 26:160–167
- Hassan ME, Zahra F, Mina IHL (2013) Anti-nematode effect assessment of *Peganumharmala*Based-Products against *Meloidogyne javanica*on melon. *J Biol* 3(5):5–10
- Hemlata P, Jyoti V (2018) Bio-Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Int J Env Rehab Conserv* 9(2):60–63
- Hussey RS, Barker KR (1973) A Comparison methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis Reporter* 57:1025–1028
- Javed N, Gowen SR, Inam-ul-Haq M, Abdullah K, Shahina F (2007) Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. *Crop Prot* 26:911–916
- Kepekçi I, Erdoğan D, Erdoğan P (2016) Effects of some plant extracts on root-knot nematodes *in vitro* and *in vivo* conditions. *Türkiye Entomoloji Derg.* 40(1):3–14
- Nenaah G (2010) Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganumharmala*(L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia* 81:779–782
- Odeyemi IS, Afolami SO, Adigun JA (2013) Plant parasitic nematode relative abundance and population suppression under *Chromolaenaodorata* (Asteraceae) fallow. *Int J Pest Manag.* 59:79–88
- Rich JR, Rahi GS, Opperman CH, Davis EL (1989) Influence of the castor bean (*Ricinuscommunis*) lectin (ricin) on motility of *Meloidogyne incognita*. *Nematropica* 19:99–103
- Wilson CR, Hooser SB (2018) Toxicity of yew (*Taxus*spp.) alkaloids. In: *Veterinary Toxicology*, 3rd edn. Elsevier, New York
- Wiratno W, Taniwiryono D, Van den Berg H, Riksen JAG, Rietjens IMCM, Djwanti SR, Kammenga JE, Murk AJ (2009) Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Open Nat Prod J* 2: 77–85
- Xia Y, Qi Y, Yu X, Wang B, Cao R, Jiang D (2019) Nematicidal effect against *Bursaphelenchusxylophilus* of harmine quaternary ammonium derivatives, inhibitory activity and molecular docking studies on acetylcholinesterase. *Eur J Plant Pathol.* 153:111–122
- Zeck WM (1971) Rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. *Pflanzenschutz Nachrichten* 24(1):141–144

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.